

**WHAUBTYFRAN CABRAL TEIXEIRA**

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IgG ANTI-*Neospora caninum* E  
ANTI-*Toxoplasma gondii* EM BOVINOS E CANINOS DAS  
MESORREGIÕES NORTE E CENTRO MARANHENSE,  
MARANHÃO, BRASIL**

**Recife – PE**

**2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**WHAUBTYFRAN CABRAL TEIXEIRA**

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IgG ANTI-*Neospora caninum* E  
ANTI-*Toxoplasma gondii* EM BOVINOS E CANINOS DAS  
MESORREGIÕES NORTE E CENTRO MARANHENSE,  
MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciência Veterinária.

**ORIENTADORA:**

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Aparecida da Gloria Faustino

**Recife – PE**

**2008**

**FICHA CATALOGRÁFICA**

T266p Teixeira, Whaubtyfran Cabral  
Prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e  
anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e caninos das  
mesorregiões Norte e Centro Maranhense, Maranhão, Brasil /  
Whaubtyfran Cabral Teixeira. -- 2008.  
120 f. : il.

Orientadora: Maria Aparecida da Gloria Faustino.  
Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) –  
Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento  
de Medicina Veterinária, Recife, 2008.  
Inclui referências, anexo e apêndice.

CDD 636.089 444

1. Bovinos
2. Cães
3. *Neospora caninum*
4. *Toxoplasma gondii*
5. Imunofluorescência indireta
6. Infecção
7. Prevalência
- I. Faustino, Maria Aparecida da Gloria
- II. Título

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO**  
**PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**  
**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IgG ANTI-*Neospora caninum* E**  
**ANTI-*Toxoplasma gondii* EM BOVINOS E CANINOS DAS**  
**MESORREGIÕES NORTE E CENTRO MARANHENSE,**  
**MARANHÃO, BRASIL**

Dissertação de Mestrado elaborada por

**WHAUBTYFRAN CABRAL TEIXEIRA**

**ORIENTADORA:**

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Maria Aparecida da Gloria Faustino

Orientadora - Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE

**EXAMINADORES:**

---

Prof. Dr. José Pompeu dos Santos Filho  
Departamento de Biologia - UFRPE

---

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota  
Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

---

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves  
Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

**Recife – PE**

**2008**

## **OFEREÇO**

*Aos meus pais Luzaní Cabral Teixeira e Francisco Moura Teixeira, meus irmãos Whaurisfran e Wherbtyfran por estarem ao meu lado em todos os momentos da minha vida, pelo amor, pelos ensinamentos, pela compreensão e dedicação, pelo sacrifício e incentivo proporcionado.*

*Às tias Alzení Cabral, Socorro Teixeira, Ceci Cabral, **José Cabral Filho** e Alencar Cabral (**In memorían**), e a todos os meus familiares, pelos ensinamentos, esforços, contribuição para minha educação.*

**A VOCÊS ofereço essa parte da minha história com amor e carinho, sem os quais seria impossível alcançar mais esse objetivo.**

*“A mais bela coragem é a confiança que devemos ter na capacidade de nosso esforço”.*

*Coelho Neto*

*“O mais importante não é saber: é nunca perder a capacidade e vontade de aprender”.*

*Leonardo Boff*

*“Algo é só impossível até que alguém duvide e acabe provando o contrário”.*

*Albert Einstein*

## **Agradecimentos**

A Deus acima de tudo pelo dom da vida, da profissão e por caminhar sempre ao meu lado em todos os momentos, dando força para vencer obstáculos, por ter me feito forte, não permitindo que o cansaço me dominasse.

Aos meus pais, Luzaní Cabral Teixeira e Francisco Moura Teixeira, que sempre me incentivaram e apoiaram para a concretização de mais uma vitória em minha vida; e aos meus irmãos Whaurisfran e Wherbtyfran por todos os momentos que passamos juntos, pela calma, paciência nas horas difíceis e por saber que sempre acreditaram em mim.

À Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, por ter proporcionado essa etapa da minha vida profissional e pelo apoio no decorrer do curso.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Aparecida da Gloria Faustino pela orientação, confiança e apoio na hora que precisei.

Ao meu amigo Prof. Dr. Luís Fernando Pita Gondim e suas orientadas, a quem eu tenho o mais profundo respeito e admiração.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Clara Santos e o Prof. Dr. Leucio Alves, e todos os seus orientados, com quem pude discutir protocolos utilizados em diferentes campos de pesquisa, sendo estes diálogos fundamentais para a produção de diferentes trabalhos científicos em conjunto.

À Prof<sup>a</sup>. Inez Silva, Prof<sup>a</sup>. Ângela Almeida, Prof<sup>a</sup>. Rita Seabra, Prof. José Gomes, Prof. Helder Moraes, Prof. Hamilton Santos e a todos, pelo incentivo, aconselhamento, amizade e compreensão, bem como por todos os conhecimentos a mim transmitidos que contribuíram para a minha formação profissional.

À Universidade Estadual do Maranhão, pelo apoio na execução deste trabalho e por participar de mais essa etapa da minha vida profissional.

Ao CNPq e também à FAPEMA, pela concessão da bolsa para realização da Pós-Graduação (Mestrado) na UFRPE, tornando este sonho uma realidade.

Às minhas primas Mônica Cabral, Márcia Cabral, Ana Maria Cabral e também a minha sobrinha Whaurianne Jamyle. Vocês são a minha motivação para sempre perseverar.

Às minhas tias e tios pela ajuda, eterna amizade, paciência, respeito e carinho.

Aos amigos Marilene, Ana Maria, Márcia Paula, Edenilze, Michele e Rafael agradeço pelo convívio, conversas e pela amizade ao longo desses dois anos, e que irão ficar no meu coração e na minha lembrança para sempre.

Aos amigos de Curso, especialmente, Auxiliadora, Gilsan, Isabele, Ivana e todos os colegas da Pós-Graduação, pelo carinho e amizade compartilhada.

Aos amigos Itamar Regis, Euza e Fernando Galdino por esses longos anos de amizade irrestrita, por jamais esquecer de mim mesmo estando longe e pelo apoio durante a realização deste trabalho.

Ao amigo e colega de profissão Wilson Martins Filho e sua esposa Silvana Fros, e também a todos os proprietários de fazendas por onde passei que me acolheram quando da coleta de material desse trabalho.

A todos os colegas que fiz em Recife, àqueles da Bahia e também os espalhados pelo Brasil, que caminharam comigo, sorrindo, auxiliando e apoiando-me em todos os momentos e pela troca de experiências que enriquecem nossa existência.

Enfim, meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que, direta ou indiretamente, estiveram torcendo pelo meu sucesso ao longo destes dois anos e aqueles que ainda continuarão por fazê-lo daqui para frente. A vocês, minha eterna gratidão.



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	17
<b>2.1 Histórico, classificação e ciclos de transmissão do <i>Neospora caninum</i></b>	17
2.1.1 Infecção por <i>N. caninum</i> em caninos e bovinos	22
<b>2.2 Histórico, classificação e ciclo de transmissão do <i>Toxoplasma gondii</i></b>	31
2.2.1 Infecção por <i>T. gondii</i> em caninos e bovinos	32
<b>2.3 Diagnóstico do <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i></b>	36
<b>2.4 Controle e profilaxia da neosporose e toxoplasmose</b>	37
<b>3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	38
<b>4 ESTUDOS REALIZADOS</b>	59
<b>4.1 PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-<i>Neospora caninum</i> (Apicomplexa: Sarcocystidae) EM BOVINOS LEITEIROS DE PROPRIEDADES RURAIS DE TRÊS MICRORREGIÕES DO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL</b>	60
4.1.1 INTRODUÇÃO	62
4.1.2 MATERIAL E MÉTODOS	64
4.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	66
4.1.4 CONCLUSÃO	71
4.1.5 REFERÊNCIAS	72
<b>4.2 PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-<i>Toxoplasma gondii</i> EM BOVINOS LEITEIROS DAS MICRORREGIÕES DE ITAPECURU-MIRIM, MÉDIO MEARIM E PRESIDENTE DUTRA, ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL</b>	78
4.2.1 INTRODUÇÃO	80
4.2.2 MATERIAL E MÉTODOS	81
4.2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	83
4.2.4 CONCLUSÃO	87
4.2.5 REFERÊNCIAS	88
<b>4.3 SOROEPIDEMIOLOGIA DE <i>Neospora caninum</i> E <i>Toxoplasma gondii</i> EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DE BOVINOS LEITEIROS DE TRÊS MICRORREGIÕES DO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL</b>	92
4.3.1 INTRODUÇÃO	94
4.3.2 MATERIAL E MÉTODOS	95
4.3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	97
4.3.4 CONCLUSÃO	104
4.3.5 REFERÊNCIAS	105
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	113
<b>6 APÊNDICES</b>	114
<b>6.1 Questionário Investigativo</b>	115
<b>6.2 Ficha Individual Bovino</b>	117
<b>6.3 Ficha Individual Canino</b>	118
<b>6.4 Coordenadas Geográficas dos Municípios</b>	119
<b>7 ANEXO</b>	120

## LISTA DE TABELAS

### (Artigo 1)

- Tabela 1. Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* (RIFI  $\geq$  200) em soros de bovinos leiteiros criados nas Mesorregiões Norte e Centro Maranhense, Maranhão, Brasil, segundo a recíproca do título, 2008 67
- Tabela 2. Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, segundo as microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008 68
- Tabela 3. Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, de acordo com o sexo, das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008 69
- Tabela 4. Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, segundo a faixa etária, das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008 69
- Tabela 5. Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, segundo a variável raça, das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008 71

## LISTA DE TABELAS

### (Artigo 2)

Tabela 1. Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, em rebanhos bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, 2008 83

Tabela 2. Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, segundo o sexo dos animais, em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, 2008 84

Tabela 3. Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, segundo a recíproca do título, 2008 85

Tabela 4. Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, segundo a faixa etária, 2008 86

## LISTA DE TABELAS

### (Artigo 3)

- Tabela 1. Freqüência absoluta (n) e relativa (%) de cães procedentes de propriedades rurais, submetidos à detecção de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum*, de acordo com o sexo, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão 98
- Tabela 2. Freqüência absoluta (n) e relativa (%) de cães procedentes de propriedades rurais, submetidos à detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, de acordo com o sexo, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão 99
- Tabela 3. Distribuição de cães procedentes de propriedades rurais, soropositivos para anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii*, de acordo com a raça, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão 99
- Tabela 4. Distribuição dos títulos de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães positivos procedentes de propriedades rurais, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão 101
- Tabela 5. Freqüência de anticorpos IgG contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães positivos procedentes de propriedades rurais, de acordo com a idade, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, 2008 102

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Taquizoítos de *Neospora caninum*. A – Obtidos de lavado peritoneal (coloração: Giemsa); B e C – Cérebro (coloração: hematoxilina e eosina, imuno-histoquímica). 18
- Figura 2.** Cistos contendo bradizoítos de *Neospora caninum* em cortes de cérebro. A – Coloração: hematoxilina e eosina. B – Imuno-histoquímica. 19
- Figura 3.** Oocistos de *Neospora caninum*. A – Oocisto não esporulado. B – Oocisto esporulado contendo dois espocistos. 19
- Figura 4.** Ciclos de transmissão doméstico e silvestre do *Neospora caninum* incluindo as espécies animais que foram confirmadas experimentalmente. 21
- Figura 5.** Correlação entre a soroprevalência de anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em cães procedentes de propriedades rurais das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, Brasil, 2008. 100

## RESUMO GERAL

Os protozoários *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* causam distúrbios reprodutivos e neurológicos em bovinos, além de alterações neuromusculares em cães. A bovinocultura Maranhense representa um setor da economia de elevada importância, contudo, as perdas causadas por doenças parasitárias representam um sério problema para o desenvolvimento dos rebanhos. Objetivou-se, no presente estudo, determinar a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em soros de bovinos leiteiros e cães de propriedades rurais de três microrregiões no estado do Maranhão. Foram visitadas propriedades de gado de leite, onde se coletaram amostras sanguíneas de bovinos (812) e cães (93), de ambos os sexos e diferentes idades. Os soros obtidos foram acondicionados em eppendorfs e estocados a -20°C até a realização do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI). Foram utilizados como pontos de cortes 1:200 e 1:50 para anti-*N. caninum* e 1:64 e 1:16 para anti-*T. gondii* em bovinos e cães, respectivamente. Utilizou-se como antígeno, taquizoítos das cepas NC-Bahia, NC-1 e Rh-*Toxoplasma*, produzidos no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da Escola de Medicina Veterinária da UFBA. Do total de amostras de bovinos analisadas, verificou-se que 50,74% (412/812) e 70,20% (570/812) foram sororreagentes para *N. caninum* e *T. gondii*, respectivamente. Os títulos de anticorpos para *N. caninum* em bovinos variaram de 1:200 a 1:6400, sendo que 108 (26,21%) amostras de soro apresentaram título de 1:200; 132 (32,04%) 1:400; 94 (22,81%) 1:800; 46 (11,16%) 1:1600; 23 (5,58%) 1:3200 e nove (2,18%) com títulos de 1:6400. Enquanto que, para *T. gondii* variaram de 1:64 a 1:1024, sendo que 272 (47,72%) amostras apresentaram título de 1:64; 182 (31,93%) 1:128; 90 (15,79%) 1:256; 25 (4,39%) 1:512; e uma (0,17 %) com título de 1:1024. Nas amostras dos cães, verificou-se que 62,37% (58/93) e 79,57% (74/93) foram sororreagentes para *N. caninum* e *T. gondii*, respectivamente. Os títulos de anticorpos para *N. caninum* variaram de 1:50 a 1:1600, sendo quatro (6,90%) amostras com título de 1:50; nove (15,52%) de 1:100; oito (13,79%) 1:200; 18 (31,03%) 1:400; 14 (24,14%) 1:800 e cinco (8,62%) com título de 1:1600. Para *T. gondii* os títulos variaram de 1:32 a 1:2048, sendo seis (8,11%) amostras com título de 1:32; nove (12,16%) com 1:64; 14 (18,92%) 1:128; 22 (29,73%) 1:256; 13 (17,57%) 1:512; nove (12,16%) 1:1024 e uma (1,35%) de 1:2048. Não foi observada associação significativa ( $P>0,05$ ) entre o sexo dos animais e a soroprevalência para anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* nas duas espécies estudadas. As altas taxas de soropositividade encontradas para os referidos parasitos em bovinos e cães de todas as regiões, sugerem que há disseminação dos parasitos nas áreas estudadas.

## ABSTRACT

The protozoan *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* cause neurological and reproductive disorders in cattle, and neuromuscular changes in dogs. The bovine creation in the state Maranhão - Brazil represents a sector of the economy of high importance, however, the losses caused by parasitic diseases represent a serious problem for the development of livestock. The objective in the present study was to determine the prevalence of anti-*N. caninum* and anti-*T. gondii* antibodies in sera from dairy cattle and dogs of rural properties of three microrregions in the state of Maranhão. There were visited properties of dairy cattle, where collected blood samples from cattle (812) and dogs (93), of both sexes and different ages. Serum samples were packed in eppendorfs and stored at -20°C until the realization of the Indirect Immunofluorescence test (IFI). It was used the cut-off of 1:200 and 1:50 to anti-*N. caninum* and 1:64 and 1:16 for anti-*T. gondii* in cattle and dogs, respectively. It was used as antigen, tachyzoites of the strains NC-Bahia, NC-1 and Rh-*Toxoplasma*, produced in the Laboratory Diagnosis of Parasitism of Animals, School of Veterinary Medicine of the Federal University of the state of Bahia - Brazil. Of the total samples of cattle examined, it was found that 50.74% (412/812) and 70.20% (570/812) were seropositive for *N. caninum* and *T. gondii*, respectively. The titles of antibodies to *N. caninum* in cattle ranged from 1:200 to 1:6400, while 108 (26.21%) of serum samples showed title of 1:200; 132 (32.04%) 1:400; 94 (22.81%) 1:800; 46 (11.16%) 1:1600; 23 (5.58%) 1:3200 and nine (2.18%) with titers of 1:6400. While, for *T. gondii* ranged from 1:64 to 1:1024, while 272 (47.72%) samples showed title of 1:64; 182 (31.93%) 1:128; 90 (15.79%) 1:256; 25 (4.39%) 1:512 and one (0.17%) with title of 1:1024. In samples of dogs, it was found that 62.37% (58/93) and 79.57% (74/93) were seropositive for *N. caninum* and *T. gondii*, respectively. The titles of antibodies to *N. caninum* ranged from 1:50 to 1:1600, with four (6.90%) samples with title of 1:50; nine (15.52%) 1:100; eight (13.79%) 1:200; 18 (31.03%) 1:400; 14 (24.14%) of 1:800 and five (8.62%) with title of 1:1600. For *T. gondii* the titles ranged from 1:32 to 1:2048; six (8.11%) samples with title of 1:32; nine (12.16%) 1:64; 14 (18.92%) 1:128; 22 (29.73%) 1:256; 13 (17.57%) 1:512; nine (12.16%) with 1:1024 and a (1.35%) 1:2048. No significant association was found ( $P>0.05$ ) between the sex of the animals and seroprevalence for anti-*N. caninum* and anti-*T. gondii* in the two species studied. The high rates of seropositivity found for these parasites in cattle and dogs from all regions, suggest that there is spread of the parasites in the areas studied.

## 1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura é uma atividade largamente explorada no Brasil, tendo se expandido significativamente nas últimas décadas, visando à produção de carne, leite e pele, sendo considerada uma importante fonte protéica de origem animal para o ser humano, compondo-se de rebanho constituído por aproximadamente 204.512.737 animais (IBGE, 2006), representando um proeminente setor na economia do País com o maior efetivo da América e do mundo, o qual se coloca em posição de destaque devido à produção e exportação de carne. A região Nordeste é detentora de apenas 13,5% do efetivo nacional e, dentre os Estados, o Maranhão corresponde a 23,9% do rebanho nordestino.

Segundo dados da Pesquisa da Pecuária Municipal, o Brasil possui apenas 20,9 milhões de vacas ordenhadas, as quais produzem aproximadamente 25.398 bilhões de litros de leite/ano, sendo a média de produtividade de 1.200 litros/vaca/ano (IBGE, 2006). A região Nordeste é uma das menos representativas do Brasil com relação ao número de bovinos leiteiros, possuindo um efetivo de 3.709.683 cabeças. O rebanho do Maranhão possui 462.459 vacas ordenhas, com participação de 12,47 % em relação à região, representado na sua maior parte por animais oriundos de cruzamentos de raças, os quais constituem maioria no rebanho do País (IBGE, 2006).

Não obstante, este incremento na produção de bovinos leiteiros no Brasil precisa melhorar o que não foi observado, devido aos baixos índices reprodutivos e produtivos da pecuária que parecem pouco competitivos quando comparados com países desenvolvidos, pelos quais são responsabilizadas as enfermidades de origem parasitária e infecciosa (PELLEGRIN, 1999; 2002).

Dentre os fatores associados com o baixo desempenho e rentabilidade da pecuária bovina leiteira, podem ser destacados aqueles de origem parasitária, especialmente a neosporose, causada pelo protozoário do gênero *Neospora*, que assume grande relevância por causar distúrbios reprodutivos, como abortamento e mortalidade neonatal principalmente em rebanhos bovinos de aptidão leiteira, além de provocar alterações neurológicas em cães e também infectar outras espécies de animais domésticos e silvestres, diminuindo a eficiência reprodutiva e ocasionando sérios prejuízos econômicos, estando em particular relacionado a fatores nutricionais, higiênico-sanitários e genéticos (BJERKÅS et al., 1984; DUBEY et al., 1988a; DUBEY et al. 1999b; DUBEY e LINDSAY, 1996); ANDERSON et al., 2000; DUBEY, 2003; GONDIM, 2006).



A transmissão desse parasito acontece de forma vertical, considerada a mais importante em bovinos, no entanto, a horizontal ostenta papel também relevante devido à contaminação de água e alimentos fornecidos aos animais com oocistos eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos (McALLISTER et al., 1998; DAVISON et al., 1999a; LINDSAY et al., 1999; GONDIM et al., 2004a).

De acordo com a literatura, o *N. caninum* freqüentemente tem sido isolado em fetos de bovinos abortados, assim como as infecções em bovinos leiteiros são também comuns (GONDIM et al., 1999b); CORBELLINI et al., 2002; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2001; SADREBAZZAZ et al., 2004).

Além do parasito acima citado, outro que também pode provocar desordens da ordem reprodutiva é o *Toxoplasma gondii*, causador da toxoplasmose, considerada uma importante zoonose cosmopolita, acometendo várias espécies de animais homeotérmicos, incluindo o ser humano (DUBEY e BEATTIE, 1988; DUBEY, 1994; CARMAGO et al., 1995; GARCIA et al., 1999). A principal forma de adquirir a infecção é por meio da ingestão de oocisto do parasito presente nas fezes dos felídeos, contudo, outras vias já foram citadas na literatura, como a ingestão de leite não pasteurizado e o consumo de carne crua ou mal cozida (TENTER et al., 2000).

Vale ressaltar que as espécies *N. caninum* e *T. gondii* são muito semelhantes, fazendo parte do grupo dos protozoários, estando incluído no Filo Apicomplexa, Família Sarcocystiidae, subfamília Toxoplasmatinae, juntamente com outros gêneros de parasitos, tais como, *Hammondia*, *Sarcocystis*, *Besnoitia*, *Isospora* e *Frenkelia* (DUBEY et al., 1988a; ELLIS et al., 1994).

A elaboração de medidas de controle eficiente depende basicamente do conhecimento da epidemiologia dos protozoários em questão, permitindo o desenvolvimento de estratégias de controle que visem eliminar o parasitismo dos animais e, principalmente, prevenir as transmissões vertical e horizontal devido à contaminação do meio ambiente pelos hospedeiros definitivos, canídeos e felídeos (McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 1999; GONDIM et al., 2004a).

Atualmente não existem meios efetivos para o controle destas infecções, com isto, existe ainda a necessidade de mais conhecimento sobre os prejuízos econômicos causados à pecuária leiteira, aliado a pouca informação no que diz respeito à presença e a distribuição das mesmas no estado do Maranhão, bem como o aspecto de saúde pública da toxoplasmose, justificando assim a realização do presente estudo em municípios das microrregões de

Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense no estado do Maranhão.

Portanto, desenvolveu-se este trabalho com o objetivo de verificar a soroprevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros e cães naturalmente infectados, procedentes das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico, classificação e ciclos de transmissão do *N. caninum*

Os primeiros relatos de infecção pelo gênero *Neospora* foram na Noruega, em filhotes de uma cadela da raça Boxer, sendo encontrado e descrito como um coccídio formador de cistos e causador de encefalomielite e miosite, este com características muito semelhante ao *T. gondii* (BJERKÅS et al., 1984). Três anos depois foi relatado em um bezerro que apresentava sinais neurológicos após o nascimento, e que veio a óbito com cinco dias de vida, evento associado à infecção por protozoário, parecendo ser similar ultra-morfológicamente ao *T. gondii*, porém à análise do material, verificou-se ser negativo para anticorpos anti-*Toxoplasma* por meio da imunohistoquímica (O'TOOLE e JEFFREY, 1987). No mesmo ano, Parish et al. (1987) relataram a presença de cistos de um protozoário no tecido cerebral de quatro bezerros que apresentavam encefalomielite, contudo, a identificação do parasito não foi realizada.

Posteriormente, outros estudos foram realizados, observando-se que existiam diferenças morfológicas significativas entre o mesmo e *T. gondii* (BJERKÅS e PRESTHUS, 1988). A partir desse momento, novas descobertas e registros foram feitos por Dubey et al. (1988a) ao analisar tecidos de cães soronegativos para *T. gondii* e que vieram a óbito, encontrando uma espécie identificada taxonomicamente por *N. caninum* (DUBEY et al., 1988b).

De acordo com Dubey et al. (1988a), algumas características foram relevantes quando da identificação e diferenciação entre *N. caninum* e *T. gondii*, sendo que o primeiro induzia paralisia dos membros posteriores, o que não é usualmente encontrado em animais com toxoplasmose, além de que os cães nos quais foi encontrado o parasito apresentaram diagnóstico sorológico e imunohistoquímico negativos para *T. gondii*. Com o isolamento do *N. caninum* por meio de cultivo celular a partir de tecidos de cinco cães que apresentaram paralisia dos membros posteriores, foi possível à realização de métodos de imunodiagnósticos, que passariam a ser essenciais quando do diagnóstico diferencial entre os dois parasitos já citados (DUBEY et al., 1988b; LINDSAY e DUBEY, 1989; BJERKÅS e DUBEY, 1991).

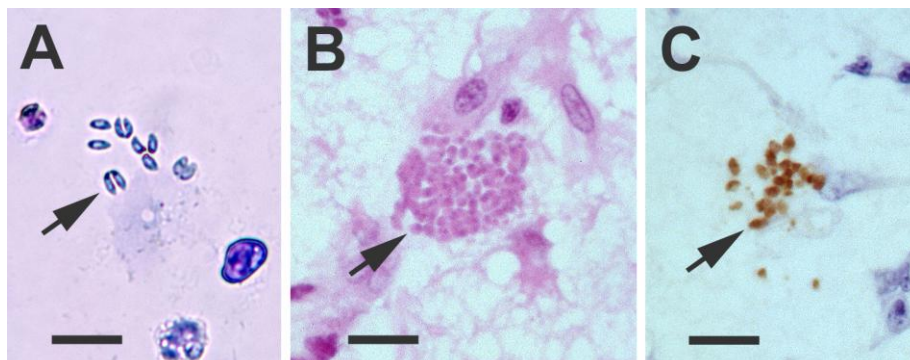
Desde então, o gênero *Neospora* passou a pertencer ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, ordem Eucoccidiida, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae, com duas espécies, *N. caninum* (DUBEY et al., 1988a) e *N. hughesi* (MARSH et al., 1998).

Segundo Dubey (2003) esse parasito, causador da neosporose, tem sido destacado como um coccídeo de importância mundial, por provocar abortamentos, perdas neonatais e alterações neurológicas em animais de produção e de companhia.

Vale ressaltar que ainda não existem relatos do potencial parasito infectar seres humanos. Contudo, Petersen et al. (1999) relataram que nenhum caso de infecção foi descrito no homem, porém a possibilidade de infecção em humanos não pode ser excluída devido ao fato de este organismo ter uma estreita relação filogenética com o *T. gondii*, além do amplo número de hospedeiros.

Tranas et al. (1999) estimaram a prevalência de 6,70% (69/1029) em soros humanos analisados para anticorpos IgG anti-*N. caninum* na diluição 1:100 pela técnica de Imunofluorescência Indireta, e destes, 72,50% (50/69) foram soronegativos para *T. gondii*. Na oportunidade, os autores relataram que possivelmente haveria suspeita da infecção no homem. Em estudo realizado em seres humanos, foi encontrada uma soropositividade de 38% e 18% em pacientes portadores do vírus da AIDS e alterações neurológicas, respectivamente, porém até o momento não há registro da enfermidade nessa espécie (LOBATO et al., 2006).

