

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA - UDESC
CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS - CAV
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL - MCA

LUCIANA DALLA ROSA

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA INFECÇÃO POR
***Neospora caninum* EM OVINOS NO MUNICÍPIO DE LAGES, SANTA**
CATARINA, BRASIL.

LAGES, SC

2010

LUCIANA DALLA ROSA

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA INFECÇÃO POR
Neospora caninum EM OVINOS NO MUNICÍPIO DE LAGES, SANTA
CATARINA, BRASIL.**

Dissertação apresentada à coordenação do
Curso de Pós Graduação em Ciência Animal,
como requisito para a obtenção do título de
Mestre.

Orientador: PhD Valdomiro Bellato

LAGES, SC

2010

LUCIANA DALLA ROSA

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA INFECÇÃO POR *Neospora caninum*
EM OVINOS NO MUNICÍPIO DE LAGES, SANTA CATARINA, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós Graduação em Ciência Animal da Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal, área de concentração em Saúde Animal.

Banca Examinadora:

Orientador:

Prof. PhD. Valdomiro Bellato
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membro:

Prof^a. Dra. Silvia Cristina Osaki
Universidade Federal do Paraná - UFPR

Membro:

Prof. Dr. Anderson Barbosa de Moura
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Membro:

Prof. PhD. Antonio Pereira de Souza
Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC

Lages, 09 de agosto de 2010

 Aos meus pais, pelos ensinamentos
concedidos, seus princípios e seus incentivos,
tornando mais suave qualquer obstáculo.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo Seu supremo poder em iluminar minha mente e meu caminho, por me proporcionar mais uma grande conquista e pela sua fundamental presença, onde por vários momentos em que estive só, nunca me deixou sentir sozinha.

A meus pais, Roque e Jocélia, que foram, durante todos esses anos, um grande exemplo de força, coragem, amor, perseverança e energia infinita. E aos meus irmãos, Lucas e Marcos, pelo apoio e incentivo constantes em minha vida.

Ao Thiago Aparecido da Silva, por sua extensa paciência, pelo seu amor, por sempre estar disposto a me ajudar em qualquer situação e, principalmente, pelo seu apoio que me conforta e me deixa mais forte para superar os desafios.

Ao professor Valdomiro Bellato, meu orientador, por ter sido um grande mestre e junto dele, os professores Antonio Pereira de Souza, Amélia Aparecida Sartor e Anderson Barbosa de Moura que souberam, com arte e amor, transcender o próprio conhecimento, demonstrando a força da palavra, da idéia e da pesquisa sobre a transformação de diamantes brutos em pedras lapidadas com brilho próprio. Cada um desses mestres, de maneira inesquecível, inscreveu sua conduta junto a mim, colaborando assim para eu chegar até aqui e ir muito além.

Aos colegas do Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, que compartilharam os prazeres e dificuldades, pela convivência agradável e agitada, pelo carinho e disponibilidade em sempre me ajudar.

À CAPES pelas bolsas PROCAD e Demanda Social, possibilitando minha dedicação exclusiva ao mestrado.

Dirijo, igualmente, meu reconhecimento e agradecimento à Universidade do Estado de Santa Catarina, especificamente ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – PPGCA/UEDESC, pela acolhida e por todo o apoio recebido.

*“Você é quem traça seu destino.
Você é o autor.
Você escreve a história.
A caneta está em sua mão, e o desfecho
é o que você escolher.”*

LISA NICHOLS – The Secret

RESUMO

A neosporose é uma doença causada pelo protozoário *Neospora caninum*. Os cães, coiotes e dingos são hospedeiros definitivos e entre os animais de produção, a espécie ovina constitui-se em um dos hospedeiros intermediários, podendo apresentar principalmente problemas reprodutivos e, conseqüentemente, perdas econômicas significativas. Com os objetivos de determinar a prevalência da infecção por *N. caninum* em ovinos no município de Lages, Santa Catarina, identificar possíveis fatores de risco para a infecção nesses animais e correlacionar a prevalência de anticorpos contra *N. caninum* com os fatores de risco avaliados, foram realizadas coletas de sangue de 360 ovinos, em 13 propriedades rurais. As amostras, devidamente identificadas e acondicionadas, foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do CAV/UEDESC. A detecção de anticorpos da classe IgG foi realizada por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Os soros foram testados inicialmente na diluição 1:50 e aqueles positivos foram reexaminados em diluições seriadas de base dois até a titulação máxima reativa. Dados referentes às variáveis, idade, sexo, raça, categoria animal, sistema de criação, dieta, fonte de água, contato com cães e transtornos reprodutivos foram obtidos por meio da aplicação de questionário aos proprietários. Os dados foram tabulados e analisados estatisticamente por meio dos testes exato de Fisher e de qui-quadrado ($p \leq 0,05$). Em 46,15% (6/13) das propriedades havia ao menos um animal positivo. A variação de percentuais de animais positivos entre as propriedades foi de zero a 25,81%. Reações positivas com títulos $\geq 1:50$ foram encontradas em 21 ovinos (5,83%). Os títulos encontrados variaram de 1:50 a 1:400, sendo que cinco animais (23,81%) tiveram titulação de 1:50; cinco (23,81%) com 1:100; seis (28,57%) com 1:200 e cinco animais (23,81%) com titulação de 1:400. Não foi verificada associação entre positividade dos ovinos ao *N. caninum* e as variáveis analisadas. Os resultados indicam que *N. caninum* está presente em percentuais importantes nos ovinos do município de Lages, Santa Catarina, Brasil.

Palavras-chave: *Neospora caninum*. Ovinos. Prevalência. Fatores de risco.

ABSTRACT

The neosporosis is a disease caused by protozoan *Neospora caninum*. Dogs, coyotes and dingos are definitive hosts and among livestock, the sheep is one of the intermediate host, which may have mainly reproductive problems, and hence significant economic losses. Aiming to determine the prevalence of infection by *N. caninum* in sheep in the city of Lages, Santa Catarina State, identify possible risk factors for infection in sheep and to correlate the prevalence of antibodies against *N. caninum* with risk factors assessed, blood was collected from 360 sheep on 13 farms. The samples, properly identified and packaged, were sent to the Laboratory of Parasitology and Parasitic Diseases of CAV/UEDESC. The detection of IgG antibodies was performed by indirect fluorescent antibody test (IFAT). Sera were initially tested at 1:50 dilution and those positive were retested in serial dilutions of two basis until the maximum degree reactive. Information about the variables, age, sex, race, animal category, breeding system, diet, water source, contact with dogs and reproductive disorders were obtained through the application of questionnaires to the owners. The data were statistically analyzed using Fisher's exact test and chi-square test ($p \leq 0.05$). In 46.15% (6/13) of the farms had at least one positive animal. Variation of percentage of positive animals between properties was zero to 25.81%. Positive reactions with titers $\geq 1:50$ were found in 21 sheep (5.83%). Titers ranged from 1:50 to 1:400, and five animals (23.81%) had a titer of 1:50; five (23.81%) at 1:100; six (28.57%) at 1:200 and five animals (23.81%) had a titer of 1:400. There were no association between positivity to *N. caninum* in sheep and the other variables. The results indicate that *N. caninum* is present in significant percentages in sheep in the city of Lages, Santa Catarina State, Brazil.

Key-Words: *Neospora caninum*. Sheep. Prevalence. Risk factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Ciclo biológico da espécie <i>Neospora caninum</i>	16
------------	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Percentual de ovinos com anticorpos contra <i>Neospora caninum</i> em diversos países de acordo com o autor, ano da publicação e a técnica utilizada.....	19
Tabela 2 -	Percentual de ovinos com anticorpos contra <i>Neospora caninum</i> em diferentes regiões do Brasil de acordo com o autor, ano da publicação e a técnica utilizada.....	20
Tabela 3 -	Número e percentual de ovinos positivos para <i>Neospora caninum</i> , pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI $\geq 1:50$), oriundos de propriedades rurais no município de Lages, SC, no ano de 2009.....	29
Tabela 4 -	Número de ovinos positivos para <i>Neospora caninum</i> , pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI $\geq 1:50$), por diferentes titulações e propriedades rurais, no município de Lages, SC, no ano de 2009.....	31
Tabela 5 -	Percentual de ovinos positivos para <i>Neospora caninum</i> , pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI $\geq 1:50$), oriundos de propriedades rurais no município de Lages, SC, no ano de 2009, por variável analisada e total.....	32

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
1 - REVISÃO DE LITERATURA.....	13
1.1 - HISTÓRICO.....	13
1.2 - AGENTE ETIOLÓGICO.....	14
1.3 - CICLO BIOLÓGICO.....	15
1.4 - NEOSPOROSE EM HUMANOS.....	17
1.5 - NEOSPOROSE EM OVINOS.....	18
1.5.1 - Epidemiologia e Prevalência.....	18
1.5.2 - Sinais Clínicos e Lesões.....	21
1.5.3 - Diagnóstico.....	23
1.5.4 - Controle e Prevenção.....	24
2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	26
2.1 - CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO.....	26
2.2 - DELIMITAÇÃO DA AMOSTRA.....	26
2.3 - COLETA DAS AMOSTRAS.....	26
2.4 - DADOS OBTIDOS JUNTO AOS ENTREVISTADOS.....	27
2.5 - PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS.....	27
2.6 - ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	28
2.7 - COMITÊ DE ÉTICA.....	28
3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
CONCLUSÕES.....	36
REFERÊNCIAS.....	37
ANEXOS.....	50

INTRODUÇÃO

O rebanho ovino no Brasil está distribuído principalmente na região Nordeste, seguido das regiões Sul e Sudeste. Além das condições de manejo, incluindo aspectos reprodutivos e de alimentação, a sanidade merece especial atenção na ovinocultura nacional. Neste aspecto, doenças que tradicionalmente fazem parte do manejo sanitário são acrescidas de enfermidades emergentes, entre as quais se destaca a neosporose, principalmente pelas alterações reprodutivas que pode ocasionar.

A neosporose é uma doença causada pela espécie *Neospora caninum*, protozoário intracelular obrigatório, de distribuição mundial, que pode acometer uma série de espécies de animais domésticos e silvestres. As principais alterações clínicas da neosporose estão relacionadas com distúrbios neurológicos em caninos, caracterizados por encefalite, poliradiculite, polimiosite, paralisia dos membros posteriores, além de dificuldade de deglutição, pneumonia, dermatite e miocardite associada à morte súbita, e em animais de produção, problemas reprodutivos. Os cães, coiotes e dingos são os hospedeiros definitivos. A transmissão da espécie *N. caninum* ocorre por dois mecanismos: horizontal geralmente por ingestão de oocistos e cistos com bradizoítos e, vertical por taquizoítos. Em animais de produção, quando participam como hospedeiros intermediários, o protozoário se mantém principalmente através da transmissão vertical, permanecendo no rebanho, causando perdas reprodutivas e consequentemente econômicas.

A influência da neosporose para a ovinocultura, comparada à toxoplasmose, ainda é incerta, já que relatos de problemas reprodutivos por infecções naturais são escassos e no Brasil, as pesquisas com *N. caninum* estão em fase de levantamentos sorológicos, realizados em algumas regiões, com percentuais de positividade variando de 1,8% a 47,1%. A falta de informações sobre a epidemiologia do agente tem limitado substancialmente a proposição de soluções objetivas e práticas para prevenir a infecção. Dessa maneira, o estudo epidemiológico da doença é fundamental para verificar-se a relação hospedeiro, agente e meio ambiente, principalmente considerando a importância da ovinocultura no cenário catarinense e, em especial, para o município de Lages.

