

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ

PATRÍCIA MARA LOPES SICUPIRA

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
Neospora caninum EM CÃES NO MUNICÍPIO DE ILHÉUS, BA**

ILHÉUS – BAHIA

2009

PATRÍCIA MARA LOPES SICUPIRA

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
Neospora caninum EM CÃES NO MUNICÍPIO DE ILHÉUS, BA.**

Dissertação apresentada, para obtenção
do título de Mestre em Ciência Animal, à
Universidade Estadual de Santa Cruz

Área de concentração: Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Dias
Munhoz

ILHÉUS-BAHIA

2009

PATRÍCIA MARA LOPES SICUPIRA

**PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR
Neospora caninum EM CÃES NO MUNICÍPIO DE ILHÉUS, BA**

Ilhéus – BA, 29/06/2009

Alexandre Dias Munhoz – *DSc.*
UESC/DCAA
(Orientador)

Roueda Abou Said – *DSc*
UESC/DCAA

Luís Fernando Pita Gondim – *PhD*
UFBA

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao meu marido André e à minha filha Lavínia, pelo amor incondicional dispensado a mim.

AGRADECIMENTOS

A Deus, que é o provedor da minha vida.

Aos meus pais, Marlene e Elço. Foram eles que com grandes dificuldades deram as maiores jóias que um filho pode receber: a vida, o amor e a educação. Pelo apoio e estímulo na busca pelos meus sonhos.

Aos irmãos Breno e Brendha pelos momentos de alegria e o suporte em meio à distância, e a sobrinha Sthephanie.

À minha segunda mãe Àurea Franco e ao meu segundo pai Adson Franco. Por serem preciosos, ocupando um lugar ímpar na minha vida.

Meus cunhados Adson Filho e Edgar Franco, pelo grande carinho.

Aos meus estimados amigos: Ingrid Müller, Patrícia Gomes, Ludmila Souza, Aracelle Vieira, Alexssandro Tartaglia, Pedro Leite, Tais Trípodí, Michelle de Carvalho, Geraldo Coelho, pelos incentivos, sinceridade e pela grande amizade no sentido mais fiel da palavra.

Ao Médico Veterinário Dr. Aloísio Correia Leite, Coordenador do Centro de Controle de Zoonoses de Ilhéus, por abrir as portas da sua casa e permitir que eu fizesse parte da sua família. Por acreditar que o meu trabalho poderia

caminhar junto com o Mestrado, me dispensando para que eu pudesse cumprir os horários das aulas.

Ao meu professor e orientador Prof. Dr. Alexandre Dias Munhoz por ter acreditado e confiado em mim mais uma vez, pelo vasto conhecimento à mim dispensado. Pela grande capacidade de compreensão em momentos difíceis.

Ao meu querido pequeno grupo: Gisa, Wiara, Sandra, Flávia, Tharsia, Kallyane, Wolney, George e Nivaldo.

Ao Médico Veterinário Gideão Galvão, à Médica Veterinária Vanessa Sampaio à Biomédica Yasmine Souza, que participaram diretamente deste trabalho sempre com muito empenho, disponibilidade e dedicação.

Aos colegas e também amigos do mestrado, Manuela, Fernando, Adriana, que fizeram com que convivêssemos em harmonia nestes dois anos.

À professora Dr^a Roueda Abou Said, que mais uma vez esteve presente em uma etapa importante da minha vida, sempre com muito carinho e apoio.

Ao professor da Universidade Federal da Bahia Dr. Luis Fernando Pita Gondim pelas suas considerações e sugestões, e por ter disponibilizado o laboratório de Análises Clínicas desta universidade para a realização de parte deste trabalho.

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM CÃES NO MUNICÍPIO DE ILHÉUS, BA.

RESUMO

A realização deste estudo teve como objetivo determinar a prevalência e avaliar os fatores de risco em cães associados à infecção por *Neospora caninum* no município de Ilhéus, BA. O presente estudo foi realizado no Município de Ilhéus no Estado da Bahia. Fizeram parte do estudo 471 cães, selecionados por conveniência, sendo 399 domiciliados e 72 errantes (capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Ilhéus). Os animais foram categorizados por faixa etária, pelo sexo, raça e e por área. A técnica sorológica foi a Imunofluorescência indireta (IFI). Foi realizada uma entrevista estruturada. Utilizou-se o teste estatístico do qui-quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher e posteriormente foi realizado uma análise multivariada de regressão logística não-condicional. Detectou-se uma soroprevalência de 10,0% (47/471), sendo observada uma associação altamente significativa ($p=0,000$) na análise das variáveis, contato com bovinos e animais errantes, assim como nos animais domiciliados, com hábito de caça ($p=0,018$). Não se observou diferenças com relação ao sexo e a raça, com relação a idade verificou-se uma tendência de aumento nos animais mais velhos, pode-se concluir que as características ambientais e sócio-culturais da região favorecem a manutenção da infecção pelo hábito de caça e facilidade de interação dos cães com bovinos e a enfermidade deverá ser incluída no diagnóstico diferencial de enfermidades neurológicas em cães da região.

Palavras-chave: neosporose, fatores de risco, caninos

PREVALENCE AND RISK FACTORS OF *Neospora caninum* INFECTION IN DOGS FROM ILHEUS, BAHIA, BRAZIL

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence and to evaluate risk factors in dogs associated with *Neospora caninum* infection from the Ilheus Municipality, located in the state of Bahia. A total of 471 dogs were selected for convenience, with 399 house pets and 72 stray dogs (captured by Zoonosis Center Control of Ilheus) for blood collection. The animals were categorized by age, gender, breed and area, and additional information was obtained through structured interviews applied to owners of house pets. The sera obtained from blood samples were submitted to serological technique of indirect immunofluorescence assay (IFA). For the statistical analysis was used chi-square with Yates correction or Fisher exact test followed by multivariate analysis of non-conditional logistic regression. Antibodies to *N. caninum* were detected in 10.0% of the (47/471) dogs, and there was a highly significant association ($p=0.000$) in the analysis of variables, such as contact with bovine and wandering animals, and house pets and house pets wich have hunting habits ($p= 0.018$). There were no significant differences for gender and breed. On the other hand, there was a trend of increase in seroprevalence of older animals. It can be concluded that the environmental and socio-cultural characteristics of this region favors the maintenance of infection by the habit of hunting and ease of interaction among dogs and cattle. This disease should be included in the differential diagnosis of neurological diseases in dogs in the studied region.

Keywords: neosporosis, risk factors, dogs, IFA.

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Ciclo biológico <i>Neospora caninum</i> .	17

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Modelo final gerado pela análise multivariada das variáveis associadas a infecção em cães no Município de Ilhéus, Bahia.	31
2. Presença de anticorpos contra- <i>Neospora caninum</i> no soro de cães com idade até 12 meses e maior que 12 meses no município de Ilhéus, Bahia, Brasil	32
3. Presença de anticorpos contra- <i>Neospora caninum</i> no soro de cães de áreas urbana, periurbana e rural do município de Ilhéus, Bahia, Brasil	32
4. Presença de anticorpos contra- <i>Neospora caninum</i> no soro de cães distribuídos segundo o hábito ou não de caça de animais domiciliados do município de Ilhéus, Bahia, Brasil	32

SUMÁRIO

	Pag.
Resumo	Vii
Abstract.....	Viii
Lista de figuras.....	Ix
Lista de tabelas.....	X
1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4. RESULTADOS	31
5. DISCUSSÃO.....	33
6. CONCLUSÕES.....	36
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

1. INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um protozoário do Filo Apicomplexa, pertencente à Família Sarcocystidae, sendo estruturalmente muito semelhante, mas antígenicamente distinto do protozoário *Toxoplasma gondii*, tendo o cão (McALLISTER et al., 1998) e o coiote (GONDIM et al., 2004) como hospedeiros definitivos. A doença foi descrita pela primeira vez na Noruega em 1984 em cães de uma ninhada da raça Boxer, que vieram a óbito apresentando encefalomielite e a miosite (BJERKAS et al., 1984) e desde então, a neosporose tem emergido como uma doença grave não só em cães, mas em bovinos uma vez que é apontada com uma das principais causas de abortamentos, principalmente os de aptidão leiteira (DUBEY et al., 2007).

Os cães de qualquer idade podem desenvolver sintomas clínicos da neosporose (DUBEY, 2003) apesar de serem geralmente são assintomáticos (PASQUALI et al, 1998). *Neospora caninum* pode causar lesões necróticas que se tornam visíveis, dentro de alguns dias, levando à morte celular por ativa multiplicação dos taquizoítos, com grande número de células neurais destruídas, incluindo nervos cranianos e espinhais, afetando a condutividade destas células (CANTILE; ARISPICI, 2002), o que pode levar ao surgimento de sinais como paresia inicial que evolui para paralisia, assim como dificuldade na deglutição, paralisia da mandíbula, flacidez e atrofia muscular e insuficiência cardíaca (DUBEY, 2003).

