

**LUCIANA AGUIAR FIGUEREDO**

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*NEOSPORA CANINUM* EM CÃES  
DOS MUNICÍPIOS DE PAULISTA E AMARAJI, ESTADO DE PERNAMBUCO,  
BRASIL**

**RECIFE**

**2008**

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

**LUCIANA AGUIAR FIGUEREDO**

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*NEOSPORA CANINUM* EM CÃES  
DOS MUNICÍPIOS DE PAULISTA E AMARAJO, ESTADO DE PERNAMBUCO,  
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.

Orientador: Prof Dr Rinaldo Aparecido Mota

**RECIFE**

**2008**

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

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*NEOSPORA CANINUM* EM CÃES  
DOS MUNICÍPIOS DE PAULISTA E AMARAJI, ESTADO DE PERNAMBUCO,  
BRASIL**

Dissertação elaborada por

LUCIANA AGUIAR FIGUEREDO

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA**

Prof Dr. RINALDO APARECIDO MOTA  
Orientador – Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. WAGNER JOSÉ NASCIMENTO PORTO  
Universidade Estadual de Alagoas (UNEAL)

Prof Dr. JEAN CARLOS RAMOS DA SILVA  
Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

Prof. Dr. LEONILDO BENTO GALIZA DA SILVA  
Departamento de Med. Veterinária da UFRPE

*Dedico essa dissertação com  
todo meu amor ao meu marido  
Filipe Dantas Torres.*

## AGRADECIMENTOS

Acredito que os agradecimentos seja uma tarefa difícil, pois muitas vezes cometemos injustiças quando, por esquecimento, não mencionamos nomes de pessoas que também contribuíram para realização do estudo. Então, nesse caso, antes de citar nomes, gostaria de agradecer de forma geral. O meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente, mesmo as que não citei, mas que com certeza contribuíram de forma significativa, obrigada.

Primeiramente, agradeço a Deus por sempre me iluminar e me guiar.

Ao Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota pela orientação prestada e pela confiança em mim depositada.

Ao Ms. Filipe Dantas-Torres por partilhar comigo todo o processo de produção desta dissertação, desde o projeto de pesquisa, sendo minha mais importante fonte de apoio intelectual e afetivo, sem os quais certamente essa dissertação não chegaria ao fim.

Aos meus pais que me incentivaram a ingressar no curso de mestrado, pelo amor, carinho e dedicação.

Ao Dr. Sinval Pinto Brandão-Filho e ao Dr. Luiz Pita Gondim pela colaboração e disponibilidade em contribuir para este estudo.

À Rosineide J. de Lira e Mineo Nakazawa pelo importante apoio técnico.

Aos amigos e colegas, Eduardo Faria, Érika, Gilsan, Milena Melo, Virgínia M. Barros de Lorena, Milena Paiva Cavalcanti e Maria Edileuza F. de Brito e tantos outros, seja pela ajuda prontamente oferecida ou mesmo pela alegre convivência durante a realização desse estudo.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco pela oportunidade de desenvolver essa dissertação de mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fornecimento da bolsa de estudos que garantiu o meu sustento financeiro durante a realização desse estudo.

Enfim, agradeço aos meus familiares que também me apoiaram em todos os momentos que precisei.

## RESUMO

A neosporose é uma doença causada pelo coccídio *Neospora caninum* que afeta uma grande variedade de animais silvestres e domésticos. Essa doença tem sido associada a aborto em bovinos em muitas partes do mundo e hoje é reconhecida como uma causa de perdas significativas para a indústria mundial de animais de produção. Estudos têm sido realizados para avaliar a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães de muitos estados brasileiros. Até o momento, entretanto, não existe estudo relatando a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães no Estado de Pernambuco. Nesse contexto, objetivou-se com o presente estudo avaliar a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em dois municípios no Estado de Pernambuco. No total, 455 amostras de soro de cães, sendo 287 do município de Paulista (Região Metropolitana de Recife) e 168 do município de Amaraji (Zona da Mata), foram testadas pela reação de imunofluorescência indireta para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*. Das 455 amostras testadas, 118 (25,9%; IC 95%, 21,9–30,2) foram positivas. As frequências encontradas em Paulista e Amaraji foram 26,1% (IC 95%: 21,1–31,6) e 25,6% (IC 95%: 19,1–32,8), respectivamente. Conclui-se que os cães de Amaraji e Paulista encontram-se expostos à infecção por *N. caninum*, constituindo um potencial fator de risco para ocorrência de surtos de abortos em bovinos e outros ruminantes nesses municípios.

**Descritores:** Neosporose, epidemiologia, infecção, cães.

## ABSTRACT

Neosporosis is a disease caused by the coccidian parasite *Neospora caninum* that affects a great variety of domestic and wild animals. This disease has been associated with abortion in cattle in many parts of the world and today it is recognized a cause of significant losses to the worldwide livestock industry. Studies have been carried out to access the occurrence of antibodies to *N. caninum* in dogs from many Brazilian states. To date, however, there is no study reporting the occurrence of antibodies against *N. caninum* in dogs in the State of Pernambuco. In this context, the objective of this study was to access the occurrence of antibodies to *N. caninum* in two municipalities of Pernambuco. A total of 455 serum samples of dogs, being 287 from the municipality of Paulista (metropolitan region of Recife) and 168 from the municipality Amaraji (Atlantic Rainforest region), were tested by an immunofluorescence antibody reaction to detect antibodies to *N. caninum*. Out of the 455 samples tested, 118 (25.9%; IC 95%, 21.9–30.2) were positive. The seroprevalence rates found in Paulista and Amaraji were 26.1% (IC 95%: 21.1–31.6) and 25.6% (IC 95%: 19.1–32.8), respectively. In conclusion, dogs from Amaraji and Paulista are exposed to *N. caninum* infection, constituting a potential risk factor for the occurrence of outbreaks of abortion in cattle and other ruminants in these municipalities.

**Keywords:** Neosporosis, epidemiology, infection, dogs.



# SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	11
2.1	Histórico .....	11
2.2	Etiologia .....	12
2.3	Hospedeiros .....	14
2.4	Ciclo de vida do <i>N. caninum</i> .....	15
2.5	Distribuição geográfica .....	17
2.6	Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em cães .....	18
2.7	Fatores de risco associados à soroprevalência em cães .....	20
2.8	Aspectos clínicos .....	21
2.9	Diagnóstico .....	22
2.10	Tratamento e controle .....	23
3	MATERIAL E MÉTODOS .....	25
3.1	Área de estudo .....	25
3.2	Amostras .....	27
3.3	Teste sorológico .....	27
3.4	Análise estatística .....	27
3.5	Questões éticas .....	28
4	RESULTADOS .....	29
5	DISCUSSÃO .....	30
6	CONCLUSÃO .....	33
	REFERÊNCIAS .....	34

# 1 INTRODUÇÃO

A neosporose é uma doença parasitária causada pelo *Neospora caninum*, um coccídio de descrição relativamente recente, amplamente distribuído no mundo e de grande importância veterinária, principalmente para indústria pecuária. Além de provocar perda na produção de leite (HERNANDEZ; RISCO; DONOVAN, 2001), a neosporose é uma das principais causas de aborto em rebanhos bovinos em várias partes do mundo (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Os cães domésticos são os hospedeiros definitivos do *N. caninum* e, por conseguinte, assumem um papel fundamental no ciclo de transmissão desse agente para outros animais, por exemplo, bovinos. Quando infectados, os cães liberam oocistos nas fezes, contaminando o ambiente, muitas vezes sem apresentar qualquer sinal clínico sugestivo de neosporose (MCALLISTER *et al.*, 1998). Os hospedeiros intermediários como, por exemplo, bovinos, ovinos, caprinos e bubalinos se infectam por meio da ingestão de oocistos esporulados presentes no pasto ou na água (DUBEY, 1999).

Uma vez que o cão doméstico é um elo importante na cadeia de transmissão da neosporose, o estudo da epizootiologia da infecção por *N. caninum* em cães passa a ser de grande importância para a elaboração de estratégias de controle dessa doença. Estudos sobre a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães têm sido realizados em diversos estados brasileiros, em geral, com o objetivo de avaliar a exposição à infecção. E uma vez que os cães são os hospedeiros definitivos, esses estudos servem como indicador de risco para infecção por *N. caninum* para outros animais, como bovinos. Entretanto, até o momento, não foram realizados estudos dentro desse escopo no Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Dentro desse contexto, objetivou-se contribuir para o conhecimento da epizootiologia da neosporose em Pernambuco, especificamente verificando a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães nos municípios de Paulista (área urbana) e Amaraji (área rural).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico

A neosporose canina foi descrita pela primeira vez em meados da década de 80. Na ocasião, pesquisadores diagnosticaram uma encefalopatia de etiologia desconhecida em sete cães domésticos, na Noruega (BJERKÅS; MOHN; PRESTHUS, 1984). O agente causador da encefalopatia foi encontrado em amostras de cérebro e músculos dos cães, contudo não foi especificamente identificado. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* não foram encontrados nesses cães.