Com os objetivos de determinar a prevalência da infecção por *N. caninum* em ovinos no município de Lages, Santa Catarina, identificar possíveis fatores de risco para a infecção

em ovinos e correlacionar a prevalência de anticorpos contra *N. caninum* com os fatores de risco avaliados, foi realizado o presente trabalho.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1. HISTÓRICO

Bjerkas, Mohn e Presthus (1984), na Noruega, constataram em filhotes de cães de uma mesma ninhada, da raça Boxer, sinais neurológicos, miosite e evolução para paresia após alguns meses. Essa sintomatologia foi inicialmente associada à espécie *Toxoplasma gondii*, pois foram encontrados cistos teciduais semelhantes a este protozoário no cérebro e no tecido muscular, todavia, não foram detectados, através de teste sorológico, anticorpos contra o *T. gondii* no soro dos animais.

Posteriormente, Dubey et al. (1988a) examinando cortes histológicos provenientes de 23 cães com diagnóstico de toxoplasmose, verificaram a presença de *T. gondii* em 13, enquanto que em 10 cães foram observados parasitos que, na microscopia eletrônica, eram estruturalmente diferentes do *T. gondii* sendo estes pertencentes a um novo gênero e espécie denominado *N. caninum*.

Através da imunohistoquímica (IHQ) específica para *N. caninum*, Bjerkas e Dubey (1991) confirmaram que os parasitos encontrados nos cães da Noruega, em 1984, eram *N. caninum*.

No Brasil, o primeiro relato em cães foi realizado por Cabral et al. (1999), em Minas Gerais, com prevalência de 4,29% (7/163) de animais com anticorpos contra *N. caninum*.

No estudo do ciclo biológico, McAllister et al. (1998) confirmaram o cão (*Canis familiaris*), Gondim et al. (2004a), o coiote (*Canis latrans*) e, King et al. (2010), o dingo (*Canis lupus dingo*) como hospedeiros definitivos. Um grande número de espécies de animais silvestres e domésticos pode atuar como hospedeiros intermediários. Com relação a estes, o primeiro relato ocorreu em bovinos, quando foi constatada a presença do parasito no sistema nervoso central (SNC) de recém-nascidos com sintomas neurológicos (DUBEY, 1989). No mesmo ano, Shivaprasad, Ely e Dubey (1989), identificaram *N. caninum* na placenta de bovinos. No Brasil, o primeiro trabalho relacionado ao agente foi uma pesquisa de anticorpos realizada em bovinos do Mato Grosso do Sul e São Paulo, onde Brautigam, Hietala e Glass (1996) registraram a ocorrência de 8,0% e 15,0%, respectivamente. A primeira detecção do

parasito no País foi realizada por meio de IHQ a partir de material de um feto bovino abortado (GONDIM et al., 1999).

O primeiro relato de neosporose em ovinos naturalmente infectados foi realizado por Dubey et al. (1990), no Reino Unido. Os autores descreveram a ocorrência de neosporose congênita fatal em um cordeiro que apresentava distúrbios de locomoção e dificuldade de se manter em estação. O quadro clínico foi inicialmente diagnosticado como de toxoplasmose, porém técnicas ultraestruturais e de IHQ permitiram o diagnóstico conclusivo de infecção por *N. caninum*. A detecção do agente em fetos abordados de ovinos resultantes da infecção natural foi descrita pela primeira vez por Hässig et al. (2003), onde o diagnóstico foi realizado pelo método de reação em cadeia da polimerase (PCR) e cistos teciduais foram observados através da IHQ. No Brasil, os primeiros resultados sobre a prevalência da neosporose ovina foi relatada no Paraná por Romanelli (2002), com 9,5% de positividade (29/305).

1.2. AGENTE ETIOLÓGICO

N. caninum é um protozoário, pertencente ao Filo Apicomplexa, Família Sarcocystidae, que compreende aproximadamente 200 espécies de coccídios heteroxenos que formam cistos em hospedeiros intermediários. Baseado em características fenotípicas a família é dividida em duas subfamílias, a Sarcocystinae que engloba os gêneros: *Sarcocystis* e *Frenkelia*, e a Toxoplasmatinae com os gêneros: *Toxoplasma*, *Hammondia*, *Neospora* e *Besnoitia* (MUGRIDGE et al., 1999).

O parasito pode estar presente na forma de taquizoítos e cistos teciduais contendo bradizoítos, formas semelhantes aos do *T. gondii* (SPEER et al., 1999), entretanto, diferem em ultraestrutura, imunogenicidade e patogenicidade (DUBEY, 1999). Outros coccídios como *Sarcocystis cruzi*, *Hammondia hammondi*, *H. pardalis* e *H. heydorni* têm também filogenia semelhante com o *N. caninum* (DUBEY et al., 1988a). O parasito apresenta numerosas roptrias (GUIMARÃES JUNIOR; ROMANELLI, 2006) e se multiplica por endodiogenia, ou seja, um processo de brotamento interno em que duas células-filhas são formadas dentro da célula-mãe, sendo então liberadas após ruptura (COSTA et al., 2007).

Os taquizoítos são ovoides, lunares ou globulares e medem 3-7 x 1-5µm. Localizam-se dentro de um vacúolo parasitóforo no citoplasma da célula hospedeira e cada taquizoíto pode conter de 6-16 roptrias (DUBEY et al., 2002). Possuem muitas organelas, mas microporos são difíceis de detectar (SPEER et al., 1999). Após o contato com a célula hospedeira, os

taquizoítos penetram ativamente na mesma (HEMPHILL; GOTTSTEIN; KAUFMANN, 1996) e podem ser encontrados em diferentes células do corpo.

Os cistos teciduais, encontrados principalmente nas células do sistema nervoso central, são de forma oval ou arredondada com até 107 μ m de comprimento, apresentando parede lisa, medindo até 4 μ m de espessura (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Dentro dos cistos estão presentes os bradizoítos, entre 20 e 100, com tamanho aproximado de 8 x 2 μ m. Possuem um menor número de roptrias quando comparados com os taquizoítos (SPEER et al., 1999).

Os oocistos têm formato arredondado ou ovalado e quando não esporulados medem entre 10,6-12,4 μ m x 10,6-12,0 μ m. Após a esporulação, os oocistos contêm dois esporocistos, de formato elíptico com 7,4-9,4 μ m x 5,6-6,4 μ m, cada um com quatro esporozoítos, que apresentam formato alongado medindo de 5,8-7,0 μ m x 1,8-2,2 μ m (LINDSAY; UPTON; DUBEY, 1999).

1.3. CICLO BIOLÓGICO

O ciclo de vida envolve hospedeiros definitivos e intermediários, caracterizando-se, portanto, em um ciclo heteroxeno, no qual a fase assexuada ocorre no hospedeiro intermediário e a sexuada ocorre no hospedeiro definitivo (DUBEY, 1999), Figura 1.

McAllister et al. (1998) confirmaram o cão, Gondim et al. (2004a) o coioote e, King et al. (2010) o dingo como hospedeiros definitivos. Entre os hospedeiros intermediários naturalmente infectados foram observados bovinos, ovinos, caprinos, equinos e vários outros animais endotérmicos, sendo eles domésticos ou selvagens, além dos seres humanos (GONDIM, et al. 2004b; LOBATO, 2006). Caninos podem atuar como hospedeiros intermediários. (DUBEY, 1999). Infecções experimentais foram induzidas em camundongos, ratos, cães, raposas, caprinos, gatos, coiootes, suínos, gerbils, coelhos, ovinos e bovinos (DUBEY; LINDSAY, 1996).

O ciclo evolutivo do *N. caninum*, em geral, é muito semelhante ao do *T. gondii*. Desta forma, apresenta três estágios infecciosos: os taquizoítos, formas de proliferação rápida; os cistos teciduais, os quais se encontram repletos de bradizoítos, e os oocistos. Os taquizoítos e os bradizoítos são estágios intracelulares encontrados no hospedeiro intermediário, enquanto que os esporozoítos se desenvolvem dentro dos oocistos no processo de esporulação (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

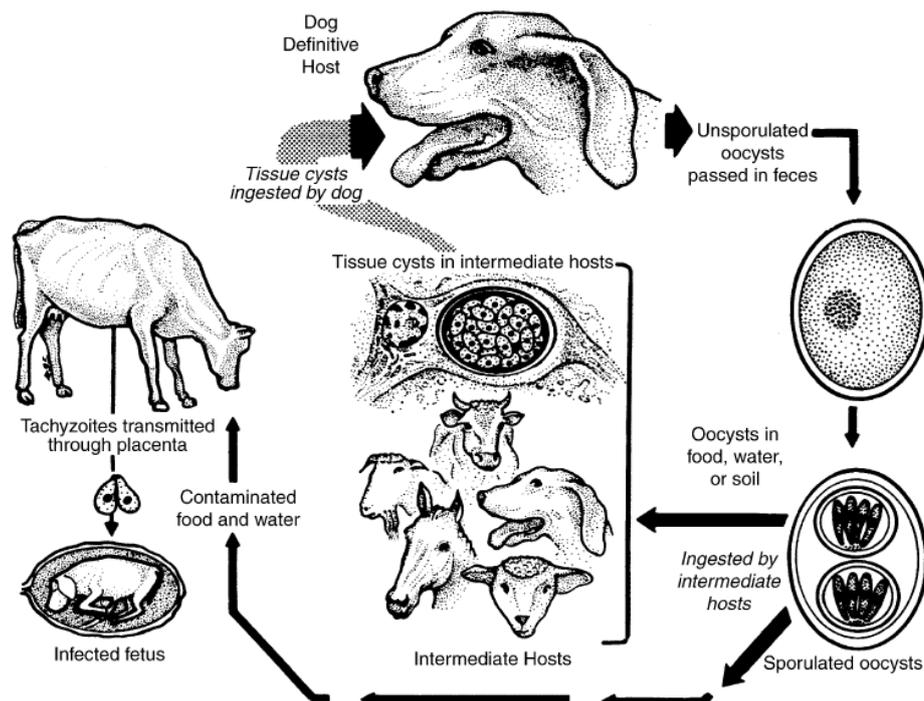


Figura 1. Ciclo biológico da espécie *Neospora caninum*.

Fonte: Dubey (2005).

Os oocistos podem ser eliminados nas fezes de cães por três semanas (AL-MAJALI et al., 2008) e, de acordo com Lindsay, Dubey e Duncan (1999), a maioria deles (95%) esporula entre 48-72 horas e alguns em 24 horas em condições de laboratório, temperatura de 37°C. De acordo com Dubey et al. (2002), a quantidade de oocistos liberados pelos cães é considerada pequena quando se compara com a liberação de oocisto de *T. gondii* pelos gatos, todavia, Gondim, McAllister e Gao (2005) constataram através de infecção experimental, feita em cães, que a idade e o tipo de tecido utilizado na infecção podem influenciar na produção destes oocistos e que filhotes eliminam uma quantidade maior do que cães adultos. Verificaram ainda que cães re-inoculados após oito meses não eliminaram oocistos, sugerindo a existência de uma possível imunidade. McAllister (1999) relatou que a concentração de oocistos nas fezes pode ser afetada pelo número de cistos ingeridos e pelo tipo e quantidade do alimento fornecido.

