



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM OVINOS
NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

ORESTES LUIZ DE SOUZA NETO

Recife, 2013



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM OVINOS
NO ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

ORESTES LUIZ DE SOUZA NETO

Dissertação submetida à Coordenação do
Curso de Pós-Graduação em Ciência
Animal Tropical, como parte dos requisitos
para a obtenção do título de Mestre em
Ciência Animal Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Claudio
Horta

Co-orientador: Prof. Dr. Rinaldo
Aparecido Mota

Recife, 2013

Ficha catalográfica

S729e Souza Neto, Orestes Luiz de
Estudo epidemiológico da infecção por *Neospora
caninum* em ovinos no Estado de Pernambuco, Brasil /
Orestes Luiz de Souza Neto. – Recife, 2013.
42 f. : il.

Orientador: Maurício Claudio Horta.
Dissertação (Mestrado em Ciência Animal Tropical) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento
de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife, 2013.
Referências.

1. Neosporose 2. Epidemiologia 3. Diagnóstico
I. Horta, Maurício Claudio, orientador II. Título

CDD 636.089

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal Tropical, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas às normas de ética científica.

Dissertação elaborada por

Orestes Luiz de Souza Neto

Aprovada em 17 / 07 / 2013

BANCA EXAMINADORA

Prof. Maurício Claudio Horta - UNIVASF

Prof. José Wilton Pinheiro Júnior – UFRPE/UAG

Prof. Wagner José Nascimento Porto - UFAL

Prof. Rinaldo Aparecido Mota - UFRPE

REFLEXÕES

**Projetar e realizar é viver em
liberdade (John Dewey)**

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador e Mantenedor, que de maneira evidente tem cronologicamente me guiado e me abençoado de forma surpreendente. Agradeço a Ele pela estrutura familiar maravilhosa.

Um dia desses alguém me disse (na verdade muita gente já me disse): Orestes!!!!tu tens muita sorte com amigos. Não chamo de sorte, chamo de providência divina, um conceito bastante interessante. Agradeço a Ele pelos incomparáveis amigos que tenho encontrado, pois esses realmente, sem exagero, são meus amigos. Agradeço ao Criador por isso.

A todos do laboratório de bacterioses e agregados e adjacentes que de alguma forma cooperaram para o desenvolvimento e finalização desde projeto. Prefiro não citar nomes, pois corre o enorme risco de cometer a injustiça de esquecer alguém, portanto, quem lê entenda.

Ao professor Mauricio Claudio Horta, pela confiança dada a mim, mesmo sem me conhecer, e também pela extrema paciência.

Aos professores Rinaldo Aparecido Mota e Leonildo Bento de Galiza da Silva, pela relação de confiança, muita paciência e pelas oportunidades oferecidas em todos esses anos.

Agradeço a Thalita Silva Dias e demais voluntários. Talvez vocês não imaginem a dimensão da ajuda que vocês me deram.

Ao professor José Wilton e Acidália Claudino, pelo grande auxílio no desenvolvimento do projeto.

Enfim, procurei enxugar os agradecimentos, pois se assim não fosse iria compartilhar a mesma quantidade de páginas da própria dissertação. Obrigado a todos!!!

FONTES FINANCIADORAS

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) - Processo Nº: IBPG-0620-5.05/11

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical.

SUMÁRIO

Resumo.....	12
Abstract.....	13
Introdução.....	14
1. Revisão de literatura.....	15
1.1. <i>Neospora caninum</i>	15
1.2. Ciclo biológico.....	16
1.3. Transmissão.....	17
1.4. Distribuição.....	18
1.5. Imunopatologia.....	20
1.6. Diagnóstico.....	22
1.7. Profilaxia.....	23
Referências bibliografias.....	24
2. Objetivos.....	31
2.1. Objetivos gerais.....	31
2.2. Objetivos específicos.....	31
3. Artigos.....	32
3.1. Artigo 1: Frequência e distribuição espacial de anticorpos IgG anti- <i>Neospora caninum</i> em ovinos e em propriedades rurais nas mesoregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano.....	32
3.2. Artigo 2: Pesquisa de infecção por <i>Neospora caninum</i> em fetos e fêmeas gestantes de ovinos coletados em abatedouros dos municípios das mesorregiões do São Francisco e Agreste pernambucano.....	38
4. Conclusão.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Taxonomia do <i>Neospora</i> , <i>Hammondia</i> e <i>Toxoplasma</i> (GOODSWEN et al., 2013).....	15
Figura 2. Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i> (GOODSWEN et al., 2013).....	17
Artigo: Figura 1. Distribuição espacial de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em ovinos	47

LISTA DE TABELAS

Quadro 1. Frequência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> no estado de Pernambuco, Brasil.....	37
---	----

ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

N. caninum - *Neospora caninum*

T. gondii – *Toxoplasma gondii*

RIFI - Reação da Imunofluorescência Indireta

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

IgG - Imunoglobulina de fase crônica

ELISA - Ensaio Imunoenzimático

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

RESUMO

Neospora caninum é um protozoário, causador da Neosporose. É envolvido em transtornos reprodutivos em ovinos e acomete várias espécies de animais domésticos e silvestres. Objetivou-se nesta pesquisa realizar um estudo epidemiológico da infecção por *N. caninum* em ovinos no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Para isso foi desenvolvido dois subprojetos. No subprojeto 1 objetivou-se estimar a prevalência e distribuição espacial de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em ovinos pela técnica da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) nas Mesorregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano; no subprojeto 2 objetivou-se estimar a frequência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em ovelhas gestantes pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), em matadouros dos municípios de Petrolina (São Francisco) e Gravatá (Agreste) e verificar a frequência de *N. caninum* em fetos ovinos coletados em matadouros do Estado de Pernambuco, utilizando a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). No subprojeto 1 utilizou-se 416 ovinos de 13 propriedades. A técnica utilizada para a pesquisa de anticorpos foi a RIFI considerando ponto de corte 1:50. Verificou-se uma prevalência de 12,9% (55/426) de ovinos soropositivos para *N. caninum*. Observou-se animais soropositivos em 53,8% (7/13) das propriedades e em 58% (7/12) dos 12 municípios pesquisados. As três mesorregiões estudadas apresentaram focos de animais soropositivos, numa frequência de 40% (2/5) das propriedades da mesorregião do São Francisco, 50% (2/4) das propriedades do Sertão e 75% (3/4) do agreste. No subprojeto 2 as técnicas utilizadas para a detecção de anticorpos contra o agente foi a RIFI e para a detecção direta do agente a PCR. Das 103 fêmeas gestantes testadas na RIFI apenas duas (1,94%) apresentaram anticorpos contra *N. caninum*, sendo uma do município de Petrolina e outra do município de Gravatá. Após a RIFI realizou-se PCR dos tecidos (cérebro, coração, fígado, diafragma e baço) fetais pertencentes às fêmeas positivas constatando-se a presença do DNA do agente no coração do feto procedente do abatedouro de Petrolina. Anticorpos foram detectados em mais da metade dos municípios e propriedades pesquisadas e em todas as mesorregiões estudadas. Há necessidade de realizar outros estudos nesta espécie para conhecer o real impacto do agente.

Palavras chave: neosporose, epidemiologia, diagnóstico

ABSTRACT

Neospora caninum is a protozoan that causes neosporosis. It is involved in reproductive disorders in sheep and affects several species of domestic and wild animals. The objective of this research was to conduct an epidemiological study of infection with *N. caninum* in sheep in the State of Pernambuco, Northeastern Brazil. For it was developed two subprojects. In subproject 1 aimed to estimate the prevalence and spatial distribution of anti-*N. caninum* in sheeps using the indirect fluorescent antibody test (IFAT) in mesoregions the Agreste, São Francisco and Sertão Pernambucano, in the second subproject aimed to estimate the frequency of anti-*N. caninum* in pregnant ewes by indirect fluorescent antibody test (IFAT) in slaughterhouses of the municipalities of Petrolina (São Francisco) and Gravatá (Agreste) and check the frequency of *N. caninum* in ovine fetuses collected at abattoirs in the State of Pernambuco using the polymerase chain reaction (PCR). In subproject 1 was used 416 sheep of 13 properties. The technique used for the detection of antibodies was considering the IFAT cutoff 1:50. There was a prevalence of 12.9 % (55/426) of sheep seropositive for *N. caninum*. Seropositive animals was observed in 53.8 % (7/13) of the farms and 58 % (7/12) of the 12 cities surveyed. The three mesoregions studied showed foci of seropositive animals at a frequency of 40 % (2/5) properties from the mesoregion of São Francisco, 50 % (2/4) of the properties of the Sertão and 75 % (3/4) of the Agreste. In the second sub-project the techniques used for the detection of antibodies against the agent was IFAT and direct detection agent PCR. Of the 103 pregnant females tested in the IFAT only two (1,94 %) had antibodies to *N. caninum*, one of the city of Petrolina and another in the city of Gravatá. After IFAT was carried PCR tissues (brain, heart, liver, and spleen diaphragm) belonging to the female fetal positive finding for the presence of the agent in the DNA of fetal Petrolina coming from the slaughterhouse. Antibodies were detected in more than half of the municipalities and properties surveyed and in all mesoregions studied. There is need for more studies in this species to know the real impact of the agent.

Key words: neosporosis, epidemiologic, diagnosis

Introdução

A ovinocaprinocultura vem se destacando no agronegócio brasileiro, tendo bastante representatividade nos estados do Rio Grande do Sul, Paraná e Mato Grosso do Sul. Mas esta representatividade também alcança os estados do nordeste, principalmente Pernambuco, Bahia, Ceará e Piauí. Este setor da pecuária vem aumentando suas participações no agronegócio brasileiro e a tendência é de que se mantenham em expansão. As estratégias de conquistas de novos mercados também poderão impulsionar o consumo mundial desse tipo de carne (BRASIL, 2013).

Para concretizar projeções e tendências são necessários investimentos em salubridade e inocuidade. Esse papel é exercido pelo Ministério da Agricultura, por meio do Programa Nacional de Sanidade dos Caprinos e Ovinos (PNSCO), que visa o fortalecimento da cadeia produtiva dessas espécies pela adoção de ações de vigilância e defesa sanitária animal (BRASIL, 2013).

Com o objetivo de caracterizar o perfil zoossanitário da ovinocaprinocultura em nosso território, estão sendo realizadas pesquisas com o intuito de mapear as principais enfermidades que aqui ocorrem. Dentre as doenças que estão sendo mapeadas a Neosporose é uma delas, sob a justificativa de que provoca impacto negativo na produtividade dos rebanhos (EMBRAPA, 2012). Esta é uma enfermidade relacionada com abortos, causada por um protozoário, *Neospora caninum*, estruturalmente similar ao *Toxoplasma gondii*, porém, antigenicamente diferente (DUBEY, 2003).

Existem outras infecções conhecidas por causar aborto em ovinos em todo o mundo, tais como a brucelose (STEVENS et al., 1994; CORBEL, 1997), leptospirose (MARTINS et al., 2012), infecção por pestevírus (HORNBERG et al., 2009), *Chlamydomphila abortus* (RODOLAKIS et al., 1998) e por *Toxoplasma gondii* (DUBEY, 1988)

Pesquisas envolvendo enfermidades relacionadas aos problemas reprodutivos, os quais tem como consequência perdas na produtividade dos rebanhos são importantes.

1. Revisão de Literatura

1.1 *Neospora caninum*

Neospora caninum é um protozoário envolvido em casos de abortos em vacas e patologias neonatais em muitos mamíferos domésticos e selvagens (DUBEY & LINDSAY, 1996; DUBEY, 2003; DUBEY et al., 2007). Este parasito é o causador da Neosporose, uma doença considerada emergente (JUYAL, 2010).

Bjerkas et al. (1984), na Noruega, identificaram uma nova síndrome em três ninhadas de cães com encefalite e miosite, porém até o ano de 1988 pensava-se que a patologia tratava-se de toxoplasmose. Mais tarde, *N. caninum* foi isolado a partir de cultura celular de amostras de cães que apresentavam sinais neuromusculares (DUBEY et al., 1988a, 1988b).

É um parasito intracelular obrigatório (HEMPHIL et al., 1996), pertencente ao Filo Apicomplexa, classe Coccidia, ordem Eucoccidiorida e família Sarcocystidae (Fig.1) (GOODSWEN et al., 2013).