Ainda não está totalmente compreendido a forma de infecção por *N. caninum* em cães na natureza (DUBEY et al., 2007). A transmissão transplacentária em cães experimentalmente infectados tem sido demonstrada (COLE et al., 1995), onde na maioria dos casos de neosporose neonatal, os sinais clínicos não são aparentes até 5-7 semanas após o nascimento (DUBEY; LINDSAY, 1996), o que sugere que *N. caninum* possa ser transmitida para os recém-nascidos, no terço final da gestação ou no período pós-parto através do leite (DUBEY et al., 2007). A infecção horizontal ocorre através da

predação de animais infectados ou pela ingestão de oocistos esporulados, sendo caracterizada pelo maior número de cães soropositivos com o avançar da idade (BARBER; TREES, 1997; WOUDA et al., 1999; CAÑÓN-FRANCO, 2003).

A distribuição da infecção em cães é cosmopolita (FARIAS, 2002) e dos estudos realizados no Brasil, observam-se relatos, na região Norte (CÂNON-FRANCO et al., 2003), Nordeste (AZEVEDO et al., 2005; de JESUS et al., 2006) centro-oeste (OLIVEIRA et al., 2004; BOAVENTURA et al., 2008), Sudeste (GENNARI et al., 2002; FERNANDES, et al., 2004), e Sul (ROMANELLI et al., 2007).

Os fatores de risco envolvem contato com bovinos, pela possibilidade de consumo de membranas fetais e fluidos de animais infectados (WOUDA et al., 1999), assim como de cães domiciliados com hábito de caça DUBEY.; LINDSAY, 1996; GENNARI et al., 2002; FERNANDES et al., 2004), animais errantes ou de áreas rurais (de JESUS et al., 2006), pela ingestão de roedores, pássaros e outros animais que podem servir como reservatórios do *N. caninum* (WOUDA et al., 1999).

Perdas econômicas devido à neosporose estão diretamente relacionadas à reprodução em bovinos em muitos países. Além das diretas com custos envolvidos na perda fetal, há as indiretas que incluem custos com a ajuda profissional, despesas inerentes ao diagnóstico (DUBEY et al., 2007) e possibilidade de perdas na produção leiteira (THURMOND; HIETALA, 1996).

A estreita relação entre as espécies canina e bovina tem sido responsabilizada não apenas pelo incremento da disseminação horizontal da doença, como também pela sua persistência na natureza (CALIL, 2006). Nesse sentido, Paré et al., (1998), McAllister et al., (1998), Dubey, (1999) consideram prudente que as ações sanitárias sejam dirigidas aos mecanismos de transmissão envolvidos nessa biocenose, como: evitar o acesso de cães aos alimentos e fontes de água dos bovinos, além de manter silos e depósitos de ração fechados e os cães presos, ou longe de pastagens e/ou instalações do rebanho.

Com base no exposto, a realização deste estudo teve como objetivo determinar a prevalência e avaliar os fatores de risco em cães associados à infecção por *Neospora caninum* no município de Ilhéus, BA.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O parasito

Historicamente, uma doença semelhante à toxoplasmose foi primeiramente descrita na Noruega em 1984, em cães de uma ninhada da raça Boxer, que vieram a óbito apresentando encefalomielite e a miosite (BJERKAS et al., 1984). Nestes cães foram observadas desordens neurológicas entre o segundo e sexto mês após o nascimento. Formas proliferativas e cistos semelhantes aos de *Toxoplasma gondii* foram encontradas em lesões no cérebro e músculo. Contudo, anticorpos contra-*T.gondii* não foram detectados no soro e nem o parasito foi infectante para camundongos.

Um parasito similar foi encontrado em dez cães nos EUA em 1988 e caracterizado como *N. caninum* (DUBEY et al., 1998b). No mesmo ano, taquizoítos vivos de *N. caninum* foram isolados em cultura de células e cistos teciduais foram observados em camundongos inoculados com o sobrenadante do macerado dos tecidos de cães naturalmente infectados (DUBEY et al., 1998c). O desenvolvimento do teste imuno-histoquímico permitiu uma específica identificação deste agente etiológico nos tecidos fixados em formalina, sendo possível o diagnóstico da infecção por *Neospora* em uma grande variedade e número de animais (LINDSAY; DUBEY, 1991).

Em 1991, a estrutura e a antigenicidade do parasito encontrado nos tecidos fixados dos cães da Noruega e dos EUA foram comparados, observando que o parasito originalmente encontrado na Noruega era *N. Caninum*, possibilitando estudos retrospectivos que remontam a infecção a um grupo de cães no início de 1957 nos Estados Unidos da América (EUA) (DUBEY et al., 1990).

De acordo com Current et al. (1990) e Cavalier-Smith (1993) a classificação taxonômica proposta para o parasito é a seguinte: Império – Eukariota, Cavalier-Smith, 1993; Reino – Protozoa (OWEN, 1858); Filo – Apicomplexa (LEVINE 1970) Classe – Sporozoasida (LEUKART,1879); Subclasse – Coccidiasina (LEUKART, 1879); Ordem – Eucoccidiorida

(LÉGER; DOBOSCQ, 1910); Subordem – Eimeriorina (LÉGER, 1911); Família – Sarcocystidae (POCHE, 1913); Subfamília – Toxoplasmatinae (BIOCA, 1956); Gênero – *Neospora* (DUBEY, CARPENTER, SPEER, TOPPER & UGGLA, 1988); Espécie – *N. caninum* (DUBEY, CARPENTER, SPEER, TOPPER & UGGLA, 1988).

Neospora caninum era o único membro do gênero *Neospora*, quando Marsh et al (1998) isolaram um parasita do Filo Apicomplexa a partir do sistema nervoso central de um eqüino adulto, que foi ultra-estruturalmente muito semelhante a *Neospora*. Ele mostra diferenças na origem de *N. caninum* de bovinos e caninos no que diz respeito às proteínas imunorreativas, e uma diferença de sete nucleotídeos de *N. caninum* encontrados na região 1 dos espaços internos transcritos do Genoma (ITS1) . Isto sugere que este parasita isolado poderia representar uma nova espécie *Neospora* sendo descrita como *N. hughesi*.

2.2 Ciclo biológico e formas de infecção

Neospora caninum é um parasita intracelular obrigatório, sendo seu ciclo de vida (Figura 1) é caracterizado por três fases infectantes: Taquizoítos, cistos teciduais, e oocistos (DUBEY et al., 2007). Os taquizoítos são ovóides ou globularas podem ser encontrados livres ou em colônias em células do sistema nervoso central (SNC), macrófagos, células endoteliais vasculares, miócitos, células epiteliais tubulares renais, hepatócitos, coração, pulmões, rins, placenta e líquido amniótico e em outras células do corpo (DUBEY, 1999a; LINDSAY; DUBEY, 1999), o que confere ao mesmo pouca especificidade célula-hospedeira, e uma capacidade de invasão de uma ampla gama de células nucleadas (DUBEY et al., 1996).

A penetração na célula hospedeira ocorre por meio de invasão ativa, podendo começar após cinco minutos de contato com a célula (HEMPHILL et al. , 1999b).

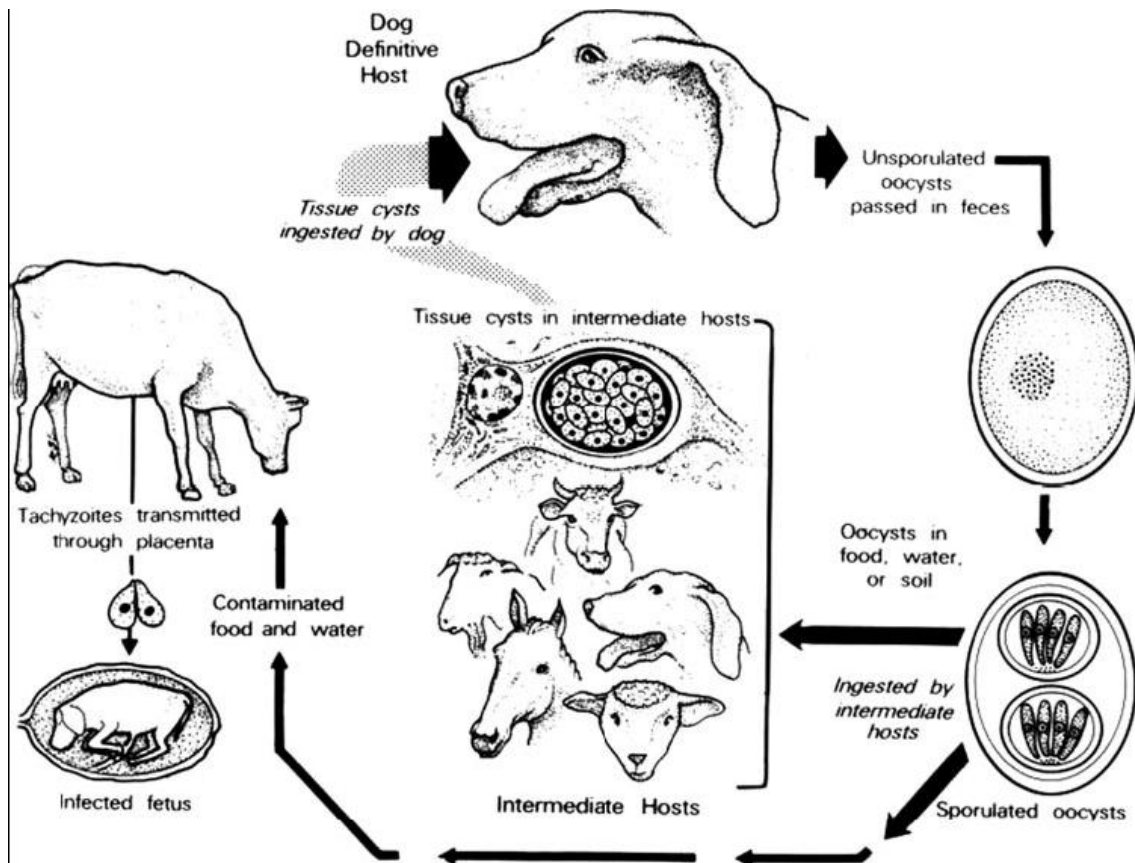


Figura 1: Representação do ciclo biológico da Neosporose (DUBEY, 1993)