Quatro anos mais tarde, nos Estados Unidos, Dubey *et al.* (1988a) encontraram um parasito similar àquele relatado por Bjerkås, Mohn e Presthus (1984) e o descreveram como uma nova espécie de coccídio, denominando-o de *N. caninum*.

Os cistos de *N. caninum* foram encontrados em corte histológico de vários tecidos, especialmente em cérebro e medula espinhal de dez dos 23 cães que apresentavam alterações neurológicas e cuja morte fora atribuída à toxoplasmose (DUBEY *et al.*, 1988a).

Em 1988, Dubey *et al.* (1988b) isolaram o coccídio *N. caninum* em cultivo celular e em camundongos pela primeira vez e desenvolveram um teste de imunofluorescência indireta para o diagnóstico sorológico da neosporose.

Ainda no final da década de 80 e na década de 90, foram desenvolvidos vários métodos de diagnóstico para neosporose canina, incluindo testes imunohistoquímicos (LINDSAY; DUBEY, 1989), ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) (BJÖRKMAN *et al.*, 1994; LALLY; JENKINS; DUBEY, 1996), aglutinação direta (ROMAN; THULLIEZ; DUBEY, 1998) e testes moleculares (KAUFMANN *et al.*, 1996; SPENCER; WITHEROW; BLAGBURN, 2000).

Em 1989, a neosporose passou a ser incriminada como causa de aborto em bovinos (THILSTED; DUBEY, 1989). Nos anos seguintes, a doença passaria a ser a maior causa de aborto em bovinos em algumas regiões do mundo (ANDERSON *et al.*, 1991).

Num estudo realizado no início dos anos 90, Dubey, Koestner e Piper (1990) analisaram amostras de tecidos de cães com manifestações neurológicas, armazenadas desde a década de 50, nesta ocasião encontraram resultados positivos em cães, o que confirma a presença de cães infectados desde aquela época.

Ainda na década de 90, estudos demonstraram que a infecção por *N. caninum* em animais assintomáticos era relativamente comum (PARÉ; THURMOND; HIETALA, 1994).

Em pouco mais de duas décadas de história, muitos avanços em relação ao conhecimento sobre a biologia do *N. caninum* e sobre a epidemiologia da neosporose em muitas partes do mundo foram alcançados. Porém, ao que parece, essa história está apenas começando. Recentemente, surgiram alguns questionamentos sobre a possibilidade de as espécies *N. caninum*, *Neospora hughesi* e *Hammondia heydorni* (anteriormente conhecido como *Isospora bigemina*) serem sinônimas. Essas questões foram levantadas devido às similaridades morfológicas entre os oocistos desses coccídios e pelo fato de a descrição do *N. caninum* ter sido considerada incompleta, haja vista que o espécime-tipo ainda não havia sido depositado numa coleção de referência (HEYDORN; MEHLHORN, 2002; MEHLHORN; HEYDORN, 2000).

Com o objetivo de esclarecer essa questão, isto é, se o agente da neosporose canina era realmente uma espécie válida, Dubey *et al.* (2002) redescreveram o *N. caninum*, diferenciando-o do *T. gondii* e de vários outros coccídios. Nesse mesmo estudo, os pesquisadores relataram o depósito de espécimes de *N. caninum* em museus, seguindo as recomendações atuais do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica. Essa extensa revisão sobre a taxonomia do *N. caninum* dirimiu todas as dúvidas sobre o status taxonômico desse coccídio que, definitivamente, é uma espécie válida.

## **2.2 Etiologia**

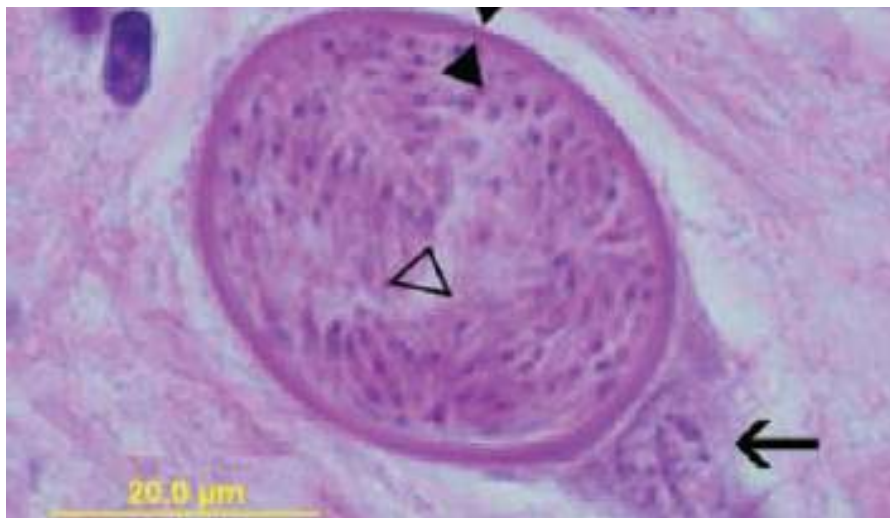
A neosporose é uma enfermidade parasitária causada pelo *N. caninum*, um protozoário de descrição relativamente recente, pertencente à família Sarcocystidae, dentro da ordem Eucoccidiida (DUBEY *et al.*, 1988a).

O *N. caninum* é um coccídio morfologicamente semelhante ao *T. gondii*, porém, as duas espécies podem ser diferenciadas pelas suas características ultraestruturais, imunogênicas e patogênicas (DUBEY; LINDSAY, 1993).

Estruturalmente, como todo coccídio, o *N. caninum* pode apresentar-se de várias formas, dependendo da fase de desenvolvimento no seu ciclo evolutivo. Os taquizoítos e os cistos são as formas intracelulares encontradas nos hospedeiros intermediários (DUBEY *et al.*, 2002). Já os oocistos são as formas liberadas nas fezes dos hospedeiros definitivos para o ambiente (MCALLISTER *et al.*, 1998).

Os taquizoítos possuem formato de meia lua e medem entre 3 e 7  $\mu\text{m}$  de comprimento por 1 a 5  $\mu\text{m}$  de largura, conforme o estágio de divisão. Podem ser encontrados em diferentes células do corpo dos animais infectados, tais como células do sistema nervoso, macrófagos, fibroblastos, células do endotélio vascular, miócitos, células do epitélio dos túbulos renais e hepatócitos (DUBEY *et al.*, 1988a; DUBEY *et al.*, 2002).

Os cistos teciduais (Figura 1) possuem formato arredondado, medem até 107  $\mu\text{m}$  de diâmetro e são encontrados principalmente em células do sistema nervoso (DUBEY *et al.*, 1988a; DUBEY; KOESTNER; PIPER, 1990). De parede lisa, medem de 1 a 4  $\mu\text{m}$  de espessura e se diferenciam do cisto de *T. gondii* o qual tem a espessura de parede inferior a 1  $\mu\text{m}$ . No interior dos cistos encontram-se os bradizoítos, medindo 6 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento por 1,0 a 1,8  $\mu\text{m}$  de largura (BJERKÅS; MOHN; PRESTHUS, 1984; DUBEY *et al.*, 1988a; DUBEY *et al.*, 2002).



**Figura 1.** Cisto tecidual de *N. caninum* (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Os oocistos medem de 10 a 11  $\mu\text{m}$  de diâmetro e quando esporulado contém dois esporocistos com quatro esporozoítos cada um. Os oocistos possuem a capacidade de esporular no meio ambiente, em um período de 24 horas (MCALLISTER *et al.*, 1998).

Acredita-se que a descrição recente do *N. caninum* esteja mais relacionada à dificuldade do diagnóstico, por sua similaridade com o *T. gondii*, do que pela hipótese de ser um novo agente etiológico (SOUZA *et al.*, 2001). Além do *T. gondii*, outros coccídios como *Sarcocystis cruzi*, *Hammondia hammondi*, *Hammondia pardalis* e *Hammondia heydorni* também possuem uma estreita relação filogenética com o *N. caninum* (DUBEY *et al.*, 1988a). Apesar disso, estudos mostram com clareza que se tratam de espécies geneticamente distintas (SIVERAJAH *et al.*, 2003).

