



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM REBANHOS
CAPRINOS DAS REGIÕES CENTRAL E OESTE DO RIO GRANDE DO NORTE**

ZULIETE ALIONA ARAÚJO DE SOUZA FONSECA

Médica Veterinária

MOSSORÓ - RN
FEVEREIRO - 2012

ZULIETE ALIONA ARAÚJO DE SOUZA FONSECA

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM REBANHOS
CAPRINOS DAS REGIÕES CENTRAL E OESTE DO RIO GRANDE DO NORTE

Dissertação apresentada à Universidade
Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA),
campus de Mossoró, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Dra. Sílvia Maria Mendes Ahid
– UFERSA

Co-orientador: Dr. Antônio Cézar Rocha
Cavalcante – EMBRAPA

MOSSORÓ - RN
FEVEREIRO - 2012

**Ficha catalográfica preparada pelo setor de classificação e
catalogação da Biblioteca “Orlando Teixeira” da UFERSA**

F676p	Fonseca, Zuliete Aliona Araújo de Souza. Prevalência de anticorpos anti-<i>Neospora caninum</i> em rebanhos caprinos das regiões central e oeste do Rio Grande do Norte. / Zuliete Aliona Araújo de Souza Fonseca. -- Mossoró, 2012. 50f.: il. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal. Área de Concentração: Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Orientador: Profª. Dra. Sílvia Maria Mendes Ahid. Co-orientador: Dr. Antônio Cezar Rocha Cavalcante. 1. Protozoário. 2. Neosporose. 3. Aborto. 4. Fatores de risco. I. Título. CDD:579.4
-------	---

Bibliotecária: Vanessa de Oliveira Pessoa

CRB15/453

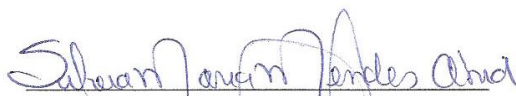
ZULIETE ALIONA ARAÚJO DE SOUZA FONSECA

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM REBANHOS
CAPRINOS DAS REGIÕES CENTRAL E OESTE DO RIO GRANDE DO NORTE

Dissertação apresentada à Universidade
Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA),
campus de Mossoró, como parte das
exigências para a obtenção do título de
Mestre em Ciência Animal.

APROVADA EM: 02/02/2012

BANCA EXAMINADORA



Dra. Sílvia Maria Mendes Ahid (UFERSA)
Orientadora – Presidente



Dr. Valter Ferreira de Andrade Neto (UFRN)
Primeiro Conselheiro



Dr. Raimundo Alves Barreto Júnior (UFERSA)
Segundo Conselheiro

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

ZULIETE ALIONA ARAÚJO DE SOUZA FONSECA – filha de José Bernardino de Souza e de Altemira Araújo de Souza nasceu no dia 13 de julho de 1982, na cidade de Mossoró, Estado do Rio Grande do Norte. Concluiu o ensino médio no Colégio Abel Freire Coelho, Mossoró-RN. Ingressou no curso de Medicina Veterinária no ano de 2004, na Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), concluiu a graduação em 2009. Foi aluna de iniciação científica por dois anos consecutivos, sendo orientada pela Dra. Sílvia Maria Mendes Ahid da disciplina Parasitologia Veterinária. Concluiu Especialização em Saúde Coletiva pela FIP (Faculdades Integradas de Patos) no ano 2011. Em Janeiro de 2010 foi selecionada pelo Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal pela UFERSA, enfocando como linha de pesquisa os aspectos que estão relacionados à sanidade animal envolvendo a parasitologia.

A minha família.
Ao meu marido Silvio Jânio.
Aos meus orientadores.

DEDICO

Os objetivos traçados na vida só serão alcançados com esforço, dedicação e acima de tudo vontade de o fazer realizar...