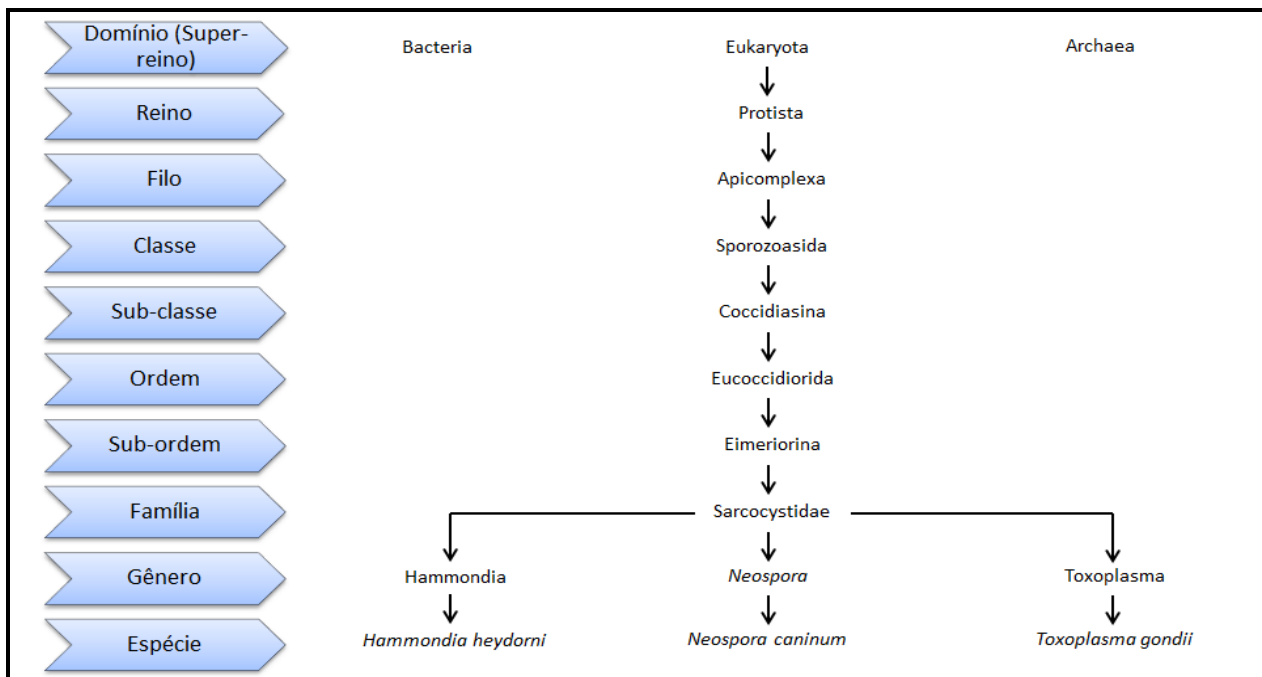


Figura 1. Taxonomia do *Neospora*, *Hammondia* e *Toxoplasma* (GOODSWEN et al., 2013), traduzido e modificado.

Os hospedeiros definitivos clássicos são o cão (*Canis familiaris*) (DUBEY & LINDSAY, 1996; McALLISTER et al., 1998), e o coiote (*Canis latrans*) (GONDIM et al., 2004), porém recentemente também foram identificados como hospedeiros definitivos o dingo (*Canis lupus*

dingo) (KING et al., 2010) e o lobo cinzento (*Canis lupus*) (DUBEY et al., 2011). Os hospedeiros intermediários são os bovinos, ovinos, caprinos, cervos e equinos (DUBEY & LINDSAY, 1996).

Os estágios do ciclo biológico de *N. caninum* são caracterizados por três formas infecciosas: os taquizoítos, os cistos teciduais, contendo os bradizoítos e os oocistos, contendo os esporozoítos (DUBEY et al., 2007). Os taquizoítos e os cistos teciduais são encontrados nos hospedeiros intermediários e ocorrem intracelularmente (DUBEY et al., 2003). Os taquizoítos apresentam a forma ovóide e estrutura típica das formas infectantes de Apicomplexa. Seu tamanho varia de 3-7 μ m de comprimento e 1-5 μ m de largura, dependendo do estágio de divisão em que se encontram. O parasita apresenta numerosas roptrias e se multiplica por endodiogenia (MIRÓ et al., 1999). Os cistos teciduais são de formato ovóide, com tamanho de até 107 μ m e são encontrados principalmente no sistema nervoso central. A parede do cisto é de 4 μ m de espessura e os bradizoítos medem de 7-8 μ m x 2 μ m. Os oocistos são somente encontrados nos hospedeiros definitivos. Medem aproximadamente 12 μ m de comprimento e 10 μ m de largura e a espessura da parede varia de 0,6 a 0,8 μ m. Contêm em seu interior dois esporocistos cada um contendo quatro esporozoítos (DUBEY et al., 2002).

1.2 Ciclo Biológico

No ciclo de vida de *N. caninum* podem-se distinguir duas fases: uma sexuada e outra assexuada. Na fase assexuada estão envolvidos os bradizoítos nos cistos teciduais e os taquizoítos. A fase sexuada ocorre nos hospedeiros definitivos e culmina com produção de oocistos, similarmente ao que ocorre no ciclo de *Toxoplasma gondii* em gatos (DUBEY & LINDSAY, 1993). O ciclo ocorre da seguinte forma: o hospedeiro definitivo (cão, coiote, dingo e lobo cinzento) ingere os cistos teciduais contendo os bradizoítos. Nos tecidos intestinais ocorre diferenciação sexual do parasito, ocorrendo assim formação de oocistos que são excretados nas fezes (DUBEY, 2003), na forma não esporulada (McALLISTER et al., 1999). No ambiente, ocorre esporulação transformando-se em esporocistos (DUBEY, 2003) e assim tornam-se infectantes. Este processo de esporulação ocorre após 24 horas da eliminação nas fezes (LINDSAY, 1999a), persistindo no ambiente por períodos desconhecidos de tempo (GOODSWEN et al., 2013).

Os hospedeiros intermediários (bovinos, ovinos, caprinos, cervos e equinos) ingerem os esporocistos no ambiente (solo, alimento, água) (DUBEY, 2003). No intestino desses hospedeiros, os oocistos esporulados liberam os esporozoítos que penetram nas células epiteliais intestinais

convertendo-se em taquizoítos, que apresentam multiplicação rápida, provocam danos nos tecidos e se disseminam pelos tecidos do hospedeiro (LINDSAY, 1999b). Se não há resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos se multiplicam causando lesão tecidual e morte. Se há resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos, forma de multiplicação lenta, contidas interior dos cistos teciduais (BUXTON et al., 1998). Uma depressão na imunidade do hospedeiro pode provocar reativação dos bradizoítos e rompimento do cisto (DUBEY, 1999). O hospedeiro definitivo ingere os cistos teciduais (DUBEY, 2003), reiniciando o ciclo (Fig. 2).

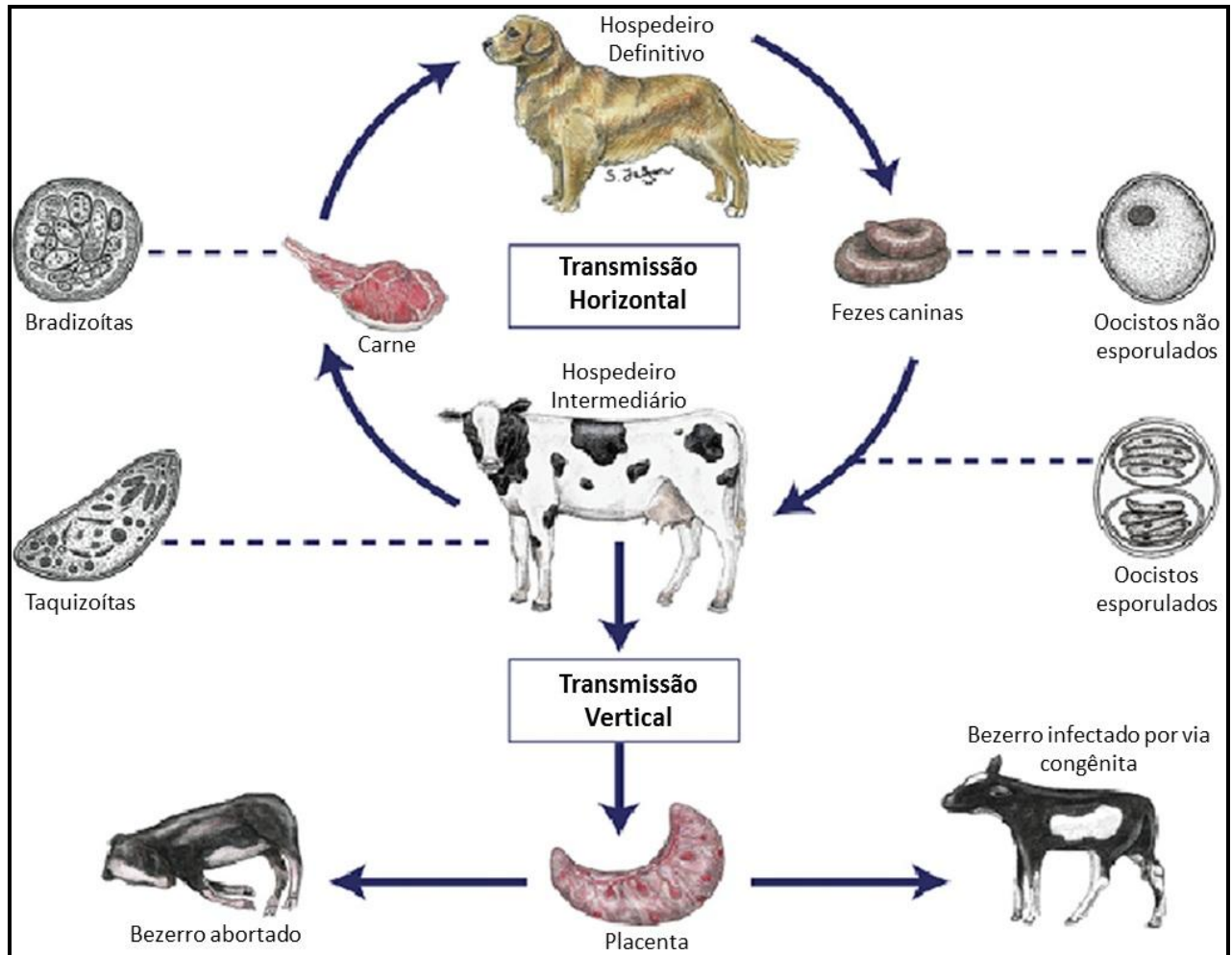


Figura 2. Ciclo biológico de *Neospora caninum* (GOODSWEN et al., 2013), traduzido.

1.3 Transmissão

Existem dois mecanismos conhecidos de transmissão de *N. caninum*, a via vertical, também denominada de via transplacentária e a via horizontal ou pós-natal.

A transmissão horizontal ocorre pela ingestão de tecidos infectados por taquizoítos, cistos tissulares ou consumo de alimentos ou água contaminada com esporocistos eliminados pelos hospedeiros definitivos (DUBEY et al., 2007). Os hospedeiros intermediários são infectados pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos; estes podem se infectar ingerindo cistos teciduais dos hospedeiros intermediários infectados, assim a transmissão horizontal ou lateral ocorre tanto nos hospedeiros definitivos quanto nos hospedeiros intermediários (Mc ALLISTER, 1999).

Na transmissão transplacentária ocorre passagem dos taquizoítos através da barreira placentária, infectando o feto (GOODSWEN et al., 2013). Trees e Williams (2005) descreveram dois termos para designar de maneira mais precisa a infecção transplacentária, são estes: infecção transplacentária exógena e infecção transplacentária endógena, que resultam de uma primoinfecção durante a gestação e de uma infecção crônica, respectivamente.

1.4 Distribuição

N. caninum tem distribuição mundial (McALLISTER et al., 1998). Os primeiros relatos sorológicos no Brasil foram realizados em bovinos por Brautigam et al. (1996) e Gondim et al. (1999).

