

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e caninos na região de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba, Brasil

Lídio Ricardo Bezerra de Melo

2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

MONOGRAFIA

Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e caninos na região de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba, Brasil.

Lídio Ricardo Bezerra de Melo
Graduando

Prof^ª. DSc. Ana Célia Rodrigues Athayde
Orientadora

Prof^ª. DSc. Thais Ferreira Feitosa
Coorientadora

Patos PB
Maio de 2015

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

M528f Melo, Lídio Ricardo Bezerra de
 Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e caninos na região de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba, Brasil / Lídio Ricardo Bezerra de Melo. – Patos, 2015.
 39f. il. color.

 Trabalho de Conclusão de Curso (Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, 2015.

 “Orientação: Profª DSc. Ana Célia Rodrigues Athayde”
 “Coorientação: Profª DSc. Thais Ferreira Feitosa”

 Referências.

 1. Neosporose. 2. Bovinos. 3. Caninos. 4. Perdas produtivas.
 I. Título.

CDU 576.8:619

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

LÍDIO RICARDO BEZERRA DE MELO
Graduando

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

ENTREGUE EM ____/____/____

MÉDIA: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. DSc. Ana Célia Rodrigues Athayde
Orientadora

NOTA

Prof. MSc. Thais Ferreira Feitosa
Coorientadora
Examinador I

NOTA

Prof. DSc. Vinícius Longo Ribeiro Vilela
Examinador II

NOTA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
CAMPUS DE PATOS-PB
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

LÍDIO RICARDO BEZERRA DE MELO
Graduando

Monografia submetida ao curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário.

APROVADO EM ____ / ____ / ____

EXAMINADORES:

Prof^a. DSc. Ana Célia Rodrigues Athayde
Orientadora

Prof^a. MSc. Thais Ferreira Feitosa
Coorientadora
Examinador I

Prof. DSc. Vinícius Longo Ribeiro Vilela
Examinador II

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que contribuíram direta ou indiretamente para essa grande vitória. Em especial a meu pai Manoel Bezerra e a minha mãe Maria de Lourdes.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, que permitiu que tudo isso acontecesse, ao longo de minha vida, e não somente nestes anos como universitário, mas em todos os momentos está sempre comigo tornando-me sempre capaz de conquistar o que almejo.

A minha família, avó, tios, primos, cunhadas, sobrinhos, especialmente ao meu pai Manoel Bezerra que me deu muita força e apoio, a minha mãe Maria de Lourdes por sempre acreditar em mim e meus irmãos. Verdadeiros responsáveis pelos primeiros passos da minha vida estudantil e por tudo que representaram na minha formação pessoal e profissional, coparticipantes desta conquista querida.

A Thais Feitosa e Vinícius Vilela por todos os conhecimentos repassados, pela colaboração durante o curso, auxílio na elaboração dos projetos e deste trabalho. A todos os colegas do Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos, Vanessa Diniz, Gabriela Longo, João Leite, Dayana. O meu muito obrigado.

A Professora Ana Célia, minha orientadora, pela simplicidade, humildade e apoio. Aos professores e médicos veterinários que contribuíram para o meu crescimento profissional com os seus ensinamentos.

Aos amigos e colegas da Residência Universitária que muitas vezes comparavam-se a membros da família por fazerem favores imensuráveis. Em especial a Robison Lira, Gian Libânio, Leonardo Barros, Diego Vagner, Walisson Ramon, Marcos (Aurora), Pedro Vitorino, pessoas essas que sempre me aconselharam e deram-me forças para que eu sempre me dedicasse à vida acadêmica, pessoas essas que batalharam junto comigo.

A todos do RU pela atenção, alimentação oferecida todos os dias e pelo carinho de todos. Assim como os demais funcionários dos diversos setores da UFCG/CSTR/HV de Patos-PB pela boa vontade de ajudar até no mais simples dos problemas que me deparei.

A todos os colegas de curso e principalmente de turma pela paciência e troca de conhecimentos repassados em tantos momentos que se repetiram durante essa caminhada. Tornaram-se grandes amigos, pois dividíamos conselhos, segredos e desabafos independentemente dos motivos causais.

As demais pessoas que deixaram de ser aqui mencionadas, mas que tiveram importante participação na realização deste trabalho de conclusão da minha jornada no curso de Medicina Veterinária.

Os meus sinceros agradecimentos a todos àqueles que contribuíram para esta realização, por estarem presentes na minha vida, o meu muito obrigado.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	7
LISTA DE TABELAS	8
RESUMO	9
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO.....	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 Etiopatogenia.....	12
2.2 Histórico	13
2.3 Epidemiologia	14
2.4 Distribuição da doença	14
2.5 Diagnóstico.....	15
2.6 Controle e profilaxia.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Caracterização da área.....	17
3.2 Local da pesquisa e animais utilizados	18
3.3 Procedimentos e coleta de sangue	18
3.4 Questionário epidemiológico	20
3.5 Exame Sorológico para pesquisa de anticorpos IgG anti- <i>Neospora caninum</i>	20
3.6 Procedimento Ético	21
3.7 Análise Estatística	22
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
5. CONCLUSÃO.....	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31
ANEXOS	37

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Ciclo de vida do <i>Neospora caninum</i> .	13
Figura 2 - Localização do município de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba.	17
Figura 3 - Animais de propriedades leiteiras do município de Gado Bravo.	18
Figura 4 - Coleta de sangue através da venopunção da jugular externa de fêmea bovina.	19
Figura 5 - Coleta de sangue da veia cefálica de cão.	19
Figura 6 - Materiais utilizados (agulha, acoplador e tubo de ensaio Vacutainer®) para coleta de sangue nos animais.	19
Figura 7 - Centrifuga para obtenção dos soros e microtubo eppendorfs® para armazenamento das amostras sorológicas.	20
Figura 8 - Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).	21

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Frequência de anticorpos IgG anti- <i>N. caninum</i> (RIFI \geq 200) em soros de bovinos leiteiros de propriedades rurais do município de Gado Bravo, Paraíba, segundo a recíproca do título.	23
Tabela 2 - Fatores associados à frequência de bovinos soropositivos para <i>N. caninum</i> na análise univariada ($p\leq 0,20$) em propriedades rurais do município de Gado Bravo.	25
Tabela 3 - Fatores associados à frequência de cães soropositivos para <i>N. caninum</i> na análise univariada ($p\leq 0,20$) em propriedades rurais do município de Gado Bravo, Paraíba.	27

RESUMO

MELO, LÍDIO RICARDO BEZERRA. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e caninos na região de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba, Brasil.

Patos, UFCG. 2015, 39p (Monografia submetida ao Curso de Medicina Veterinária como requisito parcial para obtenção do grau de Médico Veterinário).