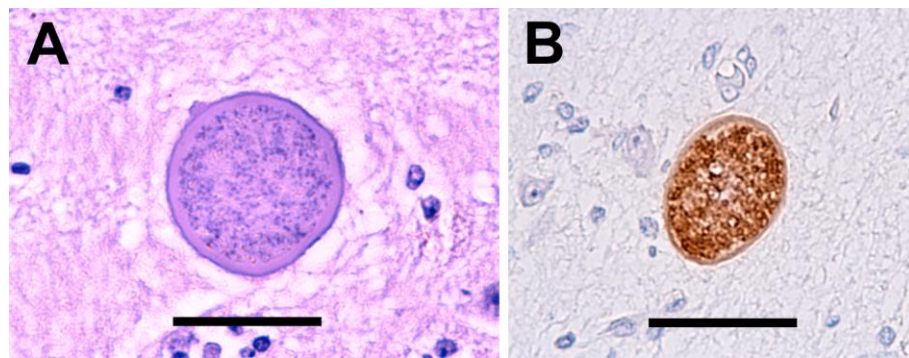
Vale mencionar que existem três estágios celulares do parasito que são: os taquizoítos, bradizoítos e os esporozoítos. Sendo os taquizoítos encontrados em células do sistema nervoso, macrófagos, células endoteliais vasculares, miócitos, células epiteliais tubulares renais, hepatócitos, coração, pulmões, rins, placenta e líquido amniótico e em outras células do corpo (Figura 1) (DUBEY e LINDSAY, 1996; DUBEY, 1999a; LINDSAY e DUBEY, 2000).



**Figura 1.** Taquizoítos de *Neospora caninum*. A - Obtidos de lavado peritoneal (coloração: Giemsa); B e C - Cérebro (coloração: hematoxilina e eosina, imuno-histoquímica (Cortesia: Gondim, L.F.P.).

Já os bradizoítos são observados em cistos teciduais, constituindo a forma de mutiplicação lenta do parasito, podendo estar presente tanto nos hospedeiros intermediários quanto nos definitivos, sendo encontrados nos tecidos do sistema nervoso central (Figura 2) (DUBEY e LINDSAY, 1996).

Por último, os oocistos que apresentam morfologia variável de esférica a sub-esférica, são eliminados não esporulados nas fezes dos cães e coiotes (Figura 3) (McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004c) os quais podem esporular entre dois e três dias depois, possuindo dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos (LINDSAY et al., 1999; BELLI et al., 2006), tornando-se infectantes para hospedeiros definitivos e intermediários, como no caso dos bovinos e outras espécies de animais que podem se infectar por via oral (De MAREZ et al., 1999).



**Figura 2.** Cistos contendo bradizoítos de *Neospora caninum* em cortes de cérebro. A – Coloração: hematoxilina e eosina. B - Imuno-histoquímica. (Cortesia: Gondim, L. F. P.). Barra: 50  $\mu$ m.



**Figura 3.** Oocistos de *Neospora caninum*. A - Oocisto não esporulado. B - Oocisto esporulado. (Cortesia: Gondim, L. F. P.). Barra: 10  $\mu$ m.

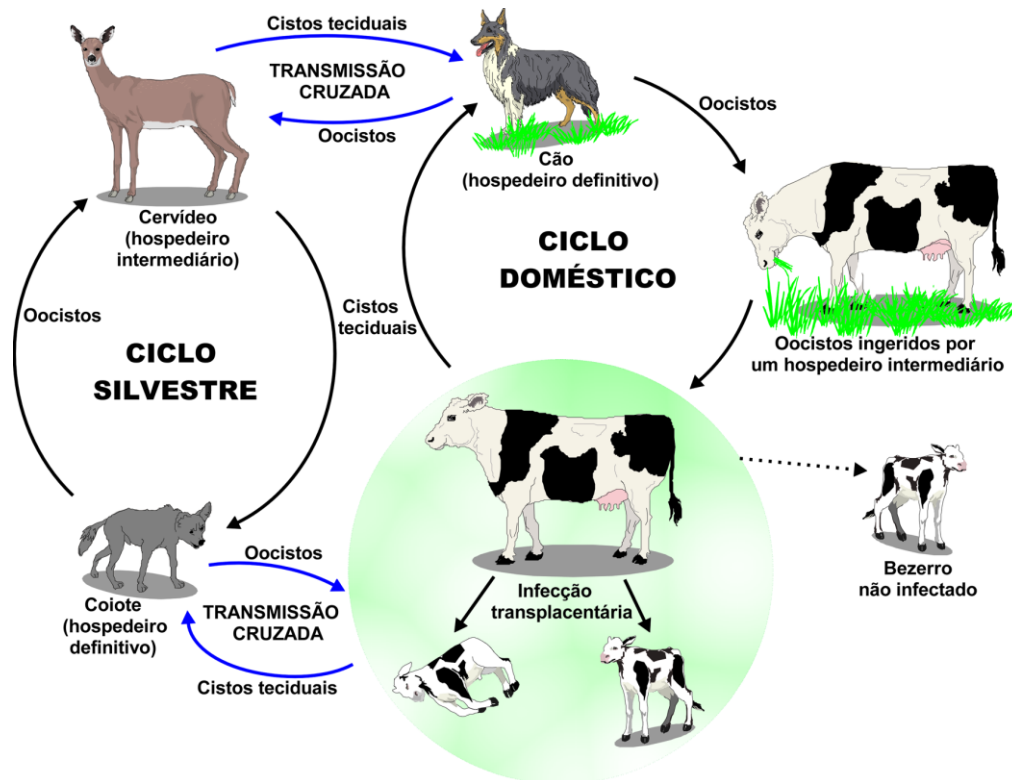
Alguns anos depois da identificação do parasito, por meio de estudos experimentais realizados por McAllister et al. (1998) e Lindsay et al. (1999) constatou-se ser o cão hospedeiro definitivo, após a ingestão de cistos teciduais, por eliminarem oocistos em suas fezes. Com isso, *N. caninum* passou a ser considerado um parasito que tem seu ciclo biológico heteroxeno obrigatório (Figura 4), possuindo uma grande variedade de espécies como hospedeiros intermediários, os quais já foram evidenciados tanto experimental quanto naturalmente (DUBEY, 1999a).

Na tentativa de descobrir outros hospedeiros definitivos do parasito, Gondim et al. (2004a), verificando a possibilidade de canídeos silvestres desempenharem essa função, forneceram tecidos de bovinos infectados a quatro filhotes de coiotes (*Canis latrans*), sendo posteriormente encontrados oocistos nas fezes de um dos animais e confirmado por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), portanto, assegurando ser esta espécie também hospedeiro definitivo, podendo participar da transmissão do parasito no meio silvestre (GONDIM et al., 2004c). Esta evidência veio a corroborar com o achado da presença do parasito em tecidos de um cervídeo (*Odocoileus hemionus columbianus*) encontrado morto nos Estados Unidos, demonstrando a existência de um ciclo silvestre do parasito, o que foi também confirmado em 2004 (Figura 4).

Dessa forma, até a presente data, os cães e coiotes são descritos como únicos hospedeiros definitivos uma vez que participam da fase sexuada do parasito eliminando oocistos no meio ambiente, sendo que os cães domésticos também desempenham papel de hospedeiros intermediários desenvolvendo sinais clínicos como alterações neurológicas (DUBEY et al., 1988b; McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2001; GONDIM et al., 2004a). Portanto, estudos epidemiológicos e também experimentais têm demonstrado serem os canídeos potenciais fator de risco aos bovinos por participarem da dinâmica de transmissão do referido parasito (BARTELS et al., 1999; GONDIM et al., 2002; OTRANTO et al., 2003).

Importante se faz ressaltar, segundo Speer (1999), que os três estágios do parasito são indiferenciados aos de *T. gondii*, logo, somente podem ser distinguidos por meio de análise de suas ultraestruturas. O mesmo autor relata que bradizoítos e taquizoítos dos dois parasitos possuem organelas e corpos de inclusão típicos de protozoários coccídeo do filo Apicomplexa.

Sabe-se que bovinos, pequenos ruminantes, búfalos e uma diversidade de espécies silvestres, são notificados como hospedeiros intermediários, participando da fase assexuada do coccídeo *N. caninum* (DUBEY, 2003; RODRIGUES et al., 2004; GONDIM et al., 2004b).



**Figura 4.** Ciclos de transmissão doméstico e silvestre do *Neospora caninum* incluindo as espécies animais que foram confirmadas experimentalmente (Cortesia: Gondim, Luis F. P.).

O isolamento desse parasito no Brasil foi realizado por Gondim et al. (2001), a partir de um cão que apresentava alterações neuromusculares, tais como, incoordenação motora e paresia dos membros posteriores, do qual foram encontrados cistos em tecidos de cérebro confirmados por meio da técnica de imunohistoquímica. Em seguida foram inoculados em gerbil para obtenção de cistos teciduais, mantendo-se o inóculo em cultivo celular, sendo identificada como a cepa NC-Bahia.

Existem dois tipos de transmissão do parasito que são: a vertical ou congênita e horizontal ou pós-natal; ambas exercem importantes funções na disseminação da infecção, especialmente em bovinos. A primeira, na qual a mãe passa a infecção para o feto por via placentária, é responsável pela manutenção da infecção nos rebanhos (BJORKMAN et al., 1996; WOUDA et al., 1998; GONDIM et al., 2004b), podendo causar abortamento ou bezerros nascerem clinicamente saudáveis (DUBEY et al., 1992; DUBEY e LINDSAY, 1996; ANDERSON et al., 1997; BARBER e TREES, 1998; DUBEY et al., 2006, HECKEROTH e TENTER, 2007).

Já a transmissão horizontal é também uma importante via, uma vez que se observa a forte associação entre a presença de cães e a ocorrência de neosporose em bovinos (McALLISTER, 1999; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004; CORBELLINI et al., 2006b). Logo, os cães podem infectar-se a partir da ingestão de restos placentários ou abortos que possuem o parasito e eliminarem oocistos no ambiente, onde esporulam e podem servir de fonte de infecção para os hospedeiros (McALLISTER, 1999; DUBEY, 2003; DUBEY et al., 2006).

Segundo Paré et al. (1998), Bartels et al. (1999), Mainar-Jaime et al. (1999) e Wouda et al. (1999), a presença de cães soropositivos em propriedades rurais tem uma forte correlação com a elevada taxa de soroprevalência em bovinos, logo a existência de cães nas fazendas pode ser um potencial fator de risco para a ocorrência da infecção em bovinos.

Dijkstra et al. (2001) verificaram que cães alimentados com placentas provenientes de vacas soropositivas para *N. caninum* eliminam oocistos nas fezes, confirmando que restos placentários constituem fontes de infecção, e que podem ocasionar infecção aos bovinos. Estudo realizado na Holanda em propriedades diagnosticadas para infecção tipo horizontal constataram a presença de cães que tinham acesso às instalações e também onde ficavam os animais (DIJKSTRA et al., 2002a).

Segundo Gondim et al. (2002), pode existir a transmissão cíclica entre cães e bovinos quando da ingestão de tecidos de bovinos infectados pelos cães, os quais passam a eliminar oocistos no meio ambiente e, conseqüentemente, passam a servir de fonte de contaminação outra vez aos bovinos.

Trabalhos realizados nos Estados Unidos e Reino Unido verificaram uma elevada possibilidade das fêmeas bovinas infectadas transmitirem o parasito às suas crias por via transplacentaria (PARÉ et al., 1996; THURMOND e HIETALA, 1997a; DAVISON et al. 1999a), sendo esta forma de transmissão responsável por manter o *N. caninum* nos rebanhos bovinos por diversas gerações.

### 2.1.1 Infecção por *N. caninum* em caninos e bovinos

Estudos têm demonstrado que a neosporose está difundida mundialmente, sendo diagnosticada em todos os continentes (ANDERSON et al., 2000; DUBEY et al., 2007b), entretanto, pouco se sabe a respeito do real prejuízo causado por esta enfermidade (ANDERSON et al., 1991; DUBEY, 2003). Contudo, pesquisas têm evidenciado uma



associação positiva entre neosporose bovina e canina (PARÉ et al., 1998; SAWADA et al., 1998; WOUDA et al., 1999).

Diversos estudos soroepidemiológicos foram realizados em cães de várias partes do mundo (BARBER et al., 1997; PATITUCCI et al., 2001; CRINGOLI et al., 2002; BASSO et al., 2001; ANTONY e WILLIAMSON, 2003; CAMPOS et al., 2003; CORNEJO et al., 2004; WANHA et al., 2005, PALAVICINI et al., 2007). No Brasil, foram detectados anticorpos anti-*N. caninum* em soros de cães nos estados da Bahia (JESUS et al., 2006), Maranhão (TEIXEIRA et al., 2006a; 2006b), Minas Gerais (MINEO et al., 2001; FERNANDES et al., 2004), Mato Grosso do Sul (OLIVEIRA et al., 2004), Paraíba (8,40%) (AZEVEDO et al., 2005), Paraná (SOUZA et al., 2002; ROMANELLI et al., 2007), Rondônia (CAÑÓN-FRANCO et al., 2003; AGUIAR et al., 2006) e São Paulo (VARANDAS et al., 2001; RACHED et al., 2001; GENNARI et al., 2002; CASSOL et al., 2005).

Trees et al. (1993) na Inglaterra, analisando amostras séricas de cães de população urbana, por meio da IFI, verificaram uma soroprevalência de 16,6% (27/163) para *N. caninum*, com títulos  $\geq 1:50$ , e observaram não haver predisposição em relação à raça. Não sendo observado associação ou diferença significativa entre a presença de anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii*.

Evidência sorológica de infecção por *Neospora* sp. em cães foi primeiramente descrita, usando IFI, por Barber et al. (1997) que incluíram populações caninas do Uruguai e ilhas Falkland em uma pesquisa realizada em 1554 soros de três continentes (África, América do Sul e Oceania).

Cringoli et al. (2002), no Sul da Itália, encontraram 6,4% dos cães soropositivos para presença de anticorpos anti-*N. caninum*, por meio da reação de imunofluorescência indireta, sendo que os títulos variaram de 1:50 a 1:3200.

A prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em cães de área urbana, de propriedades de bovinos leiteiros e fazendas de bovinos de corte da Nova Zelândia foi de 30,70%, 74,50% e 96,80, respectivamente (ANTONY e WILLIAMSON, 2003).

Segundo Horna et al. (2003), em pesquisa realizada com 142 cães dos distritos de Molinopampa e Leymebamba, detectaram uma soroprevalência de  $28,9 \pm 7,5\%$  do total de animais amostrados para *N. caninum*, sendo que  $34,9 \pm 11,8\%$  e  $24,1 \pm 9,4\%$  foram encontrados em cães dos dois distritos, respectivamente.

Em estudo realizado com soros de cães procedentes de propriedades leiteiras do Vale de Lima, no Peru, verificou-se que  $32,7 \pm 9,0\%$  (34/104) das amostras foram positivas para *N.*

*caninum*, com diluição  $\geq 1:50$ . Análises estatísticas dos resultados demonstraram não haver diferença significativa entre as variáveis idade e sexo (CAMPO et al., 2003).

Cornejo et al. (2004), estudando a presença de *N. caninum* em cães de propriedades leiteiras das províncias de Jauja, Concepción e Huancayo, no Vale do Mantaro, encontraram uma prevalência de  $19,4 \pm 7,0\%$  no ponto de corte de 1:50, usando teste de IFI. Sendo o percentual de propriedades com pelo menos um ou mais animais sororreagentes de 62,50% (15/24).

Wanha et al. (2005), trabalhando com cães da zona rural e urbana de Vienna, na Áustria, descobriram uma prevalência de 3,60% (63/1770) para *N. caninum*, com títulos variando de 1:50 a 1:6400, por meio da IFI. Sendo verificado uma diferença significativa ( $P = 0,017$ ) em relação a soropositividade dos cães de zona rural 5,31% (23/433) com os de área urbana (2,10%), ou seja, 2,5 vezes mais. De acordo com os autores também não foi observado diferença significativa entre machos (4,20%) e fêmeas (2,80%).

Amostras de soros de cães de propriedades rurais da Costa Rica foram examinadas por meio do teste de Elisa, sendo verificado uma frequência de 48,4% (15/31) dos animais sororreagentes para *N. caninum* (PALAVICINI et al., 2007).

Paradies et al. (2007) estudando a prevalência para *N. caninum* em cães e associando o fator de risco para bovinos, constataram que 20,9% dos cães estavam sororreagentes, sendo considerado estatisticamente significativo ( $p < 0,001$ ).

Gennari et al. (2002) diagnosticaram a ocorrência de anticorpos contra *N. caninum* em soros de cães da cidade de São Paulo-SP, sendo de 9,8% (49/500) para cães domiciliados e 24,71% (151/611) nos cães errantes, através do teste de aglutinação, com ponto de corte  $\geq 1:25$ . Os autores verificaram também que os cães errantes foram 2,5 vezes mais soropositivos do que os cães domiciliados, indicando que os mesmos têm maior possibilidade de se infectar com *N. caninum*.

Na cidade de Monte Negro, estado de Rondônia, Cañón-Franco et al. (2003), analisando 157 amostras de soros de cães, usando a reação de imunofluorescência indireta, constataram a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em 13 (8,30%) das amostras, com títulos de 1:50 até 1:3200.

Oliveira et al. (2004), trabalhando com cães urbanos da cidade de Campo Grande, MS, detectaram uma soroprevalência de 26,53% (65/245) para anticorpos anti-*N. caninum*, por meio da IFI. Contudo, as prevalências entre os diferentes distritos sanitários foram similares. Os mesmos autores observaram uma diferença estatística significativa em relação à faixa

etária cães adultos (31,38%) e jovens (10,52%). Enquanto, que em relação a variável sexo não foi verificado diferença estatística significativa.

Andreotti et al. (2004) relataram em estudo realizado com cães procedentes de Campo Grande, estado de Mato Grosso do Sul, uma soropositividade de 30% nos animais amostrados, por meio do teste de Elisa.

Em Uberlândia, estado de Minas Gerais, Fernandes et al. (2004) estudando a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em amostras séricas de cães de áreas urbana, periurbana e rural, também utilizando o teste de imunofluorescência indireta com ponto de corte de 1:50, diagnosticaram uma prevalência de 14% (63/450) de todas as amostras analisadas, onde 10,67% (32/300) dos cães eram de área urbana, 18,96% (11/58) da periurbana e 21,74% (20/92) dos cães de propriedades rurais eram sororreagentes. Sendo observado diferença estatística entre os animais de áreas urbana e rural ( $P = 0,01$ ). Também os mesmos autores verificaram que os títulos de anticorpos encontrados variaram de 1:50 a 1:3200.

De acordo com Hasegawa et al. (2004), a ocorrência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em cães que conviviam com bovinos de corte de oito propriedades rurais da região de Avaré, estado de São Paulo, foi de 58,97% (23/39) para a diluição de 1:50, sendo que os títulos variaram de 1:50 a 1:400.

Mineo et al. (2004), estudando a presença de anticorpos em cães errantes e cães atendidos em clínicas veterinárias, relataram uma soroprevalência de 9,20% para *N. caninum*, por meio do teste de Elisa.

Em pesquisa realizada com cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba, foi diagnosticado uma soroprevalência de 8,39% (24/286) para *N. caninum*, com títulos maior ou igual a 1:50, por meio da IFI (AZEVEDO et al., 2005). Enquanto, em estudos conduzidos por Cassol et al. (2005) com cães de área rural da região Nordeste do estado de São Paulo, observaram uma soropositividade de 4,0%, também por meio da IFI.

Jesus et al. (2006), em estudo realizado com soros de cães domiciliados e errantes das cidades de Salvador e Lauro de Freitas, estado da Bahia, encontraram uma freqüência de 13,30% (22/165) e 11,20% (28/250) das amostras para anticorpos anti-*N. caninum*, respectivamente.

No estado do Maranhão, anticorpos contra *N. caninum* foram detectados em cães errantes do município de São Luís – MA, com uma freqüência de 45% através da técnica de IFI, não havendo diferença significativa entre machos e fêmeas (TEIXEIRA et al., 2006a). Em outro estudo realizado com cães de propriedades rurais da região metropolitana de São

Luís – MA, foi encontrada uma freqüência de 61,76%, com títulos variando de 1:50 a 1:800 (TEIXEIRA et al., 2006b).

Aguiar et al. (2006), analisando amostras de soro de cães de propriedades rurais no estado de Rondônia, Oeste da Amazônia, também encontraram uma prevalência de anticorpos de 12,6% (21/174), por meio da IFI.

Romanelli et al. (2007), pesquisando a presença de anticorpos em cães de propriedades rurais (fazendas) da cidade de Guarapuava, estado do Paraná, diagnosticaram 29,17% (7/24) dos cães sororreagentes para anticorpos contra *N. caninum*. Das nove propriedades amostradas, cinco (55,56%) tinham cães soropositivos para *N. caninum* (título  $\geq$  1:50).

A primeira confirmação de infecção pelo *N. caninum* em bovinos foi feita por Thilsted e Dubey (1989), quando da investigação em uma propriedade de bovinos leiteiros cujas fêmeas apresentavam casos de abortos. Nesta espécie o abortamento é a evidência clínica observada em vacas infectadas, podendo ocorrer entre o quinto e o sexto mês de gestação, embora possam apresentar a partir do terceiro mês até o término da gestação (ANDERSON et al., 1991; DUBEY et al., 1999). De acordo com Anderson et al. (1991, 1995), a neosporose encontra-se amplamente difundida em rebanhos bovinos leiteiros da Califórnia, sendo apontada como uma das maiores causas de abortamento.

Estudos realizados por Thurmond et al. (1997), Dubey (1999) e Dubey (2003) destacaram ser a infecção por *N. caninum* uma das principais causas de abortamentos em bovinos em diversas partes do mundo, afetando tanto gado leiteiro quanto de corte, contudo o parasito parece ser mais patogênico para bovinos de leite, sendo caracterizada como cosmopolita (ANDERSON et al., 2000).

Os fetos infectados congenitamente podem morrer no útero e serem reabsorvidos, mumificados, autolisados, natimortos e bezeros infectados podem apresentar baixo peso ao nascer e distúrbios neurológicos, redução do reflexo patelar e propriocepção, bem como ocasionar o nascimento de animais clinicamente normais, mas cronicamente infectados, ou apresentarem distúrbios neurológicos como ataxia, exoftalmia, membro posterior ou anterior flexionado ou hiperextendido (DUBEY, 1999a, 1999b; GENNARI e SOUZA, 2002; FERRE et al., 2003).

A infecção por este parasito tem impacto econômico especialmente na produção bovina. Estudos retrospectivos realizados em vários países do mundo, inclusive no Brasil, em fetos de bovinos abortados ou natimortos, mostram esta doença como uma das principais causas de abortos em bovinos de leite, aumento do tempo de retorno ao serviço, infertilidade

ou tempo de concepção, redução da produção de gordura no leite e redução no valor dos animais (PFEIFFER et al., 1997; TREES et al., 1999).

Acomete bovinos de leite e corte, sendo mais freqüente em rebanhos leiteiros. Vários autores têm relatado a correlação entre a soroprevalência e a presença do aborto (DAVISON et al., 1999; MAINAR-JAIME et al., 1999). Vacas soropositivas ao *N. caninum* têm duas a três vezes mais chances de abortar do que àquelas com sorologia negativa (WALDNER et al., 1998; WOUDA et al., 1998; MAINAR-JAIME et al., 1999).

Barr et al. (1995), em estudo realizado com 74 fetos abortados com suposto diagnóstico de neosporose, através de achados histopatológicos ou confirmado por imunohistoquímica, registraram em 37 (50%) dos fetos positividade, com o título de 1:80 pela Imunofluorescência Indireta (IFI). Entretanto, Wouda et al. (1997) verificaram títulos de 1:25 pela IFI, em 65% dos fetos, cuja avaliação imunohistoquímica revelou-se positiva para *N. caninum*, demonstrando que em fetos títulos baixos pela IFI foram indicativos de infecção.

Estudos têm demonstrados que o parasito está amplamente distribuído pelo mundo, sendo estimada uma prevalência de 6% em bovinos leiteiros na Inglaterra e no País de Gales (DUBEY 1999a; TREES et al., 1998; DAVISON et al., 1999b). Pesquisas realizadas nos Estados Unidos diagnosticaram uma soroprevalência de 27,5% e 24% (DYER et al., 2000; SANDERSON et al., 2000).

Examinando amostras sanguíneas de 1121 bovinos leiteiros e 1712 animais de corte, Quintanilla-Gozalet al. (1990) diagnosticaram a presença de anticorpos anti-*N. caninum* com prevalências de 36,8% e 17,9%, respectivamente, por meio do ELISA.

Na Itália, Otranto et al. (2003), analisando a soroprevalência de neosporose em bovinos associada a fatores de risco, detectaram uma prevalência de 11,4% e 6,0% em bovinos de leite e corte, respectivamente, por meio do teste de ELISA.

Trabalho conduzido no Iran por Sadrebazaz et al. (2004) em bovinos de leite obtiveram prevalência de 15,18% (123/810) dos animais sororreagentes para *N. caninum* por meio da técnica de IFI, utilizando 1:200 como ponto de corte.

Kashiwazaki et al. (2004) em pesquisa soropidemiológica conduzida no Uruguai verificaram uma freqüência de 60% em vacas e 20% nos bezerros soropositivos para *N. caninum*, sendo considerado como infecção adquirida após o nascimento.

Koiwai et al. (2006), pesquisando anticorpos para *N. caninum* em bovinos leiteiros do Japão, estimaram uma soroprevalência de 5,7% (139/2420) usando o teste de IFI e com ponto de corte de 1:200, sugerindo que há infecção pelo parasito e está ocorrendo devido a transmissão vertical e horizontal.

Na República da China, Yu et al. (2006), estudando a presença de antiorpos anti-*N. caninum* em bovinos estimaram uma soroprevalência de 17,2% (45/262), sendo que 88,9% dos rebanhos apresentaram animais soropositivos para o parasito.

Importante se faz destacar que o primeiro relato da infecção por *N. caninum* na América Latina foi realizado na Argentina, sendo verificada soropositividade por meio da IFI em 51,5% de vacas leiteiras com histórico de abortos (VENTURINI et al., 1995).

Trabalho desenvolvido por Osawa et al. (2002) no Paraguai, verificaram uma soropositividade de 17,62% em bovinos de corte e 12,17% em bovinos de leite.

Pesquisa desenvolvida em bovinos leiteiros de Aguascalientes, México, García-Vázquez et al. (2002) obtiveram uma prevalência de 59,0% (110/187) dos animais (vacas holandesas) positivos para anticorpos anti-*N. caninum*, por meio do teste de ELISA, sendo a prevalência nos rebanhos de 100%. Estudo também realizado no México com fêmeas bovinas foi estimada uma soroprevalência de 42%, sendo observada associação com casos de abortos (GARCÍA-ÁZQUEZ et al., 2005).