Este parasito tem sido foco de estudos em várias regiões do Brasil, envolvendo várias espécies de animais de produção. Inquéritos sorológicos detectaram a presença de anticorpos circulantes contra *N. caninum* na região sudeste em bovinos (COSTA et al., 2001; HASEGAWA et al., 2004; MUNHOZ et al., 2006), bubalinos (FUJII et al., 2001), ovinos (FIGLIUOLO et al., 2004; SALABERRY et al., 2010; LANGONI et al., 2011; MACHADO et al., 2011), caprinos (FIGLIUOLO et al., 2004) e caninos (HASEGAWA et al., 2004; MACHADO et al., 2011). Na região sul, nas espécies bovina e bubalina (VOGEL et al., 2006), ovina (VOGEL et al., 2006; ROMANELLI et al., 2007; MUNHOZ et al., 2010), e canina (ROMANELLI et al., 2007). Na região centro-oeste, nas espécies bovina (MELO et al., 2006) e canina (BOAVENTURA, et al., 2008). Na região norte, na espécie bubalina (SILVA et al., 2010) e ovina (AGUIAR et al., 2004) e na região nordeste, em bovinos (SILVA et al., 2008; TEIXEIRA et al., 2010; AMARAL et al., 2012; SOUSA et al., 2012), bubalinos (GONDIM et al., 2007); ovinos (SOARES et al., 2009; FARIA, et al., 2010; TEMBUE et al., 2011), caprinos (FARIA et al., 2007; TEMBUE et al., 2011) e caninos (TEIXEIRA et al., 2006; SOUSA et al., 2012).

Em ovinos, a frequência de animais infectados varia conforme a região pesquisada. Em estudo realizado por Figliuolo et al. (2004) em 30 propriedades no estado de São Paulo, utilizando a técnica da imunofluorescência indireta (RIFI), com ponto de corte de 1:50, observaram soropositividade em 9,2% das ovelhas testadas. Descobriram, ainda, que 86,7% das propriedades apresentaram animais soropositivos, porém não encontraram associação entre a presença de cães e a infecção por *N. caninum*.

Machado et al. (2011), também em São Paulo, utilizando a RIFI e ponto de corte 1:25, verificaram 8.0% de ovinos positivos. Além disso, realizaram estudo de fatores de risco para *N. caninum* e as variáveis estatisticamente relacionadas com soropositividade foram o abastecimento de água através de barragem (OR = 2.15), presença de outros canídeos domésticos (OR = 2.38) e presença de problemas reprodutivos (OR = 1.75).

No Rio Grande do Sul, pesquisadores detectaram prevalência 3,2% de anticorpos para *N. caninum* (VOGEL et al., 2006).

Romanelli et al. (2007) e Munhoz et al. (2010), no Paraná, utilizando a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e considerando animais soropositivos aqueles que apresentavam títulos ≥ 50 obtiveram 9,5% e 13,91% de reações positivas, respectivamente. Munhoz et al. (2010) observaram associação significativa entre o resultado da sorologia dos ovinos para *N. caninum* e as variáveis “abate animais na propriedade” (OR=5,27) e “cães com acesso às vísceras” (OR=1,49).

Em Minas Gerais, Salaberry et al. (2010), estudaram a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos e observaram que 8,1% dos animais foram soropositivos, além disso 83,3% das propriedades analisadas apresentaram ovinos reagentes. O teste utilizado foi a reação de imunofluorescência indireta e foi considerado 1:50 como ponto de corte. Houve diferença estatística significativa para rebanhos com problemas de aborto associados à presença de anticorpos anti-*Neospora caninum*.

Aguiar et al. (2004), na Amazônia brasileira, Rondônia, norte do Brasil, detectaram 29,0% de reações positivas, provenientes de 60,0% das propriedades estudadas. As amostras foram testadas pela reação da imunofluorescência indireta e foi definido o ponto de corte 1:50.

No nordeste brasileiro alguns inquéritos sorológicos foram realizados. Em Pernambuco, Tembue et al. (2011), obtiveram 64,2% de ovinos soropositivos, sendo este resultado associado com maior ocorrência nos animais mais velhos. Tanto Tembue et al. (2011) utilizaram a RIFI, com ponto de corte 1:50.

No estado de Alagoas, Faria et al. (2010) verificaram a presença de anticorpos contra *N. caninum* em 9,6% das amostras de soro ovino e 53,8% dos rebanhos apresentaram pelo menos um animal soropositivo. A RIFI foi a prova utilizada e o título considerado positivo foi a partir de 50.

Pesquisadores, utilizando a técnica da reação imunofluorescência indireta e positividade a partir da diluição 1:50, verificaram no estado do Rio Grande do Norte a prevalência encontrada foi de 1,8% e não houve associação entre presença de anticorpos e as variáveis de interesse (problemas reprodutivos e presença de cães) (SOARES et al., 2009).

Além das pesquisas relacionadas à presença de anticorpos anti-*N. caninum*, alguns trabalhos conseguiram a identificação direta do agente no Brasil. Pinto et al. (2012), relataram um surto de aborto em ovinos associado com *N. caninum* no Mato Grosso do Sul. O rebanho era constituído de 268 ovinos da raça Santa Inês, destes 186 eram fêmeas prenhes e 10 abortaram. A técnica utilizada como prova diagnóstica foi a imunohistoquímica e os animais tinham contato com dois cães. Pena et al. (2007) detectaram *N. caninum* através da técnica da PCR e isolamento em ovinos naturalmente infectados no estado de São Paulo.

1.5 Imunopatologia

Neospora caninum tem capacidade de provocar problemas reprodutivos e neurológicos em várias espécies de animais domésticos (DUBEY & LINDSAY, 1990; HAMIR et al., 1998; GONDIM et al., 2001; HÄSSIG et al., 2003; PENA et al., 2007; MORENO et al., 2012; PINTO et al., 2012).

Nos animais infectados as formas taquizoítas de *N. caninum* são encontradas em diversas células, incluindo células neuronais, macrófagos, fibroblastos, células do endotélio vascular, miócitos, células epiteliais tubulares renais e hepatócitos (DUBEY et al., 1988a; BJERKAS & PRESTHUS, 1984; SPEER & DUBEY, 1989; DUBEY, 1993).

A ocorrência de destruição de células e, portanto, doença, depende de um equilíbrio entre a capacidade do taquizoíto penetrar e de se multiplicar em células hospedeiras e a capacidade do hospedeiro para inibir multiplicação do parasito. Na ausência de uma resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos irão multiplicar-se ativamente, causando áreas necróticas nos tecidos e a consequente morte do hospedeiro. Levando-se em consideração o modelo para *Toxoplasma gondii*, assume-se que, com o início da resposta imune, os taquizoítos se diferenciam em bradizoítos estabelecendo-se uma infecção tecidual persistente (BUXTON et al., 2002).

A resposta celular a protozoários intracelulares em geral é mediada por linfócito T auxiliar (helper) tipo 1 (Th1) (BAZLER et al., 1999; LUNDEN et al., 2002) e é caracterizada pela produção de interleucina-12 (IL-12) e interferon- γ (IFN- γ). Durante a infecção intracelular inicial, a interleucina-12 (IL-12) e interferon- γ (IFN- γ) mediam o desenvolvimento de antígenos específicos de células T auxiliar (helper) (Th), os quais segregam as citocinas efetoras de IL-2, IFN- γ e Fator de necrose Tumoral- β (BAZLER et al., 1999).

Innes et al. (1995), usando um modelo infecção em células de ovino “in vitro” para *N. caninum*, mostraram que IFN- γ inibe a multiplicação do parasito. Estudos “in vivo” demonstram que camundongos não sobrevivem à infecção pelo *N. caninum* após a depleção de IL-12 ou IFN- γ (BAZLER et al., 1999). A resposta celular mediada por linfócitos Th2 e produção de IL-4 e IL-10 são consideradas como desfavoráveis e podem levar à progressão da doença (LUNDEN et al., 2002; BAZLER et al., 2000). Além da resposta mediada por células, a estimulação com antígeno de *N. caninum* induz uma resposta humoral por IgG (LUNDEN et al., 2002).

Os taquizoítos causam lesões neuromusculares graves em bovinos, cães, ovinos e caprinos, destruindo um grande número de neurônios afetando a condutividade das células afetadas (ORTEGA-MORA et al., 1997).

A reativação de bradizoítos e/ou cistos teciduais ou de oocistos ingeridos durante a gestação origina taquizoítos, provocando os abortos. Estes taquizoítos atravessam a placenta atingindo o feto. Os abortos podem ocorrer na dependência do período da gestação e os fatores que influenciam o resultado da infecção pelo *N. caninum* são o momento da parasitemia durante gestação, a quantidade e duração da parasitemia, a eficiência da resposta imune materna e a capacidade da resposta imune do feto (HEMPHILL et al., 2000).

Em infecções experimentais as lesões microscópicas localizam-se no sistema nervoso central, músculos esqueléticos e placenta (DUBEY & LINDSAY, 1990). Em ovinos observa-se, nos casos de aborto, placentite, meningite, miosite e microgranuloma no cérebro (HASSIG et al., 2003). A encefalomielite foi caracterizada por focos de gliose, necrose, hemorragia, manguitos perivasculares e infiltrações de células mononucleares, tanto na zona cinzenta quanto na branca do cérebro, cerebelo, tronco cerebral e ao longo da medula espinhal (DUBEY & LINDSAY, 1990).

Já está comprovado que existem reações granulomatosas ao redor de cistos e tecidos necróticos, supondo que alguns desses cistos podem romper-se e induzir uma resposta local de células inflamatórias por parte do hospedeiro (ORTEGA-MORA et al., 1997).

Mcallister et al. (1996), inocularam taquizoítos em ovelhas prenhes aos 65, 90 e 120 dias de gestação. Todos os animais infectados aos 65 dias abortaram, aqueles infectados aos 90 dias

grande parte deles abortaram, algumas pariram cordeiros fracos e uma minoria pariram cordeiros normais. Todas as ovelhas inoculadas aos 120 dias pariram cordeiros clinicamente normais. As lesões encontradas foram encefalite multifocal não supurativa, encefalite necrosante, mineralização distrófica, meningite e placentite não supurativa necrosante. Inflamação no fígado e pulmão ocorreram com menor frequência. A miosite supurativa somente foi observada em fetos abortados, não sendo observada em cordeiros vivos.

Os aspectos clínicos e patológicos da neosporose em ovinos se assemelham aos da neosporose bovina (MCALLISTER et al., 1996; BUXTON et al., 1998).

1.6 Diagnóstico

Várias técnicas são empregadas no diagnóstico de casos de abortos por *Neospora*. Estas técnicas podem ser diretas ou indiretas. Os testes utilizados para bovinos podem ser utilizados para ovinos e caprinos (ORTEGA-MORA et al., 1997).

O diagnóstico sorológico é o mais utilizado nos estudos epidemiológicos em surtos de abortos por *N. caninum* no rebanho; avalia a exposição do hospedeiro bem como o risco de se infectar (ANDREOTII et al., 2005). Os mais utilizados são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste imunoenzimático (ELISA). Ambos necessitam de conjugado, que é um anticorpo secundário espécie específico, utilizado com a finalidade de detectar os anticorpos contra *N. caninum* (ATKINSON et al., 2000). A RIFI é considerada o teste de referência (BJÖRKMAN & UGGLA, 1999), é uma prova específica e não tem sido detectadas reações cruzadas com outros protozoários do filo Apicomplexa, incluindo o *T. gondii* (BUENO et al., 1999).

O diagnóstico sorológico é fundamental para a confirmação do exame clínico e indispensável nos estudos epidemiológicos, porém para sua utilização é necessário um conhecimento dos aspectos patogênicos e epidemiológicos da doença (ANDREOTII et al., 2005).

O diagnóstico da neosporose por meio da histopatologia é difícil, pois as lesões macroscópicas são pouco frequentes (DUBEY & LINDSAY, 1996), além disso, a quantidade do parasito é pequena, tornando difícil a sua visualização em cortes histológicos. As principais lesões são encefalite não supurativa e miocardite (CORBELLINI et al., 2002). Estas lesões não são consideradas patognomônicas (DUBEY & SCHARES, 2006), sendo sugestivas da infecção por este parasito (SÁNCHEZ et al., 2009).

A imunohistoquímica tem sido utilizada para indicar a presença do parasita em tecidos de fetos com suspeita de aborto induzido por *Neospora*. Além disso, é usada como teste padrão para validar os testes sorológicos (BASZLER et al., 2001).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é um teste rápido, sensível e específico. Permite a amplificação e posteriormente demonstração de sequências específicas do DNA do parasita (LALLY et al., 1996). A PCR mostrou-se útil para identificar a infecção por *N. caninum* em fetos bovinos abortados espontaneamente (BASZLER et al., 1999). Além disso, permitem a quantificação do DNA do parasito em vários tecidos de animais infectados (COLLANTES-FERNÁNDEZ et al., 2002; MULLER et al., 2002).