O hospedeiro intermediário ingere o oocisto esporulado, ocorre a liberação dos esporozoítos na luz intestinal e penetração dos mesmos nas células da parede, onde passam a ser denominados de taquizoítos, que se dividem rapidamente, provocando a lise e

imediatamente infectando novas células (McALLISTER et al., 1998). Posteriormente, devido à resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos contidas em cistos teciduais (INNES et al., 2002). Sob certas circunstâncias, como imunodeficiência e prenhez, os bradizoítos podem converter-se em taquizoítos, que se proliferam assexuadamente (ALMEIDA, 2004).

Quando o cisto com bradizoítos for ingerido, por um hospedeiro definitivo, neste, ocorre a digestão da parede do cisto no estômago, liberando os bradizoítos. Estes penetram nas células da parede intestinal onde ocorre a diferenciação sexual do parasito, com formação de oocistos que são excretados nas fezes (LINDSAY; DUBEY; McALLISTER, 1999).

A transmissão do *N. caninum* ocorre por dois mecanismos: horizontal e vertical. A transmissão horizontal é quando os hospedeiros susceptíveis ingerem através da água e alimentos contaminados oocistos esporulados ou ingestão de tecidos com cistos contendo bradizoítos. A transmissão vertical ou infecção congênita ou infecção via placentária ocorre quando a mãe transmite a doença para seus descendentes, geração após geração (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). É dividida em dois tipos, a exógena, quando a fêmea se infecta durante a prenhez e a endógena, quando a fêmea já estava infectada antes da prenhez (recrudescimento) (TREES; WILLIAMS, 2005). A transmissão transplacentária endógena pode ainda ser dividida em fêmeas infectadas após o nascimento, mas antes da gestação atual ou fêmeas congenitamente infectadas (McALLISTER, 2005). Essa via de transmissão favorece a perpetuação da infecção na propriedade/rebanho mesmo sem a presença do hospedeiro definitivo, pois o agente pode ser transmitido do animal infectado a sua cria e esta, caso seja fêmea, pode passá-lo à próxima geração (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000).

É possível que a gama de hospedeiros naturais de *N. caninum* possa ser muito maior do que a atualmente conhecida (McALLISTER, 2005). Com o aumento significativo do espectro de hospedeiros, há dificuldades no controle da transmissão do parasito para animais domésticos como bovinos e cães, uma vez que algumas espécies de animais silvestres coabitam com animais domésticos (GONDIM et al., 2004b).

1.4. NEOSPOROSE EM HUMANOS

Existem relatos da ocorrência de anticorpos contra o agente em humanos (LOBATO et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2002) o que não confirma seu caráter zoonótico, mas permite

afirmar que os indivíduos examinados entraram em contato com tal parasito (TRANAS et al., 1999). Por outro lado, o sucesso da transmissão experimental do agente em primatas não humanos, indica a possibilidade de infecção humana (BARR et al., 1994).

Tranas et al. (1999), examinando amostras de sangue de doadores humanos, detectaram anticorpos contra *N. caninum* em 6,7% (69/1029). Benetti et al. (2009), encontraram uma frequência de 10,5%, de trabalhadores do sexo masculino, provenientes de cinco propriedades, onde os bovinos apresentaram positividade variando de 23,5% a 81,2%. Por outro lado, McCann et al. (2008) não observaram positividade para *N. caninum* em trabalhadores rurais, embora tenham sido encontrados bovinos positivos nas mesmas propriedades.

Petersen et al. (1999) pesquisaram anticorpos contra *N. caninum* em um grupo de mulheres dinamarquesas com abortamentos repetidos, de causa desconhecida, e não encontraram resultado positivo. Magalhães et al. (2002) encontraram positividade de 5% em mulheres que apresentavam uma história frequente de perda fetal, 3,8% em indivíduos normais e 15% em pacientes infectados com vírus da imunodeficiência humana (HIV). Lobato et al. (2006) detectaram anticorpos IgG contra *N. caninum* em 38% de pacientes infectados pelo HIV e em 18% de pacientes com desordens neurológicas, sendo esse estudo importante por sugerir a possibilidade da neosporose constituir parasitose oportunista em pacientes imunocomprometidos.

1.5. NEOSPOROSE EM OVINOS

1.5.1. Epidemiologia e Prevalência

A distribuição do parasito é mundial, sendo que a infecção já foi relatada nos cinco continentes (DUBEY, 1999). A neosporose em ovinos não apresenta a mesma relevância que em bovinos e a doença clínica raramente é relatada em condições naturais, apesar de infecções experimentais facilmente induzirem a falhas reprodutivas (UENO, 2005). No entanto, em propriedades em que são criados juntamente com bovinos, os ovinos podem eventualmente participar da epidemiologia da infecção (VOGEL; ARENHART; BAUERMAN, 2006).

Pelos dados da Tabela 1, é possível perceber que os índices de positividade, em ovinos, são variáveis em diversas regiões do mundo.

Tabela 1. Percentual de ovinos com anticorpos contra *Neospora caninum* em diversos países de acordo com o autor, ano da publicação e técnica utilizada.

País	Autor/Ano	Técnica	Percentual
Suíça	Hässig et al. (2003)	RIFI (1:160)	10,3%
Itália	Gaffuri et al. (2006)	ELISA	2%
China	Hui (2008)	ELISA	8,25%
Jordânia	Al-Majali et al. (2008)	ELISA	4,3%
Nova Zelândia	Reichel, Ross e McAllister (2008)	ELISA	0,625%
República Theca	Bártová; Sedlák e Literák (2009)	ELISA	12%
Austrália	Bishop et al. (2010)	ELISA	2,2%
Espanha	Panadero et al. (2010)	ELISA	10,1%
Jordânia	Abo-Shehada e Abu-Halaweh (2010)	ELISA	63%

ELISA = ensaio imunoenzimático.

RIFI = reação de imunofluorescência indireta.

Em rebanhos com histórico de abortos, Helmick et al. (2002), no Reino Unido, relataram anticorpos contra *N. caninum* em 4,24% (28/660) dos animais, através do ELISA e 0,45% (3/660) através da RIFI ($1 \geq 50$) e Spilovská et al. (2009), na Eslováquia, encontraram 3,7% (14/382).

Além desses índices, diversos autores descreveram a associação de *N. caninum* com problemas reprodutivos. Jolley et al. (1999), nos Estados Unidos, descreveram a ocorrência de abortos repetitivos em ovelhas em função da infecção por *N. caninum*. Kobayashi et al. (2001), no Japão, observaram a ocorrência de cistos teciduais em cérebros de dois fetos gêmeos de ovinos, assim como na mãe destes, e confirmaram transmissão vertical do agente. Hässig et al. (2003), na Suíça, detectaram *N. caninum* em quatro cérebros de 20 fetos ovinos abortados. Na Itália, Masala et al. (2007) relataram o envolvimento de *N. caninum* em 2% (6/292) dos abortos ovinos. Howe et al. (2008), também na Nova Zelândia, descreveram que a positividade (RIFI $\geq 1:100$) foi diagnosticada em 26% (10/38), 67% (4/6) e 100% (3/3) dos animais que abortaram em três propriedades. Estes autores também detectaram o DNA do parasito por PCR no cérebro fetal e no sangue materno nos diversos casos de aborto em todas as propriedades e em duas, também na placenta. Em contra partida, Otter et al. (1997), na Inglaterra e País de Gales, analisaram anticorpos contra *N. caninum* pela RIFI em 129 amostras de fluido pleural de 141 cordeiros abortados, não examinados histologicamente, e todas foram negativas.

No Brasil, a neosporose está distribuída em vários estados, sendo relatada a ocorrência do parasito ou anticorpos séricos contra o *N. caninum* nos bovinos, caprinos, ovinos, caninos. Em ovinos têm sido relatadas prevalências de 1,8% (SOARES et al. 2009) a 47,1% (ROSSI et al. 2008), Tabela 2.

Tabela 2. Percentual de ovinos com anticorpos contra *Neospora caninum* em diferentes regiões do Brasil de acordo com o autor, ano da publicação e a técnica utilizada.

Estado	Autor/Ano	Técnica	Percentual
Mato Grosso do Sul (Ribas do Rio Pardo)	Gonçalves et al. (2004)	ELISA	12%
São Paulo (Bauru, Botucatu, Pratanea, São Manoel)	Figliuolo et al. (2004)	RIFI (1:50)	9,2%
Bahia	Otero et al. (2005)	RIFI (1:50)	7,4%
Rondônia (Monte Negro)	Aguiar et al. (2005)	RIFI (1:50)	29%
Distrito Federal	Ueno (2005)	RIFI (1:50)	8,75%
Rio Grande do Sul (Itaqui, Jóia, Santana do Livramento, Uruguaiana)	Vogel, Arenhart, Bauermann (2006)	ELISA	3,2%
Paraná (Guarapuava)	Romanelli et al. (2007)	RIFI (1:50)	9,51%
Paraná	Almeida et al. (2007)	RIFI (1:50)	5,66%
Rondônia	Almeida et al. (2007)	RIFI (1:50)	3,84%
São Paulo	Almeida et al. (2007)	RIFI (1:50)	3,25%
Minas Gerais (Uberlândia)	Rossi et al. (2008)	ELISA	36,7%
		RIFI (1:50)	47,1%
Mato Grosso do Sul (Campo Grande)	Oshiro et al. (2008)	RIFI (1:50)	30,1%
Rio Grande do Sul (Região Sul)	Pappen et al. (2008)	RIFI (1:50)	2,9%
Rio Grande do Norte (Mossoró)	Soares et al. (2009)	RIFI (1:50)	1,8%.
Mato Grosso do Sul (Campo Grande)	Andreotti et al. (2009)	ELISA	32%
		RIFI (1:50)	30,8%
Paraná (Colorado, Prado Ferreira, Bela Vista do Paraíso, Cambé, Londrina, Tamarana)	Munhóz (2009)	RIFI (1:50)	13,91%
Pernambuco (Gravatá)	Souza Neto et al. (2009)	RIFI (1:50)	10,1%

Rizzo et al. (2009) avaliaram a ocorrência de neosporose em ovinos com histórico de aborto e infertilidade em propriedades rurais, no estado de São Paulo, e observaram 19,5% (30/154) de soros reagentes.

Considerando as características do *N. caninum*, particularmente no que se refere ao risco de exposição dos hospedeiros suscetíveis, favorecido pela diversidade dos mecanismos de disseminação envolvidos, é fundamental relacionar a positividade com alguns fatores de risco capazes de favorecer a disseminação do agente. Neste sentido, Lindsay, Ritter e Brake (2001) referem-se que os cães são essenciais na transmissão inicial do parasito para os bovinos e Wouda et al. (1999) citaram que a criação de espécies diferentes com o mesmo manejo e no mesmo ambiente, pode aumentar o risco de exposição aos hospedeiros, principalmente quando as espécies envolvidas são fundamentais ao ciclo biológico do *N. caninum*.

Munhóz (2009) observou diferença significativa na associação entre o resultado da sorologia dos ovinos para *N. caninum* e as variáveis, abate de animais na propriedade e cães com acesso às vísceras. Entretanto, Romanelli et al. (2007) não observaram associação entre sexo, idade e ovinos de raça com a neosporose e Figliuolo et al. (2004) não encontraram associação entre cães domésticos ou cães selvagens com presença de anticorpos contra *N. caninum* em ovinos. West et al. (2006), na Nova Zelândia, verificaram correlação positiva entre aborto e sorologia positiva para *N. caninum* em ovinos, em contra partida, Soares et al. (2009), no Brasil, não verificaram relação entre prevalência para neosporose e problemas reprodutivos.