No Brasil, existem poucas informações sobre a real situação epidemiológica da neosporose bovina, tendo sido relatados a ocorrência de anticorpos contra *N. caninum*, com frequências que variam de 7,60% a 67,80%, em soros de rebanhos bovinos leiteiros e de corte nos estados de São Paulo (BELO et al., 1999; SARTOR et al., 1999; COSTA et al., 2001; CASSOL et al., 2005), Mato Grosso do Sul (BRAUTIGAM et al., 1996; ANDREOTTI et al., 1999), Paraná, (OGAWA, 2000), Bahia (GONDIM et al., 1999) e Pernambuco (SILVA et al., 2002), porém em levantamentos sorológicos nem sempre é possível fazer comparações entre os estudos.

Na região Nordeste do Brasil, Gondim et al. (1999a, 1999b) registraram ocorrência de neosporose bovina no estado da Bahia em uma propriedade que apresentava surto de abortos, onde posteriormente foi realizado um estudo de soroprevalência por meio da técnica de Imunofluorescência Indireta, com soros de 447 fêmeas procedentes de 14 propriedades, a fim de determinar a presença de anticorpos IgG anti-*N. caninum*, sendo encontrado em 14,09% (63) das amostras analisadas e em 92,86% (13) dos rebanhos (GONDIM et al., 1999; GONDIM et al., 1999a).

Também no Nordeste do País, Silva et al. (2002) analisando amostras de soro de fêmeas bovinas de diferentes raças e idades variadas do município de Gravatá, estado de Pernambuco, obtiveram uma frequência de 34,75% (163/469) das amostras positivas. No estado do Maranhão, Teixeira et al. (2005), pesquisando a presença de anticorpos IgG anti-*N.*

*caninum* em amostras de soros de bovinos leiteiros procedentes de 21 propriedades rurais da Ilha de São Luís, encontraram uma prevalência de 33,44% (103/308).

No Norte do País, Minervino et al. (2008), pesquisando anticorpos contra o parasito em soros de bovinos do município de Santarém – Pará, encontraram uma prevalência de 17,5% em gado de leite e 19,2% em bovinos de corte, por meio da IFI utilizando como ponto de corte 1:100. Aguiar et al. (2006), examinando amostras de soros de bovinos de propriedades de leite, corte e mista, detectaram uma prevalência de 11,2%, 9,5% e 9,7% reagentes para anticorpos anti-*N. caninum*, respectivamente.

Vários estudos foram realizados na região Sul do País, sendo que Ogawa et al. (2005) encontraram no estado do Paraná uma frequência de anticorpos de 12% (45/385) em soros de bovinos leiteiros pertencentes a 90 propriedades.

Guimarães Júnior (2002), analisando amostras de soro bovino procedentes do Norte do estado do Paraná, estimou prevalências de 21,54% e 12,10% quando analisadas pela RIFI e pelo Teste de Aglutinação (NAT), respectivamente. Na mesma região, foi diagnosticado uma prevalência de 14,3% em 623 vacas leiteiras, pertencentes a 23 propriedades, sendo que 21 rebanhos (91,3%) apresentaram pelo menos um animal positivo com a frequência entre rebanhos variando de 2,9 a 32,1% (GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004). Enquanto, Locatelli-Dittrich et al. (2001) pesquisando em vacas leiteiras com histórico de aborto, detectaram uma soropositividade de 34,8% (60/172), onde na mesma região foi possível o isolamento do parasito de cérebro de um feto de sete meses de idade, cuja mãe tinha histórico de três abortos consecutivos e era soropositiva (LOCATELLI-DITTRICH, 2004).

Ainda na mesma região, no estado do Rio Grande do Sul, Corbellini et al. (2002), estudando cinco propriedades leiteiras onde foram amostradas 223 vacas, obtiveram uma positividade de 11,2% (25/223) por meio do teste de IFI, sendo que em todas as propriedades foi observado pelo menos um animal positivo. Já Vogel et al. (2006) relataram a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em 11,4% (89/781) das amostras de bovinos pertencentes a 55 propriedades, localizadas em 16 municípios, sendo verificado animais soropositivos em todos os municípios.

No estado de São Paulo, varias pesquisas foram realizadas: Pituco et al. (1998), trabalhando com soro de 102 fêmeas, proveniente de rebanhos com histórico de abortamento, relataram uma frequência de 34,3% (35/102) por meio do Elisa. Enquanto, Stobbe (1999) utilizando 188 vacas primíparas, com ou sem histórico de abortamento verificou soropositividade em 69 (36,7%) oriundas de 27 rebanhos leiteiros localizados na região Noroeste. Sartor et al. (1999) detectaram em 521 fêmeas bovinas do estado de São Paulo, uma

alta prevalência, utilizando técnicas diferentes nas mesmas amostras de soros, sendo estimado 16,30% quando analisadas pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e 30,13% pelo Ensaio Imuno Enzimático (ELISA).

Costa et al. (2001) verificaram a presença de anticorpos em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais, apresentando uma frequência de 16,83% para *N. caninum*, por meio do teste de IFI com ponto de corte de 1:200.

Sartor et al. (2003) analisando amostras de soros de bovinos leiteiros do município de Avaré, estado de São Paulo, por meio da IFI, diagnosticaram 15,9% reagentes para *N. caninum* nas diluições que variaram de 1:200 a 1:1600, sendo que, quando examinadas pelo teste de ELISA foi encontrado 30,5%. Já Hasegawa et al. (2004) ao estudar a presença de anticorpos contra o parasito em soros de bovinos de corte, da região de Avaré, estado de São Paulo, encontraram uma positividade de 15,57% (121/777) nos soros analisados.

Cassol et al. (2005) ao analisarem presença de anticorpos contra *N. caninum* em bovinos leiteiros da região Nordeste do estado de São Paulo, encontraram um percentual de 6,27% dos animais sororreagentes, por meio da IFI com ponto de corte de 1:200.

Na região de Presidente Prudente também no estado de São Paulo, Sarotor et al. (2005) examinaram soros sanguíneos de bovinos leiteiros (n = 408) e de corte (n = 505), por meio do teste imunoenzimático (ELISA), e verificaram presença de anticorpos anti-*N. caninum* em 35,54% dos animais de aptidão leiteira e 20,00% nos de corte, apresentando diferença significativa em rebanhos de leite.

Avaliando a frequência de anticorpos para *N. caninum* em 584 animais de aptidão leiteira, pertencentes a 18 rebanhos localizados em 14 municípios do estado de Minas Gerais, Melo et al. (2001) estimaram uma frequência de 18,66% animais soropositivos, distribuídos entre vacas, novilhas e bezerros, cuja positividade nos rebanhos variou de 3,7% a 72,72%.

No estado do Rio de Janeiro Munhoz (2004), relatou a presença de anticorpos em 25,74% dos animais da região de Resende e 20,38% nos animais do município de Rio Claro, demonstrando haver exposição de fêmeas bovinas ao agente etiológico *N. caninum*.

Alguns estudos conduzidos no Brasil, são realizados com amostras procedentes de vários estados, como é o caso do citado por Ragozo et al. (2003), que ao analisarem soros de bovinos de leiteiro e corte de seis estados brasileiros, diagnosticaram uma frequência de 23,68%, sendo verificado maior percentual de positividade em animais com mais de dois anos. Enquanto, Andreotti et al. (2002), examinado soros de bovinos de corte, encontraram uma frequência de 17,4% nos animais oriundos do estado de Goiás; 16,6% no Mato Grosso do Sul; 41,6% em São Paulo e de 30% na região do Pantanal (ANDREOTTI et al., 2004).



## 2.2 Histórico, classificação e ciclo de transmissão do *Toxoplasma gondii*

O *Toxoplasma gondii* foi identificado e reportado pela primeira vez em 1908 em uma espécie de roedor (*Ctenodactylus gundi*) no Norte da África (NICOLLE e MANCEAUX, 1908; BLACK e BOOTHROYD, 2000), tendo como hospedeiros definitivos os felídeos, sendo o gato doméstico, o mais importante na cadeia epidemiológica uma vez que elimina oocistos pelas fezes. Estes contaminam o meio ambiente, água e alimentos, permitindo a ingestão por outros animais ou pelo próprio ser humano (DUBEY, 1994).

Esse agente é um protozoário coccídeo intestinal intracelular obrigatório, da família *Sarcocystidae*, subfamília *Toxoplasmatinae* (TENTER e JOHNSON, 1997), gênero *Toxoplasma* (DUBEY, 1994), tendo os felídeos como hospedeiros definitivos, sendo o gato doméstico principalmente, devido eliminar oocistos em suas fezes (FRENKEL et al., 1970; COURA, 1999), estando presente em todo o mundo (cosmopolita) e acometendo várias espécies de animais que participam como hospedeiros intermediários, tais como mamíferos, aves, répteis, peixes e anfíbios (FRENKEL et al., 1970).

O ciclo de vida do parasito se alterna entre um hospedeiro intermediário definido como hospedeiro dos estágios assexuados, podendo ser mamíferos ou aves, e um hospedeiro definitivo que são felídeos que albergam os estágios sexuados (TENTER e JOHNSON, 1997).

De acordo com Guimarães et al. (1992) os cães errantes possuem elevada receptividade ao toxoplasma, possivelmente devido ao hábito alimentar que facilita a ingestão de tecidos contaminados com cistos, bem como pelo costume natural de estar sempre farejando, estando em maior contato com solos que podem conter oocistos esporulados.

Segundo Lindsay et al. (1997) os cães podem ser veiculadores da disseminação de oocistos do *T. gondii* por meio da transmissão mecânica, já que após administração por via oral de oocistos do parasito contidos em fezes de gatos, foi constatado que estes podiam eliminá-los através das suas fezes de forma viável, demonstrando ser esta possibilidade de grande importância na cadeia epidemiológica uma vez que esta espécie animal encontra-se presente em todo o mundo.

Dessa forma, tem-se conhecimento que a principal via de infecção do agente é a oral, através da ingestão de alimentos contaminados com oocistos, bradizoítos ou taquizoítos do parasito, onde os cães de rua e várias espécies de animais estão sujeitos à ingestão de água, alimentos e até mesmo de carne crua ou mal cozida de animais que possam estar infectados. Contudo, a literatura destaca que a infecção nos animais e seres humanos pode acontecer

também por meio da transmissão transplacentária, transfusões sanguíneas, assim como transplantes de órgãos, porém menos frequentes segundo Dubey (1994, 1996).

### 2.2.1 Infecção por *T. gondii* em caninos e bovinos

A toxoplasmose, zoonose cosmopolita, é responsável por causar abortamentos em pequenos ruminantes (MASALA et al., 2003), no entanto, em bovinos parece normalmente não causar sinais clínicos da doença (KLUN et al., 2006), o que justifica poucos trabalhos realizados com essa espécie. Contudo, por ser um importante agente zoonótico tornam-se necessários estudos sobre a epidemiologia, uma vez que mais de um terço da população humana mundial possui anticorpos para o referido coccídio (FRENKEL, 1990; NOWAKOWSKA et al., 2006). Na espécie humana, o parasito representa sério risco às gestantes, sendo responsável por casos de abortamento e, quando isto não ocorre, são frequentes os óbitos logo após o nascimento ou a ocorrência de problemas oftálmicos e neurológicos.

A presença de anticorpos para *T. gondii* em cães já foi descrita em vários estudos realizados em diferentes partes do mundo, com prevalências variando entre 20 a 91% (CABRAL et al., 1998; MINEO et al., 2001; DUBEY et al., 2007b), e inclusive no Brasil. O primeiro registro na espécie canina ocorreu em 1910, na Itália e, no Brasil, em 1911 (VIDOTTO, 1992). Alguns estudos destacam ser a espécie canina importante como sentinela da presença do parasito no ambiente. Segundo Germano et al. (1985), a infecção da população canina de uma determinada área pode significar que a mesma representa um nicho ecológico para o parasito, sendo um risco à população humana (GERMANO et al., 1985).

Estudo soropidemiológico realizado por Wanha et al. (2005), pesquisando presença de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de cães da zona rural e urbana de Vienna, relataram uma soroprevalência de 26% (62/242) nos animais estudados.

Dubey et al. (2007a), pesquisando anticorpos para *T. gondii* em soros de cães do Sri Lanka, por meio de teste de aglutinação modificado, determinaram uma prevalência de 67,44% (58/86), com títulos variando de 1:20 a 1:1280.

No Brasil, a infecção por *T. gondii* foi determinada por meio de inquéritos soropidemiológicos em cães já relatada nos estados da Bahia (BARBOSA et al., 2003), Minas Gerais (GUIMARÃES et al. 1992; CABRAL et al., 1998; MINEO et al., 2001; FERNANDES et al., 2004; MINEO et al. 2004), Paraíba (AZEVEDO et al., 2005), Paraná

(FREIRE et al., 1992; NAVARRO et al., 1997; GARCIA et al., 1999; ROMANELLI et al. 2007), São Paulo (GERMANO et al., 1985; DOMINGUZ et al., 1998; LANGONI et al., 2000; RACHED et al., 2001; GENNARI et al., 2002; SOUSA et al. 2003; CASSOL et al., 2005), Rio Grande do Sul (SCALCO et al., 2000) e Rondônia (CAÑÓN-FRANCO et al., 2003).

Em inquérito sorológico realizado com 657 amostras de cães da cidade de Campinas, estado de São Paulo, utilizando como teste de análise a IFI para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, foi diagnosticada uma prevalência de 91% de positividade, considerado-se positivo na diluição de 1:16, não apresentando diferenças significativas quanto ao sexo e idade. GERMANO et al. (1985).

No estado de Minas Gerais, Guimarães et al. (1992), estudando a frequência de cães atendidos no Hospital Veterinário da UFMG soropositivos para anticorpos anti-*T. gondii*, por meio da IFI, relataram que das 243 amostras de soros analisadas foi observado positividade de 47,3%, sendo que do total de animais positivos 54,3% apresentaram título de 1:16, 30,7% com título de 1:64 e 9,6% tinham título de 1:256, verificando-se também maior número de animais positivos (62%) na faixa etária de dois a cinco anos.

Freire et al. (1992) diagnosticaram a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em 254 amostras de soro de cães coletados no Hospital Veterinário de Londrina, Paraná, detectando uma frequência de 75,98% de positividade nas amostras analisadas, sendo que o ponto corte de 1:16, utilizando também a RIFI.

Navarro et al. (1997) estudaram 312 amostras de plasma de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina, estado do Paraná, observando frequência de 23,40% de animais positivos, existindo diferenças estatísticas significativas em relação à raça e idade dos animais, contudo, não houve diferença quanto ao sexo.

Dominguez et al. (1998), pesquisando anticorpos IgG anti-*T. gondii* em 276 amostras sanguíneas de cães do município de Jaboticabal - SP, detectaram que 46,01% (127) dos animais amostrados foram positivos pela técnica de IFI.

Estudo conduzido com o objetivo de pesquisar anticorpos anti-*Leishmania* sp., anti-*Trypanosoma* sp. e anti-*T. gondii* no soro de 327 cães procedentes de área rural do município de Uberlândia, Minas Gerais, obtiveram uma prevalência de 55% dos animais sororreagentes para anticorpos IgG anti-*T. gondii*, por meio da técnica de IFI (CABRAL et al., 1998).

Garcia et al. (1999), estudando a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã - Paraná, considerando reagentes títulos  $\geq$  1:16, por meio da IFI, observaram um soropositividade de 84,1% (159/189) das amostras testadas,

com títulos variando de 1:16 a 1:4096, não sendo verificada associação significativa em relação a variável sexo, porém a menor prevalência ocorreu em animais com menos de oito meses de idade.

Langoni et al. (2000), realizando inquérito sorológico para presença anticorpos IgG anti-*T. gondii*, em 114 amostras sanguíneas de cães, por meio da IFI, estimaram uma frequência de 39,6% de positividade, não havendo associações significativas em relação ao sexo, raça, contato com gatos e hábitos alimentares.

Segundo Souza et al. (2003), a soroprevalência de cães de propriedades bovinas leiteiras da zona rural da região Norte do estado do Paraná e de zona urbana do estado de São Paulo, foi de 34,33% (46/134) e 19,73% (219 /1110) para anticorpos anti-*T. gondii*, respectivamente.

Na região Nordeste do País, Barbosa et al. (2003), encontraram uma prevalência de 63,55% para *T. gondii* em cães errantes da cidade de Salvador-Bahia, também por meio da RIFI. Também em estudo com cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba, foi determinada uma prevalência de 45,10% (129/286) para *T. gondii*, onde foram considerado positivos aqueles com títulos  $\geq 1:16$ . Já a presença simultânea de anticorpos nas amostras analisadas para os parasitos estudados foi de 4,89% (14/286) (AZEVEDO et al., 2005).

Mineo et al. (2004), estudando a presença de anticorpos em cães errantes e cães atendidos em clínicas veterinárias no estado de Minas Gerais, relataram uma soroprevalência de 30,30% para *T. gondii*, por meio do teste de Elisa. Observaram também que o grupo de cães errantes apresentou uma maior taxa de positividade para o parasito estudado, sendo que os altos valores encontrados parecem ser fortemente influenciados pela origem dos animais e condições de vida.

Cassol et al. (2005), no estado de São Paulo, analisando amostras de soros de cães para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* constataram que 36% apresentaram reações positivas para infecção toxoplásmica.

Romanelli et al. (2007), verificando a presença de anticorpos em cães de propriedades rurais (fazendas) da cidade de Guarapuava, estado do Paraná, diagnosticaram 20,83% (5/24) para anticorpos anti-*T. gondii*. Sendo que do total de nove propriedades amostradas, cinco (55,56%) tinham cães soropositivos com título  $\geq 1:16$ .

São relativamente escassos os estudos sobre a infecção por *T. gondii* em bovinos, apesar da ampla distribuição do parasito, particularmente no Brasil onde pouco se conhece da condição epidemiológica da toxoplasmose (MORÉ et al., 2007).

Pesquisa realizada em bovinos leiteiros e búfalas da região Sudeste do Vietnã para determinação de anticorpos anti-*T. gondii* constataram que 10,5% e 3,0% dos animais foram soropositivos, respectivamente (HUONG et al., 1998).

Yu et al. (2006), na República da China, conduziram estudos sorológicos em 262 amostras sanguíneas de bovinos leiteiros, a fim de determinar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* por meio de teste comercial de aglutinação indireto, obtiveram um valor de 2,3%.

Estudos sorológicos em bovinos no Brasil para anticorpos anti-*T. gondii* foram realizados nos estados da Bahia (GONDIM et al., 1999), Minas Gerais (COSTA e COSTA, 1978; COSTA et al., 2001), Pernambuco (SILVA, 2003), no Paraná (MARANA et al., 1995; GARCIA et al., 1999; DAGUER et al., 2004; OGAWA et al., 2005), Rio de Janeiro (ALBUQUERQUE et al., 2005), São Paulo (COSTA et al., 1978; COSTA et al., 2001; CASSOL et al., 2005).

No Brasil, Costa e Costa (1978) pesquisando presença de anticorpos contra *T. gondii* em soros de bovinos leiteiros pertencentes a propriedades rurais dos municípios de Botelhos e Poços de Caldas, estado de Minas Gerais, estimaram uma frequência de 12%, por meio da IFI, sendo que os títulos de anticorpos variaram de 1:64 a 1:1024.

Estudando a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos e seres humanos de propriedades rurais do estado do Paraná, Garcia et al. (1999), estimaram prevalência de 25,8% do total de animais examinados, por meio da reação de IFI.

Na região Nordeste do Brasil, Gondim et al. (1999), realizando pesquisa sorológica para anticorpos anti-*T. gondii* em 194 bovinos, por meio do teste de aglutinação em látex com diluição de 1:64, verificaram um percentual de 1,03% dos animais positivos. Silva et al. (2002), também no Nordeste, analisando amostras de soro de fêmeas bovinas de diferentes raças e idades variadas do município de Gravatá, Agreste do estado de Pernambuco, encontraram uma frequência de 2,60% (12/469) das amostras positivas.

Costa et al. (2001) examinaram 600 amostras de soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais para detecção de anticorpos por meio da IFI, verificando frequência de 49,17%. Os autores relataram que em todos os municípios analisados foi detectada a presença de animais soropositivos.

Em estudo epidemiológico realizado com bovinos de oito municípios do estado de São Paulo, Cassol et al. (2005) verificaram que 34,8% dos animais foram sororreagentes para anti-*T. gondii*.

Daguer et al. (2004) conduziram estudos utilizando a IFI e analisaram 348 amostras de soros de bovinos de matadouros da microrregião de Pato Branco – Paraná, verificando 41,4% das amostras reagentes para anticorpos anti-*T. gondii*, tendo como ponto de corte 1:64. Já Ogawa et al. (2005) pesquisando a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos de leite da região Norte do estado do Paraná, examinando 385 amostras pertencentes a 90 propriedades de 12 municípios, encontraram uma frequência de 26% sororreagentes.

Albuquerque et al. (2005), analisando amostras de soros de bovinos leiteiros do Vale do Paraíba Sul Fluminense, no estado do Rio de Janeiro, estimaram uma prevalência de 14,8% utilizando a IFI e tendo como ponto de corte 1:64. Os mesmos autores observaram que em relação aos municípios estudados, 15,3% (48/314) dos animais positivos eram de Resende e 14,2% (39/275) de Rio Claro.

### **2.3 Diagnóstico do *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii***

O diagnóstico diferencial destas protozooses com outras enfermidades de caráter infeccioso é considerado bastante complexo uma vez que os sinais clínicos são semelhantes. No entanto, com o isolamento dos parasitos foram desenvolvidos testes de imunodiagnósticos, já que estes necessitam de antígeno para suas padronizações. Com isso, várias técnicas de diagnóstico têm sido empregadas no estudo da neosporose e toxoplasmose, a exemplo dos testes sorológicos, histopatológicos, imunohistoquímicos e moleculares.

Neste contexto, os testes sorológicos são os mais utilizados para diagnosticar anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii*, quando de uma possível causa de abortamento ou mesmo na seleção dos bovinos para compra e venda, assim como para determinar a prevalência em rebanhos e regiões. Atualmente, os testes mais utilizados são: imunofluorescência indireta (IFI), o teste de aglutinação direta (NAT), ensaios imunoenzimáticos de adsorção em fase sólida (ELISA) e o “Western blots” (CAMARGO, 1964; BJORKMAN e UGGLA, 1999; ATKINSON et al., 2000).

A detecção de anticorpos específicos para *N. caninum* e *T. gondii* é um importante instrumento para avaliar a exposição dos animais aos protozoários, assim como verificar possíveis riscos de ocorrência das doenças (HEMPHILL et al., 1999). Por outro lado, a identificação de lesões típicas presentes nos tecidos dos hospedeiros é fundamental para o diagnóstico conclusivo das parasitoses (DUBEY et al., 2006).

Tratando-se de confiabilidade e praticidade, o teste sorológico possui vantagens devido a sua utilização *ante mortem* ou *post mortem*, além do diagnóstico possibilitar a

diferenciação entre infecções agudas e crônicas dentro dos rebanhos (INNES et al., 2005; DUBEY et al., 2007b). Sendo assim, a técnica bastante utilizada para a detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* é a Imunofluorescência Indireta (IFI), a qual é tida como padrão ouro para diagnóstico dos protozoários em questão (DUBEY et al., 1988; CAMARGO, 1964; ANDERSON et al., 2000). Portanto, o uso de taquizoítos intactos, assim como a não possibilidade de reações cruzadas, faz com que a IFI se destaque como técnica de eleição para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* (BJORKMAN e UGGLA, 1999).

#### **2.4 Controle e profilaxia da neosporose e toxoplasmose**

Para prevenir ou minimizar as perdas na produção pecuária ocasionadas pelos protozoários, especificadamente *N. caninum* e *T. gondii*, têm-se empregado, quase que exclusivamente, o uso de medidas relacionadas ao manejo dos animais, uma vez que não existe até o momento tratamentos e vacinas eficientes para se combater estas parasitoses, desta forma medidas de controle e profilaxia fundamentados nos aspectos epidemiológicos conhecidos são realizadas com a finalidade de evitar a disseminação da doença. Dijkstra et al. (2002b), recomendaram que cães não devam ter acesso às instalações, à fonte de água ou alimentos fornecidos aos animais, a fim de evitar uma possível contaminação, por meio de suas fezes.

Basso et al. (2001) e Dijkstra et al. (2001) relataram que deve ser impedida a ingestão de placentas, carcaças e alimentação como carne crua ou mal cozida pelos cães. Outros autores, Tress et al. (1999), destacaram ser a transmissão horizontal uma via ainda pouco comprovada entre fêmeas bovinas, entretanto, alguns têm indicado o descartes das fêmeas positivas, devido a forte participação na transmissão vertical.

Em relação à toxoplasmose, devem ser adotadas medidas no sentido de que a infecção de cães e gatos seja controlada através da escolha da alimentação destes animais, não permitindo o consumo de carne crua ou mal-cozida, prevenindo assim a exposição a cistos teciduais. Estes animais devem ser mantidos domiciliados e bem alimentados, prevenindo que venham a caçar roedores e aves que possam estar infectados. A educação da população, em geral é considerada uma simples e potente forma para o controle da toxoplasmose (LEIGHTY, 1990).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, G.R.; MUNHOZ, A.A.; FLAUSINO, W.; SILVA, R.T.; ALMEIDA, C.R.R.; MEDEIROS, S.M.; LOPES, C.W.G. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros do Vale do Paraíba Sul Fluminense, estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 3, p. 125-128, 2005.

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; RODRIGUES, A.A.R.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 71-77, 2006.

ANDERSON, M.L.; ANDRIANARIVO, A.G.; CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v.2, n. 60-61, p. 417-431, 2000.

ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C. Neospora-like protozoan infections as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, p. 241-244, 1991.

ANDERSON, M.L.; PALMER, C.W.; THURMOND, M.C.; PICANSO, J.P.; BLANCHARD, P.C.; BREITMEYER, R.E.; LAYTON, A.W.; McALLISTER, M.M.; DAFT, B.M.; KINDE, H.; READ, D.H.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A.; BARR, B.C. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 207, n. 9, p. 1206-1210, 1995.

ANDERSON, M.L.; REYNOLDS, J.P.; ROWE, J.D.; SVERLOW, K.W.; PACKHAM, A.E.; BARR, B.C.; CONRAD, P.A. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. infection in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, n. 8, p. 1169-1172. 1997.

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.D.; PIRES, P.P.; SILVA, E.A.R. Sorologia anti-*Neospora caninum* em gado de corte e em cães no Estado do 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.



ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.D.; PIRES, P.P.; SILVA, E.A. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, Center-Wester Region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 3, p. 129-131, 2004.

ATKINSON, R.A.; HARPER, P.A.W.; REICHEL, M.P.; ELLIS, J.T. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today**, v. 16, n. 3, p. 110-114, 2000.

ANTONY, A.; WILLIAMSON, N.B. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 51, n. 5, p. 232-237, 2003.