A sensibilidade da PCR pode ser relativamente baixa quando existe pequena quantidade e/ou a distribuição do parasita nos tecidos não for uniforme, além da escolha de porções de tecido que não tem parasitos, o que é particularmente um problema no caso de amostras de tecidos cerebrais (DE MAREZ et al., 1999); a qualidade e preservação dos tecidos no momento da análise, pois a autólise e o tempo da fixação podem afetar a qualidade do DNA. A sensibilidade e especificidade da PCR pode também variar de acordo com os métodos utilizados para extração e purificação do DNA, o uso adequado de “primers” e as condições para o teste da PCR, a programação do termociclador e a análise dos fragmentos de DNA amplificados (HOORFAR et al., 2004; DUBEY & SCHARES, 2006).

O isolamento de *N. caninum* é possível, sendo realizado em cultivo celular. O êxito no isolamento dependerá do número de parasitos presentes no tecido e o grau de autólise (ORTEGA-MORA, 1997). Esta técnica de diagnóstico é aplicada quando se tem amostras de tecidos com suspeitos de infecção pelo agente. Nesses cultivos utiliza-se células vero, marc ou monócitos bovinos. Entretanto, estas técnicas são mais utilizadas para a obtenção de cepas e estudos de patogenia do parasito do que para o diagnóstico de infecção (SILVA, 2004).

1.7 Profilaxia

Em bovinos, a profilaxia do *N. caninum* é baseada no conhecimento do ciclo do parasito e dados epidemiológicos (KAMGA WALADJO et al., 2008). Estas estratégias têm como finalidade o controle da infecção congênita (transmissão vertical) e transmissão horizontal. Para a primeira é realizado o descarte de vacas infectadas, pois a maioria das vacas produz bezerros infectados, e a

renovação do rebanho apenas com fêmeas soronegativas. Para evitar a transmissão horizontal deve-se prevenir a infecção de cães, removendo os tecidos infectados, tais como placentas, fetos e carcaças. Evitar a placentofagia e diminuir a presença de cães nas propriedades, evitando assim a entrada em locais de armazenamento de alimento e águas (ANDREOTTI et al., 2005).

Referências bibliográficas

- AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D. P.; RODRIGUES, A. A. R.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. (2004) Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, Roraima, Amazônia Ocidental Brasileira. Arq Inst Biol, São Paulo, 71(supl.):1-749.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; SOUZA NETO, O. L.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. (2012) *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. Pesq Vet Bras, 32(10):963-966.
- ANDREOTTI, R.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V. T.; PAIVA, F. (2005) Neosporose em bovina. Leptospirose bovina, campilobacteriose genital bovina, tricomonose bovina, neosporose em bovina / Qualificação Rural 3. Ricardo Antônio Amaral Lemos, organizador. Campo Grande, MS: Ed. UFMS, 71-100.
- ATKINSON, R.; HARPER, P. A. W.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T. (2000) Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. Parasitol Today, 16(3):110-114.
- BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; DUBEY, J. P.; ANDERSON, M. L. (1991) *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. J Vet Diagn Invest, 3:39-46.
- BASZLER, T. V.; ADAMS, S.; VANDER-SCHALIE, J.; MATHISON, B. A.; KOSTOVIC, M. (2001) Validation of a commercially available monoclonal antibody-based competitive-inhibition enzyme-linked immunosorbent assay for detection of serum antibodies to *Neospora caninum* in cattle. J Clin Microbiol, 39:3851-3857.
- BASZLER, T. V.; GAY, L. J. C.; LONG, M. T.; MATHISON, B. A. (1999) Detection by PCR of *Neospora caninum* in Fetal Tissues from Spontaneous Bovine Abortions. J Clin Microbiol, 37(12):4059-4064.
- BASZLER, T. V.; MCELWAIN, T. F.; MATHISON, B. A. (2000) Immunization of BALB/c mice with killed *Neospora caninum* tachyzoite antigen induces a type 2 immune response and exacerbates encephalitis and neurological disease. Clin Diagn Lab Immunol, 7(6):893-8.
- BAZLER, T. V.; LONG, M. T.; MCELWAIN, T. F.; MATHISON, B. A. (1999) Interferon g and interleukin 12 mediate protection to acute *Neospora caninum* infection in BALB/c mice. Int J Parasitol, 29:1635-1646.
- BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. (1984) Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. Z Parasitenkd, 70: 271-274.
- BJORKMAN, C.; UGGLA, A. (1999) Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. Int J Parasitol, 29(10):1497-1507.

- BOAVENTURA, C. M.; OLIVEIRA, V. S. F.; MELO, D. P. G.; BORGES, L. M. F.; SILVA, A. C. (2008) Prevalência de *Neospora caninum* em cães de Goiânia. *Rev Patol Trop*, 37(1):15-22.
- BRASIL. Caprinos e Ovinos. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/caprinos-e-ovinos>>, Acesso em: 08 de fevereiro de 2013.
- BRAUTIGAM, F. E. et al. (1996) 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, p.284.
- BUENO, J. P.; QUINTANILLA-GONZALO, A.; DEL RIO-GONZÁLEZ, M. L.; ORTEGA-MORA, L. M. (1999) Patología de La Reproducción de Etiología Parasitaria II: neosporosis - Diagnóstico. *Aula Veterinaria Bovis, Tratado de Veterinaria Práctica*. 88:55-68.
- BUXTON, D.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S. K.; THOMSON, M. A.; RAE, G.; INNES, E. A. (1998) The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. *J Comp Pathol*, 118:267-279.
- BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J.P. (2002) The comparative pathogenesis of neosporosis, *Trends in Parasitology*, 18:12.
- COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; ZABALLOS, A.; ÁLVAREZGARCIA, G.; ORTEGA-MORA, L. M. (2002) Quantitative detection of *Neospora caninum* in bovine aborted fetuses and experimentally infected mice by real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 40:1194-1198.
- CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. F. E.; GONDIM, L. F. P.; WALD, V. (2002) Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet Parasitol*, 103:195-202.
- COSTA NETO, P. L. O. (1977) *Estatística*. São Paulo: Edgard Blücher, 264.
- COSTA, G. H. N.; CABRAL, D. D.; VARANDAS, N. P.; SOBRAL, E. A.; BORGES, F. A.; CASTAGNOLLI, K. C. (2001) 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 ciênc agrar*, 22(1):61-66.
- DE MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; GASBARRE, L. (1999) Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *Int. J. Parasitol*, 29:1647-1657.
- DUBEY, J. P. (1999) Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol*, 84:349-367.
- DUBEY, J. P. (2003) Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol*, 41:1-16.
- DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. (1988a) Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 192: 1269-1285.
- DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. (1988b). Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agents and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc*, 193:1259-1263.
- DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; RAJENDRAN, C.; MISKA, K.; FERREIRA, L. R.; MARTINS, J.; KWOK, O. C. H.; CHOUDHARY, S. (2011) Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*, 181:382-387.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. (1990) *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J Vet Diagn Invest*, 2:230-233.

- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. (1996) A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet parasitol*, Amsterdam, 67:1-59.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. (1993) Neosporosis. *Parasitol Today*, 9:452-458.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. (2007) Epidemiology and control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev*, 20:323-367.
- DUBEY, J.P., SCHARES, G. (2006) Diagnosis of bovine neosporosis. *Vet Parasitol* 140:1–34.
- ELLIS, J. T.; LUTON, K.; BAVERSTOCK, P. R.; BRINDLEY, P. J.; NIMMO, K. A.; JOHNSON, A. M. (1994) The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol Biochem Parasitol*, 64(2):303-311.
- EMBRAPA. Disponível em: < <http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2012/marco/3a-semana/pesquisa-mapeia-as-principais-doencas-de-caprinos-e-ovinos-no-brasil/>>, Acesso em: 13 de março de 2012.
- FARIA, E. B.; GENNARI, S. M.; PENA, H. F. J.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, M. L. C. R.; AZEVEDO, S. S. (2007) Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Vet Parasitol*, 149:126-129.
- FARIA, E. B.; CAVALCANTI, E. F.; MEDEIROS, E. S.; PINHEIRO JUNIOR, J. W. ; AZEVEDO, S. S.; ATHAYDE, A. C.; MOTA, R. A. (2010) Risk Factors Associated with *Neospora caninum*. Seropositivity in Sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil. *J Parasitol*, 96:197-199.
- FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A.; DE PAULA, V. S. O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. (2004) Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol*, 123:161-166.
- FIGLIUOLO, L. P. C.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; AGUIAR, D. M.; KASAI, N.; GENNARI, S. M. (2004) Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti *Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Ruminant Res*, 55:29-32.
- FUJII, T. U.; KASAI, N.; VASCONCELLOS, S. A.; RICHTZENHAIN, L. J.; CORTEZ, A.; SOUZA, S. L. P.; BARUSELLI, P. S.; NISHI, S. M.; FERREIRA, F.; GENNARI, S. M. (2001) Anticorpos anti-*Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em búfalas da região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. *Arq Inst Biol*, São Paulo, 68(2):5-9.
- GONDIM, L. F. P.; PINHEIRO, A. M.; ALMEIDA, M. A. O. (2007) Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados no estado da Bahia. *Rev Bras Saúde Prod*, 8(2):92-96.
- GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M.; YAMANE, I. (1999) Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet Parasitol*, 86:71-75.
- GONDIM, L. F., et al. (2004) Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 34:159-161.
- GONDIM, L. P. F.; PINHEIRO, A. M.; SANTOS, P. O. M.; JESUS, E. E. V.; RIBEIRO, M. B.; FERNANDES, H. S.; ALMEIDA, M. A. O.; FREIRE, S. M.; MEYER, R.; McALLISTER, M. M. (2001) Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Vet Parasitol*, Amsterdam, 101:1-7.
- GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. (2013) A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. *Infect Genet Evol* 13:133-150.
- GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; ROMANELLI, P. R. (2006) Neosporose em Animais Domésticos. *Semina: ci. agrárias*, 27(4):665-678.

- HAMIR, A. N.; TORNQUISTA, S. J.; GERROSA, T. C.; TOPPERB, M. J.; DUBEY, J. P. (1998) *Neospora caninum*-associated equine protozoal myeloencephalitis. *Vet Parasitol*, 79:269±274.
- HASEGAWA, M. Y.; SARTOR, I. F.; CANAVESSI, Á. M. O.; PINCKNEY, R. D. (2004) Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de corte e em cães rurais da região de Avaré, Estado de São Paulo, Brasil. *Semina: ci. Agrárias*, 25(1):45-50.
- HASSIG, M.; SAGER, H.; REITT, K.; ZIEGLER, D.; STRABEL, D.; GOTTSTEIN B. (2003) *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. *Vet Parasitol*, 117:213-220.
- HEMPHILL, A. et al. (2000) An European perspective on *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 30 (80):877-924.
- HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. (1996) Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitol*, 112:183–197.
- HOORFAR, J.; WOLFFS, P.; RADSTROM, P. (2004) Diagnostic PCR: validation and sample preparation are two sides of the same coin. *APMIS* 112:808–814.
- INNES, E. A.; PANTON, W. R. M.; MARKS, J.; TREES, A. J.; HOLMDAHL, J.; BUXTON, D. (1995) Interferon Gamma Inhibits the Intracellular Multiplication of *Neospora caninum* as shown by of 3H Uracil. *J Comp Path*, 113:95-100.
- JUYAL, P. D.; BAL, M. S.; SINGLA, L. D. (2010) Economic impact, diagnostic investigations and management of protozoal abortions in farm animals. *Farm Management & Diseases. Dairy Year Book*, 39-46.
- KAMGAWALADJO, A. G.; CHATAGNON, G.; AMIRAT BRIAND, L.; BENCHARIF P.E.H. DIOP, D; TAINTURIER, D. (2008) Etude clinique, diagnostic, prophylaxie et traitement de La Neosporose. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales. RASPA*, 6:03-04.
- KING, J. S.; ŠLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; AL-QASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, PETER, A. (2010) Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, 40:945-950.
- LALLY, N. C.; M. C. JENKINS; DUBEY, J. P. (1996) Development of a polymerase chain reaction assay for the diagnosis of neosporosis using the *Neospora caninum* 14-3-3 gene. *Mol Biochem Parasitol*, 75:169–178.
- LANGONI, H.; GRECA JÚNIOR, H.; GUIMARÃES, F. F.; ULLMANN, L. S.; GAIO, FERNANDA C.; UEHARA, R. S.; ROSA, E. P.; AMORIM, R. M.; SILVA, R. C. (2011) Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from São Paulo State, Brazil. *Vet Parasitol*, 177:50-54.
- LINDSAY, D. S., DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. (1999) Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*, 82:327-333.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; McALLISTER, M. M. (1999) *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. *Compendium*, 21:317-32.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; DITTRICH, J. R.; RICHARTZ, R. R. T. B.; GASINO-JOINEAU, M. E.; ANTUNES, J.; PINCKNEY, R. D.; DECONTO, I.; HOFFMANN, D. C. S.; THOMAZ-SOCCOL. (2006) Investigation of *Neospora sp.* and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana state, Southern Brazil. *Vet Parasitol*, 135:215-221.
- LUNDEN, A.; WRIGHT, S.; ALLEN, J. E.; BUXTON, D. (2002) Immunisation of mice against neosporosis. *Int J Parasitol*, 32:867–876.
- MACHADO, G. P.; KIKUTI, M.; LANGONI, H.; PAES, A. C. (2001) Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms. *Vet Parasitol*, 182:356-358.