Dentre os protozoários de importância veterinária destaca-se o *Neospora caninum* causador de grandes perdas econômicas e produtivas em rebanhos de bovinos, sendo os cães considerados como hospedeiros definitivos. Objetivou-se com esta pesquisa realizar um estudo da frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e caninos na região de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba, Brasil. Foram utilizados soros sanguíneos de 220 bovinos de aptidão leiteira e de 20 cães, ambos provenientes de 21 propriedades rurais. O sangue dos animais após a colheita diretamente da veia jugular externa e cefálica dos bovinos e caninos, respectivamente, eram armazenados e acondicionados em isopor com gelo para posterior centrifugação e obtenção do soro. Os soros foram mantidos a -20 °C até seu processamento. Para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* foi realizada a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) no Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos e Laboratório de Doenças Transmissíveis da Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos-PB. Foram considerados positivos aqueles soros que reagiram nas diluições $\geq 1:200$ e $1:50$ para os bovinos e caninos, respectivamente, com títulos variando de $1:200$ a $1:600$ nos bovinos. A frequência de anticorpos anti- *N. caninum* encontrada foi de 12,27% (27/220) nos bovinos e 57,14% (12/21) nas propriedades rurais onde pelo menos um animal era positivo. E para os caninos estudados foi observada uma frequência de 25% (5/20). Nenhuma das variáveis estudadas foi considerada fator de risco para *N. caninum* em bovinos. Não vacinar os cães foi uma variável considerada fator de risco (*Oddsratio* = 9,33), demonstrando falta de cuidados dos proprietários com a sanidade desses animais. Portanto, podemos concluir que os bovinos leiteiros e os caninos de propriedades rurais do município de Gado Bravo estão expostos à infecção causada por *N. caninum*. Visando minimizar perdas econômicas aos pecuaristas, mais estudos precisam ser feitos para elucidar possíveis causas de infecção pelo protozoário nos rebanhos bovinos da região.

Palavras-chave: Neosporose, bovinos, caninos, perdas produtivas.

ABSTRACT

MELO, LÍDIO RICARDO BEZERRA. Frequency of anti-Neospora caninum antibodies in dairy cattle and dogs on region Gado Bravo, Agreste of Paraíba, Brazil.

Patos, UFCG. 2015, 39p. (Monograph submitted to the College of Veterinary Medicine as a partial requirement for the degree of Veterinarian).

Among protozoan with veterinary relevance, the *Neospora caninum* stands out, causer of large economics and productive loses in herd of cattle, being dogs considered as its final host. This research's goal is to realize a frequency study of antibodies anti-*Neospora caninum* in dairy cattle and canines on Gado Bravo region, Agreste State of Paraíba, Brazil. There were utilized 220 cattle's serum, mostly of dairy cows and, and 20 from dogs, both of them came form 21 rural properties. The animal's blood, after collected directly from the external cephalic jugular of cattle and canines, was respectively stored on a box of polystyrene with ice for posterior centrifugation and serum obtainment. The serum have been stored at -20°C until its process. For detecting antibodies IgG anti-*N. caninum* was realized an Indirect immunofluorescence reaction (RIFI) on Lab of Parasite Illness of Domestic Animals and Transmitted Illness Lab of Federal University of Campina Grande, Campus Patos-PB. The serum witch reacted on dilutions $\geq 1:200$ e $1:50$, for canines and cattle respectively, has been considered positive, with titles variation from 1:200 to 1:600 on cattle. The antibodies frequency anti-*N. caninum* found was 12,27% (27/220) on cattle, 57,14% (12/21) on rural properties where at least one animal was positive, and for studied canines was observed a frequency of 25% (5/20). None of studied variables were considered as a risk factor for *N. caninum* on cattle. Do not inoculate dogs has been considered a variable as risk factor (*Oddsratio*= 9,33) witch demonstrate proprietor's lack of care with those animal's sanity. Concluded that dairy cattle and canines on rural properties of Gado Bravo county area are exposed to infection caused by *N. caninum*. Aiming minimize economic loses to cattle breeders, more studies must be done to elucidate possible infection causes by protozoan on region cattle.

Key words: Neosporose, cattle, canines, productive loses.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, as cadeias produtivas da carne e leite são dois segmentos lucrativos desenvolvidos pelo segundo maior rebanho bovino do mundo com cerca de 200 milhões de cabeças (BRASIL, 2013).

É de grande relevância o conhecimento da sanidade dos rebanhos, pois as doenças consideradas de importância veterinária podem causar várias perdas produtivas, desde problemas na reprodução até a diminuição da produção leiteira. Nesse contexto as doenças parasitárias causadas por protozoários merecem destaque primordial, sendo responsáveis por várias patologias, a exemplo da tricomonose, toxoplasmose e neosporose.

A neosporose é uma doença causada pelo protozoário coccídeo do filo Apicomplexa descoberto por Dubey et al. (1988) como *Neospora caninum*. Os hospedeiros definitivos são alguns canídeos silvestres e dentre os animais de companhia o cão é o transmissor. Neste animal, o *N. caninum* acarreta um quadro clínico comprometedor, causando doença neuromuscular severa, afetando principalmente o sistema nervoso central. Esse parasita contribui com grandes perdas econômicas especificamente na criação de bovinos, tendo como principal consequência o aborto. Causa também sintomatologia clínica em bezerros que podem adquirir congenitamente a doença ou após o nascimento através do colostro da vaca infectada.

Devido à importância dos cães na transmissão da neosporose para os bovinos, principalmente, e para outros animais domésticos e aos escassos estudos sobre *N. caninum* em bovinos no nordeste brasileiro, fez-se necessário um estudo que mostrasse a situação soropidemiológica dos bovinos leiteiros e dos cães criados nas propriedades rurais do município de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba. Diante disto, necessita-se esclarecer os fatores de risco que favoreçam o aparecimento dessa doença em bovinos, para avaliação da exposição e do risco de infecção destes animais, servindo como indicador, já que ainda não se tem nenhuma pesquisa na região.

Objetivou-se com esse estudo realizar inquérito soropidemiológico para infecções por *N. caninum* em bovinos leiteiros e cães de propriedades rurais no município de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Etiopatogenia

O protozoário *N. caninum* pertence ao filo apicomplexa sendo responsável por infectar uma grande variedade de espécies animais domésticos e silvestres. É um protozoário intracelular obrigatório e apresenta três estágios infecciosos: taquizoítas, cistos teciduais e oocistos (figura 1). Os taquizoítas e cistos teciduais são encontrados nos hospedeiros intermediários, sendo observados principalmente no sistema nervoso (GONDIM, 2006). Os cães, coiotes e dingos são hospedeiros definitivos deste protozoário, sendo responsáveis pela eliminação dos oocistos (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007; KING et al., 2010). Oocistos não esporulados de *N. caninum* são excretados pelas fezes de cães infectados por cinco ou mais dias após ingestão de tecidos de animais contaminados. Após a excreção, a esporulação dos oocistos ocorre dentro de 24 horas, dependendo das condições do ambiente. A quantidade de oocistos excretados, período de excreção e o período pré-patente variam e se encontram entre cinco e 30 dias (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Os hospedeiros definitivos são infectados pela ingestão de tecidos contendo bradizoítos e herbívoros, provavelmente, tornam-se infectados pela ingestão de alimentos ou água contaminados por oocistos. Devido à sua estreita relação com *T.gondii*, presume-se que a resistência de oocistos de *N. caninum* ao ambiente seja semelhante aos oocistos de *Toxoplasma gondii* (DUBEY, 2004).