AZEVEDO, S.S.; BATISTA, C.S.A.; VASCONCELLOS, S.A.; AGUIAR, D.M.; RAGOZO, A.M.A.; RODRIGUES, A.A.R.; ALVES, C.J.; GENNARI, S.M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 79, n. 1, p. 51-56, 2005.

BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; SVERLOW, K.W.; CONRAD, P.A. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. **Veterinary Record**, v. 137, n. 24, p. 611-613, 1995.

BARBER, J.S.; GASSER, R.B.; ELLIS, J.; REICHEL, M.P.; McMILLAN, D.; TREES, A.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 6, p. 1056-1058, 1997.

BARBER, J.S.; TREES, A.J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **International Journal Parasitology**, v. 28, n.1, p.57-64, 1998.

BARBOSA, M.V.F.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P.; REGIS, G.B. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães errantes da cidade de Salvador-Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 457-465, 2003.

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.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M.C.; HILL, D.E.; KWOK, O.C.; SHEN, S.K. DUBEY, J.P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 3, p. 612-618, 2001.

BELLI, S.I.; SMITH, N.C.; FERGUSON, D.J. The coccidian oocyst: a tough nut to crack! **Trends Parasitology**, v. 22, n. 9, p. 416-423, 2006.

BJERKÅS, I.; DUBEY, J. P. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dogs. **Acta Veterinary Scandinavia**, v. 32, n. 3, p. 445-447, 1991.

BJERKÅS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zentralblatt für Parasitenkunde**, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984.

BJERKÅS, I.; PRESTHUS, J. Immunohistochemical and ultrastructural characteristics of a cyst-forming sporozoan associated with encephalomyelitis and myositis in dogs. **Acta Pathological, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 96, p. 445-454, 1988.

BJÖRKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O.J.M. UGGLA, A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, n. 9, p. 1441-1444, 1996.

BJORKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal Parasitology**, v.29, n.10, p.1497-1507, 1999.

BRAUTIGAM, F.E.; HIETALA, S.k.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, 15, 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: PANVET, 1996, p. 284.

BLACK, M.W.; BOOTHROYD, J.C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, p. 607-623, 2000.

CABRAL, D.D.; SILVA, D.A.O.; MIRANDA, E.O.; CUNHA, L.; FUKUSSIMA, A.C.; STUTZ, W. Detecção de anticorpos anti-*Leishmania (Viannia) braziliensis* e *L. donovani*, anti-*Trypanosoma cruzi* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da área rural do município de Uberlândia, MG, Brasil. **Veterinária Notícias**, v. 4, n. 1, p. 15-19, 1998.

CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, n. 3, p. 117-118, 1964.

CAMARGO, M.C.V.; ANTUNES, C.M.F.; CHIARI, C.A. Epidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* no município de Ribeirão das Neves-MG. Importância dos animais domésticos como fonte de infecção do *T. gondii* para o homem. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 28, p. 211-214, 1995.

CAMPO, J.S.; CHÁVEZ, A.V.; DELGADO, A.C.; FALCÓN, N.P.; ALMEIDA, M.A.O.; CASAS, E.A.; SERRANO, E.M. Frecuencia de *Neospora caninum* em perros de establos lecheros del Valle de Lima. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 14, n. 2, p. 145-149, 2003.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; BERGAMASCHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; SOUZA, S.L.P.; SILVA, J.C.R.; PINTER, A.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon. Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 115, p. 71-74, 2003.

CASSOL, D.M.S.; PRETTE, N.; GOMIDE, L.W.; OLIVEIRA, G.P.; MARSON, F.A.; COSTA, A.J. Pesquisa de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros, cães e humanos da região nordeste do Estado de São Paulo. **A Hora Veterinária**, v. 25, n. 145, p. 25-27, 2005.

CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.F.E.; GONDIM, L.F.P.; WALD, V. Neosporosis as cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 103, n. 3, p. 195-202, 2002.

CORBELLINI, L.G.; PESCADOR, C.A.; FRANTZ, F.; WUNDER, E.; STEFFEN, D.; SMITH, D.R.; DRIEMEIER, D. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. **Journal of Veterinary**, v. 172, n. 1, p. 114-120, 2006a.

CORBELLINI, L.G.; SMITH, D.R.; PESCADOR, C.A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D.J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 74, n. 2-3, p. 130-141, 2006b.

CORNEJO, N.P.; CHAVÉZ, A.V.; CASAS, E.A; ARANA, C.D. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 15, n. 1, p. 70-75, 2004.

COSTA, G.H.N.; CABRAL, D.D.; VARANDAS, N.P.; SOBRAL, E.A.; BORGES, F.A.; CASTAGNOLLI, K.C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 57-62, 2001.

COSTA, A.J.; COSTA, E.P. Frequência de bovinos reagentes à imunofluorescência indireta para *Toxoplasma gondii* em Poços de Caldas, Minas Gerais, Brasil. **Arquivo da Escola de Medicina Veterinária da UFMG**, v. 1, n. 30, p. 47-51, 1978.

COURA, L.C. Toxoplasmose. **Anais da Academia Nacional de Medicina**, v. 159, n. 1, p. 15-19, 1999.

CRINGOLI, G.; RINALDI, L.; CAPUANO, F.; BALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 1, p. 307-313, 2002.

DAVISON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infection in dairy cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1683-1689, 1999a.

DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T.; VIRMOND, M.P.; HAMANN, W.; AMENDOEIRA, M.R.R. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1133-1137, 2004.

DAVISON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 1189-1194, 1999b.

DE MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; GASBARRE, L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1647-1657, 1999.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H.W.; EYSKER, M.; HESSELINK, J.W.; WOUDA, W. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. **Veterinary Parasitology**, v.105, n.2, p. 99-104, 2002a.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H.W.; HESSELINK, J.W.; WOUDA, W. Point source exposure of the cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. **Veterinary Parasitology**, v. 105, n. 2, p. 89-98, 2002b.

DIJKSTRA, Th; EYSKER, M.; SCHARES, G.; CONRATHS, F.J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H.W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 8, p. 747-752, 2001.

DOMINGUEZ, L.M.; MACHADO, R.Z.; COSTA, M.T.; CARVALHO, C.S.; COSTA, A.J.; MALHEIROS, E.B. Canine toxoplasmosis: A comparative evaluation of the detection of anti *toxoplasma gondii* antibodies by the indirect Immunoenzymatic assay (ELISA) and the

indirect immunofluorescence reaction (IFI). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, n. 2, p. 79-85, 1998.

DYER, R.M.; JENKINS, M.C.; KWOK, O.C.; DOUGLAS, L.W.; DUBEY, J.P. Serological survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. **Veterinary Parasitology**, v. 90, n. 3, p. 171-181, 2000.

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3/4, p. 349-367, 1999a.

DUBEY, J.P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 8, p. 1160-1163, 1999b.

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. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p. 65-70, 1996.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.

DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. Toxoplasmosis of Animals and Man. Florida: **CRC Press, Inc.**, 1988.

DUBEY, J.P.; CARPENTER, J.L.; SPEER, C.A.; TOPPER, M.J.; UGLLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1988a.

DUBEY, J.P.; HATTEL, A.L.; LINDSAY, D.S.; 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. 67, n. 1/2, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J.P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of bovine neosporosis. **Journal Comp Pathology**, v. 134, n. 4, p. 267-289, 2006.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; ANDERSON, M.L.; DAVIS, S.W. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, n. 5, p. 709-713, 1992.

DUBEY, J.P.; RAJAPAKSE, R.P.V.J.; WIJESUNDERA, R.R.M.K.K.; SUNDAR, N.; VELMURUNGAN, G.V.; KWOK, O.C.H.; SU, C. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Sri Lanka and genetic characterization of the parasite isolates. **Veterinary Parasitology**, v. 146, p. 341-346, 2007a.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology**, v. 20, n. 2, p. 323-67, 2007b.

ELLIS, J.; LUTON, K.; BAVERSTOCK, P.R.; BRINDLEY, P. J.; NIMMO, K.A.; JOHNSON, A. M. The phylogeny of *Neospora caninum*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 64, p. 303-311, 1994.

FERNANDES, B.C.T.M.; GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.P; CARVALHO, J.M.; OLIVEIRA, W.G., CURY, M.C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 33-40, 2004.

FERRE, I.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; PÉREZ, F.J.; ORTEGA-MORA, L. M. Diagnóstico de la infección y del aborto causado por *Neospora caninum* en los bovinos. **Produção Animal**, v. 190, p. 52-62, 2003.

FREIRE, R.L.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; TUDURY, E.A., Vianna, C.C. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães atendidos no Hospital Veterinário da UEL-PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p. 66-69, 1992.

FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. **Science**, v. 167, p. 893, 1970.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná-PR. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.

GARCIA-VÁZQUEZ, Z.; CRUZ-VÁZQUEZ, C.; MEDINA-ESPINOZA, L.; GARCÍA-TAPIA, D.; CHAVARRIA-MARTINEZ, B. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, México. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 2, p. 115-120, 2002.

GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.P. Neosporose. **Vet News**, v. 9, n. 59, p. 11-13, 2002.

GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D'ÁURIA, S.N.R.; CARDOSO, S.M.S.; KWOK, O.C.H.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 106, p. 177-179, 2002.

GERMANO, P.M.L; ERBOLATO, E.B.; ISHIZUKA, M.M. Estudo sorológico da toxoplasmose canina, pela prova de imunofluorescência indireta, na cidade de Campinas, 1981. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 1, p. 53-58, 1985.

GONDIM, L.F.P.; GAO, L.; McALLISTER, M.M. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. **Journal Parasitology**, v. 88, n. 6, p. 1159-1163, 2002.

GONDIM, L.F.P.; JUNIOR, H.V.B.; FILHO, C.H.A.R.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 273-276, 1999.

GONDIM, L.F.P; SAEKI, S.; ONAGA, H.; HARITANI, M.; YAMANE, I. Maintenance of *Neospora caninum* tachyzoites using Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). **New Zealand Veterinary**, v. 47, p. 36, 1999a.



GONDIM, L.F.P.; SARTOR, I.F.; HASEGAWA, M.; YAMANE, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 1, p. 71-75, 1999b.

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 of Parasitology**, v. 90, n. 6, p. 1361-1365, 2004a.

GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; ANDERSON-SPRECHER, R.C.; BJORKMAN, C.; LOCK, T.F.; FIRKINS, L.D.; GAO, L.; FISCHER, W.R. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. **Journal of Parasitology**, v. 90, p. 1394-1400, 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 Parasitology**, v. 34, n. 2, p. 159-161, 2004c.

GONDIM, L.F.; PINHEIRO, A.M.; SANTOS, P.O.; JESUS, E.E.; RIBEIRO, M.B.; FERNANDES, H.S.; ALMEIDA, M.A.; FREIRE, S.M.; MEYER, R.; McALLISTER, M.M. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology**, v. 101, n. 1, p. 1-7, 2001.

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

GUIMARÃES, A.M.; RIBEIRO, M.F.R.; LIMA, J.D.; CURY, M.C.; SPIEWAK, G. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 1, p. 67-68, 1992.

GUIMARÃES JÚNIOR., J.S; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 1-8, 2004.

HASEGAWA, M.Y.; SARTOR, I.F.; CANAVESSI, A.M.O.; PINCKNEY, R.D. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de corte e em cães rurais da região de Avaré, Estado de São Paulo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 25, n. 1, p. 45-50, 2004.

HECKEROTH, A.R.; TENTER, A.M. Immunoanalysis of three litters born to a Doberman bitch infected with *Neospora caninum*. **Parasitology Research**, v. 100, n. 4, p. 837-846, 2007.

HEMPHILL, A.; FUCHS, N.; SONDA, S.; HEHL, A. The antigenic composition of *Neospora caninum*. **International Journal Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1175-1188, 1999.

HORNA, S.N.; CHAVÉZ, A.V.; CASAS, E.A.; SERRANO, E.M.; Seroprevalencia de *Neospora caninum* em caninos de dos distritos de la província de Chachapoyas. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 14, n.2, p. 150-154, 2003.

HUONG, L.T.T. et al. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. **Veterinary Parasitology**, v. 75, p. 53-57, 1998.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Agropecuário**, 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/> Acesso em: 10 janeiro de 2008.

INNES, E.A.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; MALEY, S.; MACALDOWIE, C.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. **Veterinary Immunological Immunopathology**, v. 108, n. 1-2, p. 29-36, 2005.

JESUS, E.E.V.; SANTOS, P.O.M.; BARBOSA, M.V.F.; PINHEIRO, A.M.; GONDIM, L.F.P.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães dos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, estado da Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 5-10, 2006.

KLUN, I.; DJAKOVIC', O.D.; RADIVOJEVIC', S.K.; NIKOLIC, A. Cross-sectional survey on *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep and pigs in Serbia: seroprevalence and risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 121-131, 2006.

LANDAY, A.; FOOLS, J.D. Indirect Fluorescent-antibody Test for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii*. In: ISENER, H.D. Editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook, **New York: Academic Press**; v. 9, n. 22, p. 1-13, 1979.

LANGONI, H.; MENDONÇA, A.O.; SHIMABUKURU, F.H.; ARAÚJO, W.N., MENDONÇA, L.J.P. Aspectos epidemiológicos na toxoplasmose canina. In: Jornada Paulista de Parasitologia, 18, 2000; São Paulo, **Anais...** São Paulo, 2000; p. 52.

LEIGHTY, JC. Strategies for control of toxoplasmosis. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 281-286, 1990.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal Veterinary Res**, v. 50, n. 11, p. 1981-1983, 1989.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. Canine neosporosis. **Journal of Veterinary Parasitology**, v. 14, p. 1-11, 2000.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BUTLER, J.M.; BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 73, p. 27-33, 1997.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327-333, 1999.

LOBATO, J.; SILVIA, D.A.O.; MINEO, T.W.P.; AMARAL, J.D.H.; 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.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V.T.; RICHARTZ, R.R. GASINO-JOINEAU, M. E.; VINNE, R.; PINCKNEY, R.D. Serological diagnosis of neosporosis in a dairy a herd of dairy cattle in southern Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 6, p. 1493-1494, 2001.

KASHIWAZAKI, Y.; GIANNEECHINI, R.E.; LUST, M.; GIL, J. Seroepidemiology of neosporosis in dairy in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 139-144, 2004.

KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; ZENIYA, Y.; ETO, M.; YOKOYAMA, R.; TSUTSUI, T.; KIMURA, K.; YAMANE, I. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 175-179, 2006.

MAINAR-JAIME, R.C.; THURMOND, M.C.; BERZAL-HERRANZ, B.; HIETALA, S.K. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. **Veterinary Record**, v. 145, n. 3, p. 72-75, 1999.

MARANA, E.R.M.; VENTURINI, A.C.H.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de leite, do norte do Paraná - Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 16, n. 1, p. 40-42, 1995.

MARSH, A.E.; BARR, B.C.; PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). **The Journal of Parasitology**, v. 84, n. 5, p. 983-991, 1998.

MASALA, G.; PORCU, R.; MADAU, L.; TANDA, A.; IBBA, B.; SATTA, G.; TOLA, S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 117, p. 15-21, 2003.

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

McALLISTER, M.M. Uncovering the biology and epidemiology of *Neospora caninum*. **Parasitology Today**, v. 15, n. 6, p. 216-217, 1999.

MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N.; LEITE, R.C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.

MINEO, T.W.P.; SILVA, D.A.O.; COSTA, G.H.N.; VON ANCHEN, A.C.B.; KASPER, L.H.; SOUZA, M.A.; CABRAL, D.D.; COSTA, A.J.; MINEO, J.R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 98, p. 239-245, 2001.

MINEO, T.W.P.; SILVA, D.A.O.; NÄSLUND, K.; BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A.; MINEO, J.R. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine população from Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 414-417, 2004.

MINERVINO, A.H.H.; RAGOZO, M.A.; MONTEIRO, R.M.; ORTOLANI, E.L.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 1, p. 254-256, 2008.

MORÉ, G.; BASSO, W.; BACIGALUPE, D.; VENTURINI, M.C. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. **Parasitology Research**, v. 1, p. 1-5, 2007.

NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; OGAWA, L.; KANO, F.S. Estudo comparativo entre soro e plasma na pesquisa de anticorpos *anti-Toxoplasma gondii* pela técnica de imunofluorescência indireta em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina-PR, 1996. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, p. 15-21, 1997.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection a corps de *Leishmania* (ou organismes voisins) du gondi. **C. R. Academic Science**, v. 146, p. 207-208, 1908.

NOWAKOWSKA, D.; STRAY-PEDERSEN, B.; SPIEWAK, E.; SOBALA, W.; MATAFIEJ, E.; WILCZYNSKI, J. Prevalence and estimated incidence of *Toxoplasma* infection among

pregnant women in Poland: a decreasing trend in the younger population. **Clinical Microbiology Infection**, v. 12, p. 913-917, 2006.

OLIVEIRA, J.M.; MATOS, M.F.; OSHIRO, M.L.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in the urban área of Campo Grande, MS, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.13, n. 4, p. 155-158, 2004.

OGAWA, L. **Estudo soroepidemiológico do *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos de pecuária leiteira da região norte do Estado do Paraná**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, Medicina Veterinária Preventiva, Londrina, 2000. 54p.

OGAWA, L.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L.F.P.; NAVARRO, I.T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 3, p. 312-316, 2005.

OSAWA, T.; WASTLING, J.; ACOSTA, L.; ORTELLADO, C.; IBARRA, J.; INNES, E.A. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. **Veterinary Parasitology**, v. 110, n. 1-2, p. 17-23, 2002.

OTRANTO, D.; LLAZARI, A.; TESTINI, G.; TRAVERSA, D.; REGALBONO, A.F.; BADAN, M.; CAPELLI, G. Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 7-18, 2003.

O'TOOLE, D.; JEFFREY, M. Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf. The **Veterinary Record**, v. 121, n. 24, p. 563-566, 1987.

PALAVICINI, P.; ROMERO, J.J.; DOLZ, G.; JIMÉNEZ, A.E.; HILL, D.E.; DUBEY, J.P. Fecal and serological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 265-270, 2007.

PARADIES, P.; CAPELLI, G.; TESTINI, G.; CANTACESSI, C.; TREES, J.A.; OTRANTO, D. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 145, p. 240-244, 2007.

PARÉ, J.; THURMOND, M.C.; HIETALLA, S.K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhoo mortality. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1996.

PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 11, p. 1595-1598, 1998.

PARISH, S.M.; MAAG-MILLER, L.; BESSER, T.E.; WEIDNER, J.P.; MCELWAIN, T.; KNOWLES, D.P.; LEATHERS, C.W. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, n. 12, p. 1599-1600, 1987.

PATITUCCI, A.N.; PÉREZ, M.J.; ROZAS, M.A.; ISRAEL K.F. Neosporosis canine: detection of sera antibodies in rural and urban canine population of chile. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 33, p. 227-232, 2001.

PFEIFFER, D.U.; WILLIANSO, N.B.; THORNTON, R.N. A simple spreadsheet simulation model of the economics effects of *Neospora caninum* abortions in dairy cattle in New Zealand. **Proceedings of Symposium of the International Society for Veterinary Epidemiology and Economics**, v. 32, n. 10, p. 12-13, 1997.

PELLEGRIN, A.O. A campilobacteriose e tricomonose são doenças reemergentes. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 23, n. 4, p. 523-31, 1999.

PELLEGRIN, A.O. A Campilobacteriose e Tricomonose são doenças reemergentes? **Embrapa Pantanal. Documentos 41**, 2002, 24p.

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

PITUCO, E.M.; SOARES, J.A.G.; OKUDA, L.H.; STEFANO, E. Ocorrência de neosporose bovina em rebanhos com histórico de abortamentos no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 65, p. 70, 1998.

QUINTANILLA-GOZALO, A.; PEREIRA-BUENO, J.; TABARÉS, E.; INNES, E.A.; GONZÁLEZ-PANIELLO, R.; ORTEGA-MORA, L.M. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1201-1208, 1999.

RAGOZO, A.M.A.; PAULA, V.S.O.; SOUZA, S.L.P.; BERGSMASCHI, D.P.; GENNARI, S.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.

RODRIGUES, A.A.; GENNARI, S.M.; AGUIAR, D.M.; SREEKUMAR, C.; HILL, D.E.; MISKA, K.B.; VIANNA, M.C.; DUBEY, J.P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n. 3-4, p. 139-150, 2004.

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, n. 1, p. 202-207, 2007.

SADREBAZZAZ, A.; HADDADZADEH, H.; ESMAILNIA, K.; HABIBI, G.; VOJGANI, M.; HASHEMIFESHARAKI, R. Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 201-204, 2004.

SANDERSON, M.W.; GAY, J.M.; BASZLER, T.V. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. **Veterinary Parasitology**, v. 90, n. 1/2, p. 15-24, 2000.



SARTOR, I.F.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA, L.C.; PITUCO, E.M.; DAL PAI, V.; SARTOR, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 72, n. 4, p. 413-148, 2005.

SARTOR, I.F.; HASEGAWA, M.Y.; CANAVESSI, A.M.O.; PINCKNEY, R.D. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliadas pelos métodos de Elisa e RIFI no município de Avaré, SP. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 3-10, 2003.

SAWADA, M.; PARK, C.H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I.; UMEMURA, T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in japanese dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 60, p. 853-854, 1998.

SCALCO, M.A.; FLORES, M.L.; LAGAGGIO, V.R.A.; MARQUES, A.; OLIVEIRA, K.L., BONILLA, A.T. Dados preliminares da prevalência do *Toxoplasma gondii* na população canina do município de Três Passos-RS. **Revista Brasileira Ciência Veterinária**, v. 1, n. 7 Suplemento 1, p. 125, 2000.

SILVA, M.I.S. **Aspectos epidemiológicos das infecções por *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* e Vírus da Diarréia Viral Bovina em matrizes bovinas leiteiras do município de Gravatá – PE**. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife - PE, 2003. 81p.

SILVA, M.I.S.; ALVES, L.C.A.; FAUSTINO, M.A.G.; ALMEIDA, M.A.; PINHEIRO, M.A.; JESUS, E.E.V.; CUNHA, A.P.; NASCIMENTO, E.S.; LIMA, M.M. Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros do município de Gravatá, Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. CD-ROM.

SOUZA, S.L.P.; GUIMARÃES, J.S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Paraná, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 88, p. 408-409, 2002.

SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D'AURIA, S.R.N.; CARDOSO, S.M.S.; GUIMARÃES-JUNIOR, J.S.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural areas from Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p.1-3, 2003.

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 Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1509-1519, 1999.

STOBBE, N.S. **Estudo interativo entre a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* e a ocorrência de abortamentos em bovinos no noroeste do Estado de São Paulo, Brasil.** 1999. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1999. 44p.

THURMOND, M.C.; HIETALLA, S.K. Effect of congenitally-acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 12, p. 1381-1385, 1997a.

THURMOND, M.C.; HIETALLA, S.K.; BLANCHARD, P.C. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, n. 1, p. 44-49, 1997.

TEIXEIRA, W.C.; PEREIRA, J.G.; SILVA, M.I.S. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos bovinos leiteiros da Ilha de São Luís – MA. In: Seminário de Iniciação Científica da UEMA, 17, 2005, São Luís do Maranhão. **Anais...** São Luís: UEMA, 2005. p. 41-43. 1 CD-ROM

TEIXEIRA, W.C.; SILVIA, M.I.S.; PEREIRA, J.G.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P. Frequência de cães reagentes para *Neospora caninum* em São Luís, Maranhão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 685-687, 2006a.

TEIXEIRA, W.C.; SILVA, M.I.S.; UZÊDA, R.S.; COSTA, K.S.; PINHEIRO, A.M.; GONDIM, L.F.P. Presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães de propriedades rurais produtoras de leite da região metropolitana de São Luís - MA. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006, Ribeira Preto-SP. **Anais...** Ribeirão Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 14, 2006b, p.328.

TENTER, A.M.; JOHNSON, A.M. Phylogeny of the tissue cyst forming coccidia. **Advances Parasitology**, v. 39, p. 70-141, 1997.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humanos. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

THISLSTED, J.P.; DUBEY, J.P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, p. 205-209, 1989.

TRANAS, J.; HEINZEN, R.A.; WEISS, L.M.; McALLISTER, M.M. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. **Clinical Diagnosis Laboratory Immunology**, v. 6, n. 5, p. 765-67, 1999.

TREES, A.J.; GUY, F.; TENNANT, B.J.; BALFOUR, A.H.; DUBEY, J.P. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in population of urban dogs in England. **Veterinary Record**, v. 132, p. 125-126, 1993.

TRESS, A.J.; DAVISON, H.C.; INNES, E.A.; WASTLING, J.M. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1195-1200, 1999.

TRESS, A.J.; DAVISON, H.C.; OTTER, A. Bovine abortion, *Neospora caninum* and dogs. **Veterinary Record**, v. 143, n. 12, p. 343, 1998.

VARANDAS, N.P.; RACHED, P.A.; COSTA, G.H.N.; SOUZA, L.M.; CASTAGNOLLI, K.C.; COSTA, A.J. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da região nordeste do Estado de São Paulo: correlação com neuropatias. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 105-111, 2001.

VENTURINI, L.; Di LORENZO, C.; VENTURINI, C.; ROMERO, J. Anticuerpos anti-*Neospora* sp. en vacas que abortaron. **Veterinária Argentina**, v. 12, n. 113, p. 167-170, 1995.

VIDOTTO, O. Toxoplasmose: Epidemiologia e Importância da Doença na Saúde Animal. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p. 69-75, 1992.

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

WALDNER, C. L.; JANSEN E. D.; RIBBLE, C. S. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 216, n. 5, p. 685-90, 1998.

WANHA, K.; EDELHOFER, R.; GABLER-EDUARDO, C.; PROSL, H. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 3-4, p. 189-193, 2005.

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

WOUDA, W.; MOEN, A.R.; SCHUKKEN, Y.H. Abortion risk in progeny of cows that experienced a *Neospora caninum* epidemic. **Theriogenology**, v. 49, n. 7, p. 1311-1316, 1998.

YU, J.; XIA, Z.; LIU, Q.; LIU, J.; DING, J.; ZHANG, W. Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the People's Republic of China. **Veterinary Parasitology**, (no prelo, 2006).