- MARSH, A. E.; BARR, B. C.; PACKHAM, A. E.; CONRAD, P. A. (1998) Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: *Sarcocystidae*). *J Parasitol*, 84:983-991.
- McALLISTER, M. M. (1999) Uncovering the biology and epidemiology of *Neospora caninum*. *Parasitol Today*, 15:216-217.
- McALLISTER, M. M.; McGUIRRE, A. M.; JOLLEY, W. R.; LINDSAY, D. S.; TREES, A. J.; STOBART, R. H. (1996) Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. *Vet Pathol*, 33:647-655.
- MELO, D. P. G.; SILVA, A. C.; ORTEGA-MORA, L. M.; BASTOS, S. A.; BOAVENTURA, C. M. (2006) Prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 15(3):105-109.
- MIRÓ, G.; ALONSO, A.; FRISUELOS, C.; MARTÍN, L. (1999) Patología de La Reproducción de Etiología Parasitaria II: neosporosis. *Etiología e Biología. Aula Veterinaria Bovis, Tratado de Veterinaria Práctica*, 88:11-17.
- MORENO, B.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; VILLA, A.; NAVARRO, C. A.; REGIDOR-CERRILLO, J.; ORTEGA-MORA, L. M. (2012) Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet Parasitol*, 187:312-318.
- MÜLLER, N.; VONLAUFEN, N.; GIANINAZZI, C.; LEIB, S. L.; HEMPHILL, A. (2002) Application of real-time fluorescent PCR for quantitative assessment of *Neospora caninum* infections in organotypic slice cultures of rat central nervous system tissue. *J Clin Microbiol*, 40:252-255.
- MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, CARLOS, W. G. (2006) Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 15(3):101-104.
- MUNHÓZ, K. F.; NETO, M. L.; SANTOS, S. M. A.; GARCIA, J. L.; GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; VIDOTTO, O.; HEADLEY, S. A.; YAMAMURA, M. H. (2010) Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from farms located in northern Parana, Brazil. *Semina: ci. agrárias*, 31(4):1031-1040.
- ORTEGA-MORA, L. M.; QUINTANILLA GONZALO, A.; PEREIRA BUENO, J. M. (1997) Neosporosis ovina y caprina: conocimientos actuales. *Neosporosis; Aula Veterinaria Ovis, Tratado de Patologia y Produccion Ovina*.
- PENA, H. F. J.; SOARES, R. M.; RAGOZO, A. M. A.; MONTEIRO, R. M.; YAI, L. E. O.; NISHI, S. M.; GENNARI, S. M. (2007) Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. *Vet Parasitol* 147(1/2):61-66.
- PINTO, A. P.; BACHA, F. B.; SANTOS, B. S.; DRIEMEIER, D.; ANTONIASSI, N. A. B.; RIBAS, N. L. K. S.; LEMOS R.A.A. (2012). Sheep abortion associated with *Neospora caninum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Pesq Vet Bras* 32(8):739-742.
- ROCHA, D. S.; GUIMARÃES, L. A.; CARLOS, R. S. A.; ALBUQUERQUE, G. R. Prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos no Sul da Bahia. In: 38º CONGRESSO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2011, Florianópolis. Disponível em: <<http://www.sovergs.com.br/site/38conbravet/resumos/263.pdf>>, Acesso em: 08 de fevereiro de 2013.
- RODOLAKIS A., SALINAS J., PAPP J. (1998): Recent advances in ovine chlamydial abortion. *Vet. Res.*, 29, 275–288
- 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. (2007) Prevalence of *Neospora caninum*

and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Res Vet Sci*, 82:202-207.

SALABERRY, S. R. S.; OKUDA, L. H.; NASSAR, A. F. C.; CASTRO, J. R.; LIMA-RIBEIRO, ANNA M. C. (2010) Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlândia county, MG. *Rev Bras Parasitol Vet*, 19(3):148-15.

SAMPAIO, I. B. M. (1998) *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. FEPMVZ, Belo Horizonte, 221.

SÁNCHEZ, G. F. D.; BANDA, R. V. M.; SAHAGUN, R. A.; LEDESMA, M. N.; MORALES, S. E. (2009) Comparison between immunohistochemistry and two PCR methods for detection of *Neospora caninum* in formalin-fixed and paraffin-embedded brain tissue of bovine fetuses. *Vet Parasitol*, 164:328–332.

SILVA, A. C. (2004) Diagnóstico da neosporose bovina. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses, Ouro Preto, MG.

SILVA, M. I. S.; ALMEIDA, M. Â. O.; MOTA, R. A.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; RABELO, S. S. A. (2008) Fatores de riscos associados à infecção por *Neospora caninum* em matrizes bovinas leiteiras em Pernambuco. *Ci Anim Bras*, 9(2):455-461.

SILVA, S. P.; MOTA, R. A.; FARIA, E. B.; FERNANDES, E. F. T. S.; SOUZA NETO, O. L.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; DIAS, H. L. T. (2010) Anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no estado do Pará. *Pesq Vet Bras*, 30(5):443-446.

SOARES, H. S.; AHID, S. M.; BEZERRA, A. C.; PENA, H. F.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M. (2009) Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte. Brazil, *Vet Parasitol*, 160: 211-214.

SOUSA, M. E.; PORTO, W. J. N.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; MOTA, R. A. (2012) Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs in the state of Alagoas, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 21(3):287-290.

SOUSA, M. E.; PORTO, W. J. N.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L.; FARIA, E. B.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; MOTA, R. A. (2012) Seroprevalence and risk factors associated with infection by *Neospora caninum* of dairy cattle in the state of Alagoas, Brazil. *Pesq Vet Bras*, 32(10):1009-1013.

SOUSA, M. E.; PORTO, W. J. N.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SOUZA NETO, O. L.; FARIA, E. B.; PINHEIRO JÚNIOR, J. W.; MOTA, R. A. (2012) Seroprevalence and risk factors associated with infection by *Neospora caninum* of dairy cattle in the state of Alagoas, Brazil. *Pesq Vet Bras* 32(10):1009-1013.

TEIXEIRA, W. C.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, J. G.; PINHEIRO, A. M.; ALMEIDA, M. A. O.; GONDIM, L. F. P. (2006) Frequência de cães reagentes para *Neospora caninum* em São Luís, Maranhão. *Arq Bras Med Vet Zootec*, 58(4):685-687.

TEIXEIRA, W. C.; UZÊDA, R. S.; GONDIM, L. F. P.; SILVA, MARIA, I. S.; PEREIRA, HELDER M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, MARIA A. G. (2010) Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* (Apicomplexa: *Sarcocystidae*) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. *Pesq Vet Bras*, 30(9):729-734.

TEMBUE, A. A. S. M.; RAMOS, R. A. N.; SOUSA, T. R.; ALBUQUERQUE, A. R.; COSTA, A. J.; MEUNIER, I. M. J.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. (2011). Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*, 20(3):246-248.

THRUSFIELD, M. (2007) *Epidemiologia Veterinária*. Editora Roca, São Paulo.

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. (2005) Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. Trends Parasitol, 21: 558-561.

VOGEL, F. S. F.; ARENHART, S.; BAUERMANN, F. V. (2006) Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. Ciênc rural, 36(6):1948-1951.

ZAR, J. H. (1999) Biostatistical analysis. 4^{ed}. New Jersey, Prentice-Hall Inc, 663.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar um estudo epidemiológico da infecção por *Neospora caninum* em ovinos no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

2.2 Objetivos Específicos

2.2.1 Subprojeto 1

- Estimar a prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em ovinos pela técnica da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) nas Mesorregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano;
- Analisar a distribuição espacial de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em ovinos nas Mesorregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano.

2.2.2 Subprojeto 2

- Estimar a frequência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em ovelhas gestantes pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), em matadouros dos municípios de Petrolina (São Francisco) e Gravatá (Agreste).
- Verificar a frequência de *N. caninum* em fetos ovinos coletados em matadouros do Estado de Pernambuco, utilizando a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

Artigo 1

Frequência e distribuição espacial de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em ovinos nas Mesorregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano

Abstract: Souza Neto O. L. S. [Frequency and spatial distribution of IgG antibodies to *Neospora caninum* in sheep in mesoregions the Wasteland, San Francisco and Sertão Pernambucano.] Frequência e distribuição espacial de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em ovinos nas Mesorregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano. Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0)0:00-00. Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, 52171-900, Brasil. E-mail:mauricio.horta@univasf.edu.br.

Neospora caninum is a protozoan involved in reproductive disorders in sheep and neuromuscular disorders in dogs affecting several species of domestic and wild animals. The objective of this study was to search the frequency and spatial distribution of anti-*N. caninum* in sheep farms in the mesoregions of the Agreste, São Francisco and Sertão Pernambucano. For this study we used 416 sheep of 13 properties. The technique used for the detection of antibodies was indirect fluorescent antibody test (IFAT) considering cutoff 1:50. There was a prevalence of 12.9% (55/426) of sheep seropositive for *N. caninum*. Seropositive animals was observed in 53.8% (7/13) of the farms and 58% (7/12) of the 12 cities surveyed. The three mesoregions studied showed foci of seropositive animals at a frequency of 40% (2/5) properties from the mesoregion of São Francisco, 50% (2/4) of the properties of the Sertão and 75% (3/4) of the Agreste. From the results obtained in this study, it is concluded that *N. caninum* is present in various properties of the regions of the state of Pernambuco and other studies should be conducted to identify the impact of this agent as a cause of reproductive disorders in sheep in the state of Pernambuco.

INDEX-TERMS: diagnostic, neosporosis, epidemiology

Resumo: *Neospora caninum* é um protozoário envolvido em transtornos reprodutivos em ovinos e neuromusculares em cães acometendo várias espécies de animais domésticos e silvestres. Objetivou-se com este estudo pesquisar a frequência e distribuição espacial de anticorpos anti-*N. caninum* em ovinos de propriedades rurais nas mesorregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano. Para este estudo utilizou-se 416 ovinos de 13 propriedades. A técnica utilizada para a pesquisa de anticorpos foi a Reação de Imunofluorescência Indireta considerando ponto de corte 1:50. Verificou-se uma prevalência de 12,9% (55/426) de ovinos soropositivos para *N. caninum*. Observou-se animais soropositivos em 53,8% (7/13) das propriedades e em 58% (7/12) dos 12 municípios pesquisados. As três mesorregiões estudadas apresentaram focos de animais soropositivos, numa frequência de 40% (2/5) das propriedades da mesorregião do São Francisco, 50% (2/4) das propriedades do Sertão e 75% (3/4) do agreste. A partir dos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que o *N. caninum* está presente em várias propriedades de regiões do estado de Pernambuco e outros estudos devem ser realizados para identificar o impacto deste agente como causa de distúrbios reprodutivos na espécie ovina no estado de Pernambuco.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: diagnóstico, neosporose, epidemiologia

INTRODUÇÃO

Neospora caninum, causador da neosporose, é um protozoário envolvido em casos de abortos em vacas e patologias neonatais em muitos mamíferos domésticos e selvagens (Dubey & Lindsay 1996, Dubey 2003, Dubey 2007). Tem sido foco de estudos em várias regiões do Brasil, envolvendo várias espécies de animais de produção, sendo observadas variações significativas na frequência de animais positivos. Em ovinos, as frequências observadas são: 29,0%, Amazônia brasileira, Rondônia (Aguiar et al. 2004); 9,2%, São Paulo (Figliuolo et al. 2004); 3,2%, Rio Grande do Sul (Vogel et al. 2006); 9,5%, Paraná (Romanelli et al. 2007); 1,8%, Rio Grande do Norte (Soares et al. 2009); 9,6%, Alagoas (Faria et al. 2010) e 8,1%, Minas Gerais (Salaberry et al. 2010).