A neosporose é a doença causada pelo protozoário *N. caninum*, sendo muito importante para bovinos devido causar aborto e sintomas clínicos em bezerros, ocasionando prejuízos econômicos. A patogenicidade do *N. caninum* é caracterizada pela capacidade de produzir lesões necróticas visíveis em poucos dias e causar morte celular pela atividade de replicação dos taquizoítas. Isto explica o quadro de doença neuromuscular severa em cães, bovinos e até outros hospedeiros destruindo grande número de células neurais incluindo as dos nervos espinhais, com reflexo na condutibilidade das células afetadas (MAYHEW et al., 1991; DUBEY; DE LAHUNTA, 1993). Bjerkas et al. (1984) foi quem primeiro observou a doença em cães com encefalomielite e miosite na Noruega. Posteriormente Dubey et al. (1988) descreveram *N. caninum* como um novo gênero e espécie.

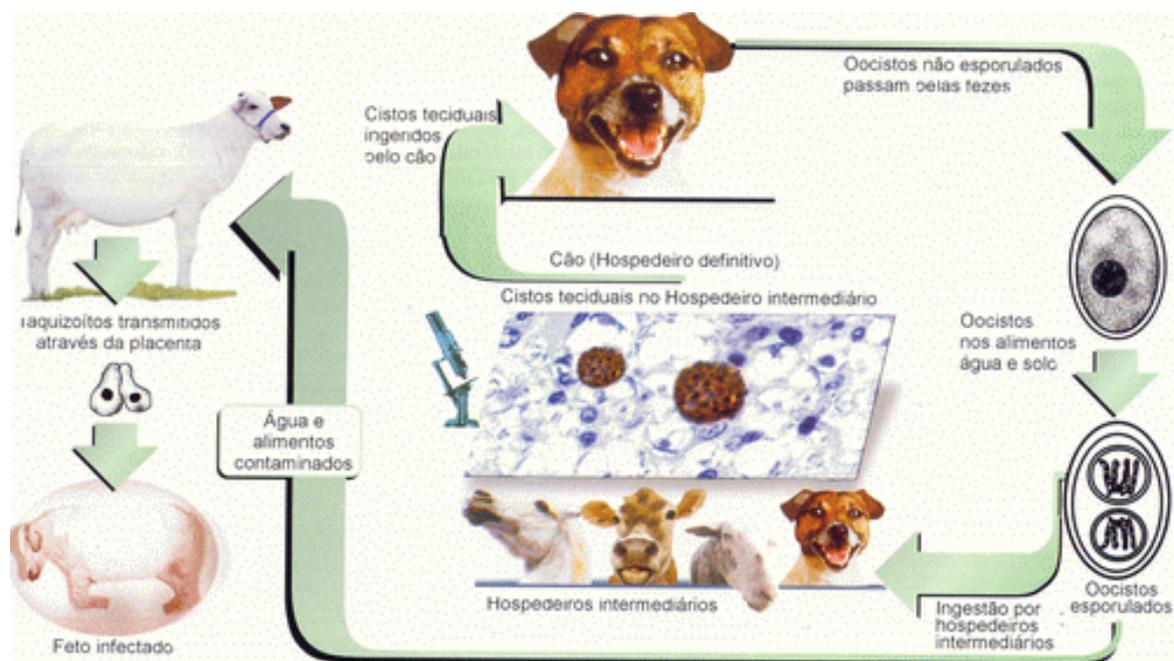


Figura 1 - Ciclo de vida do *Neospora caninum*.

Fonte: GIRALDI, 2001.

2.2 Histórico

Um surto de abortamento por neosporose em um rebanho bovino foi relatado por Thilsted e Dubey (1989), através da identificação de *N. caninum* pelo teste Imunohistoquímico (IHQ) em tecido cerebral dos fetos. McAllister et al. (1998) identificaram os cães (*Canis familiaris*), como hospedeiros definitivos de *N. caninum* quando diagnosticaram oocistos nas fezes dos cães alimentados com tecido de camundongos contendo cistos teciduais do protozoário. Observou-se que também excretaram oocistos quando foram alimentados com placenta de vacas soropositivas (DIJKSTRA et al., 2001) e com tecido de bezerros infectados naturalmente (GONDIM; GAO; MCALLISTER, 2002).

Foi observada infecção congênita ou trans-placentária em bovinos (DUBEY et al., 1992; BARR et al., 1994) e em cães infectados experimentalmente (DUBEY; LINDSAY 1989; DUBEY; KOESTNER; PIPER, 1990; COLE et al., 1995). Embora fossem relatados anticorpos para *N. caninum*, o parasita não tem sido demonstrado em tecidos humanos. Assim, o potencial zoonótico é incerto (TRANAS et al., 1999; LOBATO et al., 2006; BENETTI et al., 2009).

2.3 Epidemiologia

A neosporose é uma doença que emergiu nos últimos anos e tem sido extensivamente estudada, por causar problemas neuromusculares em cães e problemas reprodutivos em bovinos. *N. caninum* é um coccídeo com uma grande variedade de hospedeiros. Em geral, sua estrutura e ciclo de vida são muito semelhantes ao *T. gondii*, com duas diferenças importantes: a neosporose é principalmente uma doença de bovinos, canídeos são hospedeiros definitivos de *N. caninum*; a toxoplasmose é primariamente uma doença dos seres humanos, ovelhas e cabras, e felídeos são os únicos hospedeiros definitivos de *T. gondii*. A fim de compreender a epidemiologia do *N. caninum*, é importante identificar sua variedade de hospedeiros e distribuição geográfica. Ao contrário de *T. gondii*, *N. caninum* viável é difícil de isolar (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Devido aos inúmeros prejuízos econômicos causados na Suíça, desde 2001 esta doença tem sido considerada como de notificação obrigatória (HASLER et al., 2006). Os animais podem se infectar durante a gestação, por passagem transplacentária (vertical), ou após o nascimento pela ingestão de comida ou água contaminada com oocistos (horizontal). A infecção congênita é considerada a principal via de transmissão e manutenção do *N. caninum* nos rebanhos bovinos (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Várias literaturas sobre estudos epidemiológicos em rebanhos bovinos afirmam que a presença de cães é um fator de risco para a infecção por *N. caninum* (PARÉ et al., 1998; GONZÁLEZ-WARLETA et al., 2007; VANLEEUEWEN et al., 2010).

2.4 Distribuição da doença

A doença já foi descrita em vários países da América Latina como Uruguai, Brasil, Argentina, Chile, Paraguai, Peru sendo considerada a principal causadora de perdas reprodutivas (MOORE, 2005).

Foram feitos alguns estudos sobre a ocorrência de bovinos com anticorpos anti-*N. caninum* nas diferentes regiões do Brasil, utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Dentre as regiões pesquisadas o número de animais positivos foi bastante variado com uma frequência de 14,9 % a 91,2% (OSHIRO et al., 2007; GUEDES et al.; MINERVINO et al., 2008; BENETTI et al., 2009).

Oshiro et al. (2007) obtiveram uma prevalência de 14,9% e 69,8% para anticorpos anti-*N. caninum* em animais e propriedades estudadas, respectivamente, em bovinos no

Mato Grosso do Sul, usando a RIFI. Já Moura et al. (2012) encontraram 13,2% e 40% de amostras soropositivas para *N. caninum* em animais e propriedades, respectivamente, em bovinos de corte na microrregião do estado do Paraná, utilizando a RIFI. Em Minas Gerais Melo et al. (2001) usando o teste de ELISA determinaram frequências de infecção por *N. caninum* em dois sistemas de produção de leite em rebanhos bovinos naturalmente infectados. Dos 18 rebanhos estudados, oito rebanhos produtores de leite A/B, a frequência de soropositividade variou de zero a 72,73%. Nos outros dez rebanhos produtores de leite tipo C, a frequência de soropositividade variou de 3,70% a 25%.