(Zuliete Aliona)

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as oportunidades e alegrias dadas a mim;

Ao meu marido Silvio Jânio pelo incentivo em toda jornada da minha vida e pelo carinho, paciência e amor dedicado a mim;

Aos meus pais, José Bernardino de Souza e Altemira Araújo de Souza, por todos os esforços, dedicação e demonstração de humildade, amor e carinho;

Aos meus irmãos, Zanandréia, Zilka e Zildeirton por depositarem confiança e respeito;

Aos meus tios por acreditarem que eu era e sou capaz, em especial ao Josué Dantas e Elena Dantas que com carinho demonstram todo esse orgulho que sentem em meu nome;

À Profa. Dra. Sílvia Maria Mendes Ahid, pelo incentivo ao aprendizado, companheirismo e acima de tudo confiança em meu trabalho. Muito obrigada querida!;

Ao Dr. Cézar Cavalcante e Luiz Vieira, pela tranquilidade a qual trataram o meu projeto e acima de tudo orientações indispensáveis a minha vida profissional;

A todos os professores que participaram desta etapa da minha história;

Aos colegas e verdadeiros amigos que formei durante a graduação e continuam ao meu lado até hoje nessa nova jornada acadêmica;

Ao amigo Alcides (*in memoriam*) pela sua dedicação ao seu trabalho e pelo carinho que tratava todos os alunos da UFERSA;

Ao Ricardo Wagner de Almeida Vitor e Rosa da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) que me receberam e fizeram o máximo para concluir meu aprendizado;

Aos colegas de turma, pois a convivência do dia a dia nos faz conhecer e cultivar novas amizades;

Aos que fazem e fizeram parte do Laboratório de Parasitologia Animal pela convivência ao longo de seis anos juntos;

Aos alunos que tanto me fizeram aprender e contribuíram para minha realização profissional durante aulas ministradas na graduação;

A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), especialmente a EMBRAPA Caprinos e Ovinos pelo desempenho na realização deste projeto;

A Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural (EMATERN), pela ajuda fornecida durante as coletas das amostras;

Ao CNPq pelos recursos fornecidos ao projeto de Caracterização Zoonosológica da Caprinocultura do Rio Grande do Norte, o qual este projeto está inserido;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa;

Enfim, a todos, que contribuíram direta ou indiretamente para que essa etapa da minha vida fosse vencida.

PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM REBANHOS CAPRINOS DAS REGIÕES CENTRAL E OESTE DO RIO GRANDE DO NORTE

FONSECA, Zuliete Aliona Araújo de Souza. **Prevalência de anticorpos Anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos das regiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte**. 2012. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2012.

RESUMO - A neosporose é uma doença causada pelo protozoário *Neospora caninum*, que possui ampla variedade de hospedeiros promovendo alterações reprodutivas e neurológicas. Apresenta em seu ciclo de vida, hospedeiros intermediários, dentre os quais estão os caprinos, e hospedeiros definitivos, representado pelos canídeos. O estudo foi desenvolvido no estado do Rio Grande do Norte em parceria com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA). Foram visitadas e pesquisadas duas Mesorregiões produtoras (Central e Oeste Potiguar), com objetivo de realizar estudo epidemiológico de anticorpos anti-*N. caninum* aplicou-se questionários de caracterização zoonosológica, além da coleta de sangue para obtenção de soros, estes foram estocados a -20°C, para posterior análise na EMBRAPA Gado de Corte. As amostras de soro foram submetidas à técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI $\geq$ 1:50) e avaliadas utilizando análise univariada e multivariada para verificação dos fatores de risco. Os resultados sorológicos demonstraram elevada presença de anticorpos anti-*N. caninum*, com prevalência de 36,5% variando de zero a 100% dentro das propriedades estudadas. Dentre os fatores de risco, o sistema de criação foi o que apresentou o maior índice de correlação com o agente, seguida da fonte de água e presença de cães selvagens as instalações, influenciando diretamente na presença do protozoário na caprinocultura Norte rio grandense.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Protozoário, Neosporose, Aborto, Fatores de risco.

PREVALENCE OF ANTI-*Neospora caninum* ANTIBODIES IN GOAT HERD OF THE CENTRAL REGION AND WEST OF RIO GRANDE DO NORTE

FONSECA, Zuliete Aliona Araújo de Souza. **Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in goat herd of the Central Region and West of Rio Grande do Norte.** 2012. 50f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2012.