Podem medir de 3–7 x 1–5 μm dependendo do seu estágio de divisão, localizam-se dentro de um vacúolo parasitológico no interior das células e se dividem por endodiogenia. (DUBEY; LINDSAY, 2006) Sem uma resposta imunológica efetiva do hospedeiro, os taquizoítos podem continuar a se multiplicar (BUXTON et al., 2002) produzindo centenas de novos parasitas em poucos dias (HEMPHILL, 1999a), o que leva a lise celular, com liberação de taquizoítos, que podem infectar células vizinhas (DUBEY et al., 2002). Com o início de uma resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos se diferenciam em bradizoítos, estabelecendo-se um cisto tecidual persistente (BUXTON et al., 2002), sobrevivendo até em contato com a pepsina (LINDSAY; DUBEY, 1990).

Os bradizoítos de *N. caninum* são capazes de formar cistos teciduais rodeados por uma parede sólida, podendo persistir dentro de um hospedeiro infectado por vários anos sem causar quaisquer manifestações clínicas (DUBEY, 1999a), são alongados com um núcleo subterminal que pode medir aproximadamente 8 x 2 μm , além de conter as organelas tipicamente

encontradas em outros coccídios incluindo grandes e pequenos grânulos densos, roptrias e micronemas. As roptrias nos bradizoítos são em número de 6 a 12 com um conteúdo denso (DUBEY et al., 2002).

Os cistos teciduais são muitas vezes de forma redonda ou oval, podem medir até 107 μm de comprimento, e são encontrados principalmente no sistema nervoso central. A parede pode medir até 4 μm de espessura, o que provavelmente está relacionado com ao tempo de infecção (BJERKAS; DUBEY, 2001). Os tecidos extraneurais, especialmente músculos, também conter cistos teciduais (PETERS et al., 2001; DUBEY et al., 2004).

Os oocistos são excretados nas fezes, após um período pré-patente de cinco dias ou mais a partir da ingestão de cistos teciduais (LINDSAY et al., 1999), de cães (McALLISTER, 1998) e coiotes (GONDIM et al., 2004a) em uma fase não esporulada e dependendo das condições de temperatura e aeração ambiental possa esporular dentro de três a sete dias (DUBEY; LINDSAY, 1996). Os oocistos medem 11-7 x 11,3 μm (10,6-12,4 x 10,6-12,0) de comprimento. A parede do oocisto é incolor possui 0,6-0,8 μm de espessura e engloba dois esporocistos, com 8,4 x 6,1 μm (7,4-9,4 x 5,6-6,4) de comprimento. Cada esporocisto contém quatro esporozoítos e um corpo residual. Os esporozoítos são alongados medindo de 6,5 x 2,0 μm (5,8-7,0 x 1,8-2,2) (DUBEY et al., 2002).

Ainda não se conhecem as estruturas e a localização dos estádios endógenos de *N. caninum* que dão origem à eliminação de oocistos, que uma vez esporulados são oralmente infectantes para o gado (GONDIM et al., 2004b; TREES et al., 2002), caprinos e ovinos (SCHARES et al., 2001), e roedores como ratos, gerbils e cobaias (*Cavia porcellanus*) (McALLISTER, 1998; DUBEY et al., 2000; SCHARES et al., 2001). Cães e outros carnívoros podem ser infectados naturalmente pela ingestão de cistos presentes principalmente no sistema nervoso central (DUBEY, 1999b; ANDERSON et al., 2000), pela ingestão de placentas infectadas de bovinos (DIJKSTRA et al., 2001) e músculos bovinos infectados (PETERS et al., 2001) ou, ainda, podem ser infectados verticalmente durante a vida intra-uterina (DUBEY; LINDSAY, 2006).

Os bovinos são infectados principalmente de forma vertical, que é responsável por até 95% das infecções no rebanho (DIJKSTRA et al., 2001b).

A infecção horizontal nos bovinos pode ser adquirida, principalmente, pela ingestão de alimentos ou água contendo oocistos esporulados, (TREES et al., 2002). Os bovinos ainda podem ser auto-infectados pela recrudescência de cistos do próprio animal (WOUDA, et al., 1999).

2.3 Transmissão em cães

2.3.1 Transmissão vertical

Ainda não está totalmente compreendido a forma de infecção por *N. caninum* em cães (DUBEY et al., 2007). Em um estudo retrospectivo, a forma mais grave da neosporose foi observada em quatro cães da raça Shepherds de um proprietário alemão em 1957 de Ohio, e não havia provas de que a cadela havia transmitido a infecção congenitamente para os filhotes (DUBEY et al., 1990). A transmissão transplacentária em cães experimentalmente infectados tem sido demonstrada (COLE et al., 1995). Na maioria dos casos de neosporose neonatal, os sinais clínicos não são aparentes até 5-7 semanas após o nascimento (DUBEY; LINDSAY, 1996).

Estes dados sugerem que *N. caninum* possa ser transmitido para os recém-nascidos, no terço final da gestação ou no período pós-parto através do leite (DUBEY et al., 2007).

2.3.2 Transmissão horizontal

Como a transmissão vertical de *N. caninum* em cães é considerada altamente variável, acredita-se que a infecção em cães não persistiria na ausência de infecções horizontais (BARBER; TREES, 1997).

Em um estudo, 51% de 300 cães da raça Foxhounds alimentados com carcaças de bovinos foram encontrados com anticorpos de *N. caninum* (TREES; WILLIAMS, 2000). Enquanto que o consumo de fetos bovinos abortados não parece ser uma importante fonte de infecção pelo *N. caninum* em cães (DIJKSTRA et al., 2002), o consumo membranas fetais de bovinos pode ser uma fonte de contaminação de *N. caninum* em cães. O parasita foi

encontrado na natureza através de placentas contaminadas (FIORETTI et al., 2000; BARTLEY et al., 2006), e cães alimentados a partir destas placentas de vacas soropositivas se infectaram (DIJKSTRA et al., 2001a).

2.4 Transmissão em outros hospedeiros

N. caninum pode ser transmitido aos seus hospedeiros intermediários (bovinos, ovinos, caprinos e eqüinos) (DUBEY et al., 1986; HEMPHILL, 1999a), através do consumo dos oocistos no solo, na água ou na alimentação armazenada (DUBEY, 2002). Os animais carnívoros também podem se infectar de forma horizontal, através da ingestão de tecidos infectados com taquizoítos, cistos teciduais, ou de forma vertical por via transplacentária a partir de uma fêmea que transmite o parasito ao seu feto durante a gestação (TREES et al., 2002). A infecção pode ocorrer várias vezes no mesmo animal (DUBEY et al., 1998; BARR et al., 1993). No entanto, infecção pré-natal no feto nem sempre levam à doença e, o parasita pode permanecer em latência dentro de tecidos de filhotes clinicamente normais (HEMPHILL, 1999b). Além disso, a inoculação por via oral de *N. caninum* no colostro revelou que a infecção oral por taquizoítos poderia ser uma via adicional de transmissão vertical em bezerros recém-nascidos (UGGLA et al., 1998).

A fase assexuada de *N. caninum* é transmitida verticalmente em bovinos por várias gerações (DUBEY, 1999b). Embora essa transmissão possa contribuir significativamente para a persistência da infecção em rebanhos, infecções pós-natais têm sido bem documentada (THURMOND et al., 1997; DIJKSTRA et al., 2001b).

As expressões “transmissão transplacentária Exógena” e “transmissão transplacentária Endógena” têm sido propostas para descrever com mais precisão a origem da infecção transplacentária. A transmissão transplacentária Exógena ocorre depois de um contato primário com oocistos, enquanto que a transmissão transplacentária Endógena, ocorre após uma reativação da infecção já existente, durante a gestação (DUBEY et al., 2007).

Além disso, os números de oocistos liberados são mais elevados por cães jovens (10 a 14 semanas de idade) do que pelos mais velhos (2 a 3 anos) (GONDIM et al., 2005).