## **4 ESTUDOS REALIZADOS**

#### **4.1 PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) EM BOVINOS LEITEIROS DE PROPRIEDADES RURAIS EM TRÊS MICRORREGIÕES DO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL**

#### **PREVALENCE OF ANTI-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) ANTIBODIES IN DAIRY CATTLE IN RURAL PROPERTIES OF THREE MICRORREGIONS OF THE MARANHÃO STATE, BRAZIL**

##### **ABSTRACT**

The objective in the present study was to research the prevalence of anti-*Neospora caninum* in 812 samples of blood serum of dairy cattle from farms of seven municipalities of microrregions of Itapecuru-Mirim, Middle Mearim and President Dutra, state of Maranhão, Brazil. For the calculation of sample size, it was considered a seroprevalence of 34.7% for *N. caninum*, with a maximum error of 9.5% and a confidence interval of 95%. To detect antibodies, it was used the technique of Indirect Immunofluorescence (IFI), with the cut-off of 1:200, using as antigen, tachyzoites strain NC-1, maintained in cell culture in the Laboratory of Diagnosis of Parasitism of the Animals, School of Veterinary Medicine of the Federal University of Bahia - Brazil. Of the total samples, it was obtained a prevalence of 50.74% (412/812). The titles ranged from 1:200 to 1:6400, distributed as follows: 108 (26.21%) of serum samples showed title of 1:200; 132 (32.04%) 1:400; 94 (22.81%) 1:800; 46 (11.16%) of 1:1600; 23 (5.58%) of 1:3200 and nine (2.18%) with titers of 1:6400. Among the microrregiões the Itapecuru-Mirim showed the lowest percentage of animals seropositive (20.69%) and President Dutra the largest (47.66%). It was observed higher prevalence of seropositives in females (46.80%) than in males (52.46%). According to microrregions, sex and age, there was no significant difference ( $P > 0.05$ ). The results register for the first time the prevalence of anti-*N. caninum* antibodies in dairy cattle of microrregions of Itapecuru-Mirim, Middle Mearim and President Dutra, state of Maranhão, Brazil.

**Key words:** *Neospora caninum*, seroprevalence, bovine neosporosis, Maranhão.

## RESUMO

Objetivou-se, no presente estudo, pesquisar a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 812 amostras de soros sanguíneos de bovinos leiteiros procedentes de propriedades rurais de sete municípios das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, Brasil. Para o cálculo do tamanho da amostra, considerou-se um soroprevalência de 34,7% para *N. caninum*, com erro máximo de 9,5% e intervalo de confiança de 95%. Para a detecção da presença de anticorpos da classe IgG, utilizou-se a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI), com ponto de corte 1:200, usando como antígeno, taquizoítos da cepa NC-1, mantida em cultura celular no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da Escola de Medicina Veterinária da UFBA. Do total de amostras analisadas, encontrou-se uma prevalência de 50,74% (412/812). Os títulos variaram de 1:200 a 1:6400, assim distribuídos: 108 (26,21%) amostras de soro apresentaram título de 1:200; 132 (32,04%) 1:400; 94 (22,81%) 1:800; 46 (11,16%) 1:1600; 23 (5,58%) 1:3200 e nove (2,18%) com títulos de 1:6400. Dentre as microrregiões, a Itapecuru-Mirim apresentou o menor percentual de animais soropositivos (20,69%) e Presidente Dutra o maior (47,66%). Com relação à variável sexo, observou-se maior prevalência de sororreagentes nas fêmeas (46,80%) do que nos machos (52,46%). Em relação às variáveis microrregiões, sexo e idade, verificou-se que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ). Os resultados registram a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, Brasil.

**Palavras-chave:** *Neospora caninum*, soroprevalência, neosporose bovina, Maranhão.

### 4.1.1 INTRODUÇÃO

A neosporose bovina é uma infecção parasitária ocasionada pelo protozoário coccídeo *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988), sendo considerada uma das principais causas de abortamentos em bovinos, em varias regiões do mundo (THILSTED e DUBEY, 1989; ANDERSON et al., 1991; DUBEY e LINDSAY, 1996, DUBEY, 1999). Esse agente é transmitido de forma horizontal e vertical, sendo este último o principal meio de transmissão em bovinos, podendo ocasionar abortos, natimortos, nascimento de bezerros infectados apresentando sinais neurológicos, além de alterações reprodutivas, tais como, repetição de cio, infertilidade e baixo desempenho reprodutivo em bovinos, caprinos e ovinos (DUBEY et al., 1992; CONRAD et al., 1993; DUBEY e LINDSAY, 1996; GONDIM et al., 2004a).

Segundo McAllister et al. (1998), Dubey (2003), Gondim et al. (2004b), a transmissão da infecção dá-se também por via horizontal, em que os cães domésticos e coiotes, hospedeiros definitivos, podem eliminar oocistos do parasito pelas fezes contaminando água, alimentos e pastagens, e estes, quando esporulados e ingeridos pelos hospedeiros intermediários, são fontes de infecção. Dijkstra et al. (2002) relataram que cães alimentados com placentas provenientes de vacas soropositivas para *N. caninum* eliminam oocistos nas fezes, confirmando que restos placentários constituem também uma fonte de infecção.

Nos bovinos, a enfermidade é caracterizada por abortos que se constituem na evidência clínica observada nas vacas infectadas, podendo ocorrer entre o quinto e o sexto mês de gestação, embora possam se apresentar a partir do terceiro mês até o término da gestação (ANDERSON et al., 1991, 1997; DUBEY, 1999). Os fetos infectados congenitamente podem morrer no útero, serem reabsorvidos, mumificados e autolisados. Bezerros infectados podem apresentar baixo peso ao nascer e distúrbios neurológicos, bem como pode ocorrer o nascimento de animais clinicamente normais, mas cronicamente infectados, ou apresentarem distúrbios neurológicos como ataxia, exoftalmia, membro flexionado ou hiperestendido (GENNARI e SOUZA, 2002; FERRE et al., 2003).

O *N. caninum* possui ampla distribuição geográfica e ocorre tanto em regiões de clima tropical e subtropical quanto em zonas de clima temperado (DUBEY e LINDSAY, 1996; DAVISON et al., 1999; GONDIM et al., 1999). Nos Estados Unidos da América esse parasito é responsável por perdas econômicas significativas, devido aos distúrbios reprodutivos em rebanhos bovinos leiteiros (ANDERSON et al., 1991). No Brasil, os prejuízos determinados



por *N. caninum* não foram estimados, no entanto, a neosporose é uma das principais causas de abortos em rebanhos bovinos no País (CORBELLINI et al., 2002; SARTOR et al., 2005).

Anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos de leite e corte já foram detectados em diversas regiões do mundo (KASHIWAZAKI et al., 2004; KOIWAI et al., 2006; MORÉ et al., 2007), e inclusive no Brasil. Sendo o diagnóstico sorológico realizado por meio do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI), que detecta anticorpos específicos, indicativo de infecção pelo parasito (PARÉ et al., 1995, MINERVINO et al., 2008).

Vários estudos soroepidemiológicos foram realizados no País em bovinos leiteiros e de corte com frequência sorológica variando de 6,27% (CASSOL et al., 2005) a 67,85% (BELO et al., 1999; MELO et al., 2001), por meio dos testes de IFI e Elisa, nos diferentes Estados. No entanto, nem sempre podem ser feitas inferências por causa do uso de diferentes técnicas sorológicas, pontos de corte ou até mesmo da forma de como são amostrados os animais.

No Brasil, a detecção de anticorpos para *N. caninum* tem sido descrita em bovinos leiteiros e de corte nos estados: da Bahia (GONDIM et al., 1999); Maranhão (TEIXEIRA et al., 2005); Mato Grosso do Sul (ANDREOTTI et al., 2004); Minas Gerais (COSTA et al., 2001; RAGOZO et al., 2003); Pernambuco (SILVA et al., 2002); no Paraná (RAGOZO et al., 2003; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004; OGAWA et al., 2005); Rio de Janeiro (RAGOZO et al., 2003); Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al., 2002, VOGEL et al., 2006); Rondônia (AGUIAR et al., 2006); Santa Catarina (CORBELLINI et al., 2001); São Paulo (STOBBE, 1999; BELO et al., 1999; COSTA et al., 2001; SARTOR et al., 2003; RAGOZO et al., 2003; CASSOL et al., 2005). Contudo, para que se estabeleça um programa de controle da neosporose e sejam avaliados os possíveis prejuízos causados à pecuária brasileira, faz-se necessário o conhecimento da real situação epidemiológica dessa enfermidade no País.

Dessa forma, embora o parasito *N. caninum* apresente ampla distribuição, em muitas regiões geográficas do Brasil pouco se conhece sobre a condição epidemiológica da neosporose. Assim, este estudo teve por propósito determinar a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos leiteiros procedentes de propriedades rurais de três microrregiões do estado do Maranhão, Brasil.

## 4.1.2 MATERIAL E MÉTODOS

### Área de estudo

O estudo foi realizado com bovinos leiteiros provenientes de propriedades rurais, localizadas em sete municípios das microrregiões de Itapecuru-Mirim (3°24' S; 44°20' W), Médio Mearim (4°34' S; 44°39' W) e Presidente Dutra (5°14' S; 44°30' W), mesorregiões Norte e Centro Maranhense do estado do Maranhão, conforme divisão político-administrativa da Gerência de Planejamento e Desenvolvimento Econômico, Laboratório de Geoprocessamento/UEMA (GEPLAN, 2002), durante o período de maio a setembro de 2007.

Essas microrregiões estão incluídas na área que faz parte da bacia leiteira do estado do Maranhão, sendo o rebanho bovino leiteiro do Estado de aproximadamente 580.405 cabeças (9% do rebanho total). Dessas, estima-se um número de 462.459 vacas ordenhadas, com produção leiteira de 286.857 litros/ano (IBGE, 2006).

### Cálculo e coleta das amostras

O tamanho da amostra foi determinado, utilizando a fórmula  $N = Z^2 \times P(100-P)/e^2$ , admitindo um grau de confiança de 95% (STEVENSON, 1981). O cálculo foi realizado adotando o valor de 34,7% para a prevalência esperada, segundo resultados publicados por Silva et al. (2002), referente à prevalência em bovinos leiteiros do município de Gravataá - PE, considerando-se um erro de 9,5% da prevalência a ser determinada no estudo. Obteve-se, usando a fórmula, uma amostra mínima de 800 animais, contudo, foram coletadas 812 amostras de bovinos leiteiros, sendo a escolha dos municípios, das propriedades e dos animais de acordo com a conveniência, facilidade de acesso e a disponibilidade dos produtores. O estudo consistiu na aplicação de um questionário investigativo em cada propriedade, uma ficha clínica individual, com a finalidade de obter informações a respeito do manejo sanitário, alimentar e reprodutivo, bem como o sexo, a idade e raça de cada animal, e da pesquisa sorológica de anticorpos.

Foram visitadas 27 propriedades rurais de gado leiteiro, sendo coletadas as amostras séricas de bovinos, através de venopunção da jugular, de machos e fêmeas e diferentes faixas etárias, puros *Bos taurus* ou mestiço *B. taurus* x *B. indicus*, aparentemente saudáveis.

Coletaram-se 10 mL de sangue, sem anticoagulante, após prévia anti-sepsia com álcool iodado 3,0%, em tubos de ensaio individuais, devidamente esterilizados e identificados.

A distribuição das amostras sanguíneas (n = 812) das três microrregiões definiu-se da seguinte forma: Itapecuru-Mirim (n = 168), Médio Mearim (n = 257), e Presidente Dutra (n = 387). Procedeu-se o agrupamento dos animais de acordo com a faixa etária: zero a dois anos (n = 176), dois a quatro anos (n = 188), quatro a seis anos (n = 277), seis a oito anos (n = 123) e acima de oito anos (n = 48); e o sexo: fêmeas (n = 751) e machos (n = 61).

### **Processamento das amostras**

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Estadual do Maranhão, onde foram centrifugadas a 1000xG, durante cinco minutos para obtenção dos soros. Estes foram aliqüotados em tubos plásticos de polipropileno com capacidade de 1,5 mL (*eppendorfs*) individuais, sendo cada amostra feita em triplicata, e armazenados a -20°C até a realização do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum*, com ponto de corte de 1:200, considerado uma titulação indicativa de infecção por *N. caninum* em bovinos (CONRAD et al., 1993; DUBEY e LINDSAY, 1996).

Utilizaram-se como antígenos, taquizoítos da cepa NC-1 isolada de um cão e mantida em cultura celular (DUBEY et al., 1988), no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (LDPA/UFBA), e o conjugado comercial anti-bovino IgG (Sigma, USA, F7887) marcado com isotiocianato de fluoresceína. Consideraram-se positivas as amostras reativas que apresentavam fluorescência periférica total do taquizoítos, conforme Paré et al. (1995), Dubey e Lindsay (1996), e soros controles provenientes de animais sabidamente positivo e negativo usados quando das análises. Para as amostras positivas, posteriormente foram realizadas diluições seriadas a partir da diluição inicial de 1:200, afim de definir o título máximo das reação.

## Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística utilizando os testes de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com nível de significância de 5%, e exato de Fisher quando da não possibilidade de utilização do  $\chi^2$  para avaliação epidemiológica dos resultados sorológicos, segundo Sampaio (1998).

### 4.1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao se analisarem as 812 amostras de soro bovinos para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum*, observou-se uma prevalência de 50,74% (412) sororreagentes, indicando que estes animais em algum momento tiveram contato com o parasito. Das amostras positivas, verificou-se que os títulos de anticorpos variaram de 1:200 a 1:6400, assim distribuídos: 108 (26,21%) das amostras de soro apresentaram título de 1:200; 132 (32,04%) de 1:400; 94 (22,81%) de 1:800; 46 (11,16%) de 1:1600, 23 (5,58%) de 1:3200 e nove (2,18%) com títulos de 1:6400 (Tabela 1).

A prevalência encontrada nesse estudo é considerada alta, não obstante, este achado é possível devido à presença de cães em todas as propriedades estudadas, podendo ser este um importante fator de risco na transmissão do agente etiológico, o que justifica a caracterização das microrregiões maranhense como áreas de exposição dos rebanhos bovinos ao parasito. Embora exista dificuldade na comparação dos resultados do presente estudo com outros já realizados, devido a diferenças no uso da técnica de diagnóstico utilizada, assim como o ponto de corte e os animais amostrados, contudo, o valor de prevalência encontrado no presente estudo está de acordo com outros observados em outras regiões do Brasil.

Comparando-se os resultados obtidos no presente estudo com outros realizados em bovinos leiteiros que utilizaram como método de detecção de anticorpos a IFI, verificou-se serem os mesmos superiores aos citados por Gondim et al. (1999), Silva et al. (2002) e Minervino et al. (2008) que encontraram 14,1% no estado da Bahia, 34,7% em Pernambuco e 17,5% em Santarém - Pará, respectivamente.

Resultado superior ao do presente estudo foi descrito por Belo et al. (1999) em bovinos da região nordeste do estado de São Paulo, onde observaram a presença de 62,90% dos animais soropositivos para anticorpos anti-*N. caninum*, por meio da IFI. Dado também superior foi encontrado por Guimarães Júnior (2003) no estado do Paraná, quando

trabalhando com amostras séricas de bovinos leiteiros encontrou uma prevalência de 54,5% (225/413), por meio do teste de Elisa. Enquanto que analisando as mesmas amostras por meio da IFI, encontrou um resultado bem inferior (21,6%) ao observado neste estudo.

Com relação ao título de anticorpos, observou-se uma elevada prevalência de soros bovinos que reagiram para anticorpos anti-*N. caninum* nas diluições entre 1:800 e 1:6400 (Tabela 1), concordando com os resultados descritos por Koiwai et al. (2006), entretanto, diferindo dos valores citados por Kashiwazaki et al. (2004) que encontraram maior taxa de prevalência dos títulos entre 1:200 e 1:800.

**Tabela 1.** Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* (RIFI  $\geq$  200) em soros de bovinos leiteiros criados nas Mesorregiões Norte e Centro Maranhense, Maranhão, Brasil, segundo a recíproca do título, 2008

Recíproca do Título	Positivos (N)	Frequência	
		Absoluta	Relativa
200	108	13,30%	26,21%
400	132	16,26%	32,04%
800	94	11,58%	22,81%
1600	46	5,66%	11,16%
3200	23	2,83%	5,58%
6400	09	1,11%	2,18%
<b>Total</b>	<b>412</b>	<b>50,74%</b> (412/812)	<b>100,00%</b> (412/412)

N = número de amostras

Aguiar et al. (2006), no estado de Rondônia, analisando soros de bovinos também por meio da IFI, verificaram a presença de anticorpos anti-*N. caninum*, com maior prevalência nos títulos de 1:50 a 1:800, dados estes contrários aos observados no presente estudo. Em outra pesquisa, Ragozo et al. (2003), pesquisando anticorpos contra o parasito em questão em soros de bovinos procedentes de seis Estados brasileiros, por meio da IFI, constataram um maior percentual de amostras que variaram de 1:25 (24,3%) a 1:1600 (5,8%), valores estes diferentes aos observados neste trabalho.

Segundo Dubey (1999) e Lindsay et al. (1999), títulos de anticorpos IgG igual ou maior a 1:800 são sugestivos de quadro de neosporose clínica, entretanto, neste estudo, foram detectados 172 bovinos com títulos  $\geq$  1:800, e nem todos apresentavam sinais clínicos da infecção, no caso, histórico de abortamentos. Conrad et al. (1993) relataram que fêmeas após

abortarem podem apresentar uma diminuição nos títulos de anticorpos, entretanto, níveis altos podem ser observados entre o quarto e quinto mês de prenhes, provavelmente por causa da reativação da infecção.

De acordo com as microrregiões estudadas, a soroprevalência foi de 19,18% (79) nos rebanhos da microrregião de Itapecuru-Mirim, 30,58% (126) na Médio Mearim e 50,24% (207) na de Presidente Dutra, não sendo observado diferença significativa ( $P>0,05$ ) de soropositividade nos animais, entre as microrregiões estudadas, segundo o teste  $\chi^2$  (Tabela 2). Sendo o percentual de propriedades com pelo menos um ou mais animais sororreagentes de 100%. Ragozo et al. (2003), trabalhando com bovinos leiteiros de seis regiões brasileiras também não observaram diferenças nos valores de ocorrência para *N. caninum*, apesar das diferenças de manejo e condições edafoclimáticas existentes entre as regiões.

**Tabela 2.** Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, segundo as microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008

Microrregião	Soropositivos		Soronegativos		Total	
	N	%	N	%	N	%
<b>Itapecuru-Mirim</b>	79	19,18	89	22,25	168	20,69
<b>Médio Mearim</b>	126	30,58	131	32,75	257	31,65
<b>Presidente Dutra</b>	207	50,24	180	45,00	387	47,66
<b>Total</b>	<b>412</b>	<b>100,00</b>	<b>400</b>	<b>100,00</b>	<b>812</b>	<b>100,00</b>

\* Não foi observado diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as microrregiões, segundo o teste de  $\chi^2$ .  
N = número de animais

Do total de bovinos examinados, a soroprevalência foi de 50,60% (380/751) das fêmeas positivas e 52,46% (32/61) dos machos positivos. Apesar de uma maior prevalência observada em fêmeas (46,80%), este fato pode ser explicado devido ser maior o número de fêmeas amostradas, no entanto, constatou-se não haver diferença significativa entre os sexos ( $P>0,05$ ) (Tabela 3).

A soroprevalência, de acordo com a faixa etária, revelou que 20,87% dos animais positivos tinham idade entre zero a dois anos, 22,82% entre dois a quatro anos, 35,19% entre quatro a seis anos, 15,78% entre seis a oito anos e 5,34% dos animais com idade superior a oito anos. Apesar do aumento no número de animais positivos esta na faixa etária entre quatro e seis anos, isso pode ser explicado devido ao maior número de bovinos amostrados. Todavia,

a análise estatística demonstrou que não houve diferença estatística significativa ( $P > 0,05$ ) entre as faixas etárias (Tabela 4).

**Tabela 3.** Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, de acordo com o sexo, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008

Resultados	Sexo			
	Fêmea (N = 751)*		Macho (N = 61)*	
	Absoluta	Relativa	Absoluta	Relativa
Soropositivos	46,80% (380/812)	50,60% (380/751)	3,94% (32/812)	52,46% (32/61)
Soronegativos	45,69% (371/812)	49,40% (371/751)	3,57% (29/812)	47,54 % (29/61)
<b>Total</b>	92,49% (751/812)	100,00% (751/751)	7,51% (61/812)	100,00 % (61/61)

\* Diferença significativa não foi observada em relação a variável sexo, segundo o teste de Fisher ( $P=0.7917$ )  
N = número de animais amostrados

**Tabela 4.** Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, segundo a faixa etária, das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008

Faixa etária (Ano)	Positivos		Negativos		Total	
	N	%	N	%	N	%
0-2	86	20,87	90	22,50	176	21,68
2-4	94	22,82	94	23,50	188	23,15
4-6	145	35,19	132	33,00	277	34,11
6-8	65	15,78	58	14,50	123	15,15
> 8 anos	22	5,34	26	6,50	48	5,91
<b>Total</b>	<b>412</b>	<b>100,00</b>	<b>400</b>	<b>100,00</b>	<b>812</b>	<b>100,00</b>

\* Não houve diferença significativa em relação a variável faixa etária, de acordo com o  $\chi^2$  e teste de Fisher  
N - número de animais

Em estudos realizados com bovinos dos municípios de Resende e Rio Claro, estado do Rio de Janeiro (MUNHOZ, 2004), não foi relatado nenhuma inferência significativa em relação à variável idade dos bovinos e as soroprevalências encontradas, sugerindo existir a mesma probabilidade de exposição dos animais ao *N. caninum*.

Guimarães Júnior (2003) e Ragozo et al. (2003), também no Brasil, observaram maior soroprevalência para anticorpos anti-*N. caninum* com o aumento da idade dos animais, sugerindo ser a variável idade um potencial fator de risco para a infecção, diferindo dos resultados obtidos no presente estudo.

Observou-se, no presente estudo, que os bovinos da região pertencem na sua maioria às raças Girolanda, Holandesa, Pardo Suíço, Gir Leiteiro, mestiços de Gir com Pardo Suíço, mestiços com características mais zebuínas e mestiços do cruzamento Gir com Holandês. Esses últimos categorizados como mestiços e não Girolanda, segundo a padronização da raça (EMBRAPA, 2000; FREITAS et al., 2002) (Tabela 5).

A avaliação, quanto ao padrão racial, demonstrou que 41,99% dos animais da raça Girolanda, 14,56% dos mestiços de Gir com Holandês, 13,11% da raça Holandesa e de mestiço-zebus, 5,10% da raça Pardo Suíço, 4,37% dos animais originário do cruzamento de Pardo Suíço com Gir, 4,12% da raça Gir Leiteiro, 2,43% oriundos do cruzamento de Pardo Suíço com Holandês, 0,73% dos animais das raças Jersey e 0,48% da Swiith foram soropositivos para anticorpos anti-*N. caninum* (Tabela 5).

A análise estatística, de acordo com a raça, revelou não haver associação significativa ( $P > 0,05$ ), contudo, os bovinos da raça Girolanda apresentaram uma prevalência superior quanto à soropositividade para o parasito estudado, fato este que pode ser explicado devido ao maior número de animais amostrados.

Em trabalho realizado no Brasil, Munhoz (2004), utilizando bovinos de dois municípios do estado do Rio de Janeiro, verificou-se que há certa associação entre a soropositividade para *N. caninum* e a raça Holandesa Preta e Branca, diferindo dos resultados encontrados nesse estudo. Também no País, observou-se uma diferença significativa no número de bovinos soropositivos da raça Holandesa em relação aos animais mestiços de Gir com Holandesa e de Zebu, sendo 89,6% dos animais da raça Holandesa, 5,6% mestiços Gir com Holandês e 4,8% eram de genealogia zebuína (GUIMARÃES JÚNIOR, 2003).



**Tabela 5.** Frequência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, segundo a variável raça, das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, no estado do Maranhão, 2008

Raça e Cruzamentos (Padrão Racial)	<i>Neospora caninum</i>				Total de Animais Examinados	
	Soropositivos		Soronegativos			
	N	%	N	%		
Holandesa	54	13,11	44	11,00	98	12,07
Girolando	173	41,99	164	41,00	337	41,50
Mestiço Gir x Holandês	60	14,56	54	13,50	114	14,04
Mestiço-Zebú	54	13,11	62	15,50	116	14,29
Pardo Suíço	21	5,10	20	5,00	41	5,05
Pardo Suíço x Gir	18	4,37	24	6,00	42	5,17
Gir leiteira	17	4,12	22	5,50	39	4,80
Pardo Suíço x Holandês	10	2,43	06	1,50	16	1,97
Jersey	03	0,73	01	0,25	04	0,49
Swuith	02	0,48	03	0,75	05	0,62
<b>Total</b>	<b>412</b>	<b>100,00</b>	<b>400</b>	<b>100,00</b>	<b>812</b>	<b>100,00</b>

\*Não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) em relação a variável raça, de acordo com o  $\chi^2$  e Fisher  
N – número de animais

Vale ressaltar que poucos são os estudos relacionando a soropositividade para *N. caninum* e a variável padrão racial, possivelmente devido ao fato de os mesmos serem realizados com rebanhos sem raça definida, de padrão racial muito próximo ou de apenas uma raça. Dessa forma, registra-se mais um estudo indicando não haver diferenças quanto à soropositividade para o *N. caninum* e a variável raça dos animais, assim como entre seus mestiços utilizados na pecuária leiteira brasileira, provenientes de cruzamentos.

#### 4.1.4 CONCLUSÃO

Os presentes resultados indicam que, nessa circunstância epidemiológica, a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* é considerada alta, estando o agente disseminado nos rebanhos bovinos leiteiros das microrregiões estudadas, tornando-se necessários mais estudos no sentido de verificar a possível participação em distúrbios reprodutivos nos bovinos.

#### 4.1.5 REFERÊNCIAS

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; RODRIGUES, A.A.R.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 71-77, 2006.

ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C. *Neospora*-like protozoan infections as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, p. 241-244, 1991.

ANDERSON, M.L.; REYNOLDS, J.P.; ROWE, J.D.; SVERLOW, K.W.; PACKAM, A.E.; BARR, B.C.; CONRAD, P.A. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. infection in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, n. 8, p. 1169-1172, 1997.

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.D.; PIRES, P.P.; SILVA, E.A. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, Center-Western Region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, n. 3, p. 129-131, 2004.

BELO, M.A.A.; REZENDE, P.C.B.; SOUZA, L.M.; COSTA, A.J. Presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos com histórico de abortos não diagnosticados etiologicamente. In: **Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 11, Salvador-BA, Anais...** Salvador, 1999. p. 228.

CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.F.E.; GONDIM, L.F.P.; WALD, V. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 103, n. 3, p. 195-202, 2002.

CASSOL, D.M.S.; PRETTE, N.; GOMIDE, L.W.; OLIVEIRA, G.P.; MARSON, F.A.; COSTA, A.J. Pesquisa de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros, cães e humanos da região nordeste do Estado de São Paulo. **A Hora Veterinária**, v. 25, n.145, p. 23-27, 2005.

CONRAD, P.A.; BARR, B.C.; SVERLOW, K.W.; ANDERSON, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J.P.; MUNSON, L.; ARDANS, A. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine foetuses. **Parasitology**, v. 106, n. 3, p. 239-49, 1993.

COSTA, G.H.N.; CABRAL, D.G.; VARANDAS, P.N.; SOBRAL, E.A.; BORGES, F.A.; CASTAGNOLLI, K.C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 61-66, 2001.

DAVISON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. **International Journal of Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1189-1194, 1999.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H.W.; EYSKER, M.; HESSELINK, J.W.; WOUDA, W. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 105, n. 2, p. 99-104, 2002.