SUMMARY - The neosporosis is a disease caused by protozoan *Neospora caninum*, which has wide range of hosts, it promoting reproductive and neurological changes. Presents in its life cycle, intermediate hosts between they are the goats, and definitive hosts represented by the canids. The study was conducted in the state of Rio Grande do Norte in partnership with Brazilian Company of Agricultural Research. Were visited and surveyed two Mesoregions producing (Central and West), with aim of perform epidemiological study of antibodies anti-*N. caninum*, questionnaires were applied to characterization zoosanitary, beyond of blood collection to obtain serum. The sera were stored at -20°C until analysis at Embrapa Beef Cattle. Serum samples were subjected to indirect immunofluorescence (IFAT $\geq$ 1:50) and evaluated using univariate and multivariate analysis for verification of risk factors. The serological results demonstrated high presence of antibodies anti-*N. caninum*, with prevalence of 36.5% ranging from zero to 100% between the properties studied. Among the risk factors, the system of creation presented a highest correlation with the agent, followed by water source and presence of wild dogs in the facilities, directly influencing the presence of protozoan in goat herd of Rio Grande do Norte.

INDEX TERMS: Protozoan, Neosporosis, Abortions, Risk factors.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> por idade e sexo, em rebanhos caprinos na região Central e Oeste do Rio Grande do Norte	33
Tabela 2 - Distribuição da porcentagem de caprís positivos a anticorpos anti- <i>N. caninum</i> , e sua associação com a presença de cães na região Central e Oeste do Rio Grande do Norte	33
Tabela 3 - Distribuição dos casos positivos para anticorpos anti- <i>N. caninum</i> de acordo com características associadas aos canídeos na região Central e Oeste do Rio Grande do Norte	34
Tabela 4 - Distribuição dos casos positivos para anticorpos anti- <i>N. caninum</i> de acordo com as características das unidades produtoras da região Central e Oeste do Rio Grande do Norte	35
Tabela 5 - Distribuição da positividade para anticorpos anti- <i>N. caninum</i> de acordo com o manejo reprodutivo das unidades produtoras da região Central e Oeste do Rio Grande do Norte	36
Tabela 6 - Variáveis que permaneceram no modelo logístico final da análise multivariada para anticorpos anti- <i>N. caninum</i> na região Central e Oeste do estado do Rio Grande do Norte	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa do Rio Grande do Norte dividido em quatro mesorregiões, destacando-se a região Central e Oeste Potiguar	27
Figura 2 - Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em rebanho caprino de acordo com municípios estudados, oriundo da mesorregião Central e Oeste do Rio Grande do Norte	30

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO DE LITERATURA	17
3.1 Neosporose e <i>Neospora caninum</i>	17
3.31.1 Morfologia	17
3.2 CICLO BIOLÓGICO	19
3.3 NEOSPOROSE EM CAPRINOS	20
3.4 SOROPREVALÊNCIA DA NEOSPOROSE CAPRINA	20
3.5 TRANSMISSÃO DA NEOSPOROSE	21
3.6 POTENCIAL ZOONÓTICO DA NEOSPOROSE	22
3.7 DIAGNÓSTICO DA NEOSPOROSE	22
3.7.1 Reação de imunofluorescência indireta – RIFI	23
3.8 PATOGENIA	24
3.9 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E MEDIDAS DE CONTROLE	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 MARCO AMOSTRAL	26
4.2 DELINEAMENTO DA AMOSTRA	26
4.3 AMOSTRAGEM	26
4.4 COLETA DE SANGUE	26
4.5 REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)	27
4.6 IDENTIFICAÇÃO DOS FATORES DE RISCO	28
4.7 PARCERIAS E APÓIO TÉCNICO	28
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
6 CONCLUSÃO	39
REFERÊNCIAS	40
ANEXO	48

1 INTRODUÇÃO

O rebanho caprino brasileiro é estimado em 9.312.784 milhões de cabeças (IBGE, 2010) distribuídas em sua grande maioria na Região Nordeste com aproximadamente 8.458.578 milhões de cabeças, compreendendo 90% do rebanho nacional; sendo a Região Sul com 343.325 (3,6%) cabeças, Centro-Oeste com 113.427 (1,2%), Norte 164. 047 (1,7%), e Região Sudeste com 233.407 (2,5%) mil caprinos. São explorados em sua maioria de forma extensiva, tendo aumentado seu contingente populacional em função da rusticidade, adaptação ao meio ambiente e aos diferentes sistemas de produção possibilitando o surgimento de algumas raças locais apesar da perda em produtividade, sendo as condições ambientais no território brasileiro favoráveis ao desenvolvimento da atividade, no entanto, altos índices de mortalidade e a presença de uma ampla e extensa variedade de patologias têm sido relatados nos rebanhos ovinos e caprinos no Brasil (LOBATO et al., 2001; CAVALCANTE, 2008).