1.5.2. Sinais Clínicos e Lesões

N. caninum é um parasito intracelular, podendo causar morte da célula devido à multiplicação de taquizoítos. As lesões são resultantes da reação inflamatória contra o parasito (DUBEY, 1992).

McAllister et al. (1996), em ovelhas que foram inoculadas experimentalmente com *N. caninum* aos 65, 90 e 120 dias de gestação, observaram abortos, cordeiros nascidos fracos, natimortos e clinicamente normais. Todos os recém nascidos, vivos e mortos, apresentaram meningite e mineralização distrófica em tecido cerebral, miosite multifocal e edema no diafragma e língua, epicardite, endocardite, miocardite multifocal e pneumonia intersticial moderada. Os autores afirmaram que as características clínicas e patológicas são semelhantes às daquelas da toxoplasmose em ovinos e as da neosporose bovina.

Em ovelhas inoculadas experimentalmente, Buxton et al. (1998) constataram a invasão da placenta pelo parasito com aparente predileção pelo epitélio coriônico fetal e pelos vasos sanguíneos placentais fetais, bem como induziu trombose em alguns vasos sanguíneos da carúncula materna. O agente estava associado com vasculite fetal, degeneração e inflamação corioalantoide focal e espalhados em vários focos necróticos no placentoma. Lesões características foram observadas no cérebro dos fetos além da leucomalácia focal, devido à anóxia resultante das lesões placentárias.

Dubey e Lindsay (1990) infectaram ovelhas com taquizoítos e observaram aborto, encefalite com múltiplos focos de gliose, hemorragia, necrose, infiltrado perivascular de células mononucleares e presença de taquizoítos nas áreas de lesão, assim como miosite em fetos abortados de ovelhas inoculadas com *N. caninum*. Taquizoítos do protozoário, em

pequena quantidade, foram detectados por meio da coloração de hematoxilina-eosina e IHQ, no SNC dos fetos abortados.

Socarrás (2001) concluiu que ovinos infectados experimentalmente, antes e durante a gestação, por *N. caninum* apresentaram alterações histopatológicas no feto, principalmente no SNC, além de reabsorções embrionárias, nascimento de cordeiros mortos e nascimento de cordeiros aparentemente normais, embora congenitamente infectados. As principais lesões produzidas pelo parasito foram processos inflamatórios não supurativos no cérebro, medula, fígado, músculos esquelético e cardíaco. As formas císticas teciduais do parasito somente foram encontradas no sistema nervoso central. Ovelhas inoculadas após o parto não transmitiram a infecção para crias lactentes.

Koyama et al. (2001) realizaram isolamento de *N. caninum* do cérebro de uma ovelha prenhe e Kobayashi et al. (2001) relataram a presença de cistos teciduais no cérebro de uma ovelha prenhe assintomática e no cérebro de seus dois fetos. Em ambos, a confirmação foi realizada por IHQ e pela PCR.

No Brasil, Pena et al. (2007) constataram positividade para *N. caninum*, ao examinar cérebro, cerebelo e medula espinhal de uma ovelha, pela PCR seguida de sequenciamento. Por meio de bioensaio, isolaram o agente de um cão que ingeriu parte do cérebro dessa ovelha. Os oocistos eliminados pelo cão foram então inoculados em roedores, dos quais se confirmou a infecção por *N. caninum* por PCR e pela recuperação de cistos.

Bishop et al. (2010) relataram o primeiro caso de neosporose cerebral ovina em um animal adulto com sinais clínicos de ataxia e opistótono. Descreveram ainda, meningoencefalite não-supurativa, edema e necrose acompanhada de moderada a grave vasculite multifocal e gliose no mesencéfalo, microabscessos hepáticos, congestão pulmonar e endocardite multifocal não-supurativa.

Buxton et al. (2001) avaliaram a resposta imune e verificaram que a inoculação do agente, em ovelhas antes da cobertura, não provocou mortalidade dos cordeiros, enquanto a inoculação primária durante a gestação resultou no óbito de todos os fetos. McAllister et al. (1996) mostraram que infecções experimentais no início de gestação, resultaram em abortamento em todos os casos, enquanto que infecções em gestações avançadas resultaram em animais clinicamente normais. Estes estudos sugeriram que o período de gestação, no qual ocorreu a infecção, é importante no desenvolvimento ou não do quadro clínico.

Tanto o hospedeiro definitivo quanto o intermediário podem ser portadores assintomáticos das formas latentes do parasito, podendo ser reativadas ou exacerbadas por imunossupressão natural ou iatrogênica (GIRALDI; BRACARENSE; VIDOTTO, 2001). Em

bovinos, não se sabe se os surtos de abortamentos por neosporose, ocorrem pela exposição recente aos oocistos ou por uma recrudescência de uma infecção latente provocada por imunossupressão (BARTELS; WOUDA; SCHUKKEN, 1999).

1.5.3. Diagnóstico

O diagnóstico preciso do *N. caninum* requer a combinação de histórico do rebanho, sinais clínicos e dados de laboratório (MUNHÓZ, 2009). Ovinos adultos com histórico de aborto ou natimortos enunciam possível infecção pelo agente. Entretanto, casos assintomáticos em ovinos e os sinais inespecíficos da neosporose dificultam o diagnóstico clínico da doença, tornando o diagnóstico laboratorial imprescindível.

Dubey (2005) afirmou que a análise histológica do cérebro, coração, fígado, placenta, fluidos corporais e sangue do feto é necessária para o diagnóstico definitivo da neosporose. O mesmo autor descreveu que para evitar a autólise, o material deve ser fixado em formalina neutra a 10% e corado com hematoxilina e eosina para exame histológico.

O teste de imunohistoquímica é realizado com tecidos fetais, de preferência cérebro e medula, para identificação do parasito e das lesões (LOPES, 1999), no entanto, quando o número de parasitos no tecido é baixo pode ser ineficiente e dar lugar a falsos negativos (SOCARRÁS, 2001).

Baszler et al. (1999) constataram que a PCR usada para detectar DNA de *N. caninum* em tecidos de animais infectados tem uma alta sensibilidade quando comparado com técnicas imunohistoquímicas.

Andrianarivo et al. (2005) afirmaram que a produção de anticorpos pelo hospedeiro, proporciona a detecção de animais positivos através de testes sorológicos. Um teste sorológico positivo indica a exposição, mas não necessariamente a infecção (ANDREOTTI, 2001). Reichel, Ross e McAllister (2008) concluíram que exames sorológicos são bastante eficientes para o diagnóstico de abortos causados por *N. caninum* em ovinos.

Romero e Frankena (2004) destacaram a importância da utilização da IHQ, dos testes sorológicos e de testes moleculares para um diagnóstico específico, sensível e rápido em animais com neosporose.

A presença de anticorpos específicos é útil como auxílio no diagnóstico e em estudos epidemiológicos (HOFFMANN, 2007). Embora existam diversos testes sorológicos para detectar a presença de anticorpos séricos específicos para *N. caninum*, as técnicas mais

utilizadas são: Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e teste Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (ANDREOTTI et al., 2002), por serem relativamente mais baratos (ROMERO; FRANKENA, 2004).

A RIFI foi o primeiro teste sorológico usado para a demonstração de anticorpos contra *N. caninum* (DUBEY et al., 1988b) e vem sendo amplamente utilizada para diagnóstico, em estudos epidemiológicos da infecção, constituindo-se em referência para a comparação com outros testes, por apresentar uma boa sensibilidade e especificidade (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999), sendo uma alternativa plausível para a concretização do diagnóstico definitivo (ANDREOTTI et al., 2002). É baseada no princípio de fixação de taquizoítos íntegros em lâminas, as quais são incubadas com o soro teste diluído e, em uma segunda etapa, com anticorpos marcados com fluoresceína direcionados contra imunoglobulinas da espécie animal sob investigação. A reação é avaliada em microscópio de fluorescência e, para um resultado positivo, é necessário uma brilhante e completa fluorescência periférica do parasito (PARÉ; HIETALA; THURMOND, 1995; UGGLA; HILALI; LÖVGREN, 1987).

1.5.4. Controle e Prevenção

As medidas de prevenção e controle da neosporose muitas vezes podem tornar-se inviáveis economicamente ou pouco práticas (MUNHÓZ, 2009), pois ainda não há tratamento efetivo. Nos últimos anos, outros desafios para o controle da neosporose tornaram-se conhecidos, como a descoberta de novos hospedeiros de *N. caninum* (GONDIM, 2006), a possibilidade de outras vias de transmissão do parasito, como através do sêmen (ORTEGA-MORA et al., 2003) e dificuldades no diagnóstico preciso da infecção (GONDIM, 2008). Além disso, apesar dos avanços imunobioquímicos no estudo de *N. caninum*, ainda não foi elaborada uma vacina eficiente para a prevenção da doença (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Há indícios de que as vacinas com taquizoítos inativadas confirmam algum efeito na prevenção da transmissão vertical (INNES et al., 2002; JENKINS; TUO; DUBEY, 2004; O'HANDLEY et al., 2003), mas ainda não se conhece sobre as vantagens econômicas de utilizá-las e estudos com drogas antiprotozoárias permitiram verificar o efeito na diminuição da disseminação do parasito no animal, mas não evitando efetivamente o aborto, o que se torna antieconômico (MUNHÓZ, 2009).

Portanto, a adoção de medidas de controle é de grande importância, podendo ser citadas conforme Dubey (2003), redução da exposição de cães a tecidos infectados como

placenta e fetos abortados; redução do número de cães coabitando com o rebanho; uso de maternidades individuais; no caso de transferência de embriões, uso somente de receptoras soronegativas; compra de animais com pelo menos dois resultados negativos para *N. caninum*. Para Moen, Wouda e Mul (1998), deve-se enviar a um laboratório o feto abortado e a placenta para diagnosticar a causa do aborto; e para French et al. (1999), em rebanhos que tenham uma taxa alta de transmissão vertical e uma baixa taxa de transmissão horizontal, deve-se fazer uma seleção, destes animais infectados e eliminação dos mesmos. A melhor maneira para iniciar um programa de controle e prevenção da doença é realizar uma avaliação geral da propriedade através de uma análise soropidemiológica e histórico reprodutivo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO

O município de Lages, com área de 2.504,70km², está situado no Planalto Serrano do estado de Santa Catarina, com altitude de 961m, latitude de 27° 48'S e longitude de 50° 20'O. O clima é subtropical com temperatura média de 14,3°C, sendo a máxima de 35°C e a mínima de -7,4°C, com umidade relativa média de 79,3%, com meses de maior calor dezembro, janeiro, fevereiro e março (PML, 2007).

O Estado de Santa Catarina abriga 241.089 ovinos, sendo as mesorregiões Oeste e Serrana responsáveis por 34,9% e 28,8% do efetivo catarinense de ovinos, respectivamente. O município de Lages, por sua vez, possui um rebanho ovino de 10.562 animais (IBGE, 2007).

2.2. DELIMITAÇÃO DA AMOSTRA

Para a coleta dos dados foi tomada uma amostra de conveniência, constituída de 360 animais provenientes de 13 propriedades, considerando-se uma prevalência esperada de 12%, erro de 3,5% e nível de confiança de 95% (EPI-INFO 6.04, 1996).