2.5 Distribuição e Fatores de Risco

A distribuição da infecção em cães é cosmopolita (FARIAS, 2002) com relatos na Europa (PASQUALI et al., 1998, VA´CLAVEK et al., 2007), Ásia (SAWADA et al., 1998), África (JARDINE & DUBEY, 1992), América (BASSO et al., 2001) e na Oceania (BARBER et al., 1997).

Dos estudos realizados no Brasil, observam-se relatos, em cães da área urbana, periurbana e rural do município de Uberlândia em Minas Gerais (10,7%, 19,9% e 21,7%) (FERNANDES, et al., 2004), em Rondônia (8,3%) (CAÑÓN-FRANCO et al., 2003), na região norte do Estado do Paraná (21,6%) (SOUZA et al., 2002) em cães domiciliados e errantes do Estado de São Paulo (9,8% e 24,7%) (GENNARI et al., 2002), na Paraíba (8,4%) (AZEVEDO et al., 2005), no município de Salvador e Lauro de Freitas (12,1%) (de JESUS et al., 2006), em Minas Gerais (6,7%) (MINEO et al., 2001), em cães da área urbana de Campo Grande, Mato Grosso do Sul (26,53%) (OLIVEIRA et al., 2004) e em cães de área rural em Guarapuava, Paraná (29,5%) (ROMANELLI et al., 2007).

Com relação aos fatores de risco envolvendo cães, é visto que a transmissão horizontal entre cães errantes e rurais é frequentemente maior, devido a facilidade de ingestão de roedores, pássaros e outros animais que podem servir como reservatórios do *N. caninum* (ALMEIDA et al., 2006; WOUUDA et al., 1999). Alguns autores especulam que aves possam funcionar como vetores mecânicos de oocistos e que cães podem se infectar através da ingestão destas aves (HEMPHILL; GOTTSTEIN, 2000), visto que galinhas foram recentemente confirmadas como hospedeiras naturais do parasito (COSTA et al., 2009).

Segundo de Jesus et al. (2006) um outro fator que pode sugerir uma maior prevalência em cães errantes e de áreas rurais seria a exposição mais freqüente a ambientes contaminados com oocistos eliminados de cães

infectados e que, por outro lado a transmissão vertical e a conseqüente criação de animais assintomáticos podem ser responsáveis pela manutenção do nível de infecção por *N. caninum* nas populações caninas.

Nos rebanhos bovinos, *N. caninum* persiste por transmissão vertical por várias gerações, onde fetos abortados, membranas fetais e fluidos amnióticos são uma fonte potencial de infecção, (WOUDA et al., 1999).

Os cães podem, também, ser infectados pela ingestão de cistos teciduais por carnivorismo (DUBEY; LINDSAY, 1996). Esta rota de infecção, foi inicialmente demonstrada pela alimentação de cães com tecidos de camundongos com cistos teciduais (LINDSAY et al., 1999; McALLISTER et al., 1998) e pela alta prevalência em anticorpos de *N. caninum* em cães que caçam, que são alimentados por animais feridos e mortos em fazendas de origem bovina. Estas provas circunstanciais de que cães podem adquirir a infecção do gado foram comprovadas por Dijkstra et al., (2001a).

Com relação a idade há estudos em que não se observaram diferenças significativas (FERNANDES et al., 2004; WANHA, et al., 2005;. de JESUS et al., 2006) Embora em outros, observa-se uma maior prevalência com o aumento da idade sugerindo a infecção no período pós-natal, por meio de transmissão horizontal (WOUDA et al., 1999; CAÑÓN-FRANCO, 2002; SOUZA et al., 2002).

Wouda et al. (1999) sugerem uma maior soropositividade em fêmeas, pelo recrudescimento de infecção e um posterior aumento na titulação de anticorpos em função das alterações hormonais nas cadelas (WOUDA et al.,1999), alterações estas bem relatadas em vacas durante a gestação (PARÉ et al.,1997; WOUDA et al.,1998b).

A predisposição racial para a infecção por *N. caninum* parece não ser um fator de risco para cães, embora há descrições da infecção em Labrador Retrievers, Boxers, Greyhounds, Golden Retrievers e Basset Hound (CHEADLE,LINDSAY, 1999; DUBEY ,LINDSAY, 1996), de Jesus et al. (2006), sugerem que este fato deve-se principalmente a maioria dos estudos ocorrerem em países do hemisfério Norte, onde estas raças são mais difundidas e não há diferenças significativa de cães SRD.

2.6 Patogenia

A invasão das células hospedeiras compreende dois eventos distintos, adesão à superfície da célula hospedeira e o processo da entrada nesta célula. O evento inicial do processo de adesão é mediado por um contato de baixa afinidade, que subsequente conduz à secreção de micronemas, como consequência, segue-se uma ligação mais específica com a superfície da célula hospedeira, ocorrendo assim à entrada na célula. Para que este evento ocorra é necessário que haja a presença de receptores adequados na superfície da célula hospedeira, que forneçam o sinal para a entrada do parasita no citoplasma dessa célula (HEMPHILL; GOTTSTEIN, 1996)

Constata-se assim, que taquizoítos de *N. caninum* interagem com a célula hospedeira por meio de mecanismos altamente conservados em todo filo Apicomplexa, mas em contraste com outros gêneros deste filo, que exibem considerável especificidade pela célula hospedeira, tanto no *N. caninum* quanto *T. gondii* são capazes de invadir e proliferar em diferentes tipos de células de mamíferos, sugerindo assim, que eles possam reconhecer um ou mais receptores na superfície da célula hospedeira, para a adesão inicial e subsequente invasão (NAGULESWARAN, 2002).

O parasita ao invadir células uterinas, multiplica-se causando uma destruição local nos tecidos do feto e da mãe e estes tecidos iniciam uma resposta inflamatória. A partir daí, as lesões se estendem para o cório-alantóide entre os cotilédones. Ao mesmo tempo em que estas lesões ocorrem, o parasita penetra na corrente sanguínea e invade outros tecidos com uma predileção do sistema nervoso central, onde se localiza preferencialmente ao redor dos vasos sanguíneos (BUXTON et al., 2002). A destruição das células fetais, associadas à inflamação linfóide, também pode ocorrer em outros tecidos, como coração, músculo esquelético, pulmão e fígado (BARR et al., 1994).

Os isolados de *N. caninum* de vários hospedeiros são geneticamente semelhantes, embora cada um tenha a sua própria estirpe (REGIDOR-CERRILLO et al., 2006). Pouco se sabe da variação no que diz respeito à patogenicidade. Não existem modelos de animais adequados para o teste

variação da cepa. Em alguns estudos, as cepas de *N. caninum* para camundongos foram mais patogênicas para um do que para do que outros (LINDSAY ; DUBEY, 1990; LINDSAY, 1999). Aborto ou infecções fetais foram induzidos em bovinos usando uma variedade de isolados em diferentes laboratórios (DUBEY et al., 2006), mas uma comparação significativa com vacas gestantes seria economicamente inviável. Não existe a complicação adicional do estágio do parasito utilizado e a origem do parasita. A maioria das cepas *N. caninum* são mantidos em cultura de células, onde a prolongada passagem em cultura pode alterar a patogenicidade e outras características do parasita (BARTLEY et al., 2006). Além disso, os dados obtidos a partir de roedores não pode ser aplicável aos bovinos (DUBEY et al., 2007).

2.7 Sintomatologia

Cães expostos ao parasito geralmente são assintomáticos (PASQUALI et al, 1998), mas podem desenvolver os sintomas clínicos da Neosporose em qualquer idade (DUBEY, 2003). *Neospora. caninum* pode causar lesões necróticas que se tornam visíveis, dentro de alguns dias, levando à morte celular por ativa multiplicação dos taquizoítos, além de produzir potencialmente graves doenças neuromusculares. Grande número de células neurais são destruídas, incluindo nervos cranianos e espinhais, afetando a condutividade destas células (CANTILE; ARISPICI, 2002).

Os casos mais graves ocorrem em animais jovens, congenitamente infectados. Animais infectados podem desenvolver uma paresia inicial que evolui para paralisia. Os distúrbios neurológicos são dependentes da localização do parasita. Os membros posteriores são mais afetados do que os anteriores e frequentemente estão em hiperextensão rígida (paralisia espástica). Cães com paralisia de membros posteriores podem permanecer alerta e sobreviver por vários meses. A causa da hiperextensão dos membros posteriores não é conhecida, mas provavelmente ocorre em decorrência de uma combinação de paralisia do neurônio motor superior e miosite, que resulta em uma contratura fibrosa progressiva rápida dos músculos que pode causar a fixação dos joelhos. Outras possíveis disfunções incluem dificuldade em

engolir, paralisia da mandíbula, flacidez e atrofia muscular e insuficiência cardíaca (DUBEY, 2003).

A doença pode estar localizada ou generalizada e virtualmente todos os órgãos podem estar envolvidos (DUBEY; LINDSAY, 1996). Além de células do sistema nervoso, outras células podem estar infectadas, entre elas as do endotélio vascular, miócitos e células dérmicas. Relatos de casos de Neosporose cutâneas estão relacionados com a imunossupressão ou com idades compreendidas entre os cães (DUBEY et al., 1998).