Em rebanhos caprinos no estado do Ceará, Pinheiro et al. (2000) observaram altas taxas de mortalidade, principalmente entre animais jovens (22,8%), comprometendo o desenvolvimento da atividade, em função do manejo sanitário inadequado. Além das condições de manejo, incluindo aspectos reprodutivos e de alimentação, a sanidade merece atenção especial. Neste aspecto, doenças que tradicionalmente fazem parte do manejo sanitário são acrescidas de enfermidades emergentes, entre as quais se destaca a neosporose, principalmente pelas alterações reprodutivas que pode ocasionar (ROSA, 2010).

A neosporose é uma doença causada por um protozoário intracelular obrigatório, de distribuição mundial. Antes confundido com o *Toxoplasma gondii* pela semelhança estrutural dos estágios evolutivos, o *Neospora caninum* foi diagnosticado pela primeira vez por Dubey et al. (1988) em cães, no entanto em caprinos, no Brasil, o agente somente foi relatado por Corbellini et al. em 2001, no Rio Grande do Sul. É considerado um dos principais agentes causadores de forte impacto econômico na pecuária, em decorrência dos abortos e perdas neonatais na espécie bovina, além de acometer os ovinos, caprinos, equinos, veados, lobos, chacais, alce, camelos, búfalos e seres humanos, promovendo alterações reprodutivas e neurológicas. Em seres humanos pode causar infecção congênita e até mesmo aborto, observando-se também transtornos neuromusculares fatais em cães (DUBEY; LINDSAY, 1996; LALLY et al., 1996; GONDIM et al., 2004; DUBEY, 2003; PETERSEN et al., 1999).

O *N. caninum* é capaz de produzir lesões necróticas visíveis em alguns dias e causar a morte celular pela atividade de replicação dos Taquizoítos. Associados a evidências de que uma infecção por *N. caninum* também desencadeia a liberação de citocinas pró- inflamatórias e uma resposta imune na interface materno fetal, que pode ser prejudicial para a gestação. Os danos causados pelos Taquizoítos a placenta podem matar o feto, decorrente de interrupção do fornecimento de nutrientes e oxigênio, promovendo perdas fetais (DUBEY; LAHUNTA, 1993; WILLIAMS et al., 2000; INNES et al., 2005; DUBEY et al., 1992b).

Devido aos prejuízos econômicos causados por problemas reprodutivos em ruminantes o *N. caninum* deve ser considerado um patógeno importante para estes animais. Porém estudos sobre os aspectos relacionados à soro-epidemiologia e determinação dos fatores de risco da neosporose em caprinos no Brasil são escassos, justificando-se, portanto, a realização de estudos que visam, um melhor entendimento dos aspectos epidemiológicos e biológicos dessa parasitose no Rio Grande do Norte. Além disso, a circulação desse parasito em unidades produtoras é de especial interesse econômico em virtude dos entraves ocasionados no processo produtivo da exploração comercial.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Realizar estudo soro epidemiológico de anticorpos anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos da Região Central e Oeste Potiguar do Rio Grande do Norte.

2.2 ESPECÍFICOS

- a) Determinar a soroprevalência da neosporose caprina em diferentes unidades produtoras e mesorregiões do Rio Grande do Norte;
- b) Identificar fatores de risco relacionados à infecção dos caprinos pelo *N. caninum*;
- c) Avaliar possível correlação entre a positividade para neosporose com a presença de canídeos na propriedade.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Neosporose e *Neospora caninum*

A neosporose é uma doença causada por um protozoário *Neospora caninum*, é um parasito coccídio, pertencente ao filo Apicomplexa, família Sarcocystidae, possui uma ampla variedade de hospedeiros intermediários como bovinos, ovinos, caprinos e equinos (DUBEY; LIDSAY et al., 1996), e um hospedeiro definitivo, representado pelos canídeos como cães, lobos e coiotes (BASSO et al., 2001; GONDIM et al., 2004), afetando principalmente bovinos e caninos causando alterações reprodutivas e neurológicas respectivamente (DUBEY et al., 2007).