2.3. COLETA DAS AMOSTRAS

No período de julho de 2009 a dezembro de 2009, foram coletadas, por venocentese jugular externa, amostras de sangue de ovinos utilizando-se agulhas descartáveis 40x12 e tubos de ensaio devidamente identificados. O material foi armazenado em caixa de isopor com gelo reciclável até o encaminhamento ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do Centro de Ciências Agroveterinárias da Universidade do Estado de Santa Catarina.

2.4. DADOS OBTIDOS JUNTO AOS ENTREVISTADOS

Informações acerca de aspectos epidemiológicos foram obtidas por meio da aplicação de uma entrevista estruturada aos proprietários. Foram considerados critérios de inclusão do proprietário na pesquisa: 1) a concordância do entrevistado em participar da investigação e, portanto, a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo I); 2) responder ao questionário (Anexo II), contendo perguntas relativas à idade, ao sexo, à raça, à dieta, fonte de água, sistema de criação, categoria, contato com outras espécies animais, além da existência/frequência ou não de transtornos reprodutivos nos últimos 12 meses.

2.5. PROCESSAMENTO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS

No Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Universidade do Estado de Santa Catarina, os soros foram obtidos por meio de centrifugação a 385g durante 10 minutos, armazenados (-20°C) em microtubos identificados até a realização dos exames.

A pesquisa de anticorpos IgG contra *N. caninum*, foi realizada por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), de acordo com Conrad et al. (1993) e Paré, Hietala e Thurmond (1995).

Na realização da RIFI para neosporose, foram utilizados como antígeno taquizoítos da cepa NC1 de *N. caninum* (DUBEY et al., 1988a) inativados por formol e fixados em lâminas de microscopia, previamente preparadas para tal.

Os soros foram diluídos (1:50) (JOLLEY et al., 1999) em PBS (pH 7,2). Doze microlitros de cada diluição foram adicionados nos poços das lâminas contendo o antígeno. As lâminas, assim preparadas, foram acondicionadas em câmara úmida e incubadas a 37°C por 40 minutos. Em seguida, foram lavadas três vezes, em tampão PBS, 10 minutos cada vez, e colocadas para secarem. Posteriormente, foi adicionado o conjugado, gamaglobulina anti-IgG total de ovino marcado com isotiocianato de fluoresceína, e as lâminas foram novamente incubadas em câmara úmida (37°C por 40 minutos) em estufa, lavadas três vezes com tampão PBS. Após a secagem definitiva das lâminas, glicerina tamponada foi adicionada às mesmas, que foram então recobertas com lamínulas e examinadas ao microscópio de fluorescência (objetiva de 40X). Em todas as lâminas foram incluídos soros padrões positivo e negativo, objetivando a comparação.

Considerou-se como reação positiva, a diluição inicial 1:50, a visualização de um verde fluorescente intenso e total na superfície dos taquizoítos. As amostras positivas foram tituladas com diluições múltiplas de dois até a diluição máxima reativa. Para reação negativa foi considerada a ausência de fluorescência.

2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados e analisados estatisticamente pelos testes exato de Fisher (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009) e qui-quadrado ($p \leq 0,05$) para correlacionar os resultados com os fatores de risco analisados.

2.7. COMITÊ DE ÉTICA

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UDESC - CETEA em 18 de fevereiro de 2010 (Protocolo nº. 1.01.129/09) e o questionário foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEPSH) da Universidade do Estado de Santa Catarina - UDESC em 17 de dezembro de 2009 (nº. de Referência 244/2009). Todos os entrevistados assinaram o “Termo de Consentimento Livre e Esclarecido”, conforme exigido pelo referido Comitê de Ética.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram constatados animais com reação positiva para *N. caninum* em seis propriedades rurais, 46,15% (6/13). Entre as propriedades com animais positivos, a prevalência variou de 2,5 a 25,81% (Tabela 3). Em duas propriedades (2 e 9) houve um maior percentual em relação as demais, todavia, não foi possível relacionar fatores influenciando esses dados.

Tabela 3. Número e percentual de ovinos positivos para *Neospora caninum*, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI \geq 1:50), oriundos de propriedades rurais no município de Lages, SC, no ano de 2009.

Propriedades	Amostras	Negativos	Positivos	% Positivos
1	26	26	0	0
2	23	18	5	21,74
3	9	9	0	0
4	34	34	0	0
5	24	24	0	0
6	23	23	0	0
7	29	29	0	0
8	21	21	0	0
9	31	23	8	25,81
10	30	29	1	3,33
11	40	39	1	2,5
12	21	19	2	9,52
13	49	45	4	8,16
Total	360	339	21	5,83

Esses dados são inferiores aos encontrados por Romanelli et al. (2007), no Paraná, onde 88,9% (8/9) das fazendas estudadas possuíam animais positivos, com prevalência entre as positivas variando de 4,7% a 17%; Ueno (2005), no Distrito Federal, que diagnosticou 87,5% (28/32) de positividade nas propriedades e a prevalência variando de 2,8% a 27,78% e Munhóz (2009), no Paraná, descreveu que 81,82% (9/11) das propriedades possuíam ao menos um animal sororreagente com variação de 1,7 a 32,3%. Para esses autores, a espécie *N. caninum* está largamente distribuída no rebanho ovino das regiões avaliadas. Em contrapartida, valores menores dos constatados no presente trabalho foram relatados por Soares et al. (2009), no Rio Grande do Norte, onde 17,1% (6/35) das fazendas apresentaram animais positivos para *N. caninum* (RIFI \geq 1:50), com valores de prevalência entre as positivas

variando de 3,7% a 11,1%, evidenciando para os autores, que a infecção por esse agente não é comum em ovinos daquele município.

Das 360 amostras de sangue ovino, processadas e analisadas pela RIFI, 21 (5,83%) foram positivas. Resultados semelhantes quanto à positividade para *N. caninum* em ovinos, diagnosticados através da RIFI $\geq 1:50$, foram encontrados por Otero et al. (2005), na Bahia, com 7,4% (21/282); Ueno (2005), no Distrito Federal, com 8,75% (90/1028); Figliuolo et al. (2004), em São Paulo, com 9,2% (55/597) e por Romanelli et al. (2007), no Paraná, que descreveram uma prevalência de 9,5% (29/305). Menores prevalências foram constatadas por Soares et al. (2009), 1,8% (7/409), em ovinos, indicando o baixo impacto do parasito em Mossoró, Rio Grande do Norte e por Pappen et al. (2008) em ovinos de propriedades no Rio Grande do Sul, 2,9%. Os trabalhos de Aguiar et al. (2005) em Rondônia, Andreotti et al. (2009) no Mato Grosso do Sul, Munhóz (2009) no Paraná e Rossi et al. (2008) em Minas Gerais revelaram positividade de 29% (41/141), 30,8% (136/441), 13,91% (53/381) e 47,1% (73/155), respectivamente. Rossi et al. (2008) concluíram que o alto percentual pode estar relacionado com manejo deficiente, fonte de água inadequada e a presença de cães nas propriedades. Vogel, Arenhart, Bauermann (2006) relataram que altas prevalências observadas em alguns trabalhos são justificadas pela utilização de amostras de rebanhos-problema, o que não é o caso das comparações realizadas acima e dos dados obtidos no presente estudo. Condições como número de cães, tamanho da propriedade, pastejo em áreas comuns a outras espécies animais (AL-MAJALI et al., 2008) e condições climáticas, origem dos animais adquiridos, presença de cães e supervisão veterinária (ABO-SHEHADA E ABU-HALAWEH, 2010) podem, em parte, explicar as diferenças de prevalências constatadas nas diversas regiões estudadas. Com relação ao clima, Wouda et al. (1999), na Holanda, observaram abortos epidêmicos em bovinos leiteiros, mais comumente no verão, que é quente e úmido e Abo-Shehada e Abu-Halaweh (2010), na Jordânia, consideraram que o clima frio interferiu reduzindo a positividade para *Neospora* spp. de uma propriedade, uma vez que efeitos adversos na esporulação dos oocistos podem ocorrer em temperaturas mais baixas diminuindo assim a taxa de infecção horizontal dos ovinos. Embora baixos percentuais tenham sido encontrados também em regiões mais quentes, deve-se considerar que o município de Lages apresenta clima subtropical com temperatura média de 14,3°C, sendo a máxima de 35°C e a mínima de -7,4°C, com meses de maior calor dezembro, janeiro, fevereiro e março (PML, 2007).

Entre os ovinos positivos, o título de maior frequência foi de 1:200, em 28,57% das amostras positivas, seguido dos títulos: 1:50 (23,81%), 1:100 (23,81%) e 1:400 (23,81%) (Tabela 4).

Tabela 4. Número de ovinos positivos para *Neospora caninum*, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI $\geq 1:50$), por diferentes titulações e propriedades rurais, no município de Lages, SC, no ano de 2009.

Propriedade	Titulação				Total de Positivos
	1:50	1:100	1:200	1:400	
1	0	0	0	0	0
2	2	1	1	1	5
3	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0
6	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0
9	2	2	2	2	8
10	0	0	0	1	1
11	0	0	1	0	1
12	0	1	1	0	2
13	1	1	1	1	4
Total	5	5	6	5	21

Figliuolo et al. (2004) encontraram títulos variando de 1:50 a 1:3200, sendo 1:50 o mais encontrado, em 23,6% (13/55) dos positivos. Romanelli et al. (2007) observaram a titulação de 1:400 com maior frequência, em 34,5% (10/29) dos positivos, e a variação foi de 1:100 a 1:3200. Soares et al. (2009) detectaram títulos entre 1:200 a 1:12800, sendo o 1:3200 e o 1:12800 os mais encontrados em 28,6% (2/7). Souza Neto et al. (2009) relataram o título 1:100 como o de maior frequência, 43,75% (7/16) dos positivos e a variação encontrada foi de 1:50 a 1:800. Munhóz (2009) mencionaram o título de 1:200 como o de maior frequência (30,20%), com variação de 1:50 a 1:6400.

Maley et al. (1997) citaram que títulos acima de 1:1024 podem sugerir infecção recente, porém uma única análise não é suficiente para avaliar o tempo de infecção (UENO, 2005).

Na Tabela 5, está representada a distribuição das variáveis investigadas e o percentual de animais positivos.

Tabela 5. Percentual de ovinos positivos para *Neospora caninum*, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI $\geq 1:50$), oriundos de propriedades rurais no município de Lages, SC, no ano de 2009, por variável analisada e total.

Variáveis	Categoria	Ovinos		Positivos ¹		Positivos ²	
		N	%	N	%	N	%
Idade	0 - 6 meses	62	17,22	4	6,45	4	19,05
	7 - 12 meses	64	17,78	3	4,69	3	14,28
	≥ 13 meses	234	65	14	5,98	14	66,67
Sexo	Macho	72	20	3	4,17	3	14,29
	Fêmea	288	80	18	6,25	18	85,71
Raça	Definida	169	46,94	9	5,33	9	42,86
	Mestiços	191	53,06	12	6,28	12	57,14
Categoria	Cordeiro	62	17,22	4	6,45	4	19,05
	Gestante	80	22,22	6	7,50	6	28,57
	Cria ao pé	90	25	5	5,56	5	23,81
	Vazia	84	23,33	4	4,76	4	19,05
	Inteiro	17	4,72	1	5,88	1	4,76
	Castrado	27	7,5	1	3,70	1	4,76
Sistema de Criação	Intensivo	0	0	0	-	0	0
	Extensivo	0	0	0	-	0	0
	Semi Extensivo	360	100	21	5,83	21	100
Dieta	Campo nativo	110	30,56	6	5,45	6	28,57
	Dieta mista	188	52,22	11	5,85	11	52,38
	Leite e pastagem	62	17,22	4	6,45	4	19,05
Fonte de Água	Bebedouro	46	12,78	0	0	0	0
	Açude e Fontes Naturais	314	87,22	21	6,69	21	100
Contato com cães	Sim	360	100	21	5,83	21	100
	Não	0	0	0	-	0	0
Transtornos reprodutivos	Aborto	4	1,11	0	0	0	0
	Natimorto	1	0,28	0	0	0	0
	Retorno ao cio	0	0	0	-	0	0
	Mumificação	0	0	0	-	0	0
	Sem ocorrência	355	98,61	21	5,92	21	100

¹ Relação entre o número de animais positivos dentro de uma variável sobre o total de animais daquela variável.