### 2.3 Hospedeiros

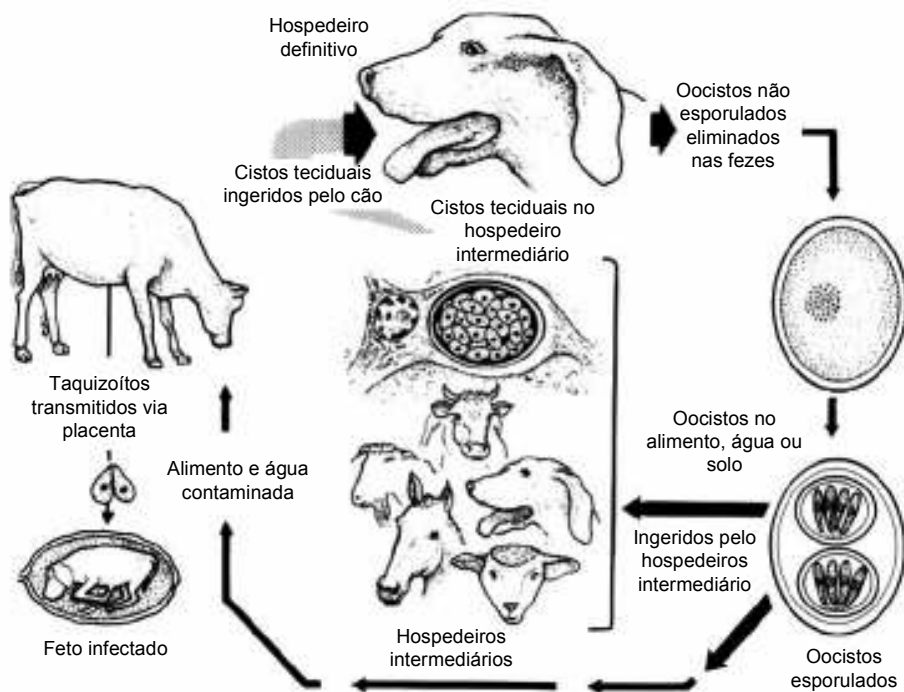
O cão doméstico é considerado o hospedeiro definitivo do *N. caninum*. Num estudo experimental, cães que haviam ingerido cérebros de camundongos contendo cistos de *N. caninum* eliminaram os oocistos não esporulados nas fezes (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999; MCALLISTER *et al.*, 1998). Além dos cães, os coiotes (*Canis latrans*) também foram recentemente incriminados como hospedeiros definitivos de *N. caninum* (GONDIM *et al.*, 2004).

Vários animais, incluindo bovinos (THILSTED; DUBEY, 1989), caprinos (BARR *et al.*, 1992; DUBEY *et al.*, 1992), ovinos (DUBEY; KOESTNER; PIPER, 1990), cervídeos (WOODS *et al.*, 1994; DUBEY *et al.*, 1996b) e aves (COSTA *et al.*, 2008), já foram relatados como hospedeiros intermediários de *N. caninum*. Presença de anticorpos anti-*N. caninum* já foi demonstrada em búfalos, raposas (BUXTON *et al.*, 1997) e camelos (HILALI *et al.*, 1998). Além desses, outros animais como macacos, ratos e porcos também demonstraram, sob condições experimentais, a capacidade de atuar como hospedeiros intermediários para o *N. caninum* (DUBEY, 1999).

Até o momento, não há relatos da presença de *N. caninum* em humanos. No entanto, sua semelhança com o *T. gondii*, além de sua capacidade de infectar experimentalmente macacos, sugere a possibilidade de infecção humana. Anticorpos anti-*N. caninum* já foram detectados em soro humano, embora a soropositividade tenha sido baixa (NAM; KANG; CHOI, 1998).

## 2.4 Ciclo de vida do *N. caninum*

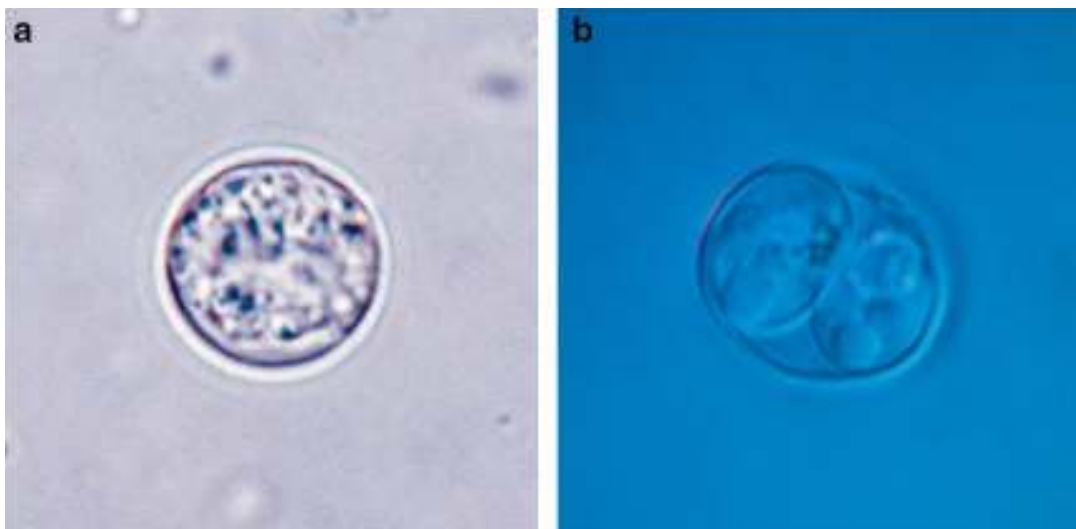
O ciclo de vida do *N. caninum* (Figura 2) se divide em duas fases, uma sexuada e outra assexuada. A fase sexuada ocorre nos hospedeiros definitivos. Após a ingestão de tecidos contendo cistos de *N. caninum*, ingestão de alimentos contaminados com taquizoítos ou ingestão de oocistos esporulados, os hospedeiros definitivos se infectam e posteriormente passam a liberar oocistos não esporulados nas fezes (MCALLISTER *et al.*, 1998).



**Figura 2.** Ciclo de vida do *N. caninum* (adaptado de DUBEY, 1999).

A liberação de oocistos nas fezes de cães infectados com cistos de *N. caninum* ocorre a partir de cinco dias ou mais após a ingestão do cisto e pode durar por um período que varia entre um dia (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007) a até aproximadamente um mês (RODRIGUES *et al.*, 2004). Durante esse período os cães podem liberar no ambiente uma quantidade bastante variada de oocistos, que pode variar de poucos a até mais de quatro milhões (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999).

No ambiente, os oocistos esporulam (Figura 3) em 24 a 72 horas. Então, os oocistos passam a ter dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos (MCALLISTER, 1999). Estudos mostraram que a quantidade de cistos em tecidos ingeridos influencia na quantidade de oocistos que são liberados nas fezes pelos hospedeiros definitivos (MCALLISTER, 1999; MCALLISTER *et al.*, 1998).



**Figura 3.** Oocisto não esporulado (a) e oocisto após esporulação, contendo dois esporocistos (b) (MCALLISTER, 1999).

A fase assexuada ocorre nos hospedeiros intermediários, incluindo os cães. Ao ingerirem o oocisto esporulado, os esporozoítos são liberados na luz do intestino, podendo penetrar nas células da parede intestinal.

Os taquizoítos se dividem rapidamente e se espalham pelo organismo do hospedeiro, podendo infectar várias células como os neurônios, células polimorfonucleares, hepatócitos, células tubulares renais, entre outras (DUBEY *et al.*, 1988a), podendo eventualmente causar lesões nos respectivos órgãos (HEMPHILL *et al.*, 1996).

Alguns taquizoítos se transformam em bradizoítos e permanecem encapsulados, latentes, em cistos de parede espessa. Estudos experimentais apontam que os cistos podem se formar rapidamente, em até 17 dias após infecção (DUBEY *et al.*, 1996a). Quanto tempo o cisto permanece viável em tecido nervoso ainda não se sabe, mas experimentalmente os cistos permaneceram viáveis em cérebro de ratos por pelo menos um ano (LINDSAY; BLAGBURN; DUBEY, 1992).



Fetos abortados e bezerros infectados podem abrigar cistos viáveis de *N. caninum* em vários tecidos. Eventualmente, as carcaças desses animais podem servir de fonte de infecção para os cães que as ingerirem (MCALLISTER, 1999).

Além da transmissão horizontal, animais podem infectar-se por via transplacentária (ANDERSON *et al.*, 1997; BARBER; TREES, 1998). A transmissão vertical é de grande importância para a perpetuação da infecção por *N. caninum* em rebanhos, pois possibilita a manutenção da infecção mesmo na ausência de um hospedeiro definitivo, mantendo-a por várias gerações (BJÖRKMAN *et al.*, 1996). Esse tipo de transmissão foi experimentalmente demonstrado em vários animais, como cães, bovinos, ovinos, caprinos, felinos e macacos (BARBER; TREES, 1998; DUBEY; KOESTNER; PIPER, 1990).