Na cidade do Rio de Janeiro, RJ Balthazar et al. (2013) detectaram a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em 8,46% dos cães estudados através da RIFI. Esses autores recomendaram a inclusão do agente etiológico no diagnóstico diferencial entre as doenças neurológicas em cães atendidos em clínicas veterinárias. Coelho et al (2013) no município de Andralina, SP identificaram uma frequência de 3, 57% dos cães reagentes para *N. caninum*, todos eram de área rural. Em três microrregiões do estado Maranhense Teixeira et al. (2008), usando a RIFI para determinar a prevalência de anticorpos IgG anti-*N.caninum* em bovinos e cães de propriedades rurais verificaram 50,74% e 62,37%, respectivamente, nas duas espécies animais analisadas. Amaral et al. (2012) estudaram a ocorrência de *N. caninum* em vacas e fetos de matadouros nos Estados de Pernambuco e Alagoas, obtendo como resultados sorológicos 12,6% e 16,7%, respectivamente, utilizando a RIFI. Os autores afirmaram que o agente *N. caninum* deve ser incluído no estudo das causas de aborto nas regiões estudadas.

Já na Paraíba, Azevedo et al. (2005) detectaram a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em 8, 4% dos cães estudados na cidade de Campina Grande. Dantas et al (2014) observaram 7,5 % de infecção pelo protozoário em cães domiciliados no município de Patos, PB e com base na análise de fatores de risco recomendaram evitar o acesso dos animais a açudes. Em ambos os estudos utilizou-se como método sorológico a RIFI.

2.5 Diagnóstico

Para o diagnóstico da neosporose existem métodos diretos (PCR, bioensaio e imunohistoquímica) que visam à detecção direta dos parasitas em amostras biológicas e os métodos indiretos (teste do corante Sabin-Feldman, testes de aglutinação, ELISA e RIFI) baseados na detecção de anticorpos contra o agente (BJÖRKAN et al., 1999; HEMPHILL et al., 2000; PETERS et al., 2001).

A RIFI é considerada como padrão-ouro, ou seja, um teste de referência para a calibração e comparação com outros testes (BJÖRKAN; UGGLA, 1999; HEMPHILL et al., 2000). Esta técnica detecta antígenos de superfícies específicos, razão pelas quais reações cruzadas são pouco frequentes (TREES et al., 1993).

2.6 Controle e profilaxia

Ainda não existem vacinas eficazes para prevenir abortos por *N. caninum* em bovinos ou a eliminação de oocistos pelos cães, apesar de estarem sendo testadas em várias partes do mundo (CARDOSO, 2010; FARIAS, 2007).

Para o controle da neosporose deve-se impedir o contato entre cães e bovinos, diminuindo a população de cães errantes evitando o acesso dos cães aos alimentos e fontes de água dos bovinos; evitar que os cães se alimentem de placentas, fetos abortados, bezerros mortos. A carne oferecida aos cães deve ser cozida ou utilizar ração. As vacas sorologicamente infectadas devem ser eliminadas do rebanho para impedir a transmissão vertical, ou seja, transmissão da infecção para o feto diminuindo também as chances de aborto. É ideal saber a procedência dos animais que forem introduzidos no rebanho preferencialmente mediante provas sorológicas (CARDOSO, 2010).

Não existe tratamento para infecção por *N. caninum* em bovinos que os torne livres da infecção. Nos cães quando diagnosticada a doença é recomendado o uso isolado ou associado de clindamicina, sulfonamidas potencializadas e pirimetamina de duas a nove semanas além de tratamento de apoio (FARIAS, 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área

O Estado da Paraíba possui uma população estimada de 3.943.885 habitantes (IBGE, 2014), distribuídos em 223 municípios e quatro mesorregiões, a saber: Zona da Mata, Agreste, Borborema e Sertão.

A mesorregião do Agreste apresenta um clima semiárido, com uma estação chuvosa de abril a julho, na qual ocorre mais de 90% das chuvas e uma estação seca. A temperatura média anual é de 23,5°C (mínima de 18°C e máxima de 29°C), havendo pouca variação durante o ano, essa mesorregião compreende a zona de transição entre o litoral úmido e o sertão semiárido, apresenta vegetação característica do bioma Caatinga (MELO et al., 2013; VILELA et al., 2008).

De acordo com o último censo agropecuário o Estado da Paraíba possui um total de 92.024 estabelecimentos pecuários criadores de bovinos (IBGE, 2006). Em 2013 o Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA) registrou um rebanho efetivo de 1.048.824 animais, distribuídos pelas mesorregiões Zona da Mata, 89. 547; Agreste, 407. 560; Borborema, 153. 230 e Sertão, 398. 487. O município de Gado Bravo (figura 2), Agreste do Estado, detém uma população de 7.518 bovinos representando significativa fonte de renda na produção leiteira (2.400 litros/dia) (IBGE, 2013).



Figura 2 - Localização do município de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba.

Fonte: IBGE, 2013.

3.2 Local da pesquisa e animais utilizados

A técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para *N. caninum* foi realizada no Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos e Laboratório de Doenças Transmissíveis da Universidade Federal de Campina Grande - UFCG, Campus de Patos-PB.

Foram utilizados 220 bovinos e 20 cães provenientes de fazendas que continham vacas com finalidade de produção leiteira (figura 3) no município de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba.



Figura 3 - Animais de propriedades leiteiras do município de Gado Bravo.

Fonte: Arquivo pessoal, 2014.

3.3 Procedimentos e coleta de sangue

As coletas nos bovinos (figura 4) (10 mL) e cães (figura 5) (cinco mL) foram realizadas através da venopunção da jugular externa e da cefálica, respectivamente, no período de março a abril de 2014. O sangue foi coletado, após prévia antissepsia do local com álcool iodado a 3%, em tubos de ensaio Vacutainer® (figura 6), sem anticoagulante, individuais, devidamente esterilizados, identificados e acondicionados em isopor com gelo para transporte.

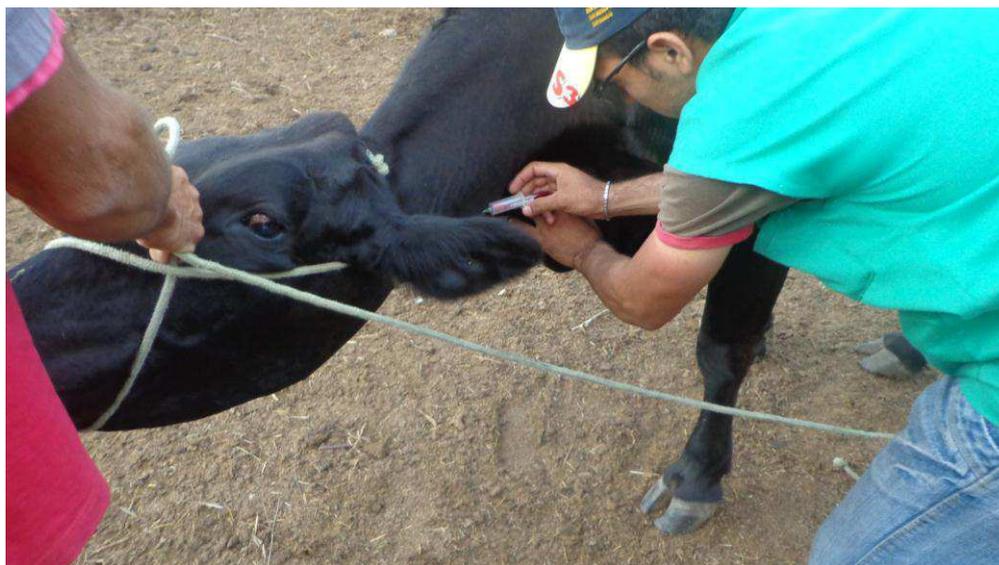


Figura 4 - Coleta de sangue através da venopunção da jugular externa de fêmea bovina.