Objetivou-se com este estudo pesquisar a frequência e distribuição espacial de anticorpos anti-*N. caninum* em ovinos de propriedades rurais nas mesorregiões do Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro a março de 2012 foram colhidas amostras de sangue ovino em 13 propriedades rurais de 12 municípios no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. As mesorregiões de realização do estudo foram Agreste, São Francisco e Sertão Pernambucano. Na mesorregião do São Francisco o estudo foi realizado

na microregião da Itaparica, nos municípios de Belém do São Francisco, Carnaubeira da Penha, Floresta, Itacuruba e Tacaratu. Na mesorregião do Sertão o experimento foi realizado na microregião do Moxotó, nas cidades de Custódia, Ibimirim, Sertânia e Arcoverde. Na mesoregião do Agreste o estudo foi realizado na microrregião do Alto do Ipanema, municípios de Águas Belas, Itaíba e Pedra.

O procedimento de estudo realizado foi do tipo transversal (Thrusfield 2007). As propriedades utilizadas foram selecionadas utilizando amostragem não probabilística por conveniência (Costa Neto 1977) e a frequência foi determinada utilizando cálculo de acordo com Thrusfield (2007). Segundo a fórmula $n = [N \cdot (1,96^2 \cdot P_{esp} (1 - P_{esp}) / d^2)] / [N + (1,96^2 \cdot P_{esp} (1 - P_{esp}) / d^2)]$, o número mínimo de animais a serem coletados foi de 384, sendo que decidiu-se coletar 426, como margem de segurança. Considerou-se o intervalo de confiança de 95%. As frequências nas propriedades foram consideradas nulas quando não houve soropositividade, baixa quando foi inferior a 25% e alta quando foi superior a 50%.

Foram aplicados questionários constituídos de perguntas estruturadas, relacionadas a informações sobre o criador, características gerais da propriedade e do rebanho, sistema de manejo, situação sanitária do rebanho e manejo reprodutivo.

A técnica utilizada como prova diagnóstica para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum* foi a Reação de Imunofluorescência Indireta seguindo o método descrito por Dubey (1988), com ponto de corte 1:50, utilizando-se como antígeno taquizoítos da cepa NC1 de *N. caninum* mantidos em cultivo de células VERO. Foram utilizados soros controles positivos e negativos de ovinos previamente conhecidos.

RESULTADOS

O diagnóstico sorológico demonstrou uma frequência de 12,9% (55/426) de ovinos soropositivos para *N. caninum*. Após a titulação das amostras, 16,4% (9/55) dos animais apresentaram título de 50; 7,3% (4/55) títulos de 100; 16,4% (9/55) títulos de 200; 14,5% (8/55) títulos de 400 e 45,5% (25/55) títulos de 800.

Na figura 1 observa-se a distribuição do *N. caninum* na região, observando-se animais soropositivos em 53,8% (7/13) das propriedades e em 58% (7/12) dos 12 municípios pesquisados. As três mesorregiões estudadas apresentaram focos de animais soropositivos, numa frequência de 40% (2/5) das propriedades da mesorregião do São Francisco, 50% (2/4) das propriedades do Sertão e 75% (3/4) do agreste.

As frequências de anticorpos variaram de 0% a 52,7%, sendo que 0% foi encontrada nos municípios de Arcoverde, Ibimirim, Belém do São Francisco, Carnaubeira, Tacaratu e Águas Belas e as maiores frequências foram observadas nas cidades de Pedra, Itaíba e Floresta, com 16,4%, 12,7% e 52,7%, respectivamente (Quadro 1). Dos 55 ovinos soropositivos, 83% eram fêmeas e 13% eram machos.

Em relação ao tipo de criação, quatro (30,8%) propriedades adotavam o manejo extensivo, nove (69,2%) tipo semi-intensivo e nenhuma do tipo intensivo. Em 10 (77%) propriedades os proprietários relataram a presença de animais silvestres e a presença de cães foi relatada em 10 (77%) das propriedades. Em relação à fonte de água fornecida aos animais, em quatro (30,7%) propriedades a fonte era de açudes, quatro (30,7%) proveniente de poços, três (23,0%) de córregos e riachos, uma (7,7%) de poços e apenas uma (7,7%) de água tratada. A procedência de animais em 10 (77%) das propriedades era somente autóctone e em três (23%) dos rebanhos eram procedentes de exposições, leilões e feiras livres. Das 13 propriedades, nove (69,2%) praticavam o isolamento dos animais quando doentes e sete (53,8%) delas apresentavam ovinos com problemas reprodutivos.

DISCUSSÃO

A prevalência encontrada neste estudo foi próxima à relatada em outros estudos soro-epidemiológicos registrados nos estados de São Paulo (Figliuolo et al. 2004), Paraná (Munhoz et al. 2010), Minas Gerais (Salaberry et al. 2010) e em Alagoas (Faria et al. 2010). Porém diferem substancialmente da prevalência observada nos estados do Rio Grande do Sul (Vogel et al. 2006), Rio Grande do Norte (Soares et al. 2009) e Rondônia (Aguir et al. 2004).

Aguir et al. (2004) detectaram 29,0% de reações positivas em Rondônia, valor bem acima da média nacional. Segundo Vogel et al. (2006), estudos que detectaram frequências altas geralmente utilizaram amostras de rebanhos-problema, o que justifica os altos índices de positividade.

Alguns pesquisadores ressaltaram que estas variações na frequência de ovinos positivos no território brasileiro poderiam ser explicadas pela grande população de ovinos no país (Silva et al. 2013). O território brasileiro possui uma das maiores extensões territoriais sendo abrangido por vários tipos climáticos e uma diversidade de vegetações. Este fator pode explicar as discrepâncias nas frequências entre as regiões. Machado et al. (2011) também comenta que a comparação com os resultados de outros estudos também é limitada pelo fato de as propriedades diferirem em aspectos como número de animais, tamanho da propriedade, manejo e padrões técnicos.

A maior frequência observada foi na propriedade do município de Floresta (52%). O proprietário relatou que na propriedade não havia cães domésticos e relatou a presença de animais silvestres na criação. Figliuolo et al. (2004) relatou a presença de cães domésticos em 90% das propriedades e cães selvagens em 73,4%, mas não conseguiram encontrar nenhuma associação entre cães domésticos ou cães selvagens e presença de *N. caninum* em ovinos. Assim, sugeriram a transmissão preferencialmente vertical do agente.

Outro estudo realizado no Brasil não encontrou associação significativa entre a presença de cães e a infecção por *N. caninum* (Soares et al. 2008). Estes dados corroboram com a possibilidade de permanência do agente nestas propriedades através da transmissão vertical. Recentemente a transmissão vertical do agente em fetos ovinos foi relatada no Brasil (Pinto et al. 2012). Apesar de não haver relato da criação de cães domésticos na propriedade referente ao município de Floresta, a possibilidade de circulação de cães de propriedades vizinhas não é descartada.

Em relação aos títulos observados, 45,5% dos animais demonstraram título 800. Maley et al. (1997) citaram que altos títulos podem sugerir infecção recente, entretanto para avaliar o tempo de infecção seria necessário a realização de testes pareados.

O número de focos da infecção foi menor nas Mesorregiões do Sertão e do São Francisco em relação à Mesorregião do Agreste Pernambucano. Estes resultados podem estar relacionados aos fatores climáticos, pois climas secos e com baixos índices pluviométricos são condições desfavoráveis para a esporulação e sobrevivência dos oocistos no ambiente.

Georgieva et al. (2006) comentaram que diferenças na prevalência observadas entre as regiões de um estado ou país bem como em regiões do mundo podem estar associadas às diferenças climáticas o que pode interferir na viabilidade e manutenção dos oocistos no ambiente, além dos diferentes tipos de manejo sanitário e exploração animal. Isto pode explicar as diferenças nas frequências observadas entre as Mesorregiões abrangidas neste estudo. A distribuição espacial do *N. caninum* encontrada neste presente trabalho indica que os ovinos foram expostos ao agente em mais da metade dos municípios estudados.

Apesar da frequência observada neste estudo ter sido de um modo geral baixa foram encontrados focos da infecção em mais de 50% das propriedades, resultados semelhantes aos de Faria et al. (2010) no estado de Alagoas, que observaram que 53,8% dos rebanhos apresentaram pelo menos um animal soropositivo e encontraram animais soropositivos em todas as Mesorregiões pesquisadas. Os dados encontrados neste estudo sugerem que *N. caninum* está distribuído de forma de forma disseminada.

Em relação à variável sexo, os resultados deste estudo são discordantes dos observados por Faria et al. (2010), que obteve maior percentual de soropositivos nos machos (20,6%) dos que nas fêmeas (8,6%). Precisa-se de mais estudos relativos a real importância epidemiológica desta variável nos rebanhos ovinos, principalmente no que tange à elucidação das vias de transmissão. Já é sabido que alguns microrganismos são eliminados via sêmen em ovinos, a exemplo do *Toxoplasma gondii* (Moraes et al. 2010) e *Brucella ovis* (Bulgin 1990), portanto sugere-se estudos nessa área.

Nenhuma propriedade pesquisada apresentou tipo de criação em regime intensivo. Isto pode explicar parcialmente a baixa frequência encontrada neste estudo, pois, obviamente, em rebanhos submetidos aos regimes intensivos, a concentração de animais facilita a exposição à água e alimentos contaminados e o contato com restos placentários, aumentando assim a probabilidade de adquirir a infecção.

Na maior parte das propriedades pesquisadas, a água não é tratada, sendo proveniente de açudes, córregos, riachos e poços. Segundo Gondim et al. (2005), esse pode ser um fator importante para a infecção dos animais, pois em algumas situações, os cães podem contaminar água com oocistos de *N. caninum*. A procedência de animais das propriedades era autóctone (exposições, leilões e feiras livres). Para prevenir a entrada da infecção por *N. caninum* e de outros agentes no rebanho, sugere-se o levantamento do histórico dos animais antes de sua aquisição e realização de quarentena, bem como a realização de testes de diagnóstico para detectar a presença de microrganismos causadores de problemas reprodutivos.

A existência de propriedades com problemas reprodutivos e a frequência baixa da infecção encontrada neste estudo sugere estudos focalizando outras patologias capazes de provocar distúrbios reprodutivos nestas propriedades.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo, conclui-se que o *Neospora caninum* está presente em várias propriedades de diferentes mesorregiões do estado de Pernambuco. Novos estudos devem ser realizados para identificar o impacto deste agente como causa de distúrbios reprodutivos na espécie ovina no nas regiões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, D. M., Chiebao, D. P., Rodrigues, A. A. R., Cavalcante, G. T., Labruna, M. B., Gennari, S. M. 2004. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, Roraima, Amazônia Ocidental Brasileira. Arq. Inst. Biol. São Paulo. 71:1-749.
- Bulgin, M.S. 1990. *Brucella ovis* excretion in semen of seronegative, clinically normal breeding rams. J. American Vet. Med. Association. 196:313-5.
- Costa Neto, P. L. O. 1977. Estatística. São Paulo: Edgard Blücher. 264.
- Dubey J. P., Lindsay D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. Vet. Parasitol. 1996. 67:1-59.
- Dubey J. P., Schares G., Ortega-Mora L. M. 2007. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clinical Microbiology Reviews 20:323-367.
- Dubey J. P., Hattel A. L., Lindsay D. S., Topper M. J. 1988. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. J. Am. Vet. Med. Assoc. 193:1259-63.