A transmissão vertical por meio da ingestão de colostro de fêmeas infectadas tem sido foco de estudos experimentais (DAVISON *et al.*, 2001; MOSKWA *et al.*, 2007). Estudos revelaram a presença de DNA de *N. caninum* em leite de vacas soropositivas (MOSKWA *et al.*, 2007). Vitelos alimentados com colostro infectado desenvolveram anticorpos específicos contra *N. caninum*, mas não foram encontrados cistos de *N. caninum* em exame histológico de cérebro ou coração destes vitelos (DAVISON *et al.*, 2001).

## 2.5 Distribuição geográfica

O *N. caninum* apresenta uma ampla distribuição mundial, ocorrendo em todos os continentes, exceto na Antártida. Isolados de *N. caninum* já foram obtidos de diferentes hospedeiros em vários países – Austrália, Brasil, Japão, Coreia, Malásia, Nova Zelândia, Portugal, Espanha, Suécia, Estados Unidos, Holanda, Itália, Alemanha, Reino Unido e Argentina (DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007; GONDIM *et al.*, 2001). Até o presente momento não foram isoladas cepas de *N. caninum* da África, porém existem evidências irrefutáveis que esse parasito circula na região (JARDINE; DUBEY, 1992), sendo inclusive apontado como causa de abortos em bovinos nesse continente (JARDINE; LAST, 1995).

No Brasil, a circulação do *N. caninum* já foi comprovada em todas as regiões geográficas (Figura 4) (AGUIAR *et al.*, 2006; ANDREOTTI *et al.*, 2004;

AZEVEDO *et al.*, 2005; CAÑÓN-FRANCO *et al.*, 2003; CORBELLINI; COLODEL; DRIEMEIER, 2001; GONDIM *et al.*, 2001; LOCATELLI-DITTRICH *et al.*, 2003, 2004; MINEO *et al.*, 2001; OLIVEIRA *et al.*, 2004; PENA *et al.*, 2007; RAGOZO *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2007; TEIXEIRA *et al.*, 2006).



**Figura 4.** Distribuição geográfica do *N. caninum* no Brasil.

## 2.6 Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães

Estudos para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em cães já foram realizados em mais de 30 países, abrangendo regiões das Américas, Europa, Austrália, África e Ásia (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Em geral a soroprevalência varia de menos de 1% até 20% (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007), mas pode ser tão alta quanto 97,5% ou 100% em algumas regiões (ANTONY; WILLIAMSON, 2003).

No Brasil, estudos sobre a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães foram realizados nas regiões Sul (GIRALDI *et al.*, 2002; SOUZA *et al.*, 2002), Sudeste (FERNANDES *et al.*, 2004; GENNARI *et al.*, 2002, 2006; HASEGAWA *et al.*, 2004; MINEO *et al.*, 2001, 2004; SILVA *et al.*, 2007; VARANDAS *et al.*, 2001), Centro-Oeste (ANDREOTTI *et al.*, 2004, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2004), Nordeste

(AZEVEDO *et al.*, 2005; JESUS *et al.*, 2006; TEIXEIRA *et al.*, 2006) e Norte (AGUIAR *et al.*, 2006; CAÑÓN-FRANCO *et al.*, 2003). Nesses estudos a prevalência variou de 0%, no Paraná, (GIRALDI *et al.*, 2002) até 58,9%, em São Paulo (HASEGAWA *et al.*, 2004). A técnica mais frequentemente utilizada é a RIFI, adotando-se como ponto de corte a diluição de 1:50 (Tabela 1).

**Tabela 1** – Frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães em estudos realizados no Brasil.

Região/ Estado	Total de cães	Positivos (%)	Teste	Ponto de corte	Referência
Nordeste					
BA	415	12	RIFI	1:50	JESUS <i>et al.</i> (2006)
MA	100	45	RIFI	1:50	TEIXEIRA <i>et al.</i> (2006)
PB	286	8,4	RIFI	1:50	AZEVEDO <i>et al.</i> (2005)
Norte					
RO	157	8,3	RIFI	1:25	CAÑÓN-FRANCO <i>et al.</i> (2003)
RO	174	12,6	RIFI	1:50	AGUIAR <i>et al.</i> (2006)
Centro-Oeste					
MS	345	27,2	RIFI	1:50	ANDREOTTI <i>et al.</i> (2006)
MS	245	26,5	RIFI	1:50	OLIVEIRA <i>et al.</i> (2004)
MS	40	30	RIFI	1:100	ANDREOTTI <i>et al.</i> (2004)
Sudeste					
MG	300	10,7	RIFI	1:50	FERNANDES <i>et al.</i> (2004)
MG	58	18,9	RIFI	1:50	FERNANDES <i>et al.</i> (2004)
MG	92	21,7	RIFI	1:50	FERNANDES <i>et al.</i> (2004)
MG	163	6,7	RIFI	1:50	MINEO <i>et al.</i> (2001)
MG	275	7,9	ELISA	-	MINEO <i>et al.</i> (2004)
MG	94	12,8	ELISA	-	MINEO <i>et al.</i> (2004)
MG	300	10,7	RIFI	1:25	SILVA <i>et al.</i> (2007)
SP	39	58,9	RIFI	1:50	HASEGAWA <i>et al.</i> (2004)
SP	500	10	DAT	1:25	GENNARI <i>et al.</i> (2002)
SP	611	25	DAT	1:25	GENNARI <i>et al.</i> (2002)
SP	295	8,4	RIFI	1:50	VARANDAS <i>et al.</i> (2001)
SP	204	17,6	RIFI	1:50	GENNARI <i>et al.</i> (2006)
Sul					
PR	134	21,6	RIFI	1:50	SOUZA <i>et al.</i> (2002)
PR	31	0	RIFI	1:50	GIRALDI <i>et al.</i> (2002)
PR	24	29,1	RIFI	1:50	ROMANELLI <i>et al.</i> (2007)

BA=Bahia; MA=Maranhão; MG=Minas Gerais; MS=Mato Grosso do Sul; PB=Paraíba; PR=Paraná; RO=Rondônia; SP=São Paulo; RIFI=reação de imunofluorescência indireta; ELISA=ensaio de imunoadsorção ligado à enzima; DAT=teste de aglutinação direta.

## 2.7 Fatores de risco associados à soroprevalência em cães

Os fatores de risco associados à infecção por *N. caninum* têm sido investigados em diferentes partes do mundo, inclusive no Brasil. Em geral, a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* está associada ao estilo de vida. Cães de áreas rurais, particularmente animais pastores ou que vivem em fazenda estão mais expostos ao risco de infecção por *N. caninum* (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Ainda nesse estudo, os autores observaram que o título de anticorpos de uma cadela prenhe aumentou significativamente na gestação. Isso levou os autores a sugerirem que a infecção por *N. caninum* poderia ser reativada durante a gestação, da mesma maneira como ocorre na infecção por *Toxocara canis*.

Na Itália, pesquisadores encontraram uma correlação positiva entre a soropositividade para anticorpos anti-*N. caninum* e a presença de anticorpos anti-*Leishmania infantum* (CRINGOLI *et al.*, 2002). Em contraste, num estudo mais recente também realizado na Itália, Paradies *et al.* (2007) não encontraram uma correlação entre a soropositividade para anticorpos anti-*N. caninum* e a presença de anticorpos anti-*L. infantum*. Nesse mesmo estudo, os pesquisadores italianos encontraram uma correlação positiva entre a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* e a idade dos cães. Da mesma forma, a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* significativamente mais alta em cães de fazenda (PARADIES *et al.*, 2007). Também na Itália, Ferroglio *et al.* (2007) encontraram uma soroprevalência mais alta em cães pastores, nos quais a soroprevalência aumentava de acordo com a idade. De fato, um outro estudo recente, realizado na República Checa, também indica que a soroprevalência é mais alta em cães mais velhos (VÁCLAVEK *et al.*, 2007).

No Brasil, em estudo realizado no município de Uberlândia, Estado de Minas Gerais, a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* foi mais elevada em cães errantes, quando comparada àquela encontrada em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia ou em clínicas veterinárias particulares da cidade (MINEO *et al.*, 2004). Na Paraíba, Azevedo *et al.* (2005)

encontraram também soropositividade maior em cães que tinham contato com o ambiente extra-domiciliar.

No Maranhão, não foi encontrada diferença na soroprevalência em relação ao sexo (TEIXEIRA *et al.*, 2006). De fato, o sexo não parece ser um fator de risco associado à neosporose canina, como já demonstrado em outros estudos realizados no Brasil e em outros países (CAPELLI *et al.*, 2004; PARADIES *et al.*, 2007).