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

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 8, n. 4, p. 349-67, 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.; LINDSAY, D.S.; ANDERSON, M.L.; DAVIS, S.W. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 201, n. 5, p. 709-713, 1992.

EMBRAPA. Principais raças leiteiras. **Revista Brasileira de Agropecuária**, São Paulo, v. 1, n. 8, p.72-78, 2000.

FERRE, I.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; PÉREZ, F.J.; ORTEGA-MORA, L.M. Diagnóstico de la infección y del aborto causado por *Neospora caninum* en los bovinos. **Produção Animal**, v. 190, p. 52-62, 2003.

FREITAS, A.F.; DURÃES, M.C.; MENEZES, C.R.A. Girolando: raça tropical desenvolvida no Brasil. **Circular Técnica 67 – EMBRAPA**. 2002. 20p.

GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.P. Neosporose. **Vet News**, v. 9, n. 59, p. 11-13, 2002.

GEPLAN - GERÊNCIA DE PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, LABORATÓRIO DE GEOPROCESSAMENTO – UEMA (GEPLAN). **Atlas do Maranhão**. São Luís: GEPLAN. 2002. 44p.

GONDIM, L.F.P.; SARTOR, I.F., HASEGAWA, M.; YAMANE, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 71-75, 1999.

GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; ANDERSON-SPRECHER, R.C; BJÖRKMAN, C.; LOCK, T.F.; FIRKINS, L.D. GAO, L.; Fischer, W.R. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. **Journal of Parasitology**. v. 90, n. 6, p. 1394-1400, 2004a.

GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal of Parasitology**. v. 34, n. 2, p. 159-61, 2004b.

GUIMARÃES JÚNIOR, J.S. ***Neospora caninum* em bovinos de exploração leiteira: soroprevalência, fatores de risco e comparação de técnicas sorológicas**. Tese (Doutorado) – faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003. 119p.

GUIMARÃES JÚNIOR., J.S.; SOZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 1-8, 2004.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Agropecuário**, 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/> Acesso em: 10 jan. 2008.

KASHIWAZAKI, Y.; GIANNEECHINI, R.E.; LUST, M.; GIL, J. Seroepidemiology of neosporosis in dairy in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 139-144, 2004.

KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; ZENIYA, Y.; ETO, M.; YOKOYAMA, R.; TSUTSUI, T.; KIMURA, K.; YAMANE, I. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 175-179, 2006.

LINDSAY, D.S.; UPTON, S.J.; DUBEY, J.P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. **International Journal of Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1521-23, 1999.

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

MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N; LEITE, R.C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, p. 67-74, 2001.

MINERVINO, A.H.H.; RAGOZO, M.A.; MONTEIRO, R.M.; ORTOLANI, E.L.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 1, p. 254-256, 2008.

MORÉ, G.; BASSO, W.; BACIGALUPE, D.; VENTURINI, M.C. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. **Parasitology Research**, v. 1, p. 1-5, 2007.

MUNHOZ, A.D. **Distribuição infecção por *Neospora caninum* em rebanhos bovinos dos municípios de Rio Claro e Resende, estado do Rio de Janeiro.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica - RJ, 2004. 98p.

OGAWA, L.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L.F.P.; NAVARRO, I.T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 3, p. 312-316, 2005.

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 Diagnosis Investigation**, v. 7, p. 273-275, 1995.

RAGOZO, A.M.A.; PAULA, V.S.O.; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI, S.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal.** v. 1, p. 108-16, 1998.

SARTOR, I.F.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA, L.C.; PITUCO, E.M.; DAL PAI, V.; SARTOR, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 413-148, 2005.

SARTOR, I.F.; HASEGAWA, M.Y.; CANAVESSI, A.M.O.; PINCKNEY, R.D. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliadas pelos métodos de Elisa e RIFI no município de Avaré, SP. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 3-10, 2003.

SILVA, M.I.S.; ALVES, L.C.A.; FAUSTINO, M.A.G.; ALMEIDA, M.A.; PINHEIRO, M.A.; JESUS, E.E.V.; CUNHA, A.P.; NASCIMENTO, E.S.; LIMA, M.M. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros do município de Gravatá, Pernambuco. **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 12. Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: CBPV, 2002. CD-ROM

STEVENSON, W.J. **Estatística Aplicada à Administração**. São Paulo: Harper e RON do Brasil, 1981. 485p.

STOBBE, N.S. **Estudo interativo entre a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* e a ocorrência de abortamentos em bovinos no noroeste do estado de São Paulo, Brasil**. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1999. 44p.

TEIXEIRA, W.C.; PEREIRA, J.G.; SILVA, M.I.S. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos bovinos leiteiros da Ilha de São Luís – MA. In: Seminário de Iniciação Científica da UEMA, 17, 2005, São Luís do Maranhão. **Anais...** São Luís: UEMA, 2005. p. 41-43. 1 CD-ROM

THILSTED, J.P. DUBEY, J.P. *Neospora*-like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal Veterinary Diagnosis Investigation**, v. 1, p. 205-209, 1989.

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

## **4.2 PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM BOVINOS LEITEIROS DAS MICRORREGIÕES DE ITAPECURU-MIRIM, MÉDIO MEARIM E PRESIDENTE DUTRA, ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL**

### **RESUMO**

Com o propósito de pesquisar a presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros procedentes de propriedades rurais de sete municípios das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, Brasil, foram coletadas 812 amostras sanguíneas de bovinos, amostrados por conveniência, através de venopunção da jugular, fêmeas e machos e de diferentes faixas etárias. Paralelamente à coleta, foram aplicados questionários aos criadores, visando obter informações que pudessem contribuir para a análise epidemiológica da infecção nos rebanhos. Utilizou-se a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI), com diluição inicial de 1:64, usando como antígeno, taquizoítos da cepa RH-*T. gondii*, mantida em cultura celular no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da Escola de Medicina Veterinária da UFBA. Das amostras analisadas, verificou-se que 70,20% foram sororreagentes para *T. gondii*. Em relação às microrregiões pesquisadas, a soroprevalência foi de 25,79% (147) na microrregião de Itapecuru-Mirim, 26,32% (150) no Médio Mearim e 47,89% (273) na de Presidente Dutra, verificando-se diferença significativa ( $P < 0,0001$ ). Do total de animais soropositivos, 64,66% (525) eram fêmeas e 5,54% (45) machos, não sendo esta diferença considerada significativa ( $p = 0,5642$ ). Os títulos de anticorpos variaram de 1:64 a 1:1024, sendo que 272 (47,72%) amostras apresentaram título de 1:64; 182 (31,93%) 1:128; 90 (15,79%) 1:256; 25 (4,39%) 1:512 e uma (0,17 %) com título de 1:1024. De acordo com a faixa etária, observou-se que 20,53% dos animais com idade entre zero a dois anos, 24,74% entre dois e quatro anos, 33,68% entre quatro e seis anos, 13,86% entre seis e oito anos e 7,19% dos animais com idade superior a oito anos foram positivos. Os resultados registram a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, Brasil, sugerindo que há disseminação do parasito na área estudada.

**Palavras-chave:** *Toxoplasma gondii*, soroprevalência, bovinos, IFI, Maranhão.



## **PREVALENCE OF ANTIBODIES ANTI-*Toxoplasma gondii* IN DAIRY CATTLE FROM MICRORREGIONS OF ITAPECURU-MIRIM, MEARIM MIDDLE AND PRESIDENT DUTRA, MARANHÃO STATE, BRAZIL**

### **ABSTRACT**

In order to find the presence of IgG anti-*Toxoplasma gondii* in dairy cattle from farms of seven municipalities of microrregions of Itapecuru-Mirim, Middle Mearim and President Dutra, state of Maranhão, Brazil, 812 blood samples were collected from cattle, sampled for convenience, females and males of different age groups. Alongside the collection, questionnaires were applied to farmers, seeking information that could contribute to epidemiological analysis of infection in herds. It was used the technique of Indirect Immunofluorescence (IIF), with initial dilution of 1:64, using as antigen, tachyzoites strain RH-*T. gondii* and maintained in cell culture in the Laboratory of Diagnosis of Parasitism of Animals, School of Veterinary Medicine of the Federal University of Bahia - Brazil. Of the samples analyzed, it was found that 70.20% were seropositive for *T. gondii*. Regarding microrregions searched, the seroprevalence was 25.79% (147) of Itapecuru Mirim, 26.32% (150) in the Middle Mearim and 47.89% (273) of the President Dutra, checking up significant difference ( $P < 0.0001$ ). Of the total positive animals, 64.66% (525) were females and 5.54% (45) males, this difference was not considered significant ( $p = 0.5642$ ). The titles of antibodies ranged from 1:64 to 1:1024, while 272 (47.72%) samples showed evidence of 1:64; 182 (31.93%), 1:128; 90 (15.79%), 1:256; 25 (4.39%) 1:512 and one (0.17%) with title of 1:1024. According to the age group, it was observed that 20.53% of the animals aged zero to two years, 24.74% between two and four years, 33.68% between four and six years, 13.86% between six and eight years and 7.19% of the animals aged more than eight years have been positive. The results register the prevalence of anti-*T. Gondii* in dairy cattle of microrregions of Itapecuru-Mirim, Middle Mearim and President Dutra, state of Maranhão, Brazil, suggesting the spread of the parasite in the study area.

**Key words:** *Toxoplasma gondii*, seroprevalence, cattle, IFAT, Maranhão.

### 4.2.1 INTRODUÇÃO

O protozoário *Toxoplasma gondii* é um parasito de ciclo biológico facultativamente heteroxeno, com distribuição cosmopolita, e que acomete todas as espécies de animais homeotérmicos, incluindo mamíferos, aves e o próprio homem, daí ser um importante agente zoonótico (DUBEY, 1995). Considerado relevante para a Medicina Veterinária e Humana, por ser incriminado como causa de abortos e doença congênita em diversas espécies de hospedeiros intermediários (TENTER et al., 2000).

Esse agente é transmitido por felídeos, notadamente o gato doméstico que, sendo hospedeiro definitivo, participa do ciclo biológico eliminando no meio ambiente oocistos pelas fezes (DUBEY, 1995). Nos ruminantes, especialmente nos bovinos, a infecção dá-se por meio da ingestão da forma infectante que são os oocistos esporulados presentes em água, pastagens e ração (DUBEY, 1986; DUBEY, 1998).

Entre os hospedeiros intermediários pode haver a transmissão quando do consumo de carne crua ou mal cozida e também por via congênita, tendo à fêmea, portanto, papel relevante. A infecção pelo *T. gondii* pode implicar de maneira econômica no desempenho dos animais devido às perdas reprodutivas, como abortamento e elevada mortalidade neonatal, ocasionando prejuízos aos criadores (BRESCIANI et al., 1999). A importância da infecção em animais de produção aumenta uma vez que estes podem ser fontes de infecção indireta ou direta ao homem, além de que quando infectados podem sofrer alterações clínicas e perdas produtivas, como abortos (OLIVEIRA et al., 2001).

Estudos sorológicos têm demonstrado ampla distribuição da infecção entre as espécies de animais domésticos e silvestres, sobretudo, a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos tem variado de 1,03 a 91,00% (GONDIM et al., 1999; ARIAS et al., 1994; MORÉ et al., 2007).

No Brasil, estudos foram realizados nos estados da Bahia (GONDIM et al., 1999), Minas Gerais (COSTA e COSTA, 1978; COSTA et al., 2001), Pernambuco (SILVA, 2003), no Paraná (MARANA et al., 1995; GARCIA et al., 1999; DAGUER et al., 2004; OGAWA et al., 2005), Rio de Janeiro (ALBUQUERQUE et al., 2005), Rio Grande do Sul (SILVA et al., 1984), São Paulo (COSTA et al., 1978; COSTA et al., 2001; CASSOL et al., 2005). São relativamente escassos os estudos sobre a infecção por *T. gondii* em bovinos, apesar da ampla distribuição do parasito, particularmente no Brasil onde pouco se conhece da condição epidemiológica da toxoplasmose, como é a situação do estado do Maranhão.

Propondo-se contribuir com o estudo epidemiológico dessa importante zoonose, objetivou-se avaliar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de bovinos leiteiros de propriedades rurais das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil.

## 4.2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### Local do estudo

A pesquisa foi realizada com amostras séricas de bovino leiteiros procedentes de propriedades rurais, localizadas em sete municípios das microrregiões de Itapecuru-Mirim (3°24' S; 44°20' W), Médio Mearim (4°34' S; 44°39' W) e Presidente Dutra (5°14' S; 44°30' W), mesorregiões Norte e Centro Maranhense do estado do Maranhão, segundo divisão político-administrativa da Gerência de Planejamento e Desenvolvimento Econômico, Laboratório de Geoprocessamento/UEMA (GEPLAN, 2002). Essas microrregiões estão incluídas na área que faz parte da bacia leiteira do estado do Maranhão, sendo o rebanho bovino leiteiro do Estado de aproximadamente 580.405 cabeças (9% do rebanho total). Dessas, estima-se um número de 462.459 vacas ordenhadas, com produção leiteira de 286.857 litros/ano (IBGE, 2006).

### Cálculo e coleta das amostras

A amostra foi calculada por meio da fórmula  $N = Z^2 \times P(100-P)/e^2$  (STEVENSON, 1981), admitindo um grau de confiança de 95%, e adotando como valor de referência 30,40% para a prevalência esperada, segundo a média dos resultados publicados por Ogawa et al. (2005) e Cassol et al. (2005), referente à prevalência em bovinos leiteiros das regiões norte do Paraná e nordeste do estado de São Paulo, considerando-se um erro máximo de 11% da prevalência a ser determinada no estudo. Obteve-se uma amostra mínima de 727 animais sendo acrescido 10,5% para eventuais perdas, sendo a escolha dos municípios e das propriedades amostradas de acordo com a conveniência, facilidade de acesso e a disponibilidade dos produtores.

Do total de 27 propriedades rurais de gado leiteiro visitadas, foram coletadas 812 amostras séricas de bovinos amostrados por conveniência, através de venopunção da jugular,

fêmeas e machos de diferentes faixas etárias, puros *Bos taurus* ou mestiço *B. taurus* x *B. indicus*, aparentemente saudáveis, durante o período de maio a setembro de 2007. Coletaram-se 10 mL de sangue, sem anticoagulante, após prévia anti-sepsia com álcool iodado 3,0%, em tubos de ensaio individuais, devidamente esterilizados e identificados. Paralelamente, foi aplicado um questionário investigativo em cada propriedade, uma ficha clínica individual, com a finalidade de obter informações a respeito do manejo sanitário, alimentar e reprodutivo, bem como o sexo, a idade e raça de cada animal, e da pesquisa sorológica de anticorpos.

A distribuição dos animais (n = 812) segundo as três microrregiões ficou estabelecida da seguinte forma: Itapecuru-Mirim (n = 168), Médio Mearim (n = 257) e Presidente Dutra (n = 387). Foi realizado o agrupamento de acordo com a faixa etária, sendo: zero a 2 anos (n = 176), 2 a 4 anos (n = 188), 4 a 6 anos (n = 277), 6 a 8 anos (n = 123) e > 8 anos (n = 48); e com o sexo: fêmeas (n = 751) e machos (n = 61).

### **Processamento das amostras**

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Estadual do Maranhão, onde foram centrifugadas a 1000xG, durante cinco minutos para obtenção dos soros. Estes foram aliqüotados em tubos plásticos de polipropileno com capacidade de 1,5 mL (*eppendorfs*) individuais, sendo cada amostra feita em triplicata, e armazenados a -20°C até a realização do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*, segundo técnica descrita por Camargo (1964).

Foram utilizados como antígenos, taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* adquiridos por meio de inoculação intraperitoneal em camundongos albinos, no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (LDPA/UFBA), e o conjugado comercial anti-bovino IgG (Sigma, USA, F7887) marcado com isotiocianato de fluoresceína.

Consideraram-se positivas as amostras reativas, com ponto de corte de 1:64 (COSTA et al., 1977; ALBUQUERQUE et al., 2005), que apresentavam fluorescência periférica total do taquizoítos, conforme Silva (2003) e Daguer et al. (2004). Para as amostras positivas, posteriormente foram realizadas diluições na base dois a partir da diluição inicial de 1:64, objetivando determinar o título máximo da reação. Em todas as análises foram acrescentados soros controles de animais comprovadamente negativo e positivo, assim como soro fetal bovino.

## Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados, foram utilizados os testes de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com nível de significância de 5%, e exato de Fisher quando as condições para a aplicação do  $\chi^2$  não foram obtidas para avaliação epidemiológica dos resultados sorológicos.

### 4.2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 812 soros bovinos analisados, encontrou-se uma prevalência de 70,20% (570) reagentes para anticorpos anti-*T. gondii*. Em relação às microrregiões pesquisadas, a soroprevalência foi de 25,79% (147) na microrregião de Itapecuru-Mirim, 26,32% (150) Médio Mearim e 47,89% (273) na de Presidente Dutra, verificando-se diferença significativa ( $P < 0,0001$ ) entre as microrregiões estudadas (Tabela 1). Trabalhos realizados também com bovinos na região nordeste do Brasil, nas regiões da caatinga e recôncavo do estado da Bahia (GONDIM et al., 1999) e em Gravatá, região Agreste de Pernambuco (SILVA, 2003) detectaram positivities de 1,03% e 2,60% para anticorpos anti-*T. gondii*, respectivamente, resultados considerados muito baixo em relação ao encontrado nesta pesquisa.

**Tabela 1.** Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, em rebanhos bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, 2008

Microrregião	Soropositivos		Soronegativos		Total		Valor de P
	N	%	N	%	N	%	
<b>Itapecuru-Mirim</b>	147	25,79	21	8,68	168	20,69	$P^{(1)} < 0,0001^*$
<b>Médio Mearim</b>	150	26,32	107	44,21	257	31,65	
<b>Presidente Dutra</b>	273	47,89	114	47,11	387	47,66	
<b>Total</b>	570	100,00	242	100,00	812	100,00	

(1) - Teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) de Pearson. (\*) - Associação significativa ao nível de 5%.

Em estudos realizados por Marana et al. (1995) e Daguer et al. (2004), pesquisando anticorpos anti-*T. gondii* em soros de bovinos leiteiros e de abatedouros no estado do Paraná, observaram uma soropositividade de 48,5% e 41,4% respectivamente, também por meio da IFI, sendo esses resultados também inferiores aos do presente estudo. A divergência da alta

prevalência encontrada nesse estudo em relação a outras publicações já realizadas no País pode ser atribuída a diversos fatores, entre eles, à diferença das próprias condições edafoclimáticas que varia até dentro da mesma região e também do tipo de manejo adotado.

Amostras de soros bovinos dos estados de São Paulo e Minas Gerais foram analisadas para pesquisa de anticorpos contra *T. gondii*, por meio da IFI, onde foi obtido 49,17% sororreagentes (COSTA et al., 2001), resultado esse também inferior ao do presente. Cassol et al. (2005) e Albuquerque et al. (2005), trabalhando com bovinos leiteiros em São Paulo e Rio de Janeiro, detectaram soropositividade de 34,80% e 14,77%, respectivamente, também utilizando a IFI com ponto de corte de 1:64. Enquanto, Ogawa et al. (2005) encontraram uma soroprevalência de 26% reagentes, analisando soros de vacas da região norte do estado do Paraná.

Trabalhos desenvolvidos no México (VAZQUEZ et al., 1993) e Vietnã (HUONG et al., 1997), mostraram resultados da soropositividade de 11,9% e 10,5%, respectivamente, muito inferiores aos observados nesta pesquisa. Entretanto, na Argentina, Moré et al. (2007), estudando a presença do *T. gondii* em bovinos, detectaram anticorpos em 91% das amostras analisadas, resultado esse superior ao do presente estudo.

Com relação ao sexo, verificou-se que, do total de animais soropositivos, 92,10% (525) eram fêmeas e 7,90% (45) machos, não sendo esta diferença considerada significativa ( $p = 0,5642$ ) (Tabela 2), corroborando com os resultados citados por Cassol et al. (2005) que encontraram 97,30% de fêmeas e 2,70% de machos sororreagentes. Dados também semelhantes foram observados por Daguer et al. (2004) que constataram não haver diferença significativa em relação a variável sexo.

**Tabela 2.** Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, segundo o sexo dos animais, em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, 2008

Sexo	Positivos		Negativos		Total		Valor de p
	N	%	N	%	N	%	
Fêmea	525	92,10	226	93,39	751	92,49	$P^{(1)} = 0.5642$
Macho	45	7,90	16	6,61	61	7,51	
<b>Total</b>	570	100,00	242	100,00	812	100,00	

(1) - Teste exato de Fisher.

Das amostras positivas, 47,72% possuíam título de 1:64; 31,93% com título de 1:128; 15,79% com título de 1:256; 4,39% com título de 1:512 e 0,17% com título de 1:1024 (Tabela 3). Embora existam divergências quanto ao ponto de corte para *T. gondii* em bovinos, por meio da IFI, a maioria dos estudos epidemiológicos utilizam 1:64 (SILVA, 2003; CASSOL et al., 2005; ALBUQUERQUE et al., 2005). Comparando-se os resultados dos títulos de anticorpos encontrados na presente pesquisa com os citados por Daguer et al. (2004) e Albuquerque et al. (2005), verificou-se discreto aumento nos títulos de 1:64 e 1:256, sendo porém, semelhantes aos valores encontrados por Cassol et al. (2005) para esses títulos. Os mesmos autores encontraram um elevada frequência nos títulos de 1:1024 (12,16%) e 1:4096 (6,76%) contrário aos dados observado neste trabalho.

**Tabela 3.** Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, em bovinos leiteiros das microrregiões de Itaipuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, segundo a recíproca do título, 2008

Recíproca do Título	Frequência	
	Absoluta (N)	Relativa (%)
64	272	47,72
128	182	31,93
256	90	15,79
512	25	4,39
1024	01	0,17
<b>Total</b>	<b>570</b>	<b>100,00</b>

N = número de amostras

A soroprevalência, de acordo a faixa etária, revelou que 20,53% dos animais com idade entre zero a dois anos, 24,74% entre dois e quatro anos, 33,68% entre quatro e seis anos, 13,86% entre seis e oito anos e 7,19% dos animais com idade superior a oito anos foram positivos (Tabela 4).

**Tabela 4.** Frequência absoluta (n) e relativa (%) de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, por meio da Imunofluorescência Indireta, em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra no estado do Maranhão, Brasil, segundo a faixa etária, 2008

Faixa etária (Ano)	Positivos		Negativos		Total	
	N	%	N	%	N	%
0-2	117 <sup>a</sup>	20,53	59	24,38	176	21,68
2-4	41 <sup>ab</sup>	24,74	47	19,42	188	23,15
4-6	192 <sup>ac</sup>	33,68	85	35,12	277	34,11
6-8	79 <sup>ac</sup>	13,86	45	18,60	124	15,27
> 8 anos	41 <sup>bd</sup>	7,19	06	2,48	47	5,79
<b>Total</b>	<b>570</b>	<b>100,00</b>	<b>242</b>	<b>100,00</b>	<b>812</b>	<b>100,00</b>

\*Letras diferentes nas colunas indicam diferença significativa em relação à variável faixa etária, segundo o teste de Fisher e  $\chi^2$

N = número de amostras analisadas

Com relação à idade, verificou-se que aqueles animais com mais de oito anos apresentaram uma menor frequência (7,19%), havendo diferença estatística significativa ( $P < 0,05$ ), quando comparados com os animais soropositivos das faixas etárias zero a dois, quatro a seis e seis a oito, resultado este que difere dos verificados por Cassol et al. (2005), onde relataram maior soropositividade nos animais da faixa etária de seis a 10 anos (90,99%).

Contudo, vale ressaltar que no referido trabalho não foi verificada diferença significativa ( $P > 0,05$ ) entre as faixas etárias de zero a dois e dois a quatro anos, de zero a dois e quatro a seis, assim como de zero a dois e seis a oito, resultados esses semelhantes ao obtido por Daguer et al. (2004), que destacaram não haver associação entre a variável idade e a presença de anticorpos anti-*T. gondii*, em bovinos destas faixas etárias.

Levando em consideração o fator presença de felinos domésticos nas propriedades, verificou-se que 80,56% do total de propriedades, possuíam pelo menos um ou mais animais, sugerindo que muitos podem estar eliminando oocistos no ambiente, desta forma contaminando água, alimentos e existindo um risco real de infecção aos animais e até ao próprio homem. De acordo com Dubey (1998), esta espécie é o maior responsável pela transmissão pós-natal de *T. gondii* uma vez que a infecção nos bovinos ocorre principalmente pela ingestão de oocistos.



#### **4.2.4 CONCLUSÃO**

A elevada prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em bovinos leiteiros das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, Brasil, sugere a ampla distribuição do parasito no rebanho analisado, mais frequentemente em animais com menos de oito anos de idade.

#### 4.2.5 REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, G.R.; MUNHOZ, A.A.; FLAUSINO, W.; SILVA, R.T.; ALMEIDA, C.R.R.; MEDEIROS, S.M.; LOPES, C.W.G. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros do Vale do Paraíba Sul Fluminense, estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 14, n. 3, p. 125-128, 2005.

ARIAS, M.L. REYES, L., CHINCHILLA, M., LINDER, E. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in meat producing animals in Costa Rica. **Revista de Biologia Tropical**, v. 42, n. 1/2, p. 15-20, 1994.

BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A.J.; TONIOLLO, G.; SABATINI, G.A.; MORAES, F.R.; PAULILLO, A.C.; FERRAUDO, A.S. Experimental toxoplasmosis in pregnant bitches. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 143-145, 1999.

CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, n. 3, p. 117-118, 1964.

CASSOL, D.M.S.; PRETTE, N.; GOMIDE, L.W.; OLIVEIRA, G.P.; MARSON, F.A.; COSTA, A.J. Pesquisa de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros, cães e humanos da região nordeste do Estado de São Paulo. **A Hora Veterinária**, v. 25, n. 145, p. 23-27, 2005.

COSTA, J.A.; COSTA, E.P. Frequência de bovinos reagentes à imunofluorescência indireta para *Toxoplasma gondii* em Poços de Caldas, MG, Brasil. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, v. 30, n. 1, p. 47-51, 1978.

COSTA, A.J.; ARAÚJO, F.G.; COSTA, J.O.; LIMA, J.D.; NASCIMENTO, E. Experimental infection of bovines with oocysts of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 63, n. 2, p. 212-218, 1977.

COSTA, A.J.; ÁVILA, F.A.; KASAI, N.; PAULILLO, A.C.; SILVA, M.B.; GALEGO, H. Anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de bovinos no município de Jaboticabal, São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo**, v. 45, p. 299-302, 1978.

COSTA, G.H.N.; CABRAL, D.D.; VARANDAS, N.P.; SOBRAL, E.A.; BORGES, F.A.; CASTAGNOLLI, K.C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 61-66, 2001.

DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T.; VIRMOND, M.P.; HAMANN, W.; AMENDOEIRA, M.R.R. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1133-1137, 2004.