Fonte: Arquivo pessoal, 2014.



Figura 5 – Coleta de sangue da veia cefálica de cão.

Fonte: Arquivo pessoal, 2014.



Figura 6 - Materiais utilizados (agulha, acoplador e tubo de ensaio Vacutainer®) para coleta de sangue nos animais.

Fonte: SOCIEDADE, 2005.

As amostras foram centrifugadas a 2000 rpm durante cinco minutos para obtenção do soro, que foi aliqotado em microtubos de polipropileno (eppendorfs®) de 1,5 mL. Os soros foram mantidos a -20 °C até seu processamento (figura 7).



Figura 7 - Centrífuga para obtenção dos soros e microtúbos eppendorfs® para armazenamento das amostras sorológicas.

Fonte: FERNANDES, 2010.

3.4 Questionário epidemiológico

Paralelamente às coletas de sangue dos animais, foram aplicados, um questionário investigativo em cada propriedade e uma ficha clínica individual, com o objetivo de obter informações a respeito das propriedades sobre as condições de manejo sanitário, alimentação, reprodução, ambiente, bem como, abortamentos, sexo, idade de cada animal e presença de cães na propriedade (Anexo 1).

3.5 Exame Sorológico para pesquisa de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum*

As lâminas fixadas com taquizoítas foram fornecidas pela Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Foi utilizada a RIFI (figura 8) para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum*, usando amostra Nc-1 de taquizoítas de *N. caninum* fixados em lâmina (DUBEY et al., 1988). O ponto de corte utilizado foi de 1: 200 (AMARAL et al., 2012) e 1:50 (AZEVEDO et al., 2005) para bovinos e caninos respectivamente.

A diluição dos soros foi realizada em microplaca de 96 poços, utilizando 1µL do soro a ser testado e 199µL de Solução Salina Tamponada (PBS), pH 7,2 para o ponto de

corde 1:200. Assim como utilizou-se 4 μ L do soro a ser testado e 196 μ L de Solução Salina Tamponada (PBS), pH 7,2 para o ponto de corte de 1:50. Após a diluição, foram colocados 30 μ L sobre lâmina previamente fixada com taquizoítas e incubados na estufa (37°C por 30 minutos). Após a incubação, as lâminas foram submetidas a três lavagens por imersão em PBS, sendo 5 minutos cada lavagem. Após secagem, a lâmina era recoberta por 30 μ L de conjugado anti-IgG de bovino e de canino (molécula inteira, SIGMA, St. Louis, MO, EUA). O material foi incubado por mais 30 minutos a 37°C em estufa. Após as três lavagens e secagem, as lâminas eram avaliadas na microscopia com emissão de luz ultravioleta. Foram considerados positivos, aqueles soros que reagiram nas diluições \geq 1:200 para bovinos e \geq 1:50 para cães. Utilizaram-se controles positivos e negativos.

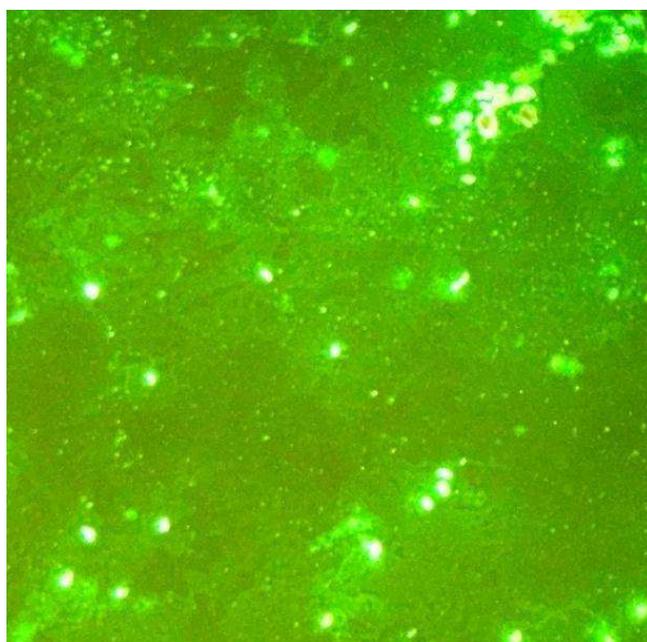


Figura 8 - Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).

Fonte: FEITOSA, 2012.

3.6 Procedimento Ético

O presente trabalho foi encaminhado ao Comitê de Ética do Centro de Saúde e Tecnologia Rural – CSTR/UFCG, Campus de Patos e obteve autorização de execução sob nº de registro 132/2014, respeitando o disposto na Lei Federal 11.794 de 8 de outubro de 2008 e as demais normas aplicáveis à utilização de animais para o ensino e pesquisa, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA. Após esclarecimento acerca do trabalho foi apresentado aos proprietários

envolvidos na pesquisa um Termo de consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 2) para uso dos animais na pesquisa.

3.7 Análise Estatística

Para a análise de fatores de risco associados com a frequência de soropositividade para anticorpos anti-*N. caninum* nos bovinos e caninos, foram utilizados os dados coletados nos questionários epidemiológicos. A análise de fatores de risco foi conduzida em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Na análise univariável, cada variável independente foi cruzada com a variável dependente (soropositividade), e aquelas que apresentaram valor de $p \leq 0,20$ pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (ZAR, 1999) foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se regressão logística múltipla (HOSMER; LEMESHOW, 2000). O nível de significância adotado na análise múltipla foi de 5%. Todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 *for Windows*.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se uma frequência de 12,27% (27/220) dos animais soropositivos, indicando que em algum momento da vida, esses animais tiveram contato com o parasito. A frequência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* encontrada foi relativamente baixa quando comparada a outros estudos nas diferentes regiões do Brasil. Dentre as regiões pesquisadas o número de animais positivos foi bastante variado com uma frequência de 14,9% a 91,2% (OSHIRO et al., 2007; GUEDES et al.; MINERVINO et al., 2008; BENETTI et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2010).

Utilizando a RIFI, altos índices foram encontrados no estudo de Guedes et al. (2008) que constataram uma prevalência em bovinos leiteiros de 91,7% na microrregião de Lavras, Minas Gerais. E Teixeira et al. (2010), em três microrregiões do estado Maranhense verificaram 50,74% de prevalência em bovinos de propriedades rurais. No entanto, compara-se com o estudo feito por Oshiro et al. (2007) quando obtiveram uma prevalência de 14,9% em bovinos no Mato Grosso do Sul.

Das amostras positivas verificou-se que os títulos de anticorpos variaram de 1:200 a 1:1600 (tabela 1).