## 2.8 Aspectos clínicos

A neosporose canina é uma doença grave e de prognóstico reservado. Manifesta-se clinicamente por sinais neurológicos que vão desde paresia de membros posteriores até paralisia espástica (PERL *et al.*, 1998). Acredita-se que esses sinais sejam resultados de meningoencefalite e miosite (BJERKÅS; MOHN; PRESTHUS, 1984; DUBEY; LINDSAY, 1996; JACOBSON; JARDINE, 1993; SHEHAN *et al.*, 1993; UGGLA *et al.*, 1989). Além dos sinais neurológicos, as manifestações cutâneas, como dermatite piogranulomatosa ulcerativa, encontram-se descritas na literatura (DUBEY *et al.*, 1995; FRITZ *et al.*, 1997; PERL *et al.*, 1998). Muitos cães infectados pelo *N. caninum* podem não apresentar sinais clínicos da doença, mas têm a capacidade de liberar oocistos no ambiente (PARÉ; THURMOND; HIETALA, 1994; RODRIGUES *et al.*, 2004).

Na Alemanha, dois cães de uma ninhada de oito filhotes apresentaram paresia e hiperextensão dos membros posteriores nas primeiras semanas de vida (PETERS; WAGNER; SCHARES, 2000). No Brasil, Gondim *et al.* (2000) relataram um caso de um cão da raça Collie, com sete anos de idade, que apresentou incoordenação e paresia de membros posteriores. Na Argentina, um filhote da raça Boxer apresentou paresia progressiva e atrofia muscular de membros posteriores (BASSO *et al.*, 2005).

Em estudo recente, nos Estados Unidos, Dubey *et al.* (2007) relataram um caso interessante de neosporose numa ninhada de cinco filhotes de cães da raça Beagle. Observaram sinais clínicos como fraqueza e claudicação, acompanhada de enrijecimento e atrofia dos membros posteriores. Os membros afetados se posicionavam

apontados para frente. Um dos filhotes não desenvolveu sinais clínicos e outro desenvolveu uma forma clínica branda, apresentando apenas um andar desajeitado.

## 2.9 Diagnóstico

O diagnóstico clínico-epidemiológico da neosporose canina pode ser difícil de ser obtido. Os sinais clínicos observados na neosporose são geralmente inespecíficos e podem ser confundidos com outras doenças, por exemplo, cinomose. Além disso, pouco se sabe em relação à epizootiologia da doença no Brasil. Logo, os exames laboratoriais geralmente são necessários para o fechamento do diagnóstico.

Os testes sorológicos assumem um importante papel tanto no diagnóstico da doença quanto em estudos epidemiológicos (LASRI *et al.*, 2004). Dentre os testes sorológicos disponíveis, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) tem sido utilizada como o teste de referência, por apresentar uma sensibilidade satisfatória, além de poucas reações cruzadas com outros coccídios (DUBEY *et al.*, 1996a; HEMPHILL; GOTTSTEIN, 2000). Via de regra, o ponto de corte adotado é a diluição de 1:50 (SILVA *et al.*, 2007), embora outros pontos de cortes também sejam utilizados (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Outras técnicas sorológicas, tais como ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) (LASRI *et al.*, 2004) e o teste de aglutinação direta (ROMAND *et al.*, 1998), têm sido empregadas para o diagnóstico sorológico, em geral, apresentando boa sensibilidade e especificidade (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999).

Até o momento, não existem testes rápidos, isto é, kits comercialmente disponíveis para o diagnóstico sorológico da neosporose. Em estudo recente, pesquisadores brasileiros padronizaram e compararam um novo ensaio de Dot-ELISA com a RIFI para o diagnóstico da neosporose. O Dot-ELISA apresentou sensibilidade de 94% e especificidade de 73% quando comparado com a RIFI, utilizando o ponto de corte de 1:50 (PINHEIRO *et al.*, 2005).

Além dos testes sorológicos, testes moleculares têm sido utilizados para o diagnóstico da neosporose, embora com menos frequência (SCHATZBERG *et al.*, 2003). O desenvolvimento da biologia molecular tem sido de grande importância para o diagnóstico da neosporose e de outras doenças parasitárias, pois permite a amplificação

de pequenas quantidades de DNA, nos mais diversos tipos de amostras clínicas (KAUFMANN *et al.*, 1996; MULLER *et al.*, 1996; SPENCER; WITHEROW; BLAGBURN, 2000). Os testes moleculares baseiam-se na reação em cadeia da polimerase (PCR), uma técnica extremamente sensível e específica, além de rápida (MULLER *et al.*, 1996).

Exames parasitológicos de fezes de cães podem revelar a presença de oocistos, porém a diferenciação entre oocistos de *N. caninum* e de outros coccídios (por exemplo, *H. heydornii*) não é possível com base apenas em microscopia óptica. Faz-se necessária a realização de outros ensaios, tais como a inoculação experimental de oocistos esporulados em animais de laboratório (DUBEY, 1999) ou realização da PCR (PALAVICINI *et al.*, 2007).

O exame histopatológico de tecidos como músculos e cérebro, por exemplo, deve ser realizado sempre que possível. Entretanto, uma vez que não existem lesões patognomônicas de neosporose no exame histopatológico, o uso da técnica de imunohistoquímica se torna necessário. Esse teste permite a detecção de taquizoítos e bradizoítos em tecidos fixados com formalina e parafinados, utilizando a técnica do complexo avidina-biotina-peroxidase (CROOKSHANKS *et al.*, 2007; GIRALDI; BRACARENSE; VIDOTTO, 2001).

## 2.10 Tratamento e controle

O tratamento da neosporose canina baseia-se no uso de clindamicina na dose de 11–22 mg/kg, 8/8 horas (CROOKSHANKS *et al.*, 2007), associada ou não a sulfonamidas na dose de 15 mg/kg, 12/12 horas, além de pirimetamina na dose de 1mg/kg (s.i.d.). O tratamento deve ser mantido por um período que varia de uma a nove semanas, até que haja recuperação total do animal ou pelo menos o estacionamento do quadro clínico (BARBER; TREES, 1996).

O uso de antiinflamatórios não esteróides (BUXTON; MCALLISTER; DUBEY, 2002), fisioterapia (CROOKSHANKS *et al.*, 2007) e suplementação com vitaminas do complexo B, em caso de possíveis deficiências de ácido fólico, é recomendável (GIRALDI; BRACARENSE; VIDOTTO, 2001).

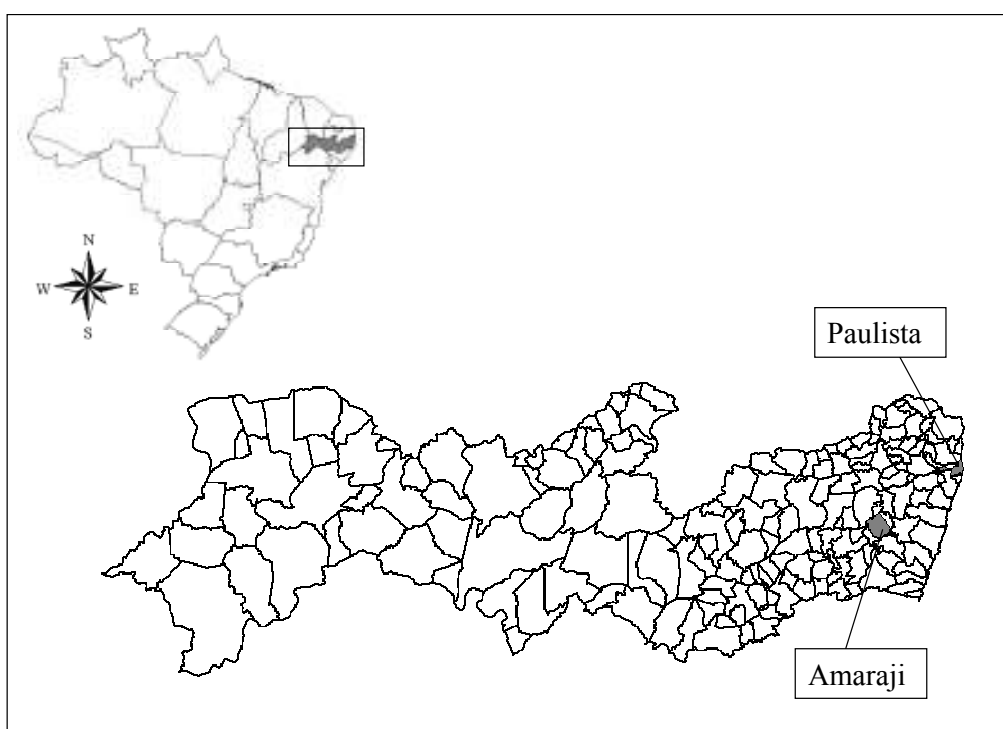
O controle da neosporose foi objeto de extensa revisão recentemente publicada (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). As medidas de controle devem ser focadas na redução dos fatores que porventura favoreçam a perpetuação do ciclo de transmissão do *N. caninum*. Por exemplo, deve-se restringir o contato entre cães e animais de produção, limitando o acesso dos cães aos arredores da casa. No caso de cães pastores, por exemplo, isso pode não ser uma alternativa possível. Deve-se, entretanto, evitar que cães tenham acesso a restos placentários e fetos abortados (DUBEY, 2003). Uma boa higiene das pastagens e um correto armazenamento de ração também são medidas importantes para o controle da neosporose (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).



### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Área de estudo

Utilizaram-se amostras de soro de cães provenientes dos municípios de Paulista e Amaraji (Figura 5), localizados, respectivamente, na Região Metropolitana do Recife e Zona da Mata do Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.



**Figura 5.** Localização dos municípios de Paulista e Amaraji, no Estado de Pernambuco, Brasil.

O município de Paulista (latitude 07°56'27" Sul e longitude 34°52'23" Oeste) possui uma população de 307.744 habitantes e um território de aproximadamente 94 km<sup>2</sup>. Seu clima é tropical úmido com chuvas concentradas no período de fevereiro a junho. A temperatura média anual varia entre 24 e 26°C. A umidade relativa do ar varia entre 72,5 e 85% e a precipitação média anual geralmente excede os 1.600 mm. Embora seja considerado um município 100% urbanizado, Paulista guarda algumas

características rurais, tais como a criação de animais de produção (o rebanho bovino foi estimado em 658 cabeças, em 2006) e o cultivo da banana (IBGE, 2007).

O município de Amaraji (latitude 08°22'59" Sul e longitude 35°27'09" Oeste) possui uma população de 22.279 habitantes e um território de aproximadamente 238,86 km<sup>2</sup>. O clima do município é tropical úmido com chuvas concentradas de fevereiro a outubro. A temperatura média anual é de 24°C e a umidade relativa do ar é de aproximadamente 80%. A precipitação média anual geralmente excede os 1.600 mm. Uma das atividades do município é a criação de animais de produção, tais como bovinos (rebanho estimado em 5.249 cabeças, em 2006), bubalinos, caprinos, ovinos, suínos e aves (IBGE, 2008).

Paulista é um município considerado 100% urbanizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Amaraji é um município de colonização antiga, cuja vegetação nativa foi quase que totalmente devastada, substituída principalmente por culturas de cana-de-açúcar, restando poucos remanescentes de Mata Atlântica (Figura 6).



**Figura 6.** Desmatamento no município de Amaraji. Ao fundo, a presença de um resquício de Mata Atlântica.

### 3.2 Amostras

Foram analisadas 455 amostras de soros de cães depositadas no banco de soros do Laboratório de Imunoparasitologia do Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, unidade da Fundação Oswaldo Cruz em Recife, estocadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Essas amostras foram coletadas em momentos diferentes, durante projetos referentes ao estudo das leishmanioses em Pernambuco. Dentre as amostras selecionadas, 168 foram coletadas na década de 90 em propriedades rurais no município de Amaraji e 287 coletadas em 2005 durante a campanha de vacinação anti-rábica no município de Paulista.

### 3.3 Teste sorológico

Para pesquisa de anticorpos IgG anti-*N. caninum* pela RIFI, utilizou-se o método recomendado por Camargo (1974). Como antígeno, utilizou-se taquizoítos íntegros de *N. caninum* (cepa NC-1). Em cada lâmina teste, incluíram-se controles negativo (soro de cão sabidamente negativo) e positivo (soro de cão sabidamente positivo). Consideraram-se positivas todas as amostras com fluorescência na diluição de 1:50, conforme previamente descrito (DUBEY *et al.*, 1988a). Os testes foram realizados no Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães (CPqAM), unidade técnico-científica da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) em Pernambuco.

### 3.4 Análise estatística

Utilizou-se o teste qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para comparar as taxas de soropositividade em relação ao município de origem. Consideraram-se estatisticamente significativas as associações com valor de  $p \leq 0,05$ . Calcularam-se os intervalos de confiança de 95% (IC 95%) para cada uma das taxas de soropositividade encontradas.

A análise estatística foi realizada com auxílio do programa Epi Info, versão 6.04d, disponibilizado gratuitamente pelo Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Estados Unidos.

### **3.5 Questões éticas**

As amostras utilizadas no presente estudo foram coletadas durante dois projetos distintos. O projeto referente às amostras coletadas no município de Paulista foi licenciado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), sob o número de protocolo CEUA P.0299-06. Já o projeto referente às amostras coletadas no município de Amaraji foi realizado na década de 90, ocasião na qual a CEUA ainda não havia sido criada.

## 4 RESULTADOS

Das 455 amostras analisadas para pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum*, 118 (25,9%) foram consideradas positivas (IC 95%: 21,9–30,2).

No que diz respeito à origem, das 287 amostras de cães provenientes do município de Paulista, 75 (26,1%) foram positivas (IC 95%: 21,1–31,6).

Em relação ao município de Amaraji, das 168 amostras de cães testadas, 43 (25,6%) foram positivas (IC 95%: 19,1–32,8).

Quando às freqüências de anticorpos anti-*N. caninum* encontradas em Paulista e Amaraji foram comparadas, não houve diferença estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 0,02$ ; p-valor = 0,899). Da mesma forma, não houve diferença estatisticamente significativa em relação às freqüências de anticorpos encontradas nos municípios de Paulista e Amaraji quando essas foram comparadas com a soropositividade geral encontrada no estudo ( $\chi^2 = 0,02$ ; p-valor = 0,992).

## 5 DISCUSSÃO

Estudos realizados no Brasil para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em cães demonstraram resultados bem variados com a taxas de soroprevalência variando de 0% em cães apresentando distúrbios neurológicos de área urbana do Paraná (GIRALDI *et al.*, 2002) a 58,9% em cães de fazenda de gado de corte em São Paulo (HASEGAWA *et al.*, 2004).

Além do presente estudo, apenas três trabalhos sobre a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães foram realizados na região Nordeste do Brasil. Um estudo realizado em São Luís, Estado do Maranhão, onde 100 cães de rua foram avaliados e 45% apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* (TEIXEIRA *et al.*, 2006). Em outros dois estudos realizados na Bahia (415 cães domiciliados e não domiciliados) e na Paraíba (286 cães domiciliados), observaram-se soroprevalências de 12% (JESUS *et al.*, 2006) e 8,4% (AZEVEDO *et al.*, 2005), respectivamente.

Apesar das variações nas soroprevalências encontradas em diferentes estudos realizados no Brasil, os resultados do presente estudo se assemelham àqueles encontrados por vários autores (ANDREOTTI *et al.*, 2006; FERNANDES *et al.*, 2004; OLIVEIRA *et al.*, 2004; ROMANELLI *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2002).

A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães pode variar consideravelmente de região para região e até mesmo dentro de uma mesma região. Cada população canina pode estar exposta a diferentes fatores de risco, como por exemplo, a ingestão de carne crua, de restos placentários, de leite e colostro de animais infectados, além do contato com fezes de outros carnívoros infectados (DIJKSTRA *et al.*, 2002). Da mesma forma, os resultados também podem variar de acordo com o método adotado (por exemplo, diferentes testes sorológicos). Logo, é importante salientar que a comparação dos resultados de estudos de soroprevalência deve ser feita com cautela.

A neosporose canina é uma doença parasitária grave capaz de levar o animal a morte (DUBEY *et al.*, 1988b). Relatos de casos têm sido descritos na literatura com relativa frequência (BASSO *et al.*, 2005; BJERKÅS; MOHN; PRESTHUS, 1984; DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY *et al.*, 2007; GONDIM *et al.*, 2001; JACOBSON; JARDINE, 1993; PETERS; WAGNER; SCHARES, 2000; SHEHAN *et al.*, 1993;

UGGLA *et al.*, 1989). Atrelado a isso, os resultados do presente estudo justificam a inclusão da neosporose no diagnóstico diferencial das enfermidades com manifestações neurológicas, como cinomose e raiva, em cães em Pernambuco.

Em animais de produção, a neosporose tem emergido como uma causa importante de abortos, ocasionado um impacto econômico negativo na indústria pecuária em muitas partes do mundo (ANDERSON *et al.*, 1991; DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY SCHARRES; ORTEGA-MORA, 2007; RIVERA, 2001). Os cães, por serem os hospedeiros definitivos do *N. caninum*, são de grande importância para a perpetuação da neosporose. A presença de cães em fazendas, por exemplo, tem sido considerado um fator de risco para infecção por *N. caninum* em animais de produção (DUBEY; SCHARRES; ORTEGA-MORA, 2007).

A pecuária é uma atividade econômica importante no Estado de Pernambuco, sendo considerado o terceiro maior estado do nordeste brasileiro em abate bovino e o segundo maior produtor de leite. Quanto à produção de ovinos e caprinos, no ano de 2005, Pernambuco se encontrava como o quarto maior efetivo de ovino e segundo de caprino da região Nordeste.