² Relação entre o número de animais positivos dentro de uma variável sobre o total de animais positivos.

Com relação à faixa etária, a maioria dos animais apresentava mais de 12 meses, (Tabela 5). Dentre os animais positivos, 66,67% (14/21) tinham idade superior a 12 meses e 33,33% (7/21) até 12 meses. Essa distribuição é semelhante com a descrita por Figliuolo et al.

(2004), onde 87,27% (48/55) dos animais positivos tinham idade superior a um ano e apenas 12,73% (7/55) de positividade para os animais de até um ano de idade. Romanelli et al. (2007) citaram que 86,21% (25/29) das amostras positivas foram oriundas de animais adultos, assim como Rossi et al. (2008) com positividade de 76,71% (56/73). Provavelmente, o maior tempo de vida aumentou a possibilidade dos ovinos entrarem em contato com o agente. Apesar desses resultados, assim como no presente trabalho, os autores citados na comparação de faixa etária não constataram diferença estatística significativa ($p>0,05$).

Da totalidade dos animais, 20% (72/360) eram machos e 80% (288/360) fêmeas. Dos animais positivos, observou-se que 85,71% (18/21) eram fêmeas, enquanto 14,29% (3/21) eram machos. Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre a variável sexo e a positividade, fato também observado por Romanelli et al. (2007), Soares et al. (2009) e Rossi et al. (2008) que descreveram uma maior positividade para as fêmeas, com percentuais de 96,55% (28/29), 85,71% (6/7) e 94,52% (69/73), respectivamente.

Dos 360 animais avaliados, 42,94% (169/360) tinham raça definida (Texel e Hampshire Down) e 53,06% (191/360) eram mestiços. Dos positivos, 57,14% (12/21) eram mestiços e, 42,86% (9/21), raça definida. Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$), resultado também observado por Romanelli et al. (2007) ao analisar a variável raças de ovelhas (Ile de France, Texel, Corriedale e Hampshire Down) e a prevalência de *N. caninum*.

A distribuição dos animais, por categoria, está expressa na Tabela 5. Dentre os positivos, 19,05% (4/21) eram cordeiros; 28,57% (6/21) fêmeas gestantes; 23,81% (5/21) com cordeiro ao pé; 19,05% (4/21) fêmeas vazias; 4,76% (1/21) machos inteiros e 4,76% (1/21) castrados. Não houve diferença estatística ($p>0,05$) entre a variável categoria e a positividade dos animais, mas observou-se uma positividade maior nas fêmeas gestantes, fato preocupante, pois a transmissão vertical pode ocorrer não somente na primeira gestação (JOLLEY et al., 1999), possuindo importância epidemiológica.

A criação semi extensiva foi descrita em 100% (13/13) das propriedades visitadas, não permitindo comparação de resultados. Souza Neto et al. (2009) relataram que em propriedades onde o sistema de criação é intensivo a frequência de animais positivos foi maior, talvez pela maior concentração de animais e maior exposição a alimentos contaminados.

O maior número de animais, 52,22% (188/360) tinha acesso à dieta mista, composta principalmente por trevo, azevém, cevada, feno e milho; animais que se alimentavam de campo nativo representaram 30,56% (110/360) e que se alimentavam de leite materno e

pastagens, 17,22% (62/360). Entre os animais positivos, 28,57% (6/21), 52,38% (11/21) e 19,05% (4/21) estavam enquadrados, respectivamente, nas dietas acima. Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$).

A origem da água também foi analisada, sendo que a maioria dos animais, 87,22% (314/360) bebia água originada de açudes e fontes naturais, e apenas 12,78% (46/360) bebiam água de bebedouros. A totalidade dos animais positivos (21) bebia água de açude e fontes naturais, mas não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre as duas variáveis. Souza Neto et al. (2009) também não encontraram associação significativa, contudo observaram uma frequência maior de animais positivos nas propriedades que forneciam água de açude e companhia de abastecimento (25%) em comparação às que forneciam água em cacimbas ou poço (10,2%) e às que forneciam água apenas de açudes (9,5%). A fonte de água e de alimentos é importante na epidemiologia da doença, pois os animais podem nascer soronegativos e, mais tarde, serem infectados por oocistos eliminados nas fezes dos cães, após esporulação no meio ambiente.

A presença de cães foi observada em 100% (13/13) das propriedades, não permitindo a análise da presença desses hospedeiros definitivos como fator de risco. Figliuolo et al. (2004) relataram nenhuma associação entre cães domésticos ou cães selvagens e a presença de anticorpos contra *N. caninum* em ovinos. Romanelli et al. (2007) descreveram alta prevalência de *N. caninum* em cães (29,5%), mas não houve diferença estatística significativa entre a presença destes hospedeiros definitivos e a positividade nos ovinos, todavia, segundo o autor, esta prevalência pode ter importância na transmissão horizontal necessitando futuros estudos. Souza Neto et al. (2009) relataram que não houve associação significativa, contudo observaram maior taxa de animais positivos em propriedades que possuíam cães. Al-Majali et al. (2008) narraram associação significativa ($p\leq 0,05$) entre a prevalência de *N. caninum* nos ovinos e a presença de mais de um cão na propriedade, onde 58% (22/38) das propriedades tinham mais de um cão e entre elas, 64% (14/22) foram positivas. Abo-Shehada e Abu-Halaweh (2010) relataram que a alta prevalência de *N. caninum* em pequenos ruminantes, no Oriente Médio, deve-se ao fato de que o cão está presente junto aos rebanhos. Em uma avaliação da frequência de *N. caninum* em cães urbanos, realizada em Lages, SC, Moura et al. (2008) verificaram que 13% de animais foram positivos (26/200); já em caninos de áreas rurais do mesmo município, Moura et al. (2009) encontraram 21,2% (7/33) de positividade para *N. caninum*.

Problemas reprodutivos foram descritos em 1,11% (4/360) dos animais, os quais tiveram aborto, e em apenas um animal (0,28%) foi descrito natimortalidade. Nenhum desses

animais apresentou resultado positivo para *N. caninum* e não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) entre a positividade e a ocorrência de problemas reprodutivos. Souza Neto et al. (2009) não observaram distúrbios reprodutivos nos 158 animais avaliados com positividade de 10,1% (16/158). Munhóz (2009), ao contrário, relatou problemas reprodutivos, em 100% das propriedades avaliadas e a frequência desses problemas ocorreu em 75,6% entre a segunda e a quinta cria e 24,4% na primeira cria, sendo que 26,8% dos abortamentos ocorreram no terço inicial da gestação e 66,7% no terço final, mas não obteve associação significativa entre a positividade dos animais e a frequência de problemas reprodutivos. Ueno (2005) descreveu em 38,71% (12/31) das propriedades avaliadas a ocorrência de abortamento nos últimos anos, mas estatisticamente não foi significativa a relação dessa variável com a prevalência de *N. caninum*. Spilovská et al. (2009), buscando um possível diagnóstico para rebanhos com histórico de aborto, descreveram positividade de 3,7% (12/313) e não houve correlação entre a frequência de abortos e a prevalência. Hässig et al. (2003) relataram 28,6% (4/14) dos abortos ocorridos em uma propriedade com positividade de 10,3%.

Embora os percentuais de positividade possam ser considerados baixos, comparado com os resultados obtidos em ovinos por outros autores no Brasil, fica caracterizado que o protozoário está presente e pode estar causando perdas econômicas aos criadores de ovinos do município de Lages, SC.

CONCLUSÕES

A prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos do município de Lages, Santa Catarina, é de 5,83%.

Não houve associação das variáveis, idade, sexo, raça, categoria, sistema de criação, dieta, fonte de água, contato com cães e transtornos reprodutivos com a positividade dos ovinos.

É o primeiro relato de prevalência de *Neospora caninum* em ovinos no estado de Santa Catarina.

REFERÊNCIAS

ABO-SHEHADA, M. N.; ABU-HALAWEH, M. M. Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 93, p. 25-32, 2010.

AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D. P.; RODRIGUES, A. A. R.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. In: FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p. 33-35.

AL-MAJALI, A. M.; JAWASREH, K. I.; TALAFHA, H. A.; TALAFHA, A. Q. Neosporosis in sheep and different breeds of goats from Southern Jordan: prevalence and risk factors analysis. *American Journal of Animal and Veterinary Sciences*, v. 3, n. 2, p. 47-52, 2008.

ALMEIDA, M. A. O. Epidemiologia de *Neospora caninum*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, suplemento 1, p. 37-40, 2004.

ALMEIDA, M. C. S.; FRANCISCO, W. E.; STEFANO, E.; PITUCO, E. M.; DEL FAVA, C.; OKUDA, L. H. Ocorrência de neosporose em ovinos (*Ovis aries* Linnaeus, 1758 - Mammalia, Artiodactyla, Bovidae) no Brasil. *Biológico*, v. 67, p. 25-51, 2007.

ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 60-61, p. 417-431, 2000.

ANDREOTTI, R. *Neosporose: um possível problema reprodutivo para o rebanho bovino*. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001, 14p.

ANDREOTTI, R.; MATOS, M. F. C.; GONÇALVES, K. N.; OSHIRO, L. M.; COSTA LIMA JUNIOR, M. S.; PAIVA, F.; LEITE, F. L. Comparison of indirect ELISA based on recombinant protein NcSRS2 and IFAT for detection of *Neospora caninum* antibodies in sheep. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, n. 2, p. 19-22, 2009.

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.; GOMES, A.; PIRES, P. P.; SILVA, E. A. A. Sorologia anti-*Neospora caninum* em gado de corte e em cães no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil Central. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. CD ROOM.

ANDRIANARIVO, A. G.; ANDERSON, M. L.; ROWE, J. D.; GARDNER, I. A.; REYNOLDS, J. P.; CHOROMANSKI, L.; CONRAD, P. A. Immune responses during pregnancy in heifers naturally infected with *Neospora caninum* with and without immunization. *Journal of Parasitology Research*, v. 96, n. 1, p. 24-31, 2005.

BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; SVERLOW, K. W.; TARANTAL, A. F.; HENDRICKX, A. G. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. *Laboratory Investigation*, v. 71, p. 236-242, 1994.

BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). *Theriogenology*, v. 52, n. 2, p. 247-257, 1999.

BÁRTOVÁ, E.; SEDLÁK, K.; LITERÁK, I. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in sheep in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, v. 161, p. 131-132, 2009.

BASZLER, T. V.; GAY, L. J.; LONG, M. T.; MATHISON, B. A. Detection by PCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions. *Journal of Clinical Microbiology*, v.37, p.4059-4064, 1999.