- Dubey, J. P. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J. Parasitol. 41: 1-16.
- Faria, E. B., Cavalcanti, E. F., Medeiros, E. S., Pinheiro Junior, J. W., Azevedo, S. S., Athayde, A. C., Mota, R. A. 2010. Risk Factors Associated with *Neospora caninum*. Seropositivity in Sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil. J. Parasitol. 96:197-199.
- Figliuolo, L. P. C., Kasai, N., Ragozo, A. M. A., De Paula, V. S. O., Dias, R. A.; Souza, S. L. P., Gennari, S. M. 2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State. Brazil. Vet. Parasitol. 123:161-166.
- Georgieva, D. A., Prelezov, P. N., Koinarski, V. T. 2006. *Neospora caninum* and neosporosis in animals – a review. Bulg. J. Vet. Med. Stara Zagora, Bulgaria. 9:1-26.
- Gondim, L. F. P., McCalluister, M. M.; Gao, L. 2005. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. Vet. Parasitol. 134:33-39.
- Machado, G. P., Kikuti, M., Langoni, H., Paes, A. C. 2011. Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms. Vet. Parasitol. 182:356-358.
- Maley, S. W., Thomson, K. M., Bos, H. J., Buxton, D. 1997. Sorological diagnosis of Toxoplasmosis in Sheep Following Vaccination and Challenge. 140:558-559.
- Moraes E.P.B.X., Faria E.B., Batista A.M., Freitas A.C., Silva J.C.R., Albuquerque P.P.F. & Mota R.A. 2010. Detecção de *Toxoplasma gondii* no sêmen de ovinos naturalmente infectados. Pesq. Vet. Bras. 30:915-917.
- Munhóz, K. F., Neto, M. L., Santos, S. M. A., Garcia, J. L., Guimarães Junior, J. S., Vidotto, O., Headley, S. A., Yamamura, M. H. 2010. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from farms located in northern Parana, Brazil. Semina ciênc. agrár. Londrina. 31:1031-1040.
- Pinto, A. P., Bacha, F. B., Santos, B. S., Driemeier, D., Antoniassi, N. A. B., Ribas, N. L. K. S., Lemos, R. A. A. 2012. Sheep abortion associated with *Neospora caninum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. Pesq. Vet. Bras. 32:739-742.
- 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. 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. Res. Vet. Sci. 82:202-207.
- Salaberry, S. R. S., Okuda, L. H., Nassar, A. F. C., Castro, J. R., Lima-Ribeiro, A. M. C. 2010. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlândia county, Minas Gerais. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 19:148-15.
- Silva, A. F., Brandão, F. Z., Ferreira, A. M. R. 2013. Neosporose ovina: estado da arte. Ver. Bras. Reprod. Anim. 1:45-52.
- Soares, H. S., Ahid, S. M., Bezerra, A. C., Pena, H. F., Dias, R. A.; Gennari, S. M. 2009. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. Vet Parasitol. 160:211-214.
- Thrusfield, M. 2007. Epidemiologia Veterinária. Editora Roca, São Paulo.
- Vogel, F. S. F., Arenhart, S., Bauermann, F. V. 2006. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. Ciênc. Rural. 36:1948-1951.

Legenda das figuras

Fig. 1. Distribuição espacial de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos no estado de Pernambuco

Quadros

Quadro 1. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* no estado de Pernambuco Brasil

Municípios	Nº de amostras	Animais			
		Positivos		Negativos	
		Nº	%	Nº	%
Sertânia	9	1	1,8	8	2,2
Arcoverde	22	0	0	22	6
Custódia	31	3	5,5	28	7,5
Ibimirim	33	0	0	33	9
Belém do S. Franc.	12	0	0	12	3
Carnaubeira	17	0	0	17	5
Floresta	99	29	52,7	70	18,9
Itacuruba	21	2	3,6	19	5,1
Tacaratu	25	0	0	25	7
Águas Belas	70	0	0	70	19
Itaíba	25	7	12,7	18	4,9
Itaíba	25	4	7,3	21	5,7
Pedra	37	9	16,4	28	7,5
Total	426	55	100,0	371	100,0

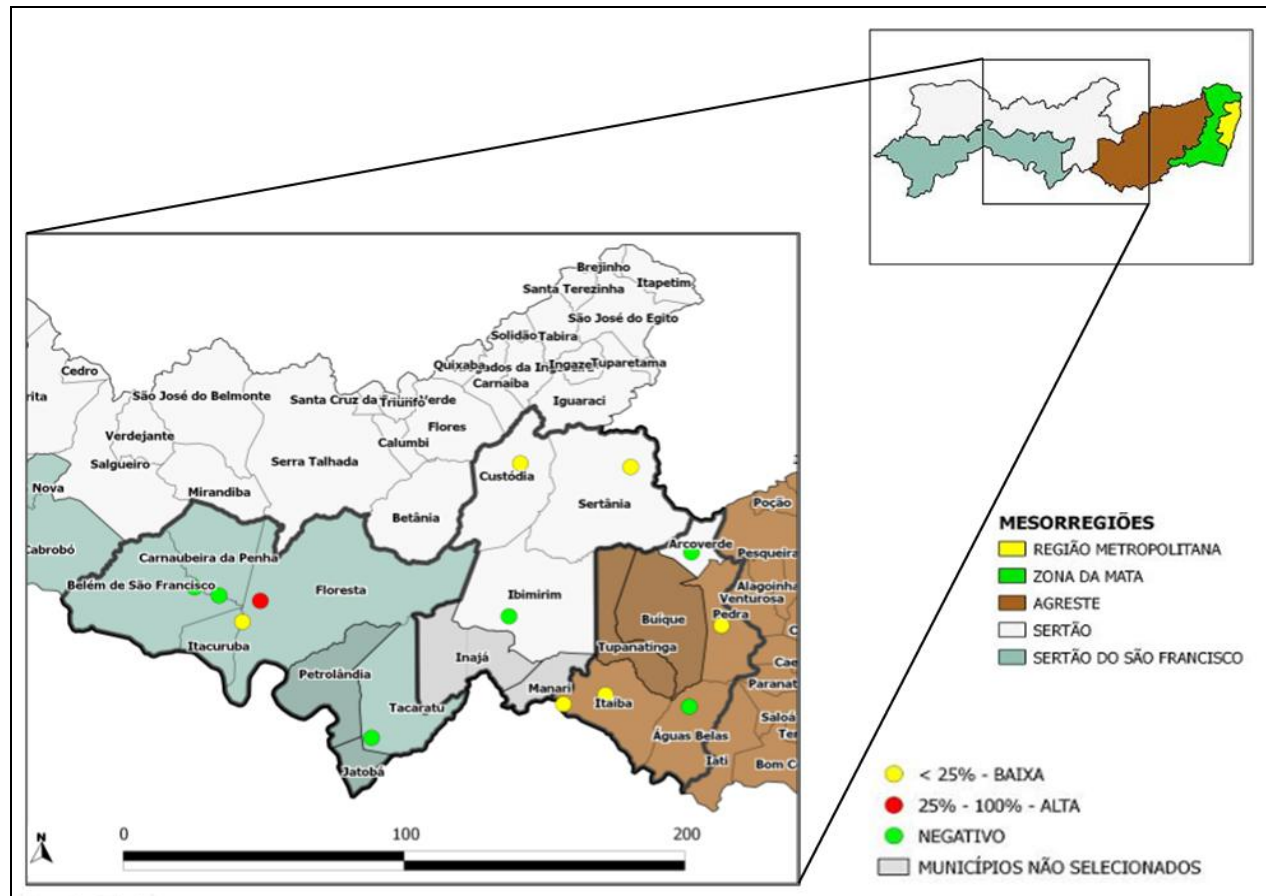


Figura 1

Artigo 2

Pesquisa de infecção por *Neospora caninum* em fetos e fêmeas gestantes de ovinos coletados em abatedouros dos municípios das mesorregiões do São Francisco e Agreste pernambucano

Abstract: Souza Neto O. L. Pesquisa de infecção por *Neospora caninum* em fetos e fêmeas gestantes de ovinos coletados em abatedouros dos municípios do São Francisco e Agreste pernambucano. [Search for *Neospora caninum* infection in fetuses and pregnant sheep collected in slaughterhouses of the municipalities of São Francisco and Agreste Pernambuco.] Pesquisa Veterinária Brasileira 00(0)0:00-00. Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais Domésticos, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, 52171-900, Brasil. E-mail:mauricio.horta@univasf.edu.br.

Summary: *Neospora caninum* is an obligate intracellular parasite, known as causes neosporosis, a disease considered emerging. In sheep infected by the agent, the main manifestation is abortion. The objective of this study was to determine the frequency of *N. caninum* in fetal sheep using the technique of polymerase chain reaction (PCR) and estimate the frequency of anti-*N. caninum* in pregnant ewes by indirect fluorescent antibody test (IFAT) in slaughterhouses of the municipalities of Petrolina (São Francisco) and Gravatá (Agreste). Of the 103 pregnant females tested in the IFAT only two (1.94%) had antibodies to *N. caninum*, one of the city of Petrolina and another in the city of Gravatá. After IFAT was carried PCR tissues (brain, heart, liver, and spleen diaphragm) belonging to the female fetal positive finding for the presence of the agent in the DNA of fetal Petrolina coming from the slaughterhouse. The data obtained in this study show that infection with *Neospora caninum* in sheep is present in the state of Pernambuco and the feasibility of its transmission. So you need more studies with larger samples to know the real impact of *N. caninum* in the state of Pernambuco.

INDEX-TERMS: diagnostic, small ruminants, neosporosis

Resumo: *Neospora caninum* é um parasita intracelular obrigatório, conhecido como causador da Neosporose, uma doença considerada emergente. Em ovelhas infectadas pelo agente a principal manifestação é o aborto. Objetivou-se neste trabalho verificar a frequência de *N. caninum* em fetos ovinos através da técnica da reação em cadeia da Polimerase (PCR) e estimar a frequência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em ovelhas gestantes pela RIFI em matadouros dos municípios de Petrolina (São Francisco) e Gravatá (Agreste). Das 103 fêmeas gestantes testadas na RIFI apenas duas (1,94%) apresentaram anticorpos contra *N. caninum*, sendo uma do município de Petrolina e outra do município de Gravatá. Após a RIFI realizou-se PCR dos tecidos (cérebro, coração, fígado, diafragma e baço) fetais pertencentes às fêmeas positivas constatando-se a presença do DNA do agente no coração do feto procedente do abatedouro de Petrolina. Os dados obtidos neste estudo permitem concluir que a infecção pelo *N. caninum* na espécie ovina está presente no estado de Pernambuco bem como a viabilidade da sua transmissão vertical. Assim é necessário mais estudos com maior número de amostras para conhecer o real impacto do *N. caninum* no estado de Pernambuco.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: diagnóstico, pequenos ruminantes, neosporose

INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um parasita intracelular obrigatório (Dubey & Lindsay 1996), causador da neosporose que é considerada uma doença emergente (Juyal 2010). Estudos indicam que este parasito está associado com problemas reprodutivos e neurológicos em várias espécies de animais domésticos (Dubey & Lindsay 1990, Hamir et al. 1998 Gondim et al. 2001, Hassig et al. 2003, Pena et al. 2007, Pinto et al. 2012, Moreno et al. 2012). Em ovelhas infectadas por *N. caninum* a principal manifestação é o aborto (McCallister et al. 1996) que pode gerar prejuízos econômicos aos produtores de ovinos (Silva et al. 2013). Pesquisas têm demonstrado a presença anticorpos contra *N. caninum* na espécie ovina no território brasileiro (Figliuolo et al. 2004, Vogel et al. 2006, Aguiar et al. 2004, Romanelli et al. 2007, Soares et al. 2009, Salaberry et al. 2010, Faria et al. 2010, Machado et al. 2011,). Estudos foram de frequência foram realizados no nordeste (Faria et al. 2010, Soares et al. 2009). Além disso, estudos demonstraram a identificação do agente em fetos ovinos abortados (Hassig et al. 2003, Pena et al. 2007, Moreno et al. 2012, Pinto et al. 2012).

Considerando que a neosporose ovina ainda é pouco estudada no Brasil, objetivou-se neste estudo pesquisar a infecção por *N. caninum* em fetos de ovelhas gestantes em matadouros nos municípios das Mesorregiões do São Francisco e Agreste Pernambucano.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em abatedouros de ovinos no estado de Pernambuco, nordeste do Brasil. As coletas dos fetos foram realizadas nos abatedouros de Petrolina (São Francisco) e Gravatá (Agreste).

Utilizaram-se 86 ovelhas abatidas no matadouro de Petrolina e 17 ovelhas abatidas em Gravatá, totalizando 103 animais. Foi utilizada amostragem não probabilística por conveniência (Costa Neto 1977).

A coleta das amostras biológicas foi realizada diretamente na linha de abate, independentemente do estágio de gestação e histórico de problema reprodutivo. Inicialmente foram colhidas amostras de sangue das ovelhas gestantes e fragmentos de coração, cérebro, fígado, baço e diafragma dos fetos das fêmeas gestantes; este material foi imediatamente refrigerado e enviado ao laboratório onde foram mantidos congelados até o seu processamento. O sangue das ovelhas foi colhido na veia jugular no momento da sangria e foi manuseado e armazenado em tubo de vidro estéril, identificado e mantido em temperatura ambiente para centrifugação, retração do coágulo e obtenção do soro.