2.8 Importância econômica

As grandes perdas econômicas devido à neosporose estão diretamente relacionadas à reprodução em bovinos em muitos países. Além das perdas diretas com custos envolvidos na perda fetal, os custos indiretos incluem ajuda profissional e despesas inerentes ao diagnóstico e possíveis perdas na produção de leite (DUBEY et al., 2007) que pode ser devida ou não ao aborto, sendo relatada por Thurmond e Hietala (1997) uma redução de 4% na produção leiteira, na primeira lactação das vacas soropositivas em relação às vacas soronegativas.

Na Califórnia, EUA, vacas soropositivas foram descartadas 6,3 meses antes e 1,6 vezes mais que as soronegativas, devido ao abortamento. Em vacas descartadas por baixa produção de leite, o risco de descarte de uma vaca soropositiva foi duas vezes maior que o de uma vaca soronegativa, com adicional custo de reposição de animais (THURMOND; HIETALA, 1996).

O diagnóstico da neosporose associada ao aborto é difícil e caro (DUBEY; SCHARES, 2006; ORTEGA-MORA et al., 2006), embora seja diagnosticados em muitos países (DUBEY, 2003), existem poucos dados baseados na análise de um grande número de fetos abortados (DUBEY et al., 2007). Para que haja um diagnóstico acurado de abortamento, devido a neosporose, vários critérios devem ser considerados. Esses critérios de diagnóstico incluem idade gestacional compatível, condição pós-morte do feto para a análise, presença de processos inflamatórios compatíveis disseminados no feto, presença detectável do parasito na imunohistoquímica

ou PCR e ou sorologia evidente de infecção, ausência de outras causas que possam levar ao abortamento, "sorostatus" da propriedade confrontado com animais prenhes que abortaram contra os que não abortaram. Um feto infectado com *N. caninum* que tenha sido abortado e apresente lesões sutis tal como, uma encefalite focal, pode ter uma infecção acidental pelo agente e outras causas de aborto devem ser investigadas (ANDERSON et al., 2000; JENKINS et al., 2002). Os valores disponíveis são de aproximadamente 20% de todos os abortos bovinos no Brasil, na Califórnia, e da Holanda, sejam causados pela doença. A detecção de *N. caninum* no DNA ou em anticorpos no feto não pode ser indicativa para estabelecer a causa de aborto devido à elevada taxa de transmissão congênita assintomática de *N. caninum* em bovinos. O custo de cada perda fetal é variável, baseada sobre a idade, valor genético das fêmeas e capacidade da produção da progênie. O abate talvez represente a maior perda associados com a doença (DUBEY et al., 2007).

As causas de abortos em bovinos de corte são em geral menos conhecida do que o gado leiteiro, devido à dificuldade de acompanhamento em relação aos fetos, que são expulsos no primeiro trimestre, e assim não há avaliações precisas sobre as perdas (DUBEY et al., 2007).

2.9 Controle e profilaxia

Programas de controle a nível nacional, regional e agrícola estão sendo desenvolvidos em diferentes países para controlar a neosporose (DIJKSTRA et al., 2005; ORTEGA-MORA et al., 2006). A neosporose não é considerada uma doença zoonótica, e não tem medidas especiais recomendadas de um ponto de vista da saúde pública (DUBEY et al., 2007).

Devido às distintas influências de fatores de risco sobre a infecção e aborto na bovinocultura leiteira criados em diferentes regiões e sob diferentes condições de gestão, estratégias de controle precisam ser diferentes e deve sempre ser adotado com base de uma análise custo-benefício ao nível da exploração que leva em conta parâmetros como o tipo de rebanho (lácteos ou carne) e sistema de gestão, prevalência dentro do rebanho, a predominância da rota de transmissão, exploração existentes no interior da biossegurança, e

calcular os efeitos da infecção sobre a reprodução e desempenho produtivo. Como por exemplo, nas explorações relacionadas com o aborto endógeno, os esforços devem ser concentrados sobre a identificação dos animais infectados e seu abate ou reprodução seletiva. Em contrapartida, nas explorações com predominância transmissão transplacentária exógena, os esforços devem ser concentrados em reduzir as chances de infecção oral por oocistos de um hospedeiro definitivo (TREES; WILLIAMS, 2005).

Ainda não existe uma vacina capaz de induzir imunidade protetora completa em bovinos. No entanto, taquizoítos mortos lisado previnem infecção fetal em camundongos (LIDDELL et al., 1999) e uma vacina já comercializada nos Estados Unidos, contendo taquizoíto lisado (Neoguard™), possui uma eficácia moderada (INNES; VERMERULEN, 2006; WILLIAMS; TREES, 2006;).

Devido à importância da transmissão vertical na manutenção da infecção dentro de um rebanho e o potencial papel infeccioso dos tecidos de bovinos infectados pelo hospedeiro definitivo, uma das mais relevantes medidas para se tomar é a compra de bovinos livre de doença, e com registros de desempenho reprodutivo (DUBEY et al., 2007).

O controle de cães e de outros hospedeiros definitivos é recomendado para diminuir a contaminação através das fezes nas pastagens e forragens, reduzindo a infecção para o gado. Os cães devem se afastados inclusive dos celeiros onde armazena a alimentação dos animais. Além disso, a remoção adequada das fezes dos cães nas pastagens é recomendada. Nas explorações extensivas, o papel dos cães selvagens e outros canídeos como hospedeiros definitivos devem ser considerados. Nessas explorações, a presença de cães pode ajudar a reduzir o número de outros canídeos selvagens (GONDIM et al., 2004b; ROSYPAL; LINDSAY, 2005). A presença de cadelas gestantes ou com ninhadas também deve ser impedida nestas áreas (DUBEY et al., 2007).

Soma-se ao fato que hospedeiros definitivos para *N. caninum* não deveriam ter acesso aos tecidos infectados do hospedeiro intermediário. O risco deste tipo de infecção pode ser reduzido se os fetos abortados, as membranas fetais e de outros tecidos de animais potencialmente infectados fossem eliminados de forma segura sem que os cães e outros canídeos tivessem contato (DUBEY et al., 2007).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local

O presente estudo foi realizado no período de Agosto do ano 2006 até Agosto de 2008, no Município de Ilhéus (Latitude-14°47'20" e Longitude 39°02'58") que apresenta uma população de 222.127 habitantes (IBGE, 2000), inserido na Microrregião Ilhéus-Itabuna, no Estado da Bahia.

3.2 Cálculo da amostra e seleção dos cães

A população canina foi estimada, através da proporção de 12 cães para cada 100 habitantes (CIFUENTES, 1998), perfazendo um estimativa total de 26.650 cães. O cálculo da amostra baseou-se em uma estimativa de prevalência de 12,1% (Jesus et al., 2006), com erro tolerável de 3,0% e intervalo de confiança de 95%, resultando em um "n" de 446 animais.

Ao final fizeram parte do estudo 471 cães, selecionados por conveniência, sendo (399) domiciliados e (72) errantes (capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Ilhéus). Os animais foram categorizados por faixa etária (até 12 meses e acima de 12 meses), pelo sexo, raça e se pertencentes a área urbana, periurbana e rural, segundo Fernandes et al. (2006).

3.3 Colheita e processamento das amostras.

O sangue, após autorização dos proprietários, foi coletado através de punção da veia cefálica e colocado em um tubo de vidro siliconizado (vacutainer®), sem anticoagulante. O material foi identificado, mantido sob refrigeração e enviado ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Santa Cruz onde, foi centrifugado a 350 x g por 10 minutos e o soro acondicionado em criotubos de 2,0 ml, mantidos sob a temperatura de -20° C. As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses nos Animais da Universidade Federal da Bahia, onde foram realizadas a produção de antígeno de *N. caninum* e a técnica de

Imunofluorescência indireta (IFI) para a detecção de anticorpos contra o parasito, segundo metodologia descrita por Yamane et al. (1998).

Taquizoítos da cepa NC-1 (DUBEY et al., 1988) foram mantidos em monocamadas de células Vero, cultivadas em meio RPMI com L-glutamina contendo 5% de soro equino e antibióticos (penicilina e estreptomicina). Quando cerca de 80% das células estavam infectadas, os taquizoítos eram removidos, purificados por meio de passagens em seringa acoplada a filtro de 5µm, e diluídos em PBS para uma concentração final de 500-1000 taquizoítos/µL. Os taquizoítos foram colocados em lâminas de 12 poços de 5 mm, as quais foram submetidas à secagem em estufa à 37° C, sendo fixadas em metanol e congeladas à -20° C até a realização dos testes.

Os soros dos cães foram testados em uma diluição inicial de 1:50, como ponto de corte, segundo proposto por Dubey et al. (1988). Os soros foram acrescentados às lâminas contendo antígeno, incubados à 37° C por 30 minutos, sendo lavados por 5 minutos em uma cuba contendo PBS. Em seguida, foram adicionados aos poços anticorpos anti-IgG de cão conjugados ao isotiocianato de fluoresceína (FITC anti-dog IgG, SigmaTM), sendo as lâminas incubadas e lavadas como descrito na etapa anterior. As lâminas foram montadas com glicerina e lamínula, e examinadas em microscópio Binocular BX 51 (OlympusTM) com sistema de epifluorescência, sendo considerada positiva uma completa fluorescência na periferia dos taquizoítos (DUBEY et al., 1988). Para a titulação, foram utilizadas diluições até 1:400. Em cada lâmina foram utilizados controles negativo e positivo, que consistiram de soros pré e pós-infecção de um cão que recebeu tecido bovino contendo cistos de *N. caninum* (Gondim et al., 2005).