Relatos de casos de abortos em bovinos são relativamente comuns em Pernambuco. Contudo, pouco se sabe sobre as causas associadas a episódios de abortos em bovinos nesse estado. Da mesma forma, não se sabe qual a importância da neosporose como causa de aborto em bovinos em Pernambuco. A falta de diagnóstico e até mesmo de informação, principalmente para os pequenos produtores, dificulta ainda mais o controle das potenciais causas de abortos, tais como neosporose e brucelose. Potencialmente, a neosporose pode estar entre as principais causas de aborto em bovinos em Pernambuco, mas essa hipótese ainda deve ser investigada mais detalhadamente. Nesse sentido, novos estudos sobre as causas de aborto em bovinos de Pernambuco devem ser incentivados. Esse diagnóstico servirá de subsídio para a elaboração de estratégias de controle e prevenção da neosporose e outras doenças infecciosas que acometem os rebanhos bovinos de Pernambuco.

Os municípios de Amaraji e Paulista apresentam características geográficas e graus de urbanização bastante distintos. Amaraji é uma área tipicamente rural e possui o cultivo da cana-de-açúcar como principal atividade econômica, além de várias pequenas criações extensivas de animais de produção, particularmente bovinos. Já o município de Paulista é considerado um município 100% urbano e possui a presença de alguns criatórios urbanos de animais de produção. Talvez, a semelhança entre os resultados

encontrados se deva ao fato de os cães de Amaraji e Paulista, apesar das diferenças comentadas, estarem expostos a fatores de riscos semelhantes. Futuros estudos para determinar os fatores de risco associados à prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães desses municípios devem ser realizados.

Esse foi o primeiro trabalho dedicado ao estudo da ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães em Pernambuco. Novos estudos em outros municípios devem ser encorajados, particularmente naqueles onde a pecuária figura como uma das atividades econômicas principais. Esses estudos devem focar não só a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães, mas também em outros hospedeiros como bovinos, caprinos e ovinos, contribuindo para o diagnóstico da situação da epizootiologia da neosporose em Pernambuco e fornecendo subsídios para o controle da doença nesse estado.



## 6 CONCLUSÃO

Conclui-se que os cães dos municípios de Amaraji e Paulista encontram-se expostos à infecção por *N. caninum*, representando um potencial fator de risco para ocorrência de surtos de abortos em bovinos e outros ruminantes nesses municípios. Por fim, os resultados desse estudo sugerem que a neosporose deve ser incluída no diagnóstico diferencial de enfermidades de origem neurológica em cães no Estado de Pernambuco.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M. *et al.* Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 142, n. 1/2, p. 71-77, Nov. 2006.
- ANDERSON, M.L. *et al.* Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 210, n. 8, p. 1169-1172, Apr. 1997.
- ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C.; DUBEY, J.P.; HOFFMAN, R.L.; CONRAD, P.A. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 198, n. 2, p. 241-244, Jan. 1991.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.D.; PIRES, P.P.; SILVA, E.A.E. 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**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3, p. 129-131, Jul./Aug./Sept. 2004.
- ANDREOTTI, R.; OLIVEIRA, J.M.; SILVA, E.A.; OSHIRO, L.M.; MATOS, M.F. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 135, n. 3/4, p. 375-379, Feb. 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**, Wellington, v. 51, n. 5, p. 232-237, Oct. 2003.
- AZEVEDO, S.S. *et al.* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 79, n. 1, p. 51-56, Aug. 2005.
- BARBER, J.S.; TREES, A.J. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. **Veterinary Record**, London, v. 139, n. 18, p. 439-443, Nov. 1996.
- BARBER, J.S.; TREES, A.J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 28, n. 1, p. 57-64, Jan. 1998.

- BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; WOODS, L.W.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A. *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Davis, v. 4, n. 3, p. 365-367, Jul. 1992.
- BASSO, W. *et al.* Confirmed clinical *Neospora caninum* infection in a boxer puppy from Argentina. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 131, n. 3/4, p. 299-303, Aug. 2005.
- BJERKÅS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, Berlin, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984.
- BJÖRKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O.J.; UGGLA, A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 208, n. 9, p. 1441-1444, May 1996.
- BJÖRKMAN, C.; LUNDÉN A.; HOLMDAHL, J.; BARBER, J.; TREES, A.J.; UGGLA, A. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 16, n. 12, p. 643-648, Dec. 1994.
- BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 29, n. 10, p. 1497-1507, Oct. 1999.
- BUXTON, D.; MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 18, n. 12 p. 546-552, Dec. 2002.
- BUXTON, D.; MALEY, S.W.; PASTORET, P.P.; BROCHIER, B.; INNES, E.A. Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Record**, London, v. 141, n. 12, p. 308-309, Sept. 1997.
- CAMARGO, M.E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 3, p. 143-169, jul./set. 1974.
- CAÑÓN-FRANCO, W.A. *et al.* Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 115, n. 1, p. 71-74, Jul. 2003.

CAPELLI, G.; NARDELLI, S.; DI REGALBONO, A.F.; SCALA, A.; PIETROBELLI, M. Sero-epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs in north-eastern Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 123, n. 3/4, p. 143-148, Sept. 2004.

CORBELLINI, L.G.; COLODEL, E.M.; DRIEMEIER, D. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Davis, v. 13, n. 5, p. 416-419, Sept. 2001.

COSTA, K.S. *et al.* Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 38, n. 2, p. 157-159, Feb. 2008.

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**, Amsterdam, v. 106, n. 4, p. 307-313, Jul. 2002.

CROOKSHANKS, J.L.; TAYLOR, S.M.; HAINES, D.M.; SHELTON, G.D. Treatment of canine pediatric *Neospora caninum* myositis following immunohistochemical identification of tachyzoites in muscle biopsies. **Canadian Veterinary Journal**, Guelph, v. 48, n. 5, p. 506-508, May 2007.

DAVISON, H.C. *et al.* Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 70, n. 2, p. 163-168, Apr. 2001.

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**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 99-104, Apr. 2002.

DUBEY, J.P. *et al.* Neosporosis in Beagle dogs: Clinical signs, diagnosis, treatment, isolation and genetic characterization of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 149, n. 3/4, p. 158-166, Nov. 2007.

DUBEY, J.P. *et al.* Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 32, n. 8, p. 929-946, Jul. 2002.

DUBEY, J.P. *et al.* Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 57, n. 3, p. 329-336, Mar. 1996a.

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

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

DUBEY, J.P.; CARPENTER, J.L.; SPEER, C.A.; TOPPER, M.J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, May 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**, Chicago, v. 193, n. 10, p. 1259-1263, Nov. 1988b.

DUBEY, J.P.; KOESTNER, A.; PIPER, R.C. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 197, n. 7, p. 857-860, Oct. 1990.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 67, n. 1/2, p. 1-59, Dec. 1996.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Neosporosis. **Parasitology Today**, Amsterdam, v. 9, n. 12, p. 452-458, Dec. 1993.

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

DUBEY, J.P.; METZGER, F.L.; HATTEL, A.L.; LINDSAY, D.S.; FRITZ, D.L. Canine cutaneous neosporosis: clinical improvement with clindamycin. **Veterinary Dermatology**, Oxford, v. 6, n. 1, p. 37-43, Feb. 1995.

DUBEY, J.P.; RIGOLET, J.; LAGOURETTE, P.; GEORGE, C.; LONGEART, L.; LENET, J.L. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 82, n. 2, p. 338-339, Apr. 1996b.

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

FERNANDES, B.C.; GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.; 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**, Amsterdam, v. 123, n. 1/2, p. 33-40, Aug. 2004.

FERROGLIO, E.; PASINO, M.; RONCO, F.; BENÀ, A.; TRISCIUOGLIO, A. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in urban and rural dogs in north-west Italy. **Zoonoses and Public Health**, London, v. 54, n. 3/4, p. 135-139, May 2007.

FRITZ, D. *et al.* *Neospora caninum* associated nodular dermatitis in a middle aged dog. **Canine Practice**, Santa Barbara, v. 22, n. 4, p. 21-24, Apr. 1997.

GENNARI, S.M. *et al.* Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 106, n. 2, p. 177-179, June 2002.

GENNARI, S.M.; CAÑÓN-FRANCO, W.A.; FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; LIMA, F.R.A.; AMAKU, M. Presence of anti-*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniosis from the region of Araçatuba, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 613-615, Sep./Oct. 2006.

GIRALDI, J.H.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; VIDOTTO, O. Neosporose canina: revisão. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano VI, n. 34, p. 50-60, set./out. 2001.