O primeiro relato sobre o agente foi realizado por Bjerkas em 1984 ao constatar que cães apresentavam organismos semelhantes ao *Toxoplasma gondii*. Em um estudo retrospectivo com cérebros incluídos em parafina, Dubey et al. (1988) caracterizou tais organismos como um novo gênero (*Neospora*) e uma nova espécie (*N. caninum*). Apesar desta ter sido descrita em 1988, somente em 1998 Mcallister et al. conseguiram demonstrar que o cão era o hospedeiro definitivo, fechando assim o ciclo biológico do parasita.

Desde os relatos primordiais feitos por Bjerkas et al. (1984) e seu isolamento a partir de trabalhos de Dubey et al. (1988), este parasito tem sido identificado em várias partes do mundo, inclusive no Brasil (DUBEY, 2003).

3.1.1 Morfologia

Além do *T. gondii*, outros coccídios como *Sarcocystis cruzi*, *Hammondia hammondi*, *Hammondia pardalis* e *Hammondia heydorni* possuem também estreita filogenia com o *N. caninum* (DUBEY et al., 1988).

Pode ser encontrado em três diferentes estágios: taquizoítos, bradizoítos e oocistos, variando de acordo com o ciclo biológico, os quais estão envolvidos na transmissão do parasito (DUBEY et al., 2007). Os taquizoítos possuem formato ovóide, lunar ou globular, com dimensões de 3 a 7 micrômetros de comprimento por 1 a 5 micrômetros de largura, conforme o estágio de divisão. A presença do Taquizoítos no organismo do hospedeiro indica fase aguda ou proliferação da infecção, multiplica-se rapidamente por endodiogenia,

promovendo lise celular, infectando novas células. Nos animais infectados são encontrados em células do sistema nervoso, macrófagos, fibroblastos, células do endotélio vascular, miócitos, células do epitélio dos túbulos renais e hepatócitos (DUBEY et al., 1988; DUBEY, 1993; BJERKAS et al., 1984; SPEER; DUBEY, 1989).

Os taquizoítos penetram ativamente nas células hospedeiras em aproximadamente cinco minutos após o contato (HEMPHILL et al., 1996), sendo encontrados no citoplasma da célula, dentro ou fora de vacúolo parasitóforo. Apresentam dois anéis apicais, um anel polar, complexo de Golgi, retículo endoplasmático rugoso e liso, um núcleo e um nucléolo, com 6-16 roptrias, grânulos densos são espalhados em todo o citoplasma, sendo mais numeroso na porção final (SPEER; DUBEY, 1989; LINDSAY et al., 1993; SPEER et al., 1999).

Quando existe a resposta imune do hospedeiro, os Taquizoítos são capazes de diferenciar-se em bradizoítos formando cistos teciduais, que podem se romper por advento de imunodepressão (WILLIAMS et al., 2009). Os bradizoítos, na condição de cisto tecidual, apresentam formas arredondadas ou elípticas, variando de acordo com a duração da infecção; tem sido encontrado somente em células do sistema nervoso e neuro retina multiplicando-se lentamente (DUBEY et al., 1988; DUBEY et al., 1990). A parede do cisto é lisa, medindo até quatro micras de espessura, dependendo do tempo de infecção, podendo se apresentar envolta por uma membrana cística que o protege de reações imunológicas e fisiológicas do hospedeiro, variando de uma a duas micras que à diferencia do cisto de *T. gondii* por apresentar espessura menor que uma micra. No interior dos cistos teciduais encontram-se de 20 a 100 bradizoítos, comparados com 50-500 bradizoítos encontrados no *T. gondii*, são delgados, medem de 6,5 a 10 μ m de comprimento por 1,5 a 2,5 μ m de largura e contém as mesmas organelas dos taquizoítos, exceto um menor número de roptrias e maior número de grânulos PAS positivos (LINDSAY, 1996; DUBEY et al., 2002).