3.4 Coleta, processamento dos dados e análise estatística

Durante a colheita de sangue foi aplicada aos proprietários, dos cães domiciliados, uma entrevista estruturada, para composição de um banco de dados, referente a questões epidemiológicas da doença. Os dados foram tabulados no pacote estatístico EPI INFO 3.5.1 (DEAN; ARNET 2008) e analisados utilizando o teste estatístico do qui-quadrado com correção de

Yates ou teste exato de Fisher (SAMPAIO 1998). Foi calculado o *odds ratio* da análise bivariada com medidas de associação e intervalo de confiança de 95%. Ao final, realizou-se uma análise multivariada de regressão logística não-condicional, sendo o modelo inicial constituído pelas análises bivariadas com “p” inferior a 20%, e o final construído pela retirada das variáveis (modelo *backward*) de acordo com os valores de “p”ajustado pelo teste de Wald’s (HOSMER; LEMSHOW, 1989).

4. RESULTADOS

Dos 471 soros analisados para a detecção de anticorpos IgG contra-*N. caninum* foram detectados 10,0% (47/471) de reações positivas, e o título de anticorpos variou entre 50 e 200, sendo 8 (17%) cães com título 50, 13 (27,7%) com 100 e 26 (55,3%) com título 200, não sendo observado nenhum animal com sintomatologia clínica compatível com a infecção.

Não foram observadas diferenças significativas com relação ao sexo, raça e tipo de alimentação ($p>0,05$). No modelo final de regressão logística (Tabela 1) observou-se que o contato com bovinos e a condição errante são fatores de risco para a infecção por *Neospora caninum*, nos cães do presente estudo, entretanto durante a construção do modelo verificou-se que a variável faixa etária, área e hábito de caça dos animais domiciliados, sugerem isoladamente a formulação de hipóteses para elucidação da dinâmica da infecção no Município.

Com relação à faixa etária foi observada uma positividade de 7,0% (6/86) nos animais com até 12 meses e de 10,6% (41/385) nos superiores a 12 meses, não havendo diferença significativa ($p>0,05$) entre os animais avaliados (Tabela 2), assim como na distribuição por área, sendo 12,9% (28/217) na área periurbana, 10,3% (3/29) na rural e 7,1% (16/225) na urbana (Tabela 3).

Tabela 1. Modelo final gerado pela análise multivariada das variáveis associadas a infecção em cães no Município de Ilhéus, Bahia.

Variável	Odds Ratio	95%	Intervalo de Confiança	Coeficiente	Valor de "p"
Contato com					
Bovinos (sim/não)	<u>81,9590</u>	<u>19,1690</u>	<u>350,4230</u>	4,4062	<u>0,0001</u>
Errante (sim/não)	<u>30,3000</u>	<u>6,6153</u>	<u>138,7821</u>	3,4111	<u>0,0001</u>
Constante	*	*	*	-5,0206	<u>0,0001</u>

Tabela 2 - Presença de anticorpos contra-*Neospora caninum* no soro de cães com idade até 12 meses e maior que 12 meses no município de Ilhéus, Bahia, Brasil

Idade	Nº de animais	Positivo		Negativo	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Até 12 meses	86	6	7,0	80	93,0
> 12 meses	385	41	10,6	344	89,4
Total	471	47	10,0	424	90,0

$p=0,41$; $\chi^2 0,68$; OR 1,59; $0,65 < OR < 3,87$

Tabela 3 – Presença de anticorpos contra-*Neospora caninum* no soro de cães de áreas urbana, periurbana e rural do município de Ilhéus, Bahia, Brasil

Áreas	Nº de animais	Positivo		Negativo	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Urbana	225	16	7,1	209	92,8
Periurbana	217	28	12,9	189	87,1
Rural	29	3	10,3	26	89,7
Total	471	47	10,0	424	90,0

$p=0,13$; $\chi^2 4,13$

Os animais domiciliados que possuem o hábito de caça apresentaram uma maior soropositividade 17,2% (11/64), que os que não caçam 7,2% (24/335) ($p=0,018$), com 2,7 mais chance de infecção (Tabela 4).

Tabela 4 - Presença de anticorpos contra-*Neospora caninum* no soro de cães distribuídos segundo o hábito ou não de caça de animais domiciliados do município de Ilhéus, Bahia, Brasil.

Hábito de caça	Nº de animais	Positivo		Negativo	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Sim	64	11	17,2	53	82,8
Não	335	24	7,2	311	92,8
Total	399	35	8,8	364	91,2

$p=0,018$; $\chi^2 5,55$; OR 2,69; $1,24 < OR < 5,81$

5. DISCUSSÃO

Resultados de prevalência similares do presente estudo foram verificados por Mineo et al, (2001) em Minas Gerais com 6,5% (11/136), Cañón-Franco et al. (2003), em Rondônia com 8,3%, Fernandes et al. (2004) em Uberlândia com 14% (63/450). Azevedo et al. (2005) em Campina Grande na Paraíba com 8,4% (24/286) e de Jesus et al. (2006) nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas no Estado da Bahia com 12,1% (50/415).

Entretanto, resultados superiores foram observados por Gennari et al, (2002) com 18% (200/1.111), Souza et al. (2002), na região norte do Estado do Paraná com 21,6%, Oliveira et al. (2004), em Campo Grande, Mato Grosso do Sul com 26,5% (65/245), Teixeira et al. (2006), em São Luis no Maranhão com 45% (45/100); Romanelli et al. (2007) no município de Guarapuava, Estado do Paraná com 29,1% (7/24), e por Boaventura et al. (2008), em Goiânia, no Estado de Goiás com 32,9 % (65/197).

Estes resultados podem ser atribuídos ao tipo de população amostrada, com maior exposição a fatores de risco, sendo cães de fazenda, cães que consomem frequentemente carne e numerosa população errante.

A ausência de sintomatologia corrobora com outros estudos epidemiológicos, no Brasil, em que não foi observada a forma clínica da doença (AZEVEDO et al., 2002; SOUZA et al., 2002; CAÑÓN-FRANCO et al., 2003, FERNANDES et al., 2004; TEIXEIRA et al., 2006). Com relação a titulação Barber; Trees (1996) sugerem que altos títulos (>800) raramente ocorrem em animais sadios e são um forte indício de neosporose clínica, o que é sustentado por nossos achados, onde a maior titulação foi 200, contudo Romanelli et al. (2007) observaram cães com titulações superiores a 800, sem manifestação clínica da doença e Basso et al. (2001) verificaram que os títulos de anticorpos de cães com sintomatologia clínica não diferem dos sadios.

O maior risco de infecção de cães errantes (Tabela 1) em relação aos domiciliados, pode ser explicada pela maior possibilidade de exposição destes animais a diferentes fontes de infecção, tais como água, solo ou alimentos contaminados com oocistos esporulados, ingestão de carne crua (PATITUCCI et al., 2001) e a predação de animais reservatórios (WOUDA et al. 1999, de

JESUS et al. 2006). Resultados semelhantes foram observados por Cañón-Franco et al. (2003) e Gennari et al. (2002) com percentual cinco e duas vezes maior em soropositivos errantes que domiciliados, respectivamente. Diferentemente de Jesus et al. (2006) não observaram diferenças significativas entre a população de animais domiciliados e errantes, sugerindo que o efeito da transmissão vertical e conseqüente criação de animais assintomáticos justificasse a paridade encontrada, assim como Boaventura et al. (2008).

Com relação ao contato com os bovinos (Tabela 1) o consumo membranas fetais de bovinos é uma importante fonte de infecção horizontal de *N. caninum* em cães, uma vez que o parasita foi encontrado na natureza através de placentas contaminadas (BARTLEY et al., 2006; FIORETTI et al., 2000), e cães alimentados a partir de placentas de vacas soropositivas se infectaram (DIJKSTRA et al., 2001a), todavia, o consumo de fetos bovinos abortados não parece ser uma importante fonte de infecção pelo *N. caninum* em cães (DIJKSTRA et al., 2002), sem contar que em um rebanho o número de placentas e materiais fetais disponíveis é muito maior que o de material oriundo de abortamento.

Analisando a faixa etária (Tabela 2), a ausência de significância está de acordo com os estudos de Patitucci et al. (2001); Wanha et al. (2005); de Jesus et al. (2006); Romanelli et al. (2007), assim como Varandas et al. (2001) que sugerem que cães de qualquer idade estão sujeitos ao mesmo risco de infecção. Contudo é digno de nota que a categoria “idade superior a 12 meses”, no presente estudo, apresentou 51,43% mais soropositivos, corroborando com as evidências de infecção pós-natal demonstradas no modelo final da regressão logística e no hábito de caça dos animais domiciliados, assim como demonstrado nos achados de Fernandes et al. (2004), que também observaram uma tendência de aumento, sem diferença significativa.