Tabela 1 - Frequência de anticorpos IgG anti- *N.caninum* (RIFI \geq 200) em soros de bovinos leiteiros de propriedades rurais do município de Gado Bravo, Paraíba, segundo a recíproca do título.

Recíproca do Título	Positivos (N)	Frequência	
		Absoluta	Relativa
200	13	5,91%	48,15%
400	8	3,64%	29,63%
800	5	2,27%	18,52%
1600	1	0,45%	3,7%
Total	27	12,27% (27/220)	100% (27/27)

N= Número de amostras

Com relação aos títulos de anticorpos, observou-se uma maior frequência de soros bovinos que reagiram nas diluições entre 1:200 e 1:400 (tabela 1) concordando com os resultados descritos por Teixeira et al. (2010), entretanto, diferindo dos valores citados por Aguiar et al. (2006) no Estado de Rondônia utilizando também a RIFI que encontraram maior taxa de prevalência dos títulos entre 1:50 e 1:800.

Dubey (1999), Lindsay, Upton e Dubey (1999) comprovaram que títulos de anticorpos IgG igual ou superior a 1:800 são sugestivos de neosporose clínica, entretanto, neste estudo nos bovinos detectados com títulos \geq 1:800 não foi observado histórico de abortamento (tabela 2) já que esse achado pode ser considerado um sinal clínico pra a infecção pelo protozoário.

Em 57,14% (12) das 21 propriedades estudadas pelo menos um bovino foi considerado positivo para anticorpos IgG anti- *Neospora caninum*. A frequência de 12,27% encontrada nos bovinos e de 57,14% nas propriedades rurais examinadas se assemelha com o estudo feito por Oshiro et al. (2007) quando obtiveram uma prevalência de 14,9% e 69,8% em animais e propriedades estudadas, respectivamente, em bovinos no Mato Grosso do Sul. Assim como Moura et al. (2012) encontraram 13,2% e 40% de amostras soropositivas para *N. caninum* em animais e propriedades, respectivamente, em bovinos de corte na microrregião do estado do Paraná, também utilizando a RIFI. Ambos os trabalhos utilizando a RIFI.

Em Minas Gerais Melo et al. (2001) usando o teste de ELISA determinaram frequências de infecção por *N. caninum* em dois sistemas de produção de leite em rebanhos bovinos naturalmente infectados, e dos 18 rebanhos estudados em oito produtores de leite, a frequência de soropositividade variou de zero a 72,73%. Nos outros dez rebanhos produtores de leite, a frequência variou de 3,7% a 25%.

Com relação a distribuição e o número de fatores de risco analisados na sorologia (tabela 2), não foram observadas associações significativas ($p \leq 0.20$) entre as variáveis e a infecção por *N. caninum* nos bovinos.

Tabela 2 - Fatores associados à frequência de bovinos soropositivos para *N. caninum* na análise univariada ($p \leq 0,20$) em propriedades rurais do município de Gado Bravo.

Variável/categoria	N° total de bovinos	N° bovinos soropositivos (%)	P
Sexo			
Macho	1	0 (0,0)	
Fêmea	219	27 (12,3)	1,000
Idade (meses)			
2-12	12	1 (8,3)	
13-24	5	0 (0,0)	
25-48	43	3 (7,0)	0,449
>48	160	23 (14,4)	
Tipo de alimentação			
Volumoso	6	1 (16,7)	
Concentrado e volumoso	214	26 (12,1)	0,549
Tipo de criação			
Intensiva	3	0 (0,0)	
Semi-intensiva	217	27 (12,4)	1,000
Alguma vacina			
Não	1	0 (0,0)	
Sim	219	27 (12,3)	1,000
Presença de silvestres			
Não	30	3 (10)	
Sim	190	24 (12,6)	1,000
Abortamentos na propriedade			
Não	163	17 (10,4)	
Sim	57	10 (17,5)	0,240
Repetição de cio			
Não	207	26 (15,5)	
Sim	13	1 (7,7)	1,000
Abortamento			
Não	216	27 (12,5)	
Sim	4	0 (0,0)	1,000
Limpeza do ambiente			
Semanal	24	2 (8,3)	
Mensal	196	25 (12,8)	0,746
Contato com açude			
Não	7	1 (14,3)	
Sim	213	26 (12,2)	1,000

Verificou-se maior frequência de bovinos soropositivos 14,4% (23/160) com idade superior a 48 meses, quando comparados com outras faixas etárias. Apesar de não ter sido significativa nesse estudo a variável idade maior que 48 meses foi considerada fator de risco para infecção por *N. caninum* no estudo realizado por Dubey, Schares, Ortega-Mora

(2007) e Corbellini et al., (2006). A idade avançada em vacas leiteiras também foi um fator predisponente à infecção em um estudo feito por Melo et al. (2001), quando avaliou a frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite em Minas Gerais, afirmando que quanto mais velho for o animal, maiores as chances de infecção pelo protozoário.

Observou-se a presença de cães em todas as propriedades estudadas, sendo este um importante fator de risco na transmissão do agente. Além disso, Dubey, Schares e Ortega-Mora (2007), afirmam que outros fatores aumentam o risco de neosporose no rebanho como tamanho e densidade do rebanho e, principalmente, práticas de biossegurança incorretas.

A variável abortamento na propriedade também se destacou representando 17,5% (10/57) dos animais soropositivos, quando comparado com as propriedades sem a presença dessa variável. Embora os abortamentos nas propriedades não tenham sido estatisticamente significantes, outros autores como Guedes et al. (2008), Amaral et al. (2012) observaram em seus estudos que bovinos fêmeas apresentam maiores probabilidades de soropositividade para *N. caninum* quando se observa aborto na propriedade. Entretanto, a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em soros bovinos não confirma o diagnóstico de neosporose, mas pode auxiliar no esclarecimento da causa de abortos em animais sorologicamente negativos para outras enfermidades abortivas como brucelose e leptospirose (DUBEY et al., 2006; DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

No estudo realizado nos cães observa-se a distribuição e o número de variáveis na tabela 3.

Tabela 3 - Fatores associados à frequência de cães soropositivos para *N. caninum* na análise univariada ($p \leq 0,20$) em propriedades rurais do município de Gado Bravo, Paraíba.

Variável/categoria	Nº total de cães	Nº cães soropositivos (%)	P
Sexo			
Macho	13	3 (23,1)	1,000
Fêmea	7	2 (28,6)	
Idade (meses)			
2-12	2	0 (0,0)	0,792
13-24	3	1 (33,3)	
25-48	6	2 (33,3)	
>48	9	2 (22,2)	
Raça			
SRD	19	5 (26,3)	1,000
Outra	1	0 (0,0)	
Ambiente			
Domiciliado	1	0 (0,0)	1,000
Semi-domiciliado	19	5 (26,3)	
Alguma vacina*			
Não	6	4 (66,7)	0,014
Sim	14	1 (7,1)	
Outros cães			
Não	3	1 (33,3)	1,000
Sim	17	4 (23,5)	
Contato com açude			
Não	1	0 (0,0)	1,000
Sim	19	5 (26,3)	
Aquisição			
Jovem	16	3 (18,8)	0,249
Adulto	4	2 (50)	
Procedência			
Mesma cidade	17	5 (29,4)	0,539
Outra	3	0 (0,0)	

*As variáveis foram estatisticamente significantes $P \leq 0.20$ e submetidas ao modelo da regressão logística.