Os oocistos constituem a formas infectantes do protozoário *N. caninum*, possuem formato esférico, apresentam 10 a 11 micras de diâmetro, 0,6 a 0,8 micras de espessura contem dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos cada um, que são resultantes da multiplicação sexual gametogônica que ocorre no processo de infecção entero-epitelial em cães, cuja esporogonia ocorre no meio ambiente, em 24 horas (McALLISTER et al., 1998; WILLIAMS et al., 2009).

3.2 CICLO BIOLÓGICO

O ciclo de vida envolve hospedeiros definitivos e intermediários, caracterizando-se, portanto, em um ciclo heteroxeno, composto por uma fase assexuada que ocorre no hospedeiro intermediário e uma sexuada no hospedeiro definitivo (DUBEY, 1999).

O *N. caninum* tem como hospedeiros definitivos o cão (*Canis familiaris*) e coiote (*Canis latrans*) que eliminam oocistos após ingestão de tecidos ou órgãos dos hospedeiros intermediários. Entre os hospedeiros intermediários naturalmente infectados foram observados bovinos, ovinos, caprinos, equinos e vários outros animais endotérmicos, sendo eles domésticos ou selvagens, além dos seres humanos (GONDIM, et al. 2004; LOBATO, 2006).

Os canídeos se infectam ao ingerirem cistos contendo bradizoítos, proveniente de restos teciduais, vísceras e tecidos placentários, além de oocistos esporulados, sendo desta forma hospedeiros definitivos e intermediários. Em torno de cinco dias após a ingestão de bradizoítos, os canídeos liberam oocistos não esporulados com as fezes, realizando a esporogonia dentro de 24 horas no meio ambiente, tornando-se infectantes. Os herbívoros adquirem a infecção através da ingestão de alimentos e água contaminada com oocistos esporulados (LINDSAY et al., 1999; DUBEY et al., 2007).

Os oocistos, ao serem ingeridos pelos hospedeiros intermediários, liberam esporozoítos diferenciando-se em taquizoítos, que invadem as células dendríticas, monócitos e enterócitos, ou desenvolvem em bradizoítos que representa o estágio de proliferação lenta, cujos parasitas formam cistos teciduais, principalmente no sistema nervoso central. Os cistos teciduais podem ficar latentes por meses ou anos, restabelecendo todo ciclo quando consumido por um hospedeiro definitivo ou, em circunstâncias como prenhes e imunodeficiência, os cistos teciduais podem romper-se, liberando bradizoítos que podem converter-se em taquizoítos, proliferando por endodiogenia, promovendo a infecção fetal transmitida por via transplacentária, induzindo o abortamento ou o nascimento de animais infectados, ou ainda causar lesões nestes animais imunossuprimidos, ou seja, ocorre com a reativação dos bradizoítos em taquizoítos que, ao migrar para outros tecidos como o útero, realizam a infecção fetal transplacentária endógena (BARBER; TREES, 1998; DAVISON et al., 1999; STENLUND et al., 1999; DUBEY, 2003; FUCHS et al., 1998; WILLIAMS et al., 2009).

3.3 NEOSPOROSE EM CAPRINOS

Em caprinos e ovinos os sinais clínicos apresentados pela infecção por *N. caninum* são semelhantes aos encontrados em bovinos, tais como: abortamento, natimortos, nascimento de animais fracos, com hidrocefalia ou normais clinicamente, porém infectados (DUBEY; LINDSAY, 1996; OVIEDO et al., 2001). Em infecções experimentais demonstrou-se que ovelhas de lã e ovelhas deslanadas das raças Santa Inês e Morada Nova apresentam os mesmos sinais clínicos da neosporose bovina, sendo, portanto, usadas como modelo para o estudo da neosporose bovina (JOLLEY et al., 1999; OVIEDO et al., 2003).