BENETTI, A. H.; SCHEIN, F. B.; SANTOS, T. R.; TONIOLLO, G. H.; COSTA, A. J.; MINEO, J. R.; LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; GENNARI, S. M. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, suplemento 1, p. 29-33, 2009.

BISHOP, S.; KING, J.; WINDSOR, P.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J.; SLAPETA, J. The first report of ovine cerebral neosporosis and evaluation of *Neospora caninum* prevalence in sheep in New South Wales. *Veterinary Parasitology*, v. 170, p. 137-142, 2010.

BJERKAS, I.; DUBEY, J. P. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v. 32, p. 407-410, 1991.

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift Parasitenkunde*, v. 70, p. 271-274, 1984.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *International Journal for Parasitology*, v. 29, p. 1497-1507, 1999.

BRAUTIGAM, F. E.; HIETALA, S. K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para a espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande, MS. *Anais...* Campo Grande: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias, 1996, p. 284.

BUXTON, D.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S.; THOMSON, K. M.; RAE, A. G.; INNES, E. A. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. *Journal of Comparative Pathology*, v. 118, n. 4, p. 267-279, 1998.

BUXTON, D.; WRIGHT, S.; MALEY, S. W.; RAE, A. G.; LUNDEN, A.; INNES, E. A. Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. *Parasite Immunology*, v. 23, n. 2, p. 85-91, 2001.

CABRAL, D. D.; MINEO, J. R.; MINEO, T. W. P.; COSTA, G. H. N.; VON ANCKEN, A. C. B.; SILVA, D. A. O. Detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de cães positivos e negativos a *Toxoplasma gondii*. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador, *Anais...* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999.

CONRAD, P. A.; SVERLOW, K. W.; ANDERSON, M. L.; ROWE, J.; BONDURANT, R.; TUTER, G.; BREITMEYER, R.; PALMER, C.; THURMOND, M.; ARDANS, A. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 5, p. 572-578, 1993.

COSTA, T. L.; SILVA, M. G.; RODRIGUES, I. M. X.; BARBARESCO, A. A.; AVELINO, M. M.; CASTRO, A. M. Diagnóstico Clínico e Laboratorial da Toxoplasmose. *NewsLab*, v. 85, p. 88-104, 2007.

DUBEY, J. P. A review of *Neospora caninum* and *Neospora*-like infections in animals. *Journal Protozool Research*, v. 2, p. 40-52, 1992.

DUBEY, J. P. Congenital neosporosis in a calf. *Veterinary Record*, v. 125, p. 486, 1989.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, v. 21, p. 473-483, 2005.

DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 84, p. 349-367, 1999.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal of Parasitology*, v. 41, n. 1, p. 1-16, 2003.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKAS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; McALLISTER, M. M.; MODRÝ, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International Journal for Parasitology*, v. 32 p. 929-946, 2002.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *Journal American Veterinary Medical Association*, v. 192, p. 1269-1285, 1988a.

DUBEY, J. P.; HARTLEY, W. J.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *Journal of Parasitology*, v. 76, n. 1, p. 127-130, 1990.

DUBEY, J. P.; HATEL, A. L.; LINDSAY, D. L.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 193, n. 10, p. 1259-1263, 1988b.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 63, p. 1-59, 1996

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 2, n. 3, p. 230-233, 1990.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007.

EPI INFO, VERSION 6: a word processing, database, and statistics program for public health on IBM-compatible microcomputers. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, 1996.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A.; DE PAULA, V. S. O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 123, p. 161-166, 2004.

FRENCH, N. P.; CLANCY, D.; DAVISON, H. C.; TREES, A. J. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle, transmission and options of control. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 10, p. 1691-1704, 1999.

GAFFURI, A.; GIACOMETTI, M.; TRANQUILLO, V. M.; MAGNITO, S.; CORDIOLI, P.; LANFRANCHI, P. Serosurvey of roe deer, chamois and domestic sheep in the Central Italian. *Journal of Wildlife Diseases*, v. 42, p. 685-690, 2006.

GIRALDI, J. H.; BRACARENSE, A. P. E. R. L.; VIDOTTO, O. Neosporose canina - revisão. *Clínica Veterinária*, v. 6, n. 34, p. 50-54, 2001.

GONÇALVES, K. N.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; MELLO, J. H.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Infecção por *Neospora caninum* em rebanho ovino do Mato Grosso do Sul. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, p. 223, 2004. Suplemento 1.

GONDIM, L. F. P. *Neospora caninum* in wildlife. *Trends in Parasitology*, v. 22, n. 6, p. 247-252, 2006.

GONDIM, L. F. P. *Novos desafios para o controle da neosporose*. Disponível em: <<http://cni.inta.gov.ar/helminto/Congreso%20Brasil%202008/NOVOS%20DESAFIO%20CONTROLE%20NEOSPOROSE.pdf>> Acesso em: 07 abril 2010, 20:03:55.

GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 134, n. 1-2, p. 33-39, 2005.

GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; MATEUS-PINILLA, N. E.; PITT, W. C.; MECH, L.D.; NELSON, M. E. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. *Journal Parasitology*, v. 90, n. 6, p. 1361-1365, 2004b.

GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v. 34, p. 159-161, 2004a.

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; MONTEIRO JUNIOR, L. A.; HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in na aborted bovine foetus in Brazil. *New Zealand Veterinary Journal*, v.47, n. 1, p.35, 1999.

GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; ROMANELLI, P. R. Neosporose em animais domésticos. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 27, n. 4, p. 665-678, 2006.

HÄSSIG, M.; SAGER, H.; REITT, K.; ZIEGLER, D.; STRABEL, D.; GOTTSTEIN, B. *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. *Veterinary Parasitology*, v. 117, p. 213-220, 2003.

HELMICK, B.; OTTER, A.; MCGARRY, J.; BUXTON, D. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Research in Veterinary Science*, v. 73, p.187-189, 2002.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology*, v. 112, n. 2, p. 183-197, 1996.

HOFFMANN, D. C. S. *Cinética, avaliação da transmissão vertical e monitoramento da transferência passiva de anticorpos anti-Neospora sp. em equinos*. 2007, 91f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2007.

HOWE, L.; WEST, D. M.; COLLETT, M. G.; TATTERSFIELD, G.; PATTISON, R. S.; POMROY, W. E.; KENYON, P. R.; MORRIS, S. T.; WILLIAMSON, N. B. The role of *Neospora caninum* in three cases of unexplained ewe abortions in the southern North Island of New Zealand. *Small Ruminant Research*, v. 75, n. 2-3, p. 115-122, 2008.

HUI, L. X. Serological survey of *Neospora caninum* infection in sheep from Wulan County, Qinghai Province, China. *Chinese Journal of Zoonoses*, v. 24, n. 2, p. 188, 2008.

IBGE. *Banco de Dados Agregados: Censo Agropecuário de 2007*. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?z=t&c=73>>. Acesso em 23 set 2009, 17:09:54.

INNES, E. A.; ANDRIANARIVO, A. G.; BJORKMAN, C.; WILLIAMS, D. J. L.; CONRAD, P. A. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends in Parasitology*, v. 18, n. 11, p. 497-504, 2002.

JENKINS, M. C.; TUO, W. B.; DUBEY, J. P. Evaluation of vaccination with *Neospora caninum* protein for prevention of fetal loss associated with experimentally induced neosporosis in sheep. *American Journal of Veterinary Research*, v. 65, n. 10, p. 1404-1408, 2004.

JOLLEY, W. R.; McALLISTER, M. M.; McGUIRE, A. M.; WILLS, R. A. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. *Veterinary Parasitology*, v. 82, p. 251-257, 1999.

KING, J. S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; AL QASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, P. A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v. 40, p. 945-950, 2010.

KOBAYASHI, Y.; YAMADA, M.; OMATA, Y.; KOYAMA, T.; SAITO, A.; MATSUDA, T.; OKUYAMA, K.; FUJIMOTO, S.; FURUOKA, H.; MATSUI, T. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. *The Journal of Parasitology*, v. 87, n. 2, p. 434-436, 2001.

KOYAMA, T.; KOBAYASHI, Y.; OMATA, Y.; YAMADA, M.; FURUOKA, H.; MAEDA, R.; MATSUI, T.; SAITO, A.; MIKAMI, T. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. *The Journal of Parasitology*, v. 87, n. 6, p. 1486-1488, 2001.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, v. 82, p. 327-333, 1999.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; McALLISTER, M. M. *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. *Compendium*, v. 21, p. 317-321, 1999.

LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *International Journal for Parasitology*, v. 29, p. 1521-1523, 1999.

LINDSAY, D. S.; RITTER, D. M.; BRAKE, D. Oocyst excretion in dogs fed mouse brains containing tissue cysts of a cloned line of *Neospora caninum*. *The Journal of Parasitology*, v. 87, p. 909-911, 2001.

LOBATO, J. *Detecção de anticorpos IgG anti- Neospora caninum em diferentes grupos de pacientes imunodeprimidos*. 2006. 67f. Dissertação (Mestrado em Imunologia e Parasitologia Aplicadas) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2006.

LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; MINEO, T. W. P.; AMARAL, J. D. H. F.; SILVA SEGUNDO, G. R.; COSTA-CRUZ, J. M.; FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S.; MINEO, J. R. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: High seropositivity rates in patients who are infected by Human Immunodeficiency Virus or have neurological disorders. *Clinical and Vaccine Immunology*, v. 13, n. 1, p. 84-89, 2006.

LOPES, C. W. G. Neosporose - uma doença responsável por abortos em bovinos. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 23, n. 4, p. 479-566, 1999.

MAGALHÃES, F. B.; JESUS, E. E. V.; ALMEIDA, M. A. O.; ATTA, A. M.; GONÇALVES, M. S. Serologic evidences of human *Neospora caninum* infection in Brazil. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ALLERGY AND CLINICAL IMMUNOLOGY, 5, 2002, Bahia, Brasil. *Anais...* Bahia: 2002.

MALEY, S. W.; THOMSON, K. M.; BOS, H. J.; BUXTON, D. Serological diagnosis of toxoplasmosis in sheep following vaccination and challenge. *The Veterinary Record*, v. 140, n. 21, p. 558-559, 1997.

MASALA, G.; PORCU, R.; DAGA, C.; DENTI, S.; CANU, G.; PATTA, C.; TOLA, S. Detection of pathogens in ovine and caprine abortion samples from Sardinia, Italy, by PCR. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 19, n. 1, p. 96-98, 2007.

McALLISTER, M. M. The comparative pathology of neosporosis. In: FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p. 14-16.

McALLISTER, M. M. Uncovering the Biology and Epidemiology of *Neospora caninum*. *Parasitology Today*, v. 15, n. 6, 1999.

McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; McGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.

McALLISTER, M. M.; McGUIRE, A. M.; JOLLEY, W. R.; LINDSAY, D. S.; TREES, A. J.; STOBART, R. H. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. *Veterinary Pathology*, v. 33, n. 6, p. 647-655, 1996.

McCANN, C. M.; VYSE, A. J.; SALMON, R. L.; THOMAS, D.; WILLIAMS, D. J. L.; McGARRY, J. W.; PEBODY, R.; TREES, A. J. Lack of serologic evidence of *Neospora caninum* in humans, England. *Emerging Infectious Diseases*, v. 14, n. 6, p. 978-980, 2008.