GIRALDI, J.H.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; VIDOTTO, O.; TUDURY, E.A.; NAVARRO, T.; BATISTA, T.N. Sorologia e histopatologia de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães portadores de distúrbios neurológicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 23, n. 1, p. 9-14, jan./jun. 2002.

GONDIM, L.F. *et al.* Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 101, n. 1, p. 1-7, Oct. 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 for Parasitology**, New York, v. 34, n. 2, p. 159-161, Feb. 2004.

HASEGAWA, M.Y.; SARTOR, I.F.; OLIVEIRA CANAVESSI, A.M.; PINCKNEY, R.D. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in beef cattle and in farm dogs from Avaré Region of São Paulo, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 25, n. 1, p. 45-50, jan./mar. 2004.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B. A European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, New York, v. 30, n. 8, p. 877-924, Jul. 2000.

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

HERNANDEZ, J.; RISCO, C.; DONOVAN, A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Chicago, v. 219, n. 5, p. 632-635, Sep. 2001.

HEYDORN, A.O.; MEHLHORN, H. A re-evaluation of *Neospora* and *Hammondia* spp. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 18, n. 6 p. 246, June 2002.

HILALI, M.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O.C.H.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from camels from Egypt. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 75, n. 2/3, p. 269-271, Feb. 1998.

IBGE. **Paulista – PE**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?codmun=261070&r=2>>. Acesso em: 14 dez. 2007.

IBGE. **Amaraji – PE**. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/xtras/perfil.php?codmun=260090&r=2>>. Acesso em: 6 jan. 2008.

JACOBSON, L.S.; JARDINE, J.E. *Neospora caninum* infection in three Labrador littermates. **Journal of the South African Veterinary Association**, Pretoria, v. 64, n. 1, p. 47-51, Mar. 1993.

JARDINE, J.E.; DUBEY, J.P. Canine neosporosis in South Africa. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 44, n. 3/4, p. 291-294, Oct. 1992.

JARDINE, J.E.; LAST, R.D. The prevalence of neosporosis in aborted bovine foetuses submitted to the Allerton Regional Veterinary Laboratory. **Onderstepoort Journal of Veterinary Research**, Pretoria, v. 62, n. 3, p. 207-209, Sept. 1995.

JESUS, E.E.V. *et al.* Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, Estado da Bahia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 5-10, jan./fev. 2006.

KAUFMANN, H. *et al.* Discrimination of *Neospora caninum* from *Toxoplasma gondii* and other apicomplexan parasites by hybridization and PCR. **Molecular and Cellular Probes**, London, v. 10, n. 4, p. 289-297, Aug. 1996.

LALLY, N.C.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an ELISA for the diagnosis of bovine neosporosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington DC, v. 3, n. 3, p. 275-278, May 1996.

LASRI, S.; MEERSCHMAN, F.; RETTIGNER, C.; FOCANT, C.; LOSSON, B. Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 123, n. 1/2, p. 25-32, Aug. 2004.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; DUBEY, J.P. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 78, n. 1, p. 70-72, Feb. 1992.

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

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

LOCATELLI-DITTRICH, R. *et al.* Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Paraná, southern Brazil. **Veterinary Record**, London, v. 153, n. 12, p. 366-357, Sept. 2003.



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

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

MEHLHORN, H.; HEYDORN, A.O. *Neospora caninum*: is it really different from *Hammondia heydorni* or is it a strain of *Toxoplasma gondii*? An opinion. **Parasitology Research**, Berlin, v. 86, n. 2, p. 169-178, Feb. 2000.

MINEO, T.W.P. *et al.* Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 98, n. 4, p. 239-245, Jul. 2001.

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

MOSKWA, B.; PASTUSIAK, K.; BIEN, J.; CABAJ, W. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. **Parasitology Research**, Berlin, v. 100, n. 3, p. 633-636, Feb. 2007.

MÜLLER, N.; ZIMMERMANN, V.; HENTRICH, B.; GOTTSTEIN, B. Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington DC, v. 34, n. 11, p. 2850-2852, Nov. 1996.

NAM, H.W.; KANG, S.W.; CHOI, W.Y. Antibody reaction of human anti-*Toxoplasma gondii* positive and negative sera with *Neospora caninum* antigens. **The Korean Journal of Parasitology**, Seoul, v. 36, n. 4, p. 269-275, Dec. 1998

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

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**, Amsterdam, v. 149, n. 3/4, p. 265-270, Nov. 2007.

PARADIES, P.; CAPELLI, G.; TESTINI, G.; CANTACESSI, C.; TREES, A.J.; OTRANTO, D. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 145, n. 3/4, p. 240-244, Apr. 2007.

PARÉ, J.; THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Congenital *Neospora* infection in dairy cattle. **Veterinary Record**, London, v. 134, n. 20, p. 531-532, May 1994.

PENA, H.F. *et al.* Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 147, n. 1/2, p. 61-66, June 2007.

PERL, S.; HARRUS S.; SATUCHNE, C.; YAKOBSON, B; HAINES, D. Cutaneous neosporosis in a dog in Israel. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 79, n. 3, p. 257-261, Nov. 1998.

PETERS, M.; WAGNER, F.; SCHARES, G. Canine neosporosis: clinical and pathological findings and first isolation of *Neospora caninum* in Germany. **Parasitology Research**, Berlin, v. 86, n. 1, p. 1-7, Jan. 2000.

PINHEIRO, A.M. *et al.* Serologic immunoreactivity to *Neospora caninum* antigens in dogs determined by indirect immunofluorescence, western blotting and dot-ELISA. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 130, n. 1/2, p. 73-79, June 2005.

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 bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 1, p. 33-37, jan./fev./mar. 2003.

RIVERA, G.H. Causas frecuentes de aborto bovino. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru**, Lima, v. 12, n. 2, p. 117-122, Jul./Dic. 2001.

RODRIGUES, A.A. *et al.* Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 124, n. 3/4, p. 139-150, Oct. 2004.

ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J.P. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. **Parasitology Research**, Berlin, v. 84, n. 1, p. 50-53, Nov. 1998.

ROMANELLI, P.R. *et al.* Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, Oxford, v. 82, n. 2, p. 202-207, Apr. 2007.

SCHATZBERG, S.J. *et al.* Use of a multiplex polymerase chain reaction assay in the antemortem diagnosis of toxoplasmosis and neosporosis in the central nervous system of cats and dogs. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 64, n. 12, p. 1507-1513, Dec. 2003.

SHEHAN, B.J.; CAFFREY, J.F.; DUBEY, J.P.; MCHENRY, D.F. *Neospora caninum* encephalomyelitis in seven dogs. **Irish Veterinary Journal**, Dublin, v. 46, n. 1, p. 3-7, Jan. 1993.

SILVA, D.A.; LOBATO, J.; MINEO, T.W.; MINEO, J.R. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: Optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 143, n. 3/4, p. 234-244, Feb. 2007.

SIVERAJAH, S.; RYCE, C.; MORRISON, D.A.; ELLIS, J.T. Characterization of an alpha tubulin gene sequence from *Neospora caninum* and *Hammondia heydorni*, and their comparison to homologous genes from Apicomplexa. **Parasitology**, Cambridge, v. 126, n. 6, p. 561-569, June 2003.

SOUZA, L.M.; NASCIMENTO, A.A.; FURUTA, P.I.; BASSO, L.M.S.; SILVEIRA, D.M.; COSTA, A.J. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bubalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 39-48, jan./jun. 2001.

SOUZA, S.L.; GUIMARÃES, J.S. JR.; 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**, Lawrence, v. 88, n. 2, p. 408-409, Apr. 2002.

SPENCER, J.A.; WITHEROW, A.K.; BLAGBURN, B.L. A random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction technique that differentiates between *Neospora* species. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 86, n. 6, p. 1366-1368, Dec. 2000.

TEIXEIRA, W.C.; SILVA, 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**, Belo Horizonte, v. 58, n. 4, p. 685-687, ago. 2006.

THILSTED, J.P.; DUBEY, J.P. *Neosporosis*-like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Davis, v. 1, n. 3, p. 205-209, Jul. 1989.

UGGLA, A.; DUBEY, J.P.; LUNDMARK, G.; OLSON, P. Encephalomyelitis and myositis in a boxer puppy due to a *Neospora*-like infection. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 32, n. 2/3, p. 225-260, Jul. 1989.

VÁCLAVEK, P.; SEDLÁK, K.; HŮRKOVÁ, L.; VODRÁZKA, P.; SEBESTA, R.; KOUDELA, B. Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 143, n. 1, p. 35-41, Jan. 2007.

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 case da região nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com neuropatias. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 22, n.1, p. 105-111, jan./jun. 2001.

WOODS, L.W.; ANDERSON, M.L.; SWIFT, P.K.; SVERLOW, K.W. Systemic neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Davis, v. 6, n. 4, p. 508-510, Oct. 1994.