Estudos relacionados à soroprevalência em caprinos e infecções naturais por *N. caninum* são escassos, cujo primeiro estudo foi realizado por Dubey et al. (1992a), onde detectaram, por análise histológica, a presença do protozoário em feto abortado. No Brasil, no estado do Rio Grande do Sul, Corbellini et al. (2001) relatou como causa da neosporose congênita abortos e natimortalidade associadas a nascimentos de filhotes fracos e prematuros apresentando sinais neurológicos como ataxia, opstótono e cistos teciduais em tecidos neurais e músculos (PETERS et al., 2001). Relatos sobre soro epidemiologia do *N. caninum* em caprinos no Brasil foram descritos na Bahia (UZÊDA et al., 2007), Paraíba (FARIA et al., 2007), São Paulo (FIGLIUOLO et al., 2004; MODOLO et al., 2008), Rio Grande do Norte (LIMA et al., 2008), e recentemente no estado de Minas Gerais (VARASCHIN et al., 2011).

3.4 SOROPREVALÊNCIA DA NEOSPOROSE CAPRINA

A distribuição do protozoário *N. caninum* embora com poucos estudos em caprinos, já foi relatada em alguns países demonstrando ampla variação epidemiológica, sendo que na América do Sul a prevalência da infecção por esse coccídeo vem aumentando nos últimos anos, seja pelo trânsito de animais infectados entre os países, seja pelo desenvolvimento de testes diagnósticos com maior poder preditivo, que revelam casos de neosporose anteriormente não diagnosticados (SILVA, 2005).

Na Europa em estudos realizados na Romênia em rebanhos caprinos, Iovu et al. (2011) encontraram baixa (2,3%) positividade para anticorpos anti-*N. caninum* utilizando o método ELISA como meio de diagnóstico. No norte da Jordânia Abo-Shehada et al. (2010)

descreveram 12% de positividade para os caprinos da região norte, o contrário foi observado no Sirilanka com 1,4% demonstrando baixa prevalência (NAGULESWARA et al., 2004), e na Polônia por Czopowicz et al. (2011) com 0,47% de soro reação para *N. caninum*.

No Brasil os estudos demonstram grande variação de soro conversão para *N. caninum*, com prevalência variando de 1,05% no Rio Grande do Norte (LIMA et al., 2007), a 26,6% em Pernambuco (TEMBUE et al., 2011).

3.5 TRANSMISSÃO DA NEOSPOROSE

O *N. caninum* se dissemina por transmissão horizontal e vertical, podendo ocorrer de cães (hospedeiro definitivo) para outras espécies (hospedeiro intermediário), assim como de outras espécies para os cães, que podem ainda adquirir a doença ao ingerirem placenta infectada ou fetos abortados com cistos teciduais contendo bradizoítos de *N. caninum* (DIJKSTRA et al., 2001).

A transmissão vertical é a principal forma de disseminação de *N. caninum* em rebanhos bovinos leiteiros, transmitindo a infecção da mãe para o feto, mantendo a infecção por várias gerações. Esse tipo de transmissão foi experimentalmente comprovado em bovinos, ovinos, caprinos, felinos e macacos (BJORKMAN et al., 1996).

Em ruminantes, a sintomatologia é dependente do estágio gestacional, nestes animais o sistema imune fetal se torna eficaz progressivamente até o nascimento, quando se tornam imunologicamente competentes. O feto é particularmente vulnerável durante o primeiro terço gestacional, quando o timo, baço e nódulos linfáticos ainda estão sendo formados. Durante o segundo terço gestacional, estes tecidos começam a reconhecer e responder aos microrganismos. Assim, no primeiro trimestre, o feto é excepcionalmente vulnerável a infecção por *N. caninum*, e é pouco provável que sobreviva. No terço médio de gestação, o feto pode lançar mão de uma resposta imune rudimentar a qual ainda não é suficiente para conservá-lo com vida, é neste período que a maioria dos abortamentos ocorre. No terceiro trimestre, ele é capaz de uma defesa cada vez mais competente em relação ao patógeno, conduzindo à sobrevivência (BUXTON et al., 2002).