Para a detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* nas ovelhas foi realizada a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) seguindo o método preconizado por Dubey (1988), com ponto de corte 1:50, utilizando-se como antígeno taquizoítos da cepa NC1 de *N. caninum* mantidos em cultivo de células VERO. Foram utilizados soros controles positivos e negativos de ovinos previamente conhecidos. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada nos tecidos (cérebro, coração, fígado, diafragma e baço) dos fetos provenientes das fêmeas gestantes positivas na sorologia para *N. caninum*.

As amostras dos órgãos dos fetos ovinos foram submetidas à extração de DNA, utilizando o kit DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen) de acordo com o protocolo do fabricante.

A PCR foi realizada de acordo com o protocolo de Yamage (1996). O controle positivo de *N. caninum* foi obtido através do cultivo de células VERO inoculadas com a cepa NC-1. As reações de amplificação foram realizadas para um volume final de 12,5µL contendo: 6,25µL de Top Taq Master Mix (Qiagen), 0,5µL de cada primer (NP6 e NP21 para *N. caninum*). Para o controle negativo foi utilizado ddH₂O.

Alíquotas com 9,0 µL dos produtos da PCR foram submetidas à eletroforese em gel de agarose a 2%, corados com 0,3 µL de *blue green loading dye I* em tampão TAE 1x, sob voltagem constante (100V) durante 50 min. O gel foi visualizado sob luz ultra-violeta (UV) em Transluminador (modelo L.PIX, Loccus Biotecnologia®). Foi utilizado 2µL do marcador de peso molecular de 100 pb DNA ladder. Foi visualizado um fragmento de 328pb

Foi realizada análise estatística descritiva, calculando-se as frequências absolutas e relativas de acordo com Sampaio (1998).

RESULTADOS

Das 103 fêmeas gestantes testadas na RIFI, apenas duas (1,94%) foram positivas para *N. caninum*, sendo uma do município de Petrolina e outra do município de Gravatá. Os títulos de anticorpos observados foram 200 e 400 nas fêmeas de Petrolina e Gravatá, respectivamente.

Na PCR dos tecidos fetais destas duas ovelhas positivas na sorologia, constatando-se a presença do DNA do parasito no coração do feto de uma delas (Petrolina).

DISCUSSÃO

As informações sobre a frequência de *N. caninum* em fêmeas ovinas e seus fetos são escassas e a maioria dos estudos estão relacionados à inquéritos sorológicos em propriedades rurais. Silva et al. (2011) pesquisaram a frequência deste agente em ovinos em matadouro não inspecionado no estado do Rio de Janeiro e os resultados determinaram que 12% dos animais testados tinham anticorpos anti-*N. caninum*. Em estudos realizados em propriedades criadoras de ovinos foram observadas variações significativas entre as regiões brasileiras. Figliuolo et al. (2004), em São Paulo, encontraram frequência de 9,2% das ovelhas testadas. Machado et al. (2011), São Paulo, 8,0%; Vogel et al. 2006, Rio Grande do Sul, 3,2%; Romanelli et al. (2007), no Paraná, 9,5%; Salaberry et al. (2010), Minas Gerais, 8,1%; Aguiar et al. (2004), Amazônia brasileira, Rondônia, 29,0%; Faria et al. (2010), Alagoas, 9,6% e Soares et al., 2009, Rio Grande do Norte, 1,8%. A comparação dos inquéritos supracitados com os encontrados no presente estudo fica difícil, pois este estudo foi realizado em matadouros e não em propriedades, utilizando amostragem distinta daqueles estudos realizados em propriedades rurais.

Hassig et al. (2003), na Suíça, foram os primeiros a relatar aborto ovino por este protozoário. Moreno et al. (2012), na Espanha, detectaram simultaneamente *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em fetos abortados. Pinto et al. (2012) realizaram um dos poucos trabalhos relacionados à detecção direta do *N. caninum* em fetos ovinos no Brasil. O estudo foi feito no estado do Mato Grosso do Sul, com fetos abortados. O

rebanho era constituído de 268 ovinos da raça Santa Inês, sendo 186 fêmeas prenhes e destas 10 abortaram. Pena et al. (2007) detectaram *N. caninum* através da técnica da PCR e isolamento em ovinos naturalmente infectados no estado de São Paulo. Ao contrário de Moreno et al. (2012), o teste para detecção do *T. gondii* realizado neste estudo foi negativo, não sendo observada infecção concomitante. Sabe-se que *T. gondii* é um agente importante causador de abortos na espécie ovina (Dubey & Schares 2011), porém os relatos de casos demonstram que *N. caninum* cada vez mais vem sendo atribuído como responsável por abortos nesta espécie.

O presente estudo ratifica o mecanismo de transmissão vertical, no qual ocorre passagem dos taquizoítos através da barreira placentária, infectando o feto (Goodswen et al. 2013). Não foi determinado o período de gestação dos animais, mas sabe-se da importância desta variável no que se refere a imunopatologia do *N. caninum* em ovinos, pois alguns estudos demonstram esta relação. Mcallister et al. (1996) observaram que animais infectados aos 65 dias abortaram, aqueles infectados aos 90 dias grande parte abortaram, algumas pariram cordeiros fracos e uma minoria pariram cordeiros normais e todas as ovelhas infectadas no terço final da gestação, aos 120 dias, pariram cordeiros clinicamente normais. Segundo Hemphill et al. (2000), os abortos podem ocorrer conforme o período da gestação e os fatores que influenciam o resultado da infecção por *N. caninum* são o momento da parasitemia durante gestação, a quantidade e duração da parasitemia, a eficiência da resposta imune materna e a capacidade da resposta imune do feto. Guimarães Junior e Romanelli (2006) também ressaltaram sobre a relação entre o período de gestação e imunidade e comentaram que ocorre uma resposta imune no terço final da prenhez os fetos estão mais protegidos contra a infecção por este protozoário e desta forma, a fase gestacional é importante na infecção de ovelhas gestantes.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos neste estudo permitem concluir que a infecção pelo *Neospora caninum* está presente em ovelhas e fetos em matadouros no estado de Pernambuco. Assim é necessário a realização de outros estudos em propriedades com problemas reprodutivos para conhecer o real impacto do *N. caninum* nesta espécie no estado de Pernambuco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguiar, D. M., Chiebao, D. P., Rodrigues, A. A. R., Cavalcante, G. T., Labruna, M. B., Gennari, S. M. 2004. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, Roraima, Amazônia Ocidental Brasileira. Arq. Inst. Biol. São Paulo. 71:1-749.
- Costa Neto, P. L. O. 1977. Estatística. São Paulo: Edgard Blücher, 264p.
- Dubey, J. P., Carpenter, J. L., Speer, C. A., Topper, M. J., Uggla, A. 1988. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 192: 1269-1285.
- Dubey, J. P., Lindsay, D. S. 1990. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. J. Vet. Diagn. Invest. 2:230-233.
- Dubey, J.P., Schares, G. 2011. Neosporosis in animals – the last five years. Vet. Parasitol. 180:90-108.
- Faria, E. B., Cavalcanti, E. F., Medeiros, E. S., Pinheiro Junior, J. W., Azevedo, S. S., Athayde, A. C., Mota, R. A. 2010. Risk Factors Associated with *Neospora caninum* Seropositivity in Sheep from the State of Alagoas, in the Northeast Region of Brazil. J. Parasitol. 96:197-199.
- Figliuolo, L. P. C., Kasai, N., Ragozo, A. M. A., De Paula, V. S. O., Dias, R. A., Souza, S. L. P., Gennari, S. M. 2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. Vet. Parasitol. 123:161-166.
- Gondim, L. P. F., Pinheiro, A. M., SANTOS, P. O. M., Jesus, E. E. V., Ribeiro, M. B., Fernandes, H. S., Almeida, M. A. O., Freire, S. M., Meyer, R., Mcallister, M. M. 2001. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog and production of encysted bradyzoites in gerbils. Vet. Parasitol. Amsterdam. 101:1-7.
- Goodswen, S. J., Kennedy, P. J., Ellis, J. T. 2013. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. Infect. Genet. Evol. 13:133-150.
- Guimarães Junior, J. S., Romanelli, P. R. 2006. Neosporose em Animais Domésticos. Semina ciênc. agrár. Londrina. 27:665-678.
- Hamir, A. N., Tornquist, S. J., Gerrosa, T. C., Topper, M. J., Dubey, J. P. 1998. *Neospora caninum*-associated equine protozoal myeloencephalitis. Vet. Parasitol. 79:269-274.
- Hässig M., Sager H., Reitt K., Ziegler D., Strabel D., Gottstein B. 2003. *Neospora caninum* in sheep: A herd case report. Vet. Parasitol. 117:213-220.
- Hässig, M., Sager, H., Reitt, K., Ziegler, D., Strabel, D., Gottstein, B. 2003. *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. Vet. Parasitol. 117:213-220.
- Hemphill, A. et al. 2000. An European perspective on *Neospora caninum*. Int. J Parasitol. 30:877-924.
- Juyal, P. D., Bal, M. S., Singla, L. D. 2010. Economic impact, diagnostic investigations and management of protozoal abortions in farm animals. Farm Management & Diseases. Dairy Year Book. 39-46.
- Machado, G. P., Kikuti, M., Langoni, H., Paes, A. C. 2001. Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms. Vet. Parasitol. 182:356-358.

- Mcallister, M. M., Mcguirre, A. M., Jolley, W. R., Lindsay, D. S., Trees, A. J., Stobart, R. H. 1996. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. *Vet. Pathol.* 33:647-655.
- Moreno, B., Collantes-Fernández, E., Villa, A., Navarro, A., Regidor-Cerrillo, J., Ortega-Mora, L.M. 2012. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet. Parasitol.* 187:312-318.
- Moreno, B., Collantes-Fernández, E., Villa, A., Navarro, C. A., Regidor-Cerrillo, J., Ortega-Mora, L. M. 2012. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Vet. Parasitol.* 187:312-318.
- Pena, H. F. J., Soares, R. M., Ragozo, A. M. A., Monteiro, R. M., Yai, L. E. O., Nishi, S. M., Gennari, S. M. 2007. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. *Vet. Parasitol.* 147:61-66.
- Pinto, A. P., Bacha, F. B., Santos, B. S., Driemeier, D., Antoniassi, N. A. B., Ribas, N. L. K. S., Lemos, R.A.A. 2012. Sheep abortion associated with *Neospora caninum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Pesq. Vet. Bras.* 32:739-742.
- 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. 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Res. Vet. Sci.* 82:202-207.
- Salaberry, S. R. S., Okuda, L. H., Nassar, A. F. C., Castro, J. R., Lima-Ribeiro, Anna M. C. 2010. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlândia county, Minas Gerais. *Ver. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal.* 19:148-15.
- Sampaio, I. B. M. 1998. *Estatística Aplicada à Experimentação Animal*. FEPMVZ, Belo Horizonte, 221p.
- Silva, A. F., Brandão, F. Z., Ferreira, A. M. R. 2013. Neosporose ovina: estado da arte. *Ver. Bras. Reprod. Anim. Belo Horizonte.* 1:45-52.
- Silva, A. F., R. I. J. Cosendey, F. B. Zandonadi, F. C. R. Oliveira, W. Lilenbaum, G. Martins, S. S. Venturi, A. M. R. Ferreira. 2011. Frequency of Anti-*Neospora Caninum* Antibodies in Ovines Destined to Clandestine Slaughter in Rio de Janeiro. *Ver. Ci. Vida. Seropédica,* 31:27-31.
- Soares, H. S., Ahid, S. M., Bezerra, A. C., Pena, H. F., Dias, R. A., Gennari, S. M. 2009. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte. Brazil. *Vet. Parasitol.* 160: 211-214.
- Vogel, F. S. F., Arenhart, S., Bauermann, F. V. 2006. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. *Ciênc. Rural.* 36:1948-1951.
- Yamage, M., Flechtner, O., Gottstein, B. 1996. *Neospora caninum*: Specific oligonucleotide primers for the detection of brain "cyst" DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). *J. Parasitol.* 82:272-279.

4. Conclusão

A partir dos dados obtidos neste estudo conclui-se que os animais da espécie ovina criados no estado de Pernambuco são expostos ao *Neospora caninum*. Anticorpos para o agente estão presentes em mais da metade dos municípios e propriedades pesquisadas e em todas as mesoregiões estudadas. Novas pesquisas devem ser estimuladas para aumentar o conhecimento sobre a epidemiologia da doença na região.