Desta forma, embora os resultados não apontem para uma prevalência significativamente superior com o aumento da idade como nos estudos de Barber; Trees (1998); Wouda et al. (1999); Basso et al. (2001b); Souza et al. (2002); Azevedo et al. (2002) e Oliveira et al. (2004), sua análise se faz necessária, para o auxílio na elucidação da forma de infecção dos animais, como no estudo Cañón-Franco et al. (2003) que também não observaram

diferença significativa com relação a idade, mas verificaram que nenhum animal com idade inferior a seis meses eram soropositivos, sugerindo a infecção pós-natal nos animais analisados, rota de infecção esta que parece ser a mais frequente em cães uma vez que a taxa de transmissão vertical observada em estudos experimentais em cães é baixa (BARBER; TRESS, 1998).

A não significância dos resultados obtidos neste estudo quanto às áreas urbana, periurbana e rural, pode ser atribuída a uma exposição equivalente dos cães aos fatores de risco nos três ambientes analisados. Contudo ao analisar os dados verifica-se que às áreas periurbana e rural do município de Ilhéus são formados em sua totalidade por animais domiciliados com acesso às ruas possibilitando contato com alimento contaminado, oocistos esporulados e bovinos (AZEVEDO et al. 2002), o que justifica a maior positividade nestas áreas, em relação a urbana (tabela 3). Por outro lado, na área urbana, além de possuírem cães domiciliados, com acesso às ruas, 95% dos animais errantes amostrados faziam parte desta área, constituindo 30,67% (69/225) do seu universo sendo responsável pela soropositividade de 75% dos animais deste grupo, o que provavelmente determinou a igualdade estatística observada.

Uma evidência para esta influência foi o estudo de Fernandes et al. (2004) que observaram que os cães da área periurbana e rural foram mais soropositivos do que os da urbana ($p < 0,01$) os hábitos dos animais das áreas periurbana e rural, se assemelhavam aos de Ilhéus, contudo todos os cães de área urbana eram apenas domiciliados, sem a presença de errantes.

A diferença significativa encontrada na prevalência de anticorpos contra *N. caninum* tendo como variável o hábito de caça em animais domiciliados (Tabela 4) pode ser atribuída à ingestão de cistos teciduais presentes em roedores, pássaros e outros possíveis reservatórios de *N. caninum* (DUBEY; LINDSAY, 1996; COSTA et al., 2009), como têm demonstrado experimentalmente Lindsay et al. (1999) e McAllister et al. (1998), por alimentação de cães com camundongos infectados com cistos teciduais. Soma-se ao fato que animais domiciliados com hábito de caça, tendem a ter um acesso maior a possíveis áreas contaminadas do que os domiciliados restritos.

Em regra geral espera-se uma prevalência maior nos cães oriundos de área rural em relação a urbana (WOUDA et al., 1999; AZEVEDO et al. 2005; GUIMARÃES et al., 2004), em função principalmente do ciclo cão-ovino-cão das fazendas (DIJKSTRA et al., 2001a), e o hábito de caça dos mesmos (WOUDA et al., 1999) a hospedeiros em potencial (COSTA et al., 2009).

Com relação ao sexo a ausência de diferença significativa ($p=0,49$) vem de encontro com a maioria dos estudos soropidemiológicos em cães (FERNANDES et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2004; de JESUS et al., 2006; TEIXEIRA et al., 2006; ROMANELLI et al., 2007; BOAVENTURA et al. 2008), diferindo de Wouda et al. (1999) que observaram uma soropositividade maior em fêmeas que em machos ($p<0,001$).

Não foi observada diferença significativa com relação a raça ($p=0,55$), onde 12,3% (58/471) dos cães do estudo tinham raça definida, sendo apenas quatro soropositivos, distribuídos a três raças Pastor Alemão (2/5), Pit Bull (1/6) e Rottweiler (1/3), o que corrobora com os estudos de Wouda et al. (1999), Fernandes et al. (2004); Cañón-Franco et al. (2003); de Jesus et al. (2006) e Romanelli et al. (2007).

Não foi observada diferença significativa com relação ao consumo de carne e comida caseira ($p>0,05$), o que difere dos estudos de Patitucci et al. (2001); Cañón-Franco et al. (2003) e de Oliveira et al. (2004).

6. CONCLUSÕES

Após análise dos resultados pode-se concluir que:

- As características ambientais e sócio-culturais da região favorecem a manutenção da infecção pelo hábito de caça e facilidade de interação dos cães com bovinos;
- A enfermidade deverá ser incluída no diagnóstico diferencial de enfermidades neurológicas em cães da região.

7.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

AZEVEDO, S.S.; BATISTA, C.S.A.; VASCONCELLOS, S.A.; AGUIAR, D.M.;RAGOZO, A.M.A.; RODRIGUES, A.A.R.; ALVES, C.J.; GENNARI, S.M. Soroepidemiology 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, 2007.

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

BARR, B.C.; CONRAD, P. A.; BREITMEYER, R.; SVERLOW, K. W.; ANDERSON,M.L.; REYNOLDS, J.; CHAVET, A. E.; DUBEY, J.P.; ARDANS, A. A. Congenital infection in calves born from cows that had previously aborted infected fetuses:Four cases (1990-1992). ***Journal of the American Veterinary Medical Association***. v. 202, p. 113-117, 1993.

BARR, B.C.; CONRAD, P.A.; SVELOW, K; TARANTAL, A.F.; HENDRICKX, A.G. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. ***Laboratory Investigation, Baltimore***. v.71, p236-242, 1994.

BARTLEY, P. M.; WRIGHT, S.; SALES, J; CHIANINI, F. ; BUXTON, D. ; INNES, E. A. Long-term passage of tachyzoites in tissue culture can attenuate virulence of *Neospora caninum* in vivo. ***Parasitology***, v.133, n.4, p.421–432, 2006.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; MOORE, P.; RAMBEAU, M.; UNZAGA, J. M.; CAMPERO, C.; BACIGALUPE, D.; DUBEY, J. P. Prevalence

of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban áreas of Argentina. ***The Journal of Parasitology***, v. 87, n. 4, p. 906-907, 2001.

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

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

BOAVENTURA, C. M.; OLIVEIRA, U. S. F. de; MELO, D. P. G.; BORGES, L. M. F.; SILVA, A. C. Prevalência de *Neospora caninum* em Goiânia. ***Revista de Patologia Animal***, v. 37, n. 1, p. 15-22, 2008.

BUXTON, D.; McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. ***Trends in Parasitology***, v. 18, n. 12, p. 546-552, 2002.

CALIL, R. S. ***Epidemiologia da neosporose canina e suas implicações na clínica médica de pequenos animais***. Monografia (Especialização em Clínica Médica e cirurgia de pequenos animais) – Universidade Castelo Branco. Faculdade de Medicina Veterinária, São Paulo, 2006

CANTILE, C.; ARISPICI, M. Necrotizing cerebellitis due to *Neospora caninum* infection in a old dog. ***Journal of Veterinary Medicine***, v.49, n.1, p. 47-50, 2002.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; BERGAMASCHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A., SOUZA, S.L.P., SILVA, J.C.R.; PINTER, A.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. ***Veterinary Parasitology***. v.115, n.1, p.71-74, 2003.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Protozoa and Its 18 Phyla. **Microbiology Review**, v. 57, n. 3, p. 953-994, 1993.

CHEADLE, M.A.; LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v.85, n.4, p.325-330, 1999.

CIFUENTES, E. E. Program for the elimination of urban rabies in Latin America. **Review Infection Disease**, v.10, n.4, p. 689-692, 1988.

COLE, R.A, LINDSAY, D.S, BLAGBURN, B.L, SORJONEN, D.C, DUBEY, J.P. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **Journal of Parasitology**, v.81, n.2, p.208-11,1995.

CURRENT, W. L.; UPTON, S. J.; LONG, P. L.: Taxonomy and life cycles. In: *Coccidiosis of man and domestic animals*. **Ed. Boca Raton**, Chapter 1, p. 2-16, 1990.

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

DE SOUZA, S.L.P., GUIMARÃES, J.S., FERREIRA F.; DUBEY, J.P.; GENARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Paraná, Brazil. **Journal Parasitology**, Lawrence, v.88, n° 2, p. 408-409, 2002.

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

DIJKSTRA, T., BARKEMA, H.W., EYSKER, M., WOUDA, W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. ***International Journal for Parasitology***, v.31, n.2, p.209-215, 2001b.

DIJKSTRA, T.; BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.. Control of bovine neosporosis: experiences from The Netherlands. Session M. Diagnosis and control of protozoan-associated abortion in ruminants. ***Veterinary Parasitology***, New Zealand p. 191, 2005.

DIJKSTRA, T.; EYSKER, M, SCHARLES, G., F. J. CONRAD, H.S, WOUDA, W. and BARKEMA H. W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. ***International Journal for Parasitology***, v.31, n.8, p. 747–752, 2001a.