MOEN, A. R.; WOUDA, W.; MUL, M. F. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortions outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. *Theriogenology*, v. 49, p. 1301-1309, 1998.

MOURA, A. B.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; BELLATO, V.; TEIXEIRA, E. B.; PISETTA, G. M.; HEUSSER JUNIOR, A. Soroprevalência e fatores de risco para neosporose canina nas cidades de Lages e Balneário Camboriú, SC. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL, 15, 2, 2008, Curitiba. *Anais...* Curitiba: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2008. CD ROOM.

MOURA, A. B.; TEIXEIRA, E. B.; SOUZA, A. P.; SARTOR, A. A.; BELLATO, V. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos com aptidão leiteira no município de Lages, SC. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA E ENCONTRO DE PARASITOLOGIA DO MERCOSUL, 21, 2, 2009, Foz do Iguaçu. *Anais...* Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 2009. CD ROOM.

MUGRIDGE, N. B.; MORRISON, D. A.; HECKEROTH, A. R.; JOHNSON, A. M.; TENTER, A. M. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, v. 29, p. 1545-1556, 1999.

MUNHÓZ, K. F. *Soro-ocorrência de anticorpos contra Neospora caninum em ovinos de propriedades rurais localizadas no norte do Paraná, Brasil*. 2009. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal - Saúde Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2009.

O'HANDLEY, R. M.; MORGAN, S. A.; PARKER, C.; JENKINS, M. C.; DUBEY, J. P. Vaccination of ewes for prevention of vertical transmission of *Neospora caninum*. *American Journal of Veterinary Research*, v. 64, n. 4, p. 449-452, 2003.

ORTEGA-MORA, L. M.; FERRE, I.; DEL-POZO, I.; CAETANO-DA-SILVA, A.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; REGIDOR-CERRILLO, J.; UGARTE-GARAGALZA, C.; ADURIZ, G. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. *Veterinary Parasitology*, v. 117, p. 301-308, 2003.

OSHIRO, L. M.; BARROS, J. C.; GRECCO, B.; GONÇALVES, K. N.; ANDREOTTI, R. Avaliação sorológica para *Neospora caninum* em fêmeas de um rebanho ovino de cria em Campo Grande - Mato Grosso do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 15, 2008, Curitiba. *Anais...* Curitiba: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2008. CD ROOM.

OTERO, A. R. S.; JESUS, E. E. V.; SILVIA, V. M. G.; GONDIM, L. F. P.; ALMEIDA, M. A. O. Evidência sorológica da infecção de ovinos por *Neospora caninum* no Estado da Bahia. In: FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...* São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p. 68.

OTTER, A.; HELMICK, B.; WILSON, B. W.; SCHOLLES, S. F. E.; JEFFREY, M.; TREES, A. J. Results of a survey to determine whether *Neospora* is a significant cause of ovine abortion in England and Wales. *Veterinary Record*, v. 140, n. 7, p. 175-177, 1997.

PANADERO, R.; PAINCEIRA, A.; LÓPEZ, C.; VÁZQUEZ, L.; PAZ, A.; DÍAZ, P.; DACAL, V.; CIENFUEGOS, S.; FERNÁNDEZ, G.; LAGO, N.; DÍEZ-BAÑOS, P.; MORRONGO, P. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in wild and domestic ruminants sharing pastures in Galicia (Northwest Spain). *Research in Veterinary Science*, v. 88, p. 111-115, 2010.

PAPPEN, F.; CUNHA FILHO, N. A.; LUCAS, A.; RICKES, E.; FARIAS, N. A.; GENNARI, S. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos da região sul do estado do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 15, 2008, Curitiba. *Anais...* Curitiba: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2008. CD ROOM.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 7, p. 273-275, 1995.

PENA, H. F. J.; SOARES, R. M.; RAGOZO, A. M. A.; MONTEIRO, R. M.; YAI, L. E. O.; NISHI, S. M.; GENNARI, S. M. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 147, p. 61-66, 2007.

PETERSEN, E.; LEBECH, M.; JENSEN, L.; LIND, P.; RASK, M.; BAGGER, P.; BJORKMAN, C.; UGGLA, A. *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. *Emerging Infectious Diseases*, v. 5, n. 2, p. 278-280, 1999.

PML. Prefeitura Municipal de Lages. Disponível em:
<<http://www.lages.sc.gov.br/perfil.php>>. Acesso em: 22 maio de 2010, 15:32:09.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>. 2009.

REICHEL, M. P.; ROSS, G. P.; McALLISTER, M. M. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of *Neospora caninum* infection in sheep and determination of the apparent prevalence of infection in New Zealand. *Veterinary Parasitology*, v. 151, p. 323-326, 2008.

RIZZO, H.; VILLALOBOS, E. M. C.; CUNHA, E. M. S.; LARA, M. C. C. S. H.; MEIRA JUNIOR, E. B. S.; PIVA, F. M.; HASEGAWA, M. Y.; DUARTE, B. O.; GREGORY, L. *Dados preliminares da ocorrência de neosporose e toxoplasmose em ovinos com histórico de infertilidade e aborto no Estado de São Paulo, Brasil*. In: FEIRA INTERNACIONAL DE CAPRINOS E OVINOS, 6, 2009. Disponível em:

<<http://www.sheepembryo.com.br/files/artigos/152.pdf>> Acesso em: 07 abril 2010, 14:56:02.

ROMANELLI, P. R.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E. R. M.; OGAWA, L.; DE PAULA, V. S. O.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Research in Veterinary Science*, v. 82, p. 202-207, 2007.

ROMANELLI, P. R. *Avaliação soropidemiológica de Neospora caninum e Toxoplasma gondii em ovinos do município de Guarapuava - Paraná*. 2002. 53f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2002.

ROMERO, J. J.; FRANKENA, K. Bovine neosporosis: a review. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, v. 3, n. 12, p. 901-913, 2004.

ROSSI, G. F.; CABRAL, D. D.; SILVA, D. A. O.; RIBEIRO, D. P.; PAJUABA, A. C. A. M.; MOREIRA, R. Q.; CORRÊA, R. R. *Frequência de anticorpos contra Toxoplasma gondii e Neospora caninum em ovinos do município de Uberlândia, MG*. Disponível em:

<<http://www.sovergs.com.br/conbravet2008/anais/cd/resumos/R0553-1.pdf>> Acesso em: 07 abril 2010, 09:42:09.

SHIVAPRASAD, H. L.; ELY, R.; DUBEY, J. P. A *Neospora*-like protozoon found in an aborted bovine placenta. *Veterinary of Parasitology*, v. 34, n. 1-2, p.145-148, 1989.

SOARES, H. S.; AHID, S. M. M.; BEZERRA, A. C. D. S.; PENA, H. F. J.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 160, p. 211-214, 2009.

SOCARRÁS, T. J. O. *Infecção experimental de ovelhas deslanadas com Neospora caninum*. 2001. 74f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2001.

SOUZA NETO, O. L.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SANTOS, A. S.; FERNANDES, E. F. T. S.; FARIA, E. B.; MORAES, E. P. B. X.; RABELO, S. S. A.; SILVA, L. B. G.; MOTA, R. A. *Prevalência de anticorpos IgG anti-Neospora caninum e fatores de risco associados à infecção em ovinos no município de Gravatá, Pernambuco, Brasil*. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/jepex2009/cd/resumos/R1003-1.pdf>> Acesso em: 10 jun 2010, 22:09:01.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P.; McALLISTER, M. M.; BLIXT J. A. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*, v. 29, p. 1509-1519, 1999.

SPILOVSKÁ, S. S.; REITEROVÁ, K.; KOVÁCOVÁ, D.; BOBÁKOVÁ, M.; DUBINSKÝ, P. The first finding of *Neospora caninum* and the occurrence of other abortifacient agents in sheep in Slovakia. *Veterinary Parasitology*, v. 164, p. 320-323, 2009.

TRANAS, J.; HEINZEN, R. A.; WEISS, L. M.; McALLISTER, M. M. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 6, p. 765-767, 1999.

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends in Parasitology*, v. 21, p. 558-561, 2005.

UENO, T. E. H. *Prevalência das infecções por Toxoplasma gondii e Neospora caninum em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil*. 2005. 107f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária - Epidemiologia Experimental e Aplicada Zoonoses) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

UGGLA, A.; HILALI, M.; LÖVGREN, K. Serological responses in *Sarcocystis cruzi* infected calves challenged with *Toxoplasma gondii*. *Research in Veterinary Science*, v. 43, n.1, p. 127-129, 1987.

VOGEL, F. S. F.; ARENHART, S.; BAUERMAN, F. V. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, p.1948-1951, 2006.

WEST, D. M.; POMROY, W. E.; COLLETT, M. G.; HILL, F. I.; RIDLER, A. L.; KENYON, P. R.; MORRIS, S. T.; PATTISON, R. S. A possible role for *Neospora caninum* in ovine abortion in New Zealand. *Small Ruminant Research*, v. 62, p. 135-138, 2006.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A. M. H.; VAN MAANEN, C.; BRINKHOF, J. M. A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 10, p. 1677-1682, 1999.

ANEXO I



UNIVERSIDADE DO ESTADO DE SANTA CATARINA CENTRO DE CIÊNCIAS AGROVETERINÁRIAS – CAV

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS - CEPESH

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

“Prevalência e fatores de risco para infecção por *Neospora caninum* em ovelhas no município de Lages, Santa Catarina.”

O (a) senhor (a) está sendo convidado a participar de um estudo que fará a avaliação da ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos de sua propriedade, para se conhecer a prevalência desta doença nos rebanhos ovinos da cidade de Lages, Santa Catarina, identificar possíveis fatores de risco para a doença e verificar se a mesma tem relação com problemas reprodutivos dos animais. Será aplicado um questionário contendo 11 perguntas relacionadas ao manejo e ocorrência de problemas reprodutivos dos animais, e realizada coleta de sangue por meio de punção da veia jugular dos mesmos. O material será devidamente identificado, acondicionado e transportado ao laboratório para análise. As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre sua participação. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação. Os procedimentos adotados são mínimos, não envolvendo risco ao animal.

Sua identidade será preservada não havendo necessidade de fornecer nome ou endereço e os animais serão identificados através do número de protocolo.

Os benefícios serão o conhecimento da prevalência de *Neospora caninum* entre ovinos da cidade de Lages, Santa Catarina, identificar fatores de risco para a doença e sua correlação com problemas reprodutivos, informações importantes para a implementação de medidas de prevenção que implicam em melhorias na sanidade dos rebanhos ovinos. Os exames não terão custo.

Solicitamos vossa autorização para coleta de sangue bem como o uso destes dados para a produção de artigos técnicos e científicos. A sua privacidade será mantida através de não identificação do seu nome.

Agradecemos a vossa participação.

Pessoa para contato: Luciana Dalla Rosa (pesquisador responsável)

Número do telefone: 49 2101 9119

Endereço: Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias do CAV/UDESC

Av. Luís de Camões, 2090 – Bairro Conta Dinheiro – Lages, SC.

ANEXO II

Protocolo N°: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO

Declaro que fui informado sobre todos os procedimentos da pesquisa e que recebi de forma clara e objetiva todas as explicações pertinentes ao projeto e que todos os dados a meu respeito serão sigilosos. Eu compreendo que neste estudo, as medições dos experimentos/procedimentos serão feitos em meu animal.

Declaro que fui informado que posso me retirar do estudo a qualquer momento.

Nome por extenso

_____, ____/____/____
(Localidade)

Assinatura