A frequência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em cães foi de 25% (5/20) do total estudado nas propriedades rurais do município de Gado Bravo. Foram coletadas amostras sanguíneas de cães em 20 propriedades. Das 12 propriedades soropositivas para *Neospora caninum* em bovinos 41,66% (5/12) apresentaram soropositividade também em cães. A frequência nesse estudo é considerada baixa quando se compara às prevalências de 62,37% e 67,6% encontradas por Teixeira et al. (2008) em três microrregiões do estado Maranhense e Benetti et al. (2009) em Cuiabá, MT, respectivamente, em cães de propriedades rurais utilizando a RIFI. Considera-se alta quando comparada à prevalência

encontrada por Azevedo et al. (2005), Balthazar et al. (2013) e Dantas et al. (2014) que detectaram a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em 8,4%, 8,46%, 7,5% dos cães estudados através da RIFI nas cidades de Campina Grande, PB, Rio de Janeiro, RJ e Patos, PB, respectivamente, utilizando um número maior de animais.

Vários autores afirmam que cães oriundos de áreas rurais ou com contato frequente com esse meio ambiente apresentam maiores frequências de anticorpos quando comparadas às frequências encontradas em cães de áreas urbanas (AZEVEDO et al., 2005; AGUIAR et al., 2006; MELO et al., 2012; COELHO et al., 2013; BALTHAZAR et al., 2013; DANTAS et al., 2014).

De acordo com o questionário epidemiológico todos os cães utilizados na pesquisa eram alimentados com restos de comida e ingeriam carne crua. Indicando que a dieta pode influenciar na soropositividade dos animais e tecidos de qualquer animal que contenham cistos podem ser uma fonte de infecção para cães. (COLLANTES-FERNANDEZ et al., 2008; DUBEY; SCHARES, 2011).

A regressão final logística $Odds\ ratio = 9,33$ (IC 95%=1,30-67,03) e valor de $P=0,014$, mostrou que não vacinar os cães é um fator de risco para infecção por *N. caninum*, sugerindo falta de cuidados com a sanidade desses animais. O hábito de vacinar é uma característica que reflete maior cuidado dos proprietários com os animais, da mesma forma que os animais que recebem atendimento ambulatorial de acordo com Dantas et al. (2014) tem uma baixa frequência de soropositividade para *N. caninum*.

As demais variáveis não foram estatisticamente significativas (tabela 3), mesmo assim, verificou-se que todos os cães soropositivos tinham contato com açude e viviam em ambiente semi-domiciliado. Entretanto, Dantas et al. (2014) em Patos, PB observaram que os cães que possuem acesso a açudes apresentam 5,67 vezes mais chances de serem soropositivos para esse protozoário. A maior predisposição à infecção pelo protozoário pode ser justificada pelo acesso irrestrito dos cães ao meio ambiente (AZEVEDO et al., 2005; DANTAS et al., 2014). De acordo com Genari (2004), as fontes de infecção para os cães como ingestão de placenta e fetos contaminados, bem como a possibilidade de caça e de ingestão de cistos teciduais em possíveis hospedeiros intermediários, tornam-se importantes na epidemiologia e manutenção do *N. caninum* no ambiente rural.

Para às variáveis sexo e idade não houve associação estatística com relação a ocorrência de soropositividade nos cães. Esses resultados têm sido observados em vários outros trabalhos (AZEVEDO et al. 2005; BRESCIANI et al., 2007; MELO et al., 2012;

COELHO et al., 2013; DANTAS et al., 2014). Entretanto, outras literaturas observaram estatisticamente que cães a partir de três anos de idade têm maior risco de serem soropositivos para *N. caninum*, quando comparados com animais de idade inferior (AGUIAR et al., 2006; CUNHA-FILHO et al., 2008; BALTHAZAR et al., 2013).

5. CONCLUSÃO

Portanto, podemos concluir que os bovinos leiteiros e os caninos de propriedades rurais do município de Gado Bravo estão expostos à infecção causada por *Neospora caninum*. Visando minimizar perdas econômicas aos pecuaristas, mais estudos precisam ser feitos para elucidar possíveis causas de infecção pelo protozoário nos rebanhos bovinos da região.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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**, v. 142, n.1-2, p.71-77, 2006.

AMARAL, R. L. G. et al. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32(10): 963-966, outubro 2012.

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**, v. 79, n.1, p. 51- 56, 2005.

BALTHAZAR L. M. C. et al. Cães sororreagentes a *Neospora caninum* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) atendidos em uma clínica veterinária na cidade do Rio de Janeiro, RJ. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35 (Supl.2): 48-51, 2013.

BARR, B. C. et al. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, 207–215. 1994.

BENETTI, A. H. et al. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 18, p. 29-33. Suplemento 1, 2009.

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

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

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Pecuária. Disponível em:<
<http://www.agricultura.gov.br/animal/especies/bovinos-e-bubalinos>>. Acessado em 15 de abril de 2015.

BRESCIANI, K.D. S. et al. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em cães de Araçatuba-SP. **ARS VETERINÁRIA**, v. 23, p. 40-46, 2007.

CARDOSO, J. M. S. **Aspectos epidemiológicos da infecção por *Neospora caninum* em bovinos leiteiros da região do vale do Paraíba Paulista**. Tese (Doutorado) Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina veterinária Preventiva e Saúde Animal. São Paulo, 2010.

COELHO, W. M. D. et al. Detection of co-infections by *Leishmania (L.) chagasi*, *Trypanosoma evansi*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs. **ARS VETERINÁRIA**, v. 29, p. 169-174, 2013.

COLLANTES-FERNÁNDEZ, E. et al. Seroprevalence and risk factors associated with *Neospora caninum* infection in different dog populations in Spain. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 152, n.1. p. 148-151, 2008.

COLE, R. A. et al. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **Journal Parasitology**, v. 81, p. 208–211, 1995.

CORBELLINI, L. G. et al. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 74, n. 2-3, p. 130-141, 2006.

CUNHA-FILHO, N. A. et al. Fatores de risco e prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em cães urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p. 301-306, 2008.

DANTAS, S. B. A. et al. Fatores de risco para a ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães domiciliados no Nordeste do Brasil. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 35, n. 2, p. 875-882, mar./abr. 2014.

DIJKSTRA, T. et al. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 2, p. 209-215, 2001.

DUBEY, J. P. et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 192, p. 1269–1285, 1988.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, 50,1578–1579. 1989.

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

DUBEY, J. P. et al. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **J. American Veterinary Medical Association**, v. 201, p. 709–713, 1992.

DUBEY, J. P.; DE LAHUNTA, A. Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. **Applied Parasitology**, v.34, p. 229-233, 1993.

DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.8, n.4. p. 349-67, 1999.

DUBEY, J. P. Review Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126 (1-2), p. 57-72. 2004.

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

DUBEY, J. P.; Schares, G. Neosporosis in animals – the last five years. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 180, n. 1, p. 90-108, 2011.

FARIAS, N. A. Neosporose. In: RIET- CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e equídeos**. Pallotti, 3. ed. Santa Maria, v. 1, p. 678-690, 2007.

GENNARI, S. M. ***Neospora caninum* no Brasil**: situação atual da pesquisa. XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária e I Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses, Ouro Preto, MG, 2004.