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

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

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

DUBEY, J.P.; BARR, B.C.; BARTAC,J.R.; BJERKAES°,sd I.; BJÖRKMAN,C.; BLAGBURNF, B.L.; BOWMAN, D.D.; BUXTON, D.; ELLIS, J.T.; HEMPHILL, B.;HILL, D.E.; HOWEC, D.K.; JENKINSA, M.C.; KOBAYASHIL, Y.; KOUDELAM,B.;MARSH, A.E.; MATTSON, J.G.; MCALLISTER, M.M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L.D.; SPEER, C.A.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; UPTON, S.J.; WILLIAMS, D.J.L.; LINDSAY, D.S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia ***International Journal for Parasitology***, v.32, p. 929–946,2002a.

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

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A. TOPPER, M. J.; UGLLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. ***Journal of the American Veterinary Medical Association***, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1998a.

DUBEY, J. P.; DOROUGH, K. R.; JENKINS, M.C.; LIDDELL, S.; SPEER, C. A.; KWORK, O. C. H.; SHEN, S. K. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. ***International Journal for Parasitology***, v. 28, n. 8, p.1293-1304. 1998b.

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 Veterinary Medical Association***, v.193, p.1259-63, 1998c.

DUBEY, J. P.; HILL, D. E.; LINDSAY, D. S.; JENKINS, M. C.; UGGLA, A.; SPEER, C. A. *Neospora caninum* and *Hammondia heydorni* are separate species. ***Trends in Parasitology***, v. 18, n. 2, p. 66-69, 2002b.

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, LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. ***Veterinary Parasitol.***,v.67,n.1, p.1-59, 1996.

DUBEY, J.P, LINDSAY, D.S. Neosporosis. ***Parasitology Today***.v.9,p.452-8. 1993.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. ***Veterinary Parasitology***, v.141, n.1-2, p.1–34,2006.

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

DUBEY, J. P.; SREEKUMAR, C.; KNICKMAN, E.; MISKA,K.B.; VIANNA, M.C.B.; KWOK, O.C.H.; HILL, D.E.; JENKINS, M.C.; LINDAY, D.S.; GREENE, C.E. Biologic, morphologic, and molecular characterization of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. **International Journal for Parasitology**, v.34, p.1157–1167, 2004.

FERNANDES, B.C.; [GENNARI, S. M.](#); [SOUZA, S. L. P.](#); [CARVALHO, J. M.](#); [OLIVEIRA, W. G.](#); [CURY, M. C.](#) Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural áreas of the city of Urbelândia, Minas Gerais- Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, n 1-2, p. 33-40, 2004.

FIORETTI, D. P.; ROSIGNOLI, L., RICCI, G.; MORETTI, A., PASQUALI, P., and POLIDORI, G. A. *Neospora caninum* infection in a clinically healthy calf: parasitological study and serological follow-up. **Journal Veterinary Medical**, v.47, n.1, p.47–53,2000.

GENNARI, S.M. ; D'AURIA, S.N; CARDOSO, S.M.; KWOK, O.C.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.106, n.2, p 177-179, 2002.

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

GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M., MATEUS-PINILLA, N. E.; PITT, W. C.; MECH, L. D.; NELSON, M. E.. Transmission of *Neospora caninum* between

wild and domestic animals. ***Journal of Parasitology***, v.90, n.6, p.1361-1365, 2004b.

GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; PITT, W. C.; ZEMLICKA, D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. ***International Journal for Parasitology***, v.34,n.2, p.159–161, 2004a.

HEMPHILL, A. The host parasite relationship in neosporosis. ***Advances in Parasitology***, v.43, p.47-104, 1999a.

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

INNES, E.A.; VERMERULEN, A.N. Vaccination as a control strategy against the coccidial parasites *Eimeria*, *Toxoplasma* and *Neospora*. ***Parasitology***, v.133, p.145–168, 2006.

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

JENKINS, M.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. ***International Journal for Parasitology***, v. 32, n.5, p. 631-636, 2002.

LIDDELL, S.; JENKINS, M.; COLLICA, C.M.; DUBEY, J.P. Prevention of vertical transfer of *Neospora caninum* in BALB/c mice by vaccination. ***Journal of Parasitology***, v.85, n.6, p. 1072–1075, 1999.

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

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). **Journal of Parasitology**, v.76, n.3, p.410–413,1990.

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

LINDSAY, D. S.; LENZ, S. D. ; COLE, R. A. ; DUBEY, J. P.; BLAGBURN, B. L. Mouse model for central nervous system *Neospora caninum* infections. **The Journal of Parasitology**, v.81, n.2, p.313–315, 1995.

MARSH, A.E, BARR, B,C, PACKHAM, A.E, CONRAD, P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa, Sarcocystidae). **Journal of Parasitology**,v.84, p.983±91, 1998.

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

MINEO, T. W, SILVA, D. A. O.; COSTA, G. H. N.; VON ANCKEN, A. C. B.; KASPER, L. H.; SOUZA, M. A.; CABRAL, D. D.; COSTA A. J.; MINEO, J. R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.98, n.4, p.239-245, 2001.

NAGULESVARAM, A.; CANNAS, A.; KELLER, N.; VONLAUFEN, N.; BJORKMAN, C.; HEMPHILL, A. Vero cell surface proteoglycan interaction with the microneme protein NcMIC (3) mediates adhesion *Neospora caninum* tachyzoites to host cells unlike that in *toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, Oxford,v.32,n°6, p 695-704, 2002

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

ORTEGA-MORA, L. M.; FERNANDÉZ-GARCÍA, A.; GÓMEZ-BAUTISTA, M. Diagnosis of bovine neosporosis: recent advances and perspectives. **Acta Parasitology**. v.51,p.1–14, 2006.

OWEN, M. R. & TRESS, A. J. Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* from chronically infected house (*Mus musculus*) and field (*Apodemus sylvaticus*) mice determined by polymerase chain reaction. **Parasitology**, v. 116, n. 4, p. 299-304, 1998.

PASQUALI, P.; MANDARA, M. T.; ADAMO, F.; RICCI, G.; POLIDORI, G. A.; DUBEY, J. P. Neosporosis em a Dog em Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 77, n. 4, p. 297-299, 1998.

PETERS, M.; LÜTKEFLS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v.31, n.10, p.1144–1148, 2001.

REGIDOR-CERRILLO, J. S. ;PEDRAZA-DÍAZ, M. ; GÓMEZ-BAUTISTA; ORTEGA-MORA, L. M. Multilocus microsatellite analysis reveals extensive genetic diversity in *Neospora caninum*. **Journal of Parasitology**, v.92, n.3, p.517–524,2006.

ROMANELLI, P.R.; FREIRE, R.L.; VODOTTO, O.; MARANA, E.R.M.;OGAWA, L.;DE PAULA, V.S.O.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brasil. **Veterinary Science**. v. 82, n.2, p.202-207, 2007.

ROSYPAL, A. C.; LINDSAY, D. S.. The sylvatic cycle of *Neospora caninum*: where do we go from here? ***Trends in Parasitology***. v.21, p.439–440,2005.

SAWADA, M.; PARK, C.H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I.; UMEMURA, T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. ***The Journal Veterinary Medical Science***, v. 60, n. 7, p. 853-854, 1998.

SCHARES, G.; HEYDORN, A. O. ; CÜPPERS A.; CONRATHS, F. J., and MEHLHORN, H. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. ***Parasitology Research***, v.87, p. 808–816, 2001.

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 ***Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia***, v. 58, n. 4, p.685-687, 2006.

THURMOND, M. C.; HIETALLA, S. K. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. ***American Journal of Veterinary Research***, v. 57, n. 11, p. 1559-1562, 1996.

THURMOND, M. C.; HIETALLA, S. K. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. ***Journal of the American Veterinary Medical Association***, v. 210, n. 5, p. 672-674, 1997b.

TREES, A. J.; McALLISTER, M. M., GUY, C. S.; McGARRY J. W.; SMITH, R. F.; WILLIAMS, D. J. L. *Neospora caninum*: oocyst challenge of pregnant cows. ***Veterinary Parasitology***, v.109, n.1-2, p.147–154,2002.

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

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Neosporosis in the United Kingdom. ***International Journal of Parasitology***, v.30, p.891–893, 2000.

UGGLA, A, STENLUND, S, HOLMDAHL, O.J. ; JAKUBEK; E. B.; THEBO, P.; KINDAHL H. ; BJÖRKMAN C. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. ***International Journal of Parasitology*** ,v.28, n.9, p.1467±72, 1998.

VA´CLAVEK, P.; SEDLA, K.; H°URKOVA, L.; VODRA´ZKA, P.; SEBESTA, R. S.; KOUDELA, B. Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies. ***Veterinary Parasitology***, v. 143, n. 1, p. 35-41, 2007

WANHA, K et al. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. ***Veterinary Parasitology***. v.128, n°3-4, p 189-193, 2005.

WILLIAMS, D.J.L.; TREES, A.J. Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetal infection in *Neospora caninum* infected cattle. ***Parasite Immunology***, v.28, n.3, p. 61–67,2006.

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