DUBEY, J.P. A review of toxoplasmosis in cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 22, n. 3-4, p. 177-202, 1986.

DUBEY, J.P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 3, p. 410-415, 1995.

DUBEY, J.P. Advance in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal of Parasitology**, v. 28, p. 1019-1024, 1998.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J.L.; THULLIEZ, P.H. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 2, p. 270-273, 1993.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná – Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p 91-97, 1999.

GEPLAN - GERÊNCIA DE PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, LABORATÓRIO DE GEOPROCESSAMENTO – UEMA (GEPLAN). **Atlas do Maranhão**. São Luís: GEPLAN. 2002. 44p.

GONDIM, L.F.P.; JUNIOR, H.V.B.; FILHO, C.H.A.R.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 273-276, 1999.

HUONG, L.T.T.; LJUNGSTROM, B.L.; UGGLA, A.; BJÖRKMAN, C. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. **Veterinary Parasitology**, v. 75, p. 53-57, 1997.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Censo Agropecuário**, 2006. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/> Acesso em: 10 jan. 2008.

MARANA, E.R.M.; VENTURINI, A.C.H.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de leite, do norte do Paraná - Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 16, n. 1, p. 40-42, 1995.

MORÉ, G.; BASSO, W.; BACIGALUPE, D.; VENTURINI, M.C. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. **Parasitology Research**, v. 1, p. 1-5, 2007.

OGAWA, L.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L.P.G.; NAVARRO, I.T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 3, p 312-316, 2005.

OLIVEIRA, F.C.R.; COSTA, A.J.; SABATINI, G.A. Clínica e Hematologia de *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bubalus bubalis* inoculados com oocistos de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae). **Ciência Rural**, v. 31, n. 4, p. 621-626, 2001.

SILVA, M.I.S. **Aspectos epidemiológicos das infecções por *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Brucella abortus* e Vírus da Diarréia Viral Bovina em matrizes bovinas leiteiras do município de Gravatá – PE.** Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Pernambuco, Recife - PE, 2003. 81p.

SILVA, N.R.S.; ARAÚJO, F.A.P.; CHAPLIN, E.L. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de bovinos de corte, abatidos em matadouros, no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 13, n. 1, p. 43-49, 1984.

STABENOW, C.S.; OLIVEIRA, F.C.R.; COSTA, A.J. Importância do isolamento do *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em músculos e vísceras comestíveis de bovinos e búfalos. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 12, 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: CBPV, 2002. 1 CD-ROM

TENTER, A.M.; HECKERROTH; A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

VAZQUEZ, Z.G.; CRUS, R.R.; GARCIA, G.D.; BAUMGARTEN, O.H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, swine and goats in four Mexican states. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 17, p. 127-132, 1993.

### **4.3 SOROEPIDEMIOLOGIA DE *Neospora caninum* E *Toxoplasma gondii* EM CÃES DE PROPRIEDADES RURAIS DE BOVINOS LEITEIROS DE TRÊS MICRORREGIÕES NO ESTADO DO MARANHÃO, BRASIL**

#### **RESUMO**

Objetivou-se, no presente estudo, determinar a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães procedentes de propriedades rurais produtoras de leite de três microrregiões do estado do Maranhão. No período de maio a setembro de 2007 foram visitadas 36 propriedades de gado de leite, onde foram coletadas 93 amostras séricas de cães, na sua maioria sem raça definida (SRD), de ambos os sexos e diferentes idades. Foram colhidos 5 mL de sangue diretamente da veia radial, sem anticoagulante, após prévia anti-sepsia com álcool iodado 3,0%, em tubos de ensaio individuais, devidamente esterilizados e identificados. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Estadual do Maranhão, onde foram centrifugadas a 1000xG. Os soros obtidos foram acondicionados em eppendorfs, individuais e estocados a -20°C até a realização do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii*, com pontos de cortes de 1:50 e 1:16, respectivamente. Utilizou-se como antígeno, taquizoítos das cepas NC-Bahia mantida em cultura celular e Rh – *T. gondii* replicadas em camundongos, no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da Escola de Medicina Veterinária da UFBA. Das amostras analisadas, verificou-se que 62,37% (58/93) e 79,57% (74/93) foram sororreagentes para *N. caninum* e *T. gondii*, respectivamente. Os títulos de anticorpos para *N. caninum* variaram de 1:50 a 1:1600, sendo que quatro (6,90%) amostras apresentaram título de 1:50; nove (15,52%) 1:100; oito (13,79%) 1:200; 18 (31,03%) 1:400; 14 (24,14%) 1:800 e cinco (8,62%) com título de 1:1600. Para *T. gondii* os títulos variaram de 1:32 a 1:2048, sendo seis (8,11%) amostras com título de 1:32; nove (12,16%) 1:64; 14 (18,92%) 1:128; 22 (29,73%) 1:256; 13 (17,57%) 1:512; nove (12,16%) com 1:1024 e uma (1,35%) de 1:2048. Em relação ao sexo, raça e idade verificou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ( $P>0,05$ ) para ambas os parasitos. A alta soropositividade detectada em cães da região estudada indica que os mesmos podem estar atuando como transmissores do *N. caninum* para outros cães e outras espécies sensíveis, sobretudo para bovinos.

**Palavras-chave:** *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, Imunofluorescência Indireta, Cães.

## SEROEPIDEMIOLOGY OF *Neospora caninum* AND *Toxoplasma gondii* IN DOGS OF DAIRY CATTLE RURAL FARMS IN THREE MICRORREGIONS OF MARANHÃO STATE, BRAZIL

### SUMMARY

The objective was in the present study, to determine the prevalence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* in sera of dogs from farms producing milk of three microrregions in the state of Maranhão, Brazil. In the period from May to September 2007 were visited 36 properties of dairy cattle, which were collected serum samples from 93 dogs, mostly without race defined (SRD), of both sexes and different ages. Were harvested 5 mL of blood from the vein radial without anticoagulant, after prior anti-sepsis with alcohol iodized 3.0% in test tubes of individual, properly sterilized and identified. The samples were sent to the of Laboratory of Parasitology of the Course of Veterinary Medicine, Center for Agricultural Sciences, the State University of Maranhão, where they were centrifuged at 1000xG. Serum samples were packed in eppendorfs, individual and stored at -20°C until the completion of the test Indirect Immunofluorescence (IFI) for the detection of IgG anti-*N. caninum* and anti-*T. gondii*, with the cut-off of 1:50 and 1:16, respectively. It was used as antigen, tachyzoites strains of NC-Bahia maintained in cell culture and Rh-*T. gondii* replicated in mice in the laboratory diagnosis of Parasitism of Animals, School of Veterinary Medicine of the UFBA. Of the samples analyzed, it was found that 62.37% (58/93) and 79.57% (74/93) were seropositive for *N. caninum* and *T. gondii*, respectively. The titles of antibodies to *N. caninum* ranged from 1:50 to 1:1600, and that four (6.90%) samples showed title of 1:50; nine (15.52%), 1:100; eight (13.79%), 1: 200, 18 (31.03%), 1:400; 14 (24.14%) of 1:800 and five (8.62%) with title of 1:1600. For *T. gondii* the titles ranged from 1:32 to 1:2048: six (8.11%) samples with title of 1:32; nine (12.16%) 1:64; 14 (18.92%) 1:128; 22 (29.73%) 1:256; 13 (17.57%) 1:512; nine (12.16%) with 1:1024 and one (1.35%) 1:2048. Regarding sex, race and age it was found that there was no statistically significant difference ( $P>0.05$ ) for both parasites. The high seropositivity of dogs detected in the region studied indicates that they may be acting as transmitters of the *N. caninum* to other dogs and other susceptible species, especially for cattle.

**Key words:** *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, Indirect Immunofluorescence, Dogs.

### 4.3.1 INTRODUÇÃO

Os protozoários *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* são parasitos intracelulares similares, pertencentes à família Sarcocystidae e subfamília Toxoplasmatinae, de distribuição cosmopolita, responsáveis por distúrbios neurológicos em cães. Ambos causam alterações patológicas e manifestações clínicas muito semelhantes (DUBEY et al., 1988).

A infecção por *N. caninum* foi relatada primeiramente em cães (BJERKAS et al., 1984; DUBEY et al., 1988), e posteriormente foi associada a abortos bovinos (THISLSTED e DUBEY, 1989). Os cães domésticos e coiotes desempenham papel fundamental na epidemiologia da neosporose por serem hospedeiros definitivos e eliminarem oocistos nas fezes (McALLISTER et al., 1998; LINDSAY et al., 1999; GONDIM et al., 2004), sendo os primeiros canídeos confirmados como hospedeiros definitivos desse agente, que participam disseminando o parasito no ambiente, contaminando as pastagens, alimentos e a água consumida pelos hospedeiros intermediários (DUBEY, 1999; GONDIM et al., 2004). A infecção natural pelo *N. caninum* em caninos já foi relatada, assim como a confirmação da transmissão congênita (DUBEY e LINDSAY, 1996; BARBER e TREES, 1998).

Em caninos, têm sido observadas alterações neuromusculares, contudo, a sintomatologia observada em cães adultos varia desde desordens crônicas no sistema nervoso central a dermatites (DUBEY et al., 1988; DUBEY e LINDSAY, 1996), sendo que, as alterações são mais acentuadas em cães jovens, tais como: paresia progressiva dos membros e hiperextensão dos membros (CUDDON et al., 1992; WOUHA et al., 1993; LITTLE, 1996; BARBER e TREES, 1996), incordenação, nistagmo, anisocoria, polirradiculoneurite e polimiosite (DUBEY e LINDSAY, 1996; HAY et al., 1990).

Devido à relevância dos cães na epidemiologia da doença, muitos estudos enfocando essa espécie já foram realizados em todo o mundo (BARBER et al., 1997; PATITUCCI et al., 2001; CRINGOLI et al., 2002; BASSO et al., 2001; ANTONY e WILLIAMSON, 2003; CAMPOS et al., 2003; CORNEJO et al., 2004; WANHA et al., 2005, PALAVICINI et al., 2007). No Brasil, vários outros estudos foram realizados relatando a infecção por *N. caninum* em cães e outras espécies de animais. Sendo que as taxas de prevalência em caninos para *N. caninum* variaram de 6,70 a 73,37%, dentre os estados da Bahia (11,20 a 13,30%) (JESUS et al., 2006), Maranhão (45,00 a 61,76%) (TEIXEIRA et al., 2006a; 2006b), Minas Gerais (6,70 a 21,7%) (MINEO et al., 2001; FERNANDES et al., 2004), Mato Grosso do Sul (26,53 a 30%) (OLIVEIRA et al., 2004), Paraíba (8,40%) (AZEVEDO et al., 2005), Paraná (19,70 a



29,17%) (ROMANELLI et al., 2007), Rondônia (8,3 a 12,60%) (CAÑÓN-FRANCO et al., 2003; AGUIAR et al., 2006) e São Paulo (8,48 a 58,79%) (VARANDAS et al., 2001; GENNARI et al., 2002).

O *T. gondii* foi descoberto em um pequeno roedor africano (*Ctenodactylus gondii*), tendo como hospedeiros definitivos os felídeos, sendo o gato doméstico o mais importante na cadeia epidemiológica uma vez que elimina oocistos pelas fezes. Estes contaminam o meio ambiente, água e alimentos, permitindo a ingestão por outros animais ou pelo próprio ser humano (DUBEY et al., 1995). A presença de anticorpos para *T. gondii* em cães já foi relatada em vários estudos realizados em diferentes partes do mundo, com prevalências variando entre 20 a 91% (BJÖRKMAN et al., 1994; CABRAL et al., 1998; MINEO et al., 2001; DUBEY et al., 2007), e no Brasil, nos estados da Bahia (63,55%) (BARBOSA et al., 2003), Minas Gerais (36%) (MINEO et al., 2001), Paraíba (45,10%) (AZEVEDO et al., 2005), Paraná (20,80 a 84,10%) (GARCIA et al., 1999; ROMANELLI et al., 2007) e São Paulo (19,73 a 51,19%) (SOUSA et al., 2003; CASSOL et al., 2005).

Diante do exposto, objetivou-se, no presente estudo, determinar a prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães procedentes de propriedades rurais produtoras de leite de três microrregiões do estado do Maranhão, Brasil.

### 4.3.2 MATERIAL E MÉTODOS

#### Área de estudo

O estudo foi realizado em cães de propriedades rurais produtoras de leite, localizadas em municípios das microrregiões de Itapecuru-Mirim (3°24' S; 44°20' W), Médio Mearim (4°34' S; 44°39' W) e Presidente Dutra (5°14' S; 44°30' W), mesorregiões Norte e Centro Maranhense do estado do Maranhão, conforme divisão político-administrativa da Gerência de Planejamento e Desenvolvimento Econômico, Laboratório de Geoprocessamento - UEMA (GEPLAN, 2002), durante o período de maio a setembro de 2007.

## Amostragem e coleta das amostras

Para a determinação do tamanho da amostra, utilizou-se a fórmula  $N = Z^2 \times P(100-P)/e^2$ , admitindo um grau de confiança de 95% (STEVENSON, 1981). O cálculo foi realizado adotando como valor de referência a média dos resultados encontrada por Teixeira et al. (2006a; 2006b), que foi de 53,00%, em cães da Região Metropolitana de São Luís - MA, considerando-se um erro máximo de 20% da prevalência a ser determinada no estudo. Com a fórmula foi calculada uma amostragem mínima de 85 cães.

Foram visitadas 36 propriedades rurais de gado leiteiro, de acordo com a conveniência e a facilidade de acesso às mesmas, sendo colhidas 93 amostras séricas de cães, na sua maioria sem raça definida (SRD), de ambos os sexos (54 machos e 39 fêmeas) e diferentes idades. Coletaram-se 5 mL de sangue diretamente da veia radial, sem anticoagulante, após prévia anti-sepsia com álcool iodado 3,0%, em tubos de ensaio individuais, devidamente esterilizados e identificados.

## Processamento das amostras

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Parasitologia do Curso de Medicina Veterinária, Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Estadual do Maranhão, onde foram centrifugadas a 1000xG, durante cinco minutos para obtenção dos soros. Estes foram aliqüotados em tubos plásticos de polipropileno com capacidade de 1,5 mL (*eppendorfs*) individuais, sendo cada amostra feita em duplicata, e estocados a -20°C até a realização do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii*, com pontos de cortes de 1:50 e 1:16, respectivamente. Utilizaram-se como antígenos, taquizoítos da cepa NC-Bahia isolada de um cão e mantida em cultura celular (GONDIM et al., 2001), assim como da cepa Rh de *T. gondii* mantidos em passagens em camundongos albinos, no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia (LDPA/UFBA), e o conjugado comercial anti-canine IgG (Sigma, USA) marcado com isotiocianato de fluoresceína. Consideraram-se positivas as amostras reativas que apresentavam fluorescência periférica total dos taquizoítos, nos pontos de cortes citados, conforme Camargo (1964), Dubey et al. (1988), Paré et al. (1995), Dubey e Lindsay (1996).

## Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio do teste de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ), com nível de significância de 5%, e teste exato de Fisher quando o  $\chi^2$  não podia ser aplicado; e para avaliar se existe correlação entre as infecções, aplicou-se o teste t Student de correção, segundo Zar (1999).

### 4.3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das amostras analisadas, verificou-se que 62,37% (58/93) foram sororreagentes para anticorpos anti-*N. caninum*. Esses resultados foram superiores aos descritos por Sawada et al. (1998) no Japão, Wouda et al. (1999) nos Países Baixos, Basso et al. (2001) na Argentina, Cringoli et al. (2002) no Sul da Itália, Campo et al. (2003) e Cornejo et al. (2004) no Peru e Wanha et al. (2005) na Áustria que encontraram 31,5%, 23,6%, 54,2%, 6,4%, 32,7%, 19,4% e 5,31%, respectivamente; porém inferiores aos citados por Antony e Williamson (2003) que obtiveram prevalências de 74,50% e 96,80% para cães de propriedades de bovinos leiteiros e de corte na Nova Zelândia, respectivamente.

Quando confrontados os dados do presente estudo com outros relatados no Brasil, constatou-se serem também superiores aos obtidos por Fernandes et al. (2004) no estado de Minas Gerais, Aguiar et al. (2006) em Rondônia e Romanelli et al. (2007) no Paraná, onde os mesmos diagnosticaram uma soroprevalência de 21,74%, 12,6% e 29,17%, respectivamente, em cães de propriedades rurais. Valores muito próximos aos achados nessa pesquisa foram citados por Hasegawa et al. (2004) em estudo com cães que conviviam com bovinos de corte (58,97%) da região de Avaré - SP e Teixeira et al. (2006b) em cães de propriedades rurais de bovinos leiteiros (61,76%) da região metropolitana de São Luís – MA.

Para anticorpos anti-*T. gondii* a prevalência encontrada foi de 79,57% (74/93) sororreagentes, sendo inferior a citada por Garcia et al. (1999) trabalhando também com cães de propriedades rurais (84,13%) no Paraná. Porém foi superior àquelas encontradas por Cassol et al. (2005) e Romanelli et al. (2007) em cães de áreas rurais dos estados de São Paulo e do Paraná, onde observaram 36,00% e 20,83%, respectivamente, por meio do teste de IFI. Também foram superiores aos encontrados por Souza et al. (2003) em cães da zona rural do Paraná, e Dubey et al. (2007) em cães do Sri Lanka que acharam uma soroprevalência de 34,33% e 67,44% por meio do teste de aglutinação modificado, respectivamente.

Dos 58 cães soropositivos para *N. caninum*, 63,79% eram machos e 36,21% fêmeas. Apesar de uma maior prevalência observada entre machos, constatou após análise estatística não haver diferença entre os sexos ( $P>0,05$ ) (Tabela 1). Basso et al. (2001), Patitucci et al. (2001), Souza et al. (2002), Cañon-Franco et al. (2003), Campo et al. (2003), Oliveira et al. (2004), Wanha et al. (2005) e Teixeira et al. (2006a) também não observaram diferença na soroprevalência em relação ao sexo, sugerindo que machos e fêmeas podem ser igualmente infectados.

**Tabela 1.** Frequência absoluta (n) e relativa (%) de cães procedentes de propriedades rurais, submetidos à detecção de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum*, de acordo com o sexo, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão

SEXO	SOROPOSITIVOS		SORONEGATIVOS		TOTAL	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
<b>Macho</b>	37	63,79	17	48,57	54	58,06
<b>Fêmea</b>	21	36,21	18	51,43	39	41,94
<b>Total</b>	58	100,00	35	100,00	93	100,00

Não foi verificada associação significativa por meio do teste de Qui-quadrado:  $\chi^2 = 1.44$ ;  $P = 0,194$

Em relação à presença de anticorpos contra *T. gondii*, verificou-se que dos 74 animais sororreagentes, 58,11% eram machos e 41,89% fêmeas. A análise estatística demonstrou não haver diferença entre os sexos ( $P>0,05$ ) (Tabela 2). Corroborando com os resultados obtidos por Garcia et al. (1999), Varandas et al. (2001) e Barbosa et al. (2003) que também não observaram diferença significativa em relação ao sexo, sugerindo que machos e fêmeas estão sujeitos ao mesmo risco de infecção.

Em relação à raça constatou-se que 91,40% dos animais não tinham raça definida e que desses 89,65% eram sororreagentes para *N. caninum* e 90,54% para *T. gondii* (Tabela 3). Neste estudo, apesar do maior número de animais amostrados serem sem raça definida (SRD), ficou demonstrado que não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ). Embora sejam mais frequentes os casos clínicos em cães de raça definida como descrito por Dubey e Lindsay (1996), fato este que também pode ser explicado devido à presença dos animais da área rural consistir na sua maioria em cães SRD. Jesus et al. (2006) também não observaram uma diferença estatística significativa para a variável raça, apesar de a ocorrência de anticorpos anti-*N. Caninum* ter sido observada em cães Boxer, Rotweiller, Fila Brasileiro e Pastor Alemão.

**Tabela 2.** Frequência absoluta (n) e relativa (%) de cães procedentes de propriedades rurais, submetidos à detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, de acordo com o sexo, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão

SEXO	SOROPOSITIVOS		SORONEGATIVOS		TOTAL	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
<b>Macho</b>	43	58,11	11	57,89	54	58,06
<b>Fêmea</b>	31	41,89	8	42,11	39	41,94
<b>Total</b>	74	100,00	19	100,00	93	100,00

Não foi verificada associação significativa por meio do teste de Qui-quadrado: P = 1.000; P>0,05

**Tabela 3.** Distribuição de cães procedentes de propriedades rurais, soropositivos para anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii*, de acordo com a raça, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão

Raça	Animais examinados	Número de Animais Soropositivos			
		<i>N. caninum</i>		<i>T. gondii</i>	
		N	%	N	%
SRD	85	52	89,65	67	90,54
CRD	08	06	10,35	07	9,46
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>58</b>	<b>100,00</b>	<b>74</b>	<b>100,00</b>

\*Não foi verificada associação significativa entre colunas e linhas: P = 1.000; P>0,05

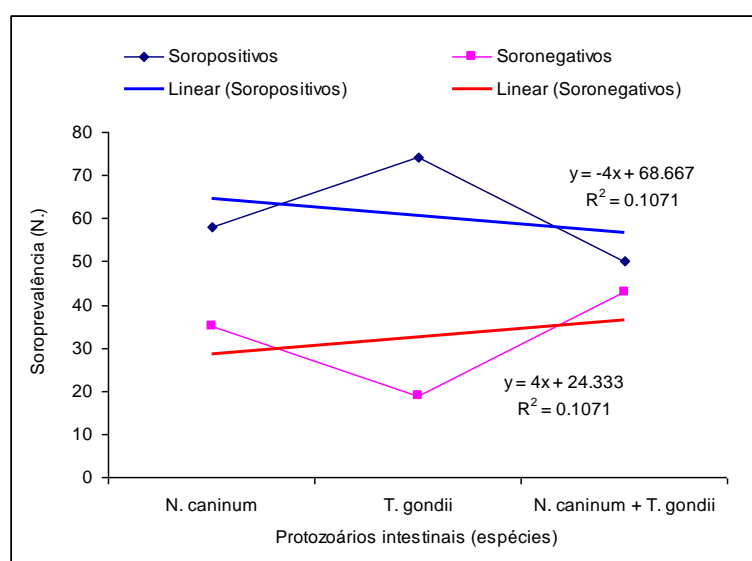
SRD – Sem raça definida

CRD – Com raça definida

Foi diagnosticado que 53,76% dos cães do presente estudo estavam soropositivos tanto para anticorpos anti-*N. caninum* quanto para *T. gondii*, não havendo diferença estatística significativa (P>0,05) (Tabela 3). Este resultado é bastante superior aos descritos por Azevedo et al. (2005) e Romanelli et al. (2007) que detectaram 4,89% e 20,83% dos cães sororreagentes, respectivamente, para os referidos parasitos por meio do teste de IFI.

Fazendo uma análise por meio da correlação entre as soroprevalências encontradas, verificou-se a não existência de relação entre os parasitos, podendo ser observado que as linhas de tendência (soropositivos e soronegativos) passam bem distante dos pontos e o R<sup>2</sup> é inferior a 0,70 em ambos (Figura1).

Vale ressaltar ser esta técnica empregada na maioria dos trabalhos sorológicos em caninos (PARÉ et al., 1995; BJÖRKMAN e UGGLA, 1999) e que, de acordo com Trees et al. (1993), detecta antígenos de superfície específicos, razão pelas quais reações cruzadas são pouco frequentes. Contudo, as diluições de corte 1/50 para *N. caninum* e 1/16 para *T. gondii* permite diferenciar os animais infectados dos não infectados (DUBEY e LINDSAY, 1996), desta forma os animais que foram positivos neste estudo são considerados infectados ao momento da coleta das amostras, fato este indicativo de uma co-infecção em cães da região estudada.



**Figura 5.** Correlação entre a soroprevalência de anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em cães procedentes de propriedades rurais das microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, Brasil, 2008.

Trees et al. (1993), analisando amostras séricas de cães, por meio da IFI, não evidenciaram nenhuma associação significativa entre anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii*, resultado este que corrobora com os do presente estudo.

Das amostras soropositivas para *N. caninum*, os títulos de anticorpos IgG variaram de 1:50 a 1:1600, sendo que quatro (6,90%) amostras apresentaram título de 1:50; nove (15,52%) de 1:100; oito (13,79%) de 1:200; 18 (31,03%) de 1:400; 14 (24,14%) de 1:800 e cinco (8,62%) com título de 1:1600. Enquanto, que para *T. gondii* variaram de 1:32 a 1:2048, sendo seis (8,11%) amostras com título de 1:32; nove (12,16%) com 1:64; 14 (18,92%) de 1:128; 22 (29,73%) de 1:256; 13 (17,57%) com 1:512; nove (12,16%) e uma (1,35%) com títulos de 1:1024 e 1:2048, respectivamente (Tabela 4).

Observou-se uma elevada freqüência de cães soropositivos que reagiram para anti-*N. caninum* nas diluições entre 1:100 e 1:1600, concordando com os resultados descritos por Cãnnon-Franco et al. (2003), Fernandes et al. (2004), Wanha et al. (2005), Aguiar et al. (2006), Jesus et al.(2006), Teixeira et al. (2006a, 2006b) e Romanelli et al. (2007). Porém divergindo dos achados citados por Azevedo et al. (2005) em cães da cidade de Campina Grande, estado da Paraíba.

De acordo com Dubey et al. (1988), Hay et al. (1990), Cuddon et al. (1992) e Barber e Trees (1996), títulos de anticorpos IgG igual ou maior a 1:800 são sugestivos de quadro de neosporose clínica, entretanto, neste estudo, foram detectados 19 cães com títulos  $\geq$  1:800, embora sem apresentar sinais clínicos da doença. Fernandes et al. (2005) relataram que somente um cão, dentre sete, com títulos de anticorpos  $\geq$  1:800 apresentou alterações neurológicas.

**Tabela 4.** Distribuição dos títulos de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães positivos procedentes de propriedades rurais, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão

Recíproca do Título	<i>Neospora caninum</i>		Recíproca do Título	<i>Toxoplasma gondii</i>	
	N	Freqüência (%)		N	Freqüência (%)
50	04	6,90	32	06	8,11
100	09	15,52	64	09	12,16
200	08	13,79	128	14	18,92
400	18	31,03	256	22	29,73
800	14	24,14	512	13	17,57
1600	05	8,62	1024	09	12,16
			2048	01	1,35
<b>Total</b>	<b>58</b>	<b>100,00</b>	<b>Total</b>	<b>74</b>	<b>100,00</b>

N – número de animais soropositivos

No presente estudo, em relação à presença de títulos de anticorpos anti-*T. gondii* nas amostras reagentes, verificou-se uma alta ocorrência nas diluições entre 1:64 e 1:1024, corroborando com os dados relatados por Barbosa et al. (2003) em Salvador – BA, Azevedo et al. (2005) em Campina Grande - PB e Romanelli et al. (2007) em soros de cães propriedades rurais do município de Guarapuava - PR. Entretanto, diferindo dos mencionados

por Garcia et al. (1999) em cães de Jaguapitã, estado da Paraná, que relataram como títulos mais freqüentes os de 1:16 (31,4%), 1:64 (38,4%) e 1:256 (22,0%).