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

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

GONZÁLEZ-WARLETA, M. et al. Epidemiology of neosporosis in dairy cattle in Galicia (NW Spain). **Parasitology Research**, Heidelberg, v. 102, n. 2, p. 243-249, 2007.

GUEDES, M. H. P. et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 4, p. 189-194, 2008.

HASLER, B. et al. Simulating the impact of four control strategies on the population dynamics of *Neospora caninum* infection in Swiss dairy cattle. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 77, p. 254-283, 2006.

HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. New York: John Wiley & Sons, 2000, 375 p.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Sistema IBGE de Recuperação de Dados – SIDRA. 2006. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo2.asp?ti=1&tf=99999&e=c&p=CA&v=2057&z=t&o=24>>. Acessado em: 15 de abril de 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Sistema IBGE de Recuperação de Dados – SIDRA. 2013. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/acervo/acervo9.asp?e=c&p=PP&z=t&o=24>>. Acessado em: 15 de abril de 2015.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Estados@-Paraíba. 2014. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=pb>. Acessado em 15 de abril de 2015.

KING, J. S. et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 8, p. 945-950, 2010.

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

LOBATO, J. et al. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. **Vacina Clin Immunol.**, v.13 (1) p.84-9, Jan. 2006.

MAYHEW, I. G. et al. Treatment of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. **Journal Small Animal Practice**, v.32, p. 609-612, 1991.

MCALLISTER, M. M. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal of Parasitology**, Elmsford, v. 28, n. 9, p. 1473- 1478, 1998.

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

MELO, L. R. B. et al. Resistência anti-helmíntica em pequenos ruminantes do semiárido da Paraíba, Brasil. **ARS VETERINÁRIA**, Jaboticabal, SP, v. 29, n.2, p.104-108, 2013.

MELO, A. L. T.; SILVA, G. C. P.; AGUIAR, D. M. Soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da cidade de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, n. 4, p. 1507-1514, jul./ago., 2012.

MINERVINO, A. H. H. et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.84, n.2, p.254-256, 2008.

MOORE, D. P. Neosporosis in South America. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 87-97, 2005.

MOURA, A. B. et al. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in beef cattle of microrregion of Guarapuava, Paraná state, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.3, p.419-422, jul./set., 2012

OSHIRO, L. M. et al. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 133-138, 2007.

PARÉ, J. et al. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 213, p. 1595-1598, 1998.

TEIXEIRA, W.C. et al. Prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.9, p. 729-734, 2010.

TEIXEIRA, Whaubtyfran Cabral. **Prevalência de anticorpos IgG anti- *Neospora caninum* e anti- *Toxoplasma gondii* em bovinos e caninos das mesorregiões norte e centro maranhense, Maranhão, Brasil**. Recife: UFRPE, 2008. Dissertação (Mestrado) Pro-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação, Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2008.

THILSTED, J. P.; DUBEY, J. P. Neosporosis –like abortion in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, 1:205-209, 1989.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. 2. ed. Cambridge: Blackwell Science, 1995. 479 p.

TRANAS, J. et al. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 6 (5), p. 765-7, 1999 Sep.

TREES A. J. et al. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in population of urban dogs in England. **Veterinary Record**, v. 132, p.125-126, 1993.

VANLEEUVEN, J. A. et al. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly dairy cows herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 93, p. 129-138, 2010.

VILELA, V. L. R. et al. Ensaios preliminares para validação do método FAMACHA© em condições de semi-árido paraibano. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p.154-157, 2008.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. 4. ed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1999. 663 p.

ANEXOS

ANEXO 1

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO PARA COLETA DE DADOS DE BOVINOS LEITEIROS E CÃES NA REGIÃO DE GADO BRAVO

1. DADOS DO PROPRIETÁRIO

Nome: _____

Telefone: _____

Já ouviu falar ou sabe o que é Neosporose? () Sim () Não

2. DADOS DO BOVINO

Manejo () intensivo () semi-intensivo () extensivo

Sexo: () Macho () Fêmea

Idade: () 9 – 12 meses () 13 – 24 meses () 25 – 48 meses () acima de 4 anos

Presença de Cães na propriedade? () SIM () NÃO

Quantos bovinos na propriedade?

É realizada limpeza ou desinfecção do local? () SIM () NÃO

Com que frequência? () Semanal () Quinzenal () Mensal () Trimestral () Outros _____

4. OUTRAS INFORMAÇÕES

O animal tem contato com açudes, áreas alagadas? () SIM () NÃO

FICHA INDIVIDUAL (CÃO)

Nome: _____

Propriedade N° _____

Raça: _____

Alimentação: _____

Sexo: _____

Idade/Nasc _____

Já apresentou alguma alteração aparentemente nervosa? _____

Ambiente: () Domiciliado () Semidomiciliado

Já apresentou problema durante o parto ou na gestação (nas fêmeas)? Qual? _____

Procedência: _____

Material coletado: () Sangue () Outros _____

Outras informações _____

ANEXO 2
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIMENTO

Nome da Pesquisa: Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e caninos na região de Gado Bravo, Agreste do Estado da Paraíba, Brasil.

Pesquisador(a) responsável: Profa. Dra. Ana Célia Rodrigues Athayde

Informações sobre a pesquisa: Será realizado um estudo que mostre a situação soroepidemiológica dos bovinos leiteiros e dos cães criados nas propriedades rurais do município de Gado Bravo, Agreste do estado da Paraíba, Brasil, solicito a sua colaboração respondendo algumas questões sobre este assunto.

Objetivo da pesquisa: Realizar inquérito soro epidemiológico para infecções por *N. caninum* em bovinos leiteiros e cães de propriedades rurais no município de Gado Bravo, agreste do estado da Paraíba. A sua participação é muito importante, pois contribuirá para a efetivação dos objetivos propostos.

Pesquisador responsável

Instituição: _____.

Eu, _____, portador(a) de RG _____, abaixo assinado, tendo recebido as informações acima, e ciente dos meus direitos abaixo relacionados, de acordo com o item IV da Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde que regulamenta as pesquisas envolvendo seres humanos, concordo em participar da pesquisa.

- a) A garantia de receber todos os esclarecimentos sobre as perguntas do questionário antes e durante o transcurso da pesquisa, podendo afastar-me a qualquer momento se assim o desejar, bem como está assegurado o absoluto sigilo das informações obtidas.
- b) A segurança plena de que não serei identificado mantendo o caráter oficial da informação, assim como, está assegurada que a pesquisa não acarretará nenhum prejuízo individual ou coletivo.
- c) A segurança de que não terei nenhum tipo de despesa material ou financeira durante o desenvolvimento da pesquisa, bem como, esta pesquisa não causará nenhum tipo de risco, dano físico ou mesmo constrangimento moral e ético ao entrevistado.
- d) A garantia de que toda e qualquer responsabilidade nas diferentes fases da pesquisa é dos pesquisadores, bem como, fica assegurado poderá haver divulgação dos resultados finais em órgãos de divulgação científica em que a mesma seja aceita.
- e) A garantia de que todo o material resultante será utilizado exclusivamente para a construção da pesquisa e ficarão sob a guarda dos pesquisadores, podendo ser requisitado pelo entrevistado em qualquer momento.

Tenho ciência do exposto acima e desejo participar da pesquisa.

Gado Bravo-PB, _____ d e _____ de 2014.

Assinatura do (a) entrevistado (a)