A soroprevalência encontrada, de acordo com a faixa etária, demonstrou 68,18% dos animais com idade abaixo de dois anos, 55,55% com idade entre dois e quatro anos, 68,18% com idade entre quatro e sete anos e 75,00% dos animais com idade maior que sete anos foram reagentes para anticorpos contra *N. caninum*, não havendo diferença estatística significativa ( $P>0,05$ ). Já nos resultados sorológicos para *T. gondii* em função também da faixa etária dos animais, constatou-se que 77,27% com idade  $< 2$  anos, 82,22% entre dois e quatro anos, 72,73% entre quatro e sete anos e 100% com idade superior a sete anos foram positivos para anticorpos, não apresentando também diferença estatística significativa ( $P>0,05$ ) (Tabela 5). Dessa forma, foi observado um acréscimo da prevalência com o aumento da faixa etária dos animais, embora esta tendência não tenha sido significante.

**Tabela 5.** Freqüência de anticorpos IgG contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães positivos procedentes de propriedades rurais, de acordo com a idade, nas microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, estado do Maranhão, 2008

Idade (Anos)	Nº de Amostras Testadas		Resultado Sorológico					
			<i>N. caninum</i>		<i>T. gondii</i>		<i>N. caninum + T. gondii</i>	
	N	%	N	%	N	%	N	%
< 2	22	23,66	15	68,18	17	77,27	15	68,18
2 — 4	45	48,38	25	55,55	37	82,22	20	44,44
4 — 7	22	23,66	15	68,18	16	72,73	12	54,54
> 7 anos	04	4,30	03	75,00	04	100,00	03	75,00
<b>Total</b>	<b>93</b>	<b>100,00</b>	<b>58</b>	<b>62,37</b>	<b>74</b>	<b>79,57</b>	<b>50</b>	<b>53,76</b>

Não houve diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as faixas etárias, de acordo com os testes de  $\chi^2$  e Fisher

Com relação à variável idade, não foi evidenciada significância entre as faixas etárias analisadas para ambos os parasitos estudados, inferindo que cães de qualquer idade estão expostos ao mesmo risco de infecção. Acontecimento este também demonstrado por Cringoli et al. (2002), Varandas et al. (2001), Campo et al. (2003), Cornejo et al. (2004) e Jesus et al. (2006) quando pesquisando anticorpos anti-*N. caninum* em soros de cães. Todavia, Oliveira et al., 2004 verificaram diferença significativa ( $P < 0,05$ ) em relação a cães jovens (10,52%) e



adultos (31,38%). Em estudos realizados por Cañón-Franco et al. (2003), Fernandes et al. (2004), Wanha et al. (2005) e Aguiar et al. (2006), os autores observaram uma prevalência mais alta com o aumento da idade dos animais, sugerindo que a maioria dos cães adquire a infecção no período pós-natal, por meio da transmissão horizontal.

A análise dos dados da soropositividade dos cães para anticorpos anti-*T. gondii* em relação à idade, diferem da mencionada por Barbosa et al. (2003) que demonstraram haver diferença estatística ( $P < 0,001$ ), quando se comparou os cães jovens (14,80%) com adultos (70,20%). Ainda em relação à idade, Garcia et al. (1999) constataram que cães menores de dois anos, entre dois e quatro e maiores que quatro anos apresentaram prevalências de 50,31%, 31,45% e 18,24%, respectivamente, para anticorpos anti-*T. gondii*, constatando-se serem os resultados do presente estudo bastante superiores nas faixas etárias analisadas.

Segundo Frenkel e Parker (1996) e Lindsay et al. (1997), os cães podem ser considerados agentes de transmissão mecânica do *T. gondii* quando da ingestão experimental de oocistos esporulados, uma vez que eliminaram nas fezes formas viáveis do parasito, sugerindo ainda como potencial fator de risco para os seres humanos.

Verificou-se a presença de felinos em 80,56% (29/36) das fazendas, existindo um risco real de infecção aos caninos e até ao próprio homem. Logo, os cães utilizados neste estudo tinham acesso às áreas de sítios e outras propriedades rurais, com a possibilidade de contato com felinos, podendo contrair a infecção por *T. gondii* mais facilmente que animais domiciliados, fato este que pode explicar a alta soropositividade detectada.

De acordo com Souza et al. (2003), Fernandes et al. (2004) e Wanha et al. (2005) ficou evidenciado que ocorre aumento da soroprevalência em cães de áreas rurais quando comparadas com aqueles de áreas urbanas. Os animais que têm acesso à rua ou contato com outras espécies podem estar mais frequentemente infectados com *N. caninum* (GENNARI et al., 2002; FERNANDES et al., 2004). Além do mais, Patitucci et al. (2001) observaram diferenças no percentual de cães positivos que comem carne crua de 29,5% (21/71) daqueles que não consomem carne crua 7,7% (5/65). Também Cañón-Franco et al. (2003) mencionaram que a frequência de cães soropositivos que tinham dieta caseira foi de 8,6% (13/151), considerada maior do que aqueles cães alimentados com comida comercial.

#### 4.3.4 CONCLUSÃO

Com o presente estudo, registra-se a presença de infecção natural por *N. caninum* e *T. gondii* em cães de propriedades rurais produtoras de leite das microrregiões de Itapecuru Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, estado do Maranhão, Brasil, evidenciando o risco de infecção a vários animais, aos quais os rebanhos bovinos e outros animais domésticos estão expostos, tendo em vista que estes animais são encontrados livremente nas propriedades rurais estudadas.

### 4.3.5 REFERÊNCIAS

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; RODRIGUES, A.A.R.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 71-77, 2006.

ANTONY, A.; WILLIAMSON, N.B. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 51, n. 5, p. 232-237, 2003.

AZEVEDO, S.S.; BATISTA, C.S.A.; VASCONCELLOS, S.A.; AGUIAR, D.M.; RAGOZO, A.M.A.; RODRIGUES, A.A.R.; ALVES, C.J.; GENNARI, S.M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 79, n. 1, p. 51-56, 2005.

BARBER, J.S.; TREES, A.J. Clinical aspects of twenty-seven cases of neosporosis in dogs. **Veterinary Record**, v. 139, p. 439-443, 1996.

BARBER, J.S.; GASSER, R.B.; ELLIS, J.; REICHEL, M.P.; McMILLAN, D.; TREES, A.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. **Journal Parasitology**, v. 83, p. 1056-1058, 1997.

BARBER, J.S.; TREES, A.J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **International Journal Parasitology**, v. 28, p. 57-64, 1998.

BARBOSA, M.V.F.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P.; REGIS, G.B. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães errantes da cidade de Salvador-Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, p. 457-465, 2003.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M.C.; MOORE, D.P.; RAMBEAU, M.; UNZAGA, J.M.; CAMPERO, C.; BACIGALUPE, D.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. **Journal Parasitology**, v. 87, p. 906-907, 2001.

BJERKÅS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fur Parasitenkd**, v. 70, p. 271-274, 1984.

BJÖRKMAN, C.; LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Swedish dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 35, n. 4, p. 445-447, 1994.

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

CABRAL, D.D.; SILVA, D.A.O.; MINEO, J.R.; FERREIRA, F.A.; DURAN, F.P. Frequency of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Uberlândia – MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, p. 87-90, 1998.

CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, n. 3, p. 117-118, 1964.

CAMPO, J.S.; CHÁVEZ, A.V.; DELGADO, A.C.; FALCÓN, N.P.; ALMEIDA, M.A.O.; CASAS, E.A.; SERRANO, E.M. Frecuencia de *Neospora caninum* em perros de establos lecheros del Valle de Lima. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 14, n. 2, p. 145-149, 2003.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; BERGAMASCHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A., SOUZA, S.L.P., SILVA, J.C.R.; PINTER, A.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon. Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 115, p. 71-74, 2003.

CORNEJO, N.P.; CHAVÉZ, A.V.; CASAS, E.A; ARANA, C.D. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en perros de establos lecheros de la cuenca izquierda del Valle del Mantaro. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 15, n. 1, p. 70-75, 2004.

CRINGOLI, G; RINALDI, L.; CAPUANO, F.; BALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 1, p. 307-313, 2002.

CASSOL, D.M.S.; PRETTE, N.; GOMIDE, L.W.; OLIVEIRA, G.P., MARSON, F.A.; COSTA, A.J. Pesquisa de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros, cães e humanos da região nordeste do Estado de São Paulo. **A Hora Veterinária**, v. 25, n. 145, p. 25-27, 2005.

CUDDON, P.; LINDSAY, D.S.; BOWMAN, D.D.; MILLER, T.K.; DUNCAN, I.D.; DELAHUNTA, M.M.; CUMMINGS, J.F.; SUTER, M.; COOPER, B.; KING, J.M.; DUBEY, J.P. *Neospora caninum* infection in English springer spaniel littermates: diagnostic evaluation and organism isolation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 6, n. 6, p. 325-332, 1992.

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

DUBEY, J.P.; LAPPIN, M.R.; THULLIEZ, P. Long term antibody response of cat fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **Journal for Parasitology**, v. 81, n. 6, p. 887-893, 1995.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and Neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999.

DUBEY, J.P.; RAJAPAKSE, R.P.V.J.; WIJESUNDERA, R.R.M.K.K.; SUNDAR, N.; VELMURUNGAN, G.V.; KWOK, O.C.H., SU, C. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs from Sri Lanka and genetic characterization of the parasite isolates. **Veterinary Parasitology**, v. 146, p. 341-346, 2007.

FERNANDES, B.C.T.M.; GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.P.; CARVALHO, J.M.; OLIVEIRA, W.G., CURY, M.C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 33-40, 2004.

FRENKEL, J.K.; PARKER, B.B. An apparent role of dogs in the transmission of *Toxoplasma gondii*. The probable importance of xenosmophilia. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 791, p.402-407, 1996.

GARCIA, J.L., NAVARRRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.

GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D'ÁURIA, S.N.R.; CARDOSO, S.M.S.; KWOK, O.C.H.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 106, p. 177-179, 2002.

GERÊNCIA DE PLANEJAMENTO E DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO, LABORATÓRIO DE GEOPROCESSAMENTO – UEMA (GEPLAN). **Atlas do Maranhão**. São Luís: GEPLAN. 2002. 44p.

GONDIM, L.F.P; PINHEIRO, A.M.; SANTOS, P.O.; JESUS, E.E.; RIBEIRO, M.B.; FERNANDES, H.S.; ALMEIDA, M.A.O.; FREIRE, S.M.; MEYER, R.; McALLISTER, M.M. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology**, v. 101, p. 1-7, 2001.

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

HASEGAWA, M.Y.; SARTOR, I.F.; CANAVESSI, A.M.O.; PINCKNEY, R.D. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de corte e em cães rurais da região de Avaré, Estado de São Paulo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias. Londrina**, v. 25, n. 1, p. 45-50, 2004.

HAY, W.H.; SHELL, L.G.; LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. Diagnosis and treatment of *Neospora caninum* infection in a dog. **Journal of the American Veterinary Medicam Association**, v. 197, n. 1, p. 87-89, 1990.

JESUS, E.E.V.; SANTOS, P.O.M.; BARBOSA, M.V.F.; PINHEIRO, A.M.; GONDIM, L.F.P.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães dos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, estado da Bahia, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 5-10, 2006.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BUTLER, J.M.; BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 73, p. 27-33, 1997.

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.

LITTLE, P.B. Central nervous system rendez-vous – canine progressive posterior paresis. **Canadian Veterinarian Journal**, v. 37, p. 55-56, 1996.

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, p. 1473-1478, 1998.

MINEO, T.W.P.; SILVA, D.A.O.; COSTA, G.H.N.; VON ANCHEN, A.C.B.; KASPER, L.H.; SOUZA, M.A.; CABRAL, D.D.; COSTA, A.J.; MINEO, J.R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 98, p. 239-245, 2001.

OLIVEIRA, J.M.; MATOS, M.F.; OSHIRO, M.L.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in the urban área of Campo Grande, MS, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 4, p. 155-158, 2004.

PALAVICINI, P.; ROMERO, J.J.; DOLZ, G.; JIMÉNEZ, A.E.; HILL, D.E., DUBEY, J.P. Fecal and sorological survey of *Neospora caninum* in farm dogs in Costa Rica. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 265-270, 2007.

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

PATITUCCI, A.N.; PÉREZ, M.J.; ROZAS, M.A.; ISRAEL K.F. Neosporosis canine: detection of sera antibodies in rural and urban canine population of chile. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 33, p. 227-232, 2001.

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, n. 1, p. 202-207, 2007.

SAWADA, M.; PARK, C.H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I.; UMEMURA, T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in japanese dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 60, p. 853-854, 1998.

SOUZA, S.L.P.; GUIMARÃES, J.S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Paraná, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 88, p. 408-409, 2002.

SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D'AURIA, S.R.N.; CARDOSO, S.M.S.; GUIMARÃES-JUNIOR, J.S.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural areas from Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 1-3, 2003.



STEVENSON, W.J. **Estatística Aplicada à Administração**. São Paulo: Harper e RON do Brasil, 1981. 485p.

TEIXEIRA, W.C.; SILVIA, M.I.S.; PEREIRA, J.G.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P. Frequência de cães reagentes para *Neospora caninum* em São Luís, Maranhão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, p. 685-687, 2006a.

TEIXEIRA, W.C.; SILVA, M.I.S.; UZÊDA, R.S.; COSTA, K.S.; PINHEIRO, A.M.; GONDIM, L.F.P. Presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães de propriedades rurais produtoras de leite da região metropolitana de São Luís - MA. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006, Ribeira Preto-SP. **Anais...** Ribeirão Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 14, 2006b, p.328.

THISLSTED, J.P.; DUBEY, J.P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, p. 205-209, 1989.

TREES, A.J.; GUY, F.; TENNANT, B.J.; BALFOUR, A.H.; DUBEY, J.P. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in population of urban dogs in England. **Veterinary Record**, v. 132, p. 125-126, 1993.

VARANDAS, N.P.; RACHED, P.A.; COSTA, G.H.N.; SOUZA, L.M.; CASTAGNOLLI, K.C.; COSTA, A.J. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da região nordeste do Estado de São Paulo: correlação com neuropatias. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 105-111, 2001.

WANHA, K.; EDELHOFER, R.; GABLER-EDUARDO, C.; PROSL, H. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 3-4, p. 189-193, 2005.

WOUDA, W. et al. *Neospora caninum* infection as a cause of paralysis in littermate pups. **European Journal of Companion Animal Practice**, v. 5, p. 21-25, 1993.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, Th.; KRAMER, A.M.H.; Van MAANEM, C.; BRINKHOE, J.M.A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infection in dogs and cattle. **International Journal Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1677-1682, 1999.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. Prentice Hall, New Jersey, 1999. 831p.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas três microrregiões estudadas é elevada a prevalência de infecção por *N. caninum* em bovinos leiteiros, bem como a alta taxa nos caninos das mesmas propriedades, sugerindo uma possível associação entre a infecção pelo parasito nas duas espécies estudadas.

A alta soroprevalência para anticorpos anti-*T. gondii* diagnosticada em bovinos e cães das áreas rurais permite inferir que a presença de felinos domésticos em 80,56% das propriedades estudadas pode ser responsável pela manutenção da infecção nas referidas espécies.

As medidas de manejo sanitário nas propriedades de bovinos leiteiros do estado do Maranhão não estão sendo adotadas de maneira satisfatória, favorecendo o aumento dos índices de infecção pelos parasitos coccídios nos animais da área estudada.

Os resultados do presente estudo são importantes do ponto de vista de saúde pública uma vez que a infecção por *T. gondii* nos rebanhos bovinos significa um risco à população humana, assim como a presença de felinos.

## **6 APÊNDICES**

## 6.1 Questionário Investigativo

**QUESTIONÁRIO – PROJETO NEOSPORA e TOXOPLASMA  
MESTRADO 2006 - 2008**

N.º \_\_\_\_\_

Propriedade:

Endereço:

Data: / /

Proprietário:

Telefone:

Município:

Estado:

Regime de Criação:

Área total: \_\_\_\_\_ ha

Área destinada ao Pastejo e/ou capineiras: \_\_\_\_\_ ha

ANIMAIS										
Faixa Etária	0 a 12 meses		12 a 24 meses		24 a 36 meses		Acima de 36 meses		TOTAL	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
Quantidade										

QUE OUTRAS ESPÉCIES SÃO CRIADAS NA PROPRIEDADE									
Espécies	Caninos	Felinos	Bubalinos	Ovinos	Caprinos	Eqüinos	Asinino	Suínos	Aves
Nº									

**MANEJO DA CRIAÇÃO**

► Como são criados os animais? ( ) Extensivo ( ) Semi-Intensivo ( ) Intensivo

► Adquire animais com frequência? ( ) Sim ( ) Não

Procedência \_\_\_\_\_ Realizou Quarentena ( ) Sim ( ) Não

Qual sexo? ( ) Macho ( ) Fêmea

► Tipo de Exploração Animal:

( ) Produção de leite ( ) Produção de carne ( ) Produção mista

**REPRODUTIVO**

► Quantos nascimentos ocorrem durante o ano (média) ? \_\_\_\_\_

► Taxa de Mortalidade: ( ) Alta ( ) Média ( ) Baixa

► Época do ano em que ocorre o maior número de partições? \_\_\_\_\_

► Os bezerros ao nascerem apresentam-se:

( ) Normais ( ) Anormais ( ) Fracos ( ) Dificuldade de locomoção ( ) Outros

► Idade em que a fêmea é coberta pela primeira vez? \_\_\_\_\_

► Realiza Inseminação Artificial ( ) Sim ( ) Não

- ▶ **Tem ocorrido aborto na propriedade?** ( ) Sim ( ) Não  
**Quando** ( ) Início da gestação ( ) Metade ( ) Final  
▶ **Qual o destino das vacas que abortaram?** ( ) Descarte ( ) Sacrifício ( ) Outros  
▶ **Aspecto do feto abortado** ( ) Normal ( ) Mumificado ( ) Autolisado  
▶ **Destinos dos fetos?** \_\_\_\_\_  
▶ **É freqüente o uso de luvas** ( ) Sim ( ) Não  
▶ **Presença de vacas com retenção de placenta** ( ) Sim ( ) Não  
**Quantas e quando?** \_\_\_\_\_  
▶ **Repetição de cio** ( ) Sim ( ) Não

### ALIMENTAR

- ▶ **Alimentação** ( ) Capim ( ) Ração ( ) Capim + Ração ( ) Outros \_\_\_\_\_  
▶ **Como é fornecida aos animais?** ( ) No cocho ( ) À pasto ( ) Ambos  
▶ **Costuma fornecer feno e/ou silagem aos animais** ( ) Sim ( ) Não  
**Qual a origem?** \_\_\_\_\_  
▶ **Durante o ano oferece sal para os animais** ( ) Sim ( ) Não  
**Qual o tipo?** ( ) Mineral ( ) Comum  
▶ Nos locais onde os animais pastam e/ou fica armazenado feno e silagem os cães tem acesso? ( ) Sim ( ) Não  
▶ **Fornecer água** ( ) Sim ( ) Não **Qual a origem?** ( ) Poço ( ) Rio ( ) Barreiro

### SANITÁRIO

- ▶ **Possui assistência veterinária** ( ) Sim ( ) Não  
▶ **Faz vacinação** ( ) Aftosa ( ) Raiva ( ) Manqueira ( ) Brucelose ( ) Outras  
**Quando?** \_\_\_\_\_  
▶ **Foi realizado coleta de material dos animais para a realização de exames?**  
( ) Sim ( ) Não **Qual(is) e Quando?** \_\_\_\_\_  
▶ **Que testes foram realizados?**  
( ) Brucelose ( ) Tuberculose ( ) Leptospirose ( ) Parasitológico ( ) Outros  
▶ **Realiza controle de ecto e endoparasitos?** ( ) Sim ( ) Não  
( ) Periódico ( ) Esporádico ( ) 6 em 6 meses ou 3 em 3 meses ( ) Anualmente  
**Como? Produto(s)?** \_\_\_\_\_  
▶ **Usa algum tipo de remédio caseiro?** ( ) Sim ( ) Não  
**Qual (is)? Para que?** \_\_\_\_\_  
▶ **Conhece alguma doença que acomete os bovinos, e que pode afetar no processo reprodutivo** ( ) Sim ( ) Não  
( ) Neosporose ( ) Brucelose ( ) Toxoplasmose ( ) Leptospirose ( ) Outras  
▶ **Presença de ratos** ( ) Sim ( ) Não  
▶ **Que outros roedores domésticos e silvestres existem?** \_\_\_\_\_  
▶ **Qual a importância da criação de gado de leite?** \_\_\_\_\_

OBSERVAÇÕES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

## 6.2 Ficha Individual Bovina

**FICHA INDIVIDUAL (BOVINO) – PROJETO *NEOSPORA* E *TOXOPLASMA*  
MESTRADO 2006 - 2008**

N.º \_\_\_\_\_

Data da coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome e/ou registro do Animal:

Espécie:

Raça:

Idade/Nasc.:

Sexo:

Proprietário:

Endereço:

Propriedade:

- Quantas vezes já pariu ?
- Houve algum problema durante o parto. Qual ?
- Já abortou alguma vez ?
- Procedência?
- Outros

Material coletado: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ABORDAGEM CLÍNICA:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**EXAME LABORATORIAL:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**OUTRAS OBSERVAÇÕES:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### 6.3 Ficha Individual Canina

#### FICHA INDIVIDUAL (CÃO) – PROJETO *NEOSPORA* e *TOXOPLASMA* MESTRADO 2006 - 2008

N.º \_\_\_\_\_

Data da coleta: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Nome e/ou registro do Animal:

Espécie:

Raça:

Idade/Nasc.:

Sexo:

Proprietário:

Endereço:

Propriedade:

- Já apresentou alguma alteração nervosa ?
- Se Fêmea, houve algum problema durante o parto. Qual ?
- Quantas vezes pariu ?
- Procedência?
- Outros

Material coletado: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**ABORDAGEM CLÍNICA:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**EXAME LABORATORIAL:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**OUTRAS OBSERVAÇÕES:**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

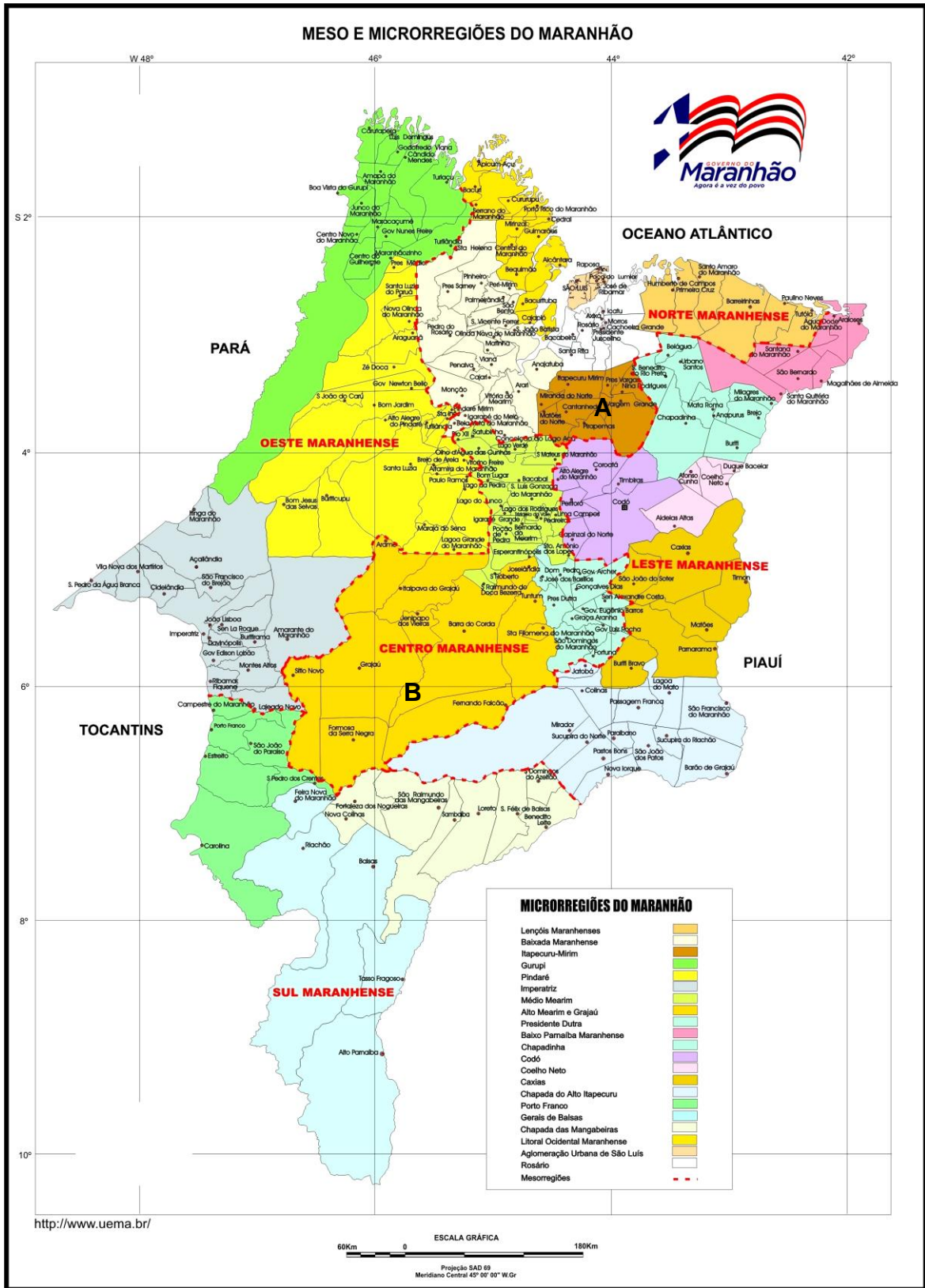


#### 6.4 Coordenadas Geográficas dos Municípios

Latitude e longitude dos municípios pertencentes às microrregiões de Itapecuru-Mirim, Médio Mearim e Presidente Dutra, mesorregiões Norte e Centro Maranhense, estado do Maranhão, Brasil, 2007.

<b>MUNICÍPIOS</b>	<b>LATITUDE</b>	<b>LONGITUDE</b>
Santa Rita	03°06'89"	44°18'95"
Itapecuru-Mirim	03°22'95"	44°20'95"
Pedreiras	04°35'99"	44°36'97"
Trizidela do Vale	04°32'80"	44°37'74"
Igarapé Grande	04°37'297"	44°50'625''
Presidente Dutra	05°16'20"	44°30'78"
São Domingos do MA	05°41'75"	44°18'52"

# ANEXO



Mapa do Maranhão: A - Mesorregião Norte; B - Mesorregião Centro.