Vários estudos constataram associação entre soroprevalência em bovinos e presença de cães na propriedade, comprovando que o convívio cães/bovinos aumenta a prevalência de soropositivos para *N. caninum* em ambas as espécies (PARÉ et al., 1998; BARTELS et al.,

1999). Da mesma forma, os cães de propriedades rurais apresentaram maior prevalência de infecção quando comparados aos de área urbana, sugerindo que os cães de área rural podem adquirir a infecção pela ingestão de alimento contaminado de origem bovina ou outros animais, como fetos, membranas fetais e fluidos (WOUDA et al., 1999).

3.6 POTENCIAL ZOONÓTICO DA NEOSPOROSE

Existe um grande interesse em saber se *N. caninum* é um agente causador de zoonose. Em experimento realizado com primatas não humanos com fêmeas prenhes de macacos rhesus (*Macaca mulatta*), foram ressaltados lesões e sintomas semelhantes às aquelas causadas por toxoplasmose congênita, tais como: redução do volume de líquido amniótico, inflamação do saco amniótico, encefalite e meningoencefalite. Sorologicamente foram observados anticorpos anti-*N. caninum*, assim como taquizoítos por imunohistoquímica e isolados em cultivo celular, demonstrando um provável potencial zoonótico do *N. caninum* (BARR et al., 1994).

O potencial de *N. caninum* para infectar humanos é desconhecido (TRANAS et al., 1999). Entretanto, foram relatados 38% de soropositividade em pacientes infectados com HIV, sendo observados 18% de soroprevalência naqueles com distúrbios neurológicos, e 5 a 6% em recém nascidos e indivíduos saudáveis respectivamente na cidade de Uberlândia-MG (LOBATO et al., 2006). Na Bahia foi verificado 5% e 3,8% de soropositividade para anticorpos IgG anti-*N. caninum* em mulheres gestantes com ou sem história de aborto espontâneo recorrente, respectivamente, e 15% de sororreagentes entre os indivíduos com AIDS, indicando que a soropositividade é maior em pacientes imunodeprimidos (ALMEIDA, 2004). Estes achados podem trazer um interesse novo ao quadro clínico instável de pacientes infectados com HIV e o papel real da infecção de *N. caninum* em pacientes imunocomprometidos.

3.7 DIAGNÓSTICO DA NEOSPOROSE

Desde o isolamento do *N. caninum*, uma série de testes vem sendo descritos e aperfeiçoados para o diagnóstico da neosporose. O primeiro teste descrito foi a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) por Dubey et al. (1988). Porém vários testes sorológicos

foram propostos, tais como o ELISA, aglutinação direta, Dot-ELISA, *Immunoblotting*, Polimerização em cadeia (PCR) e Imunohistoquímica. Atualmente as fases da infecção podem ser diagnosticada pelo método ELISA, utilizando proteínas recombinantes, sendo estas NcGRA7 e NcSAG4 responsáveis pela detecção da fase aguda e crônica da infecção respectivamente. Outra inovação é a detecção de anticorpos relacionados à maior (IgG2) ou menor (IgG1) predisposição a abortamentos, sendo todos de grande valia para o diagnóstico e controle epidemiológico da doença (BJORKMAN et al., 1996; BARBER; TREES, 1998; AGUADO-MARTÍNEZ et al., 2008; ALMERÍA et al., 2009).

O teste de ELISA é o principal método sorológico utilizado nas avaliações dos rebanhos de bovinos, com finalidades diagnósticas ou nas pesquisas. O teste imunoenzimático apresenta algumas vantagens em relação ao método da RIFI, tais como a realização de um maior número de análises, rapidez, registro das reações realizado de maneira objetiva, e o exame podem ser automatizados (PEREIRA-BUENO et al., 2003). No entanto, estudos epidemiológicos em diversos hospedeiros têm demonstrado que testes de RIFI para *N. caninum* apresentam baixa incidência de reações cruzadas com outros coccídios. Por essa razão, o teste de RIFI é usado frequentemente como teste de referência para detecção de anticorpos contra *N. caninum* (TREES et al., 1993).

As técnicas sorológicas são de grande importância, pois podem ser realizadas no animal vivo e, além disso, têm alta sensibilidade e especificidade e são indicadas para avaliar a exposição e o risco de infecção da *N. caninum* sendo essencial para os avanços no conhecimento da epidemiologia desse parasita (OSHIRO, 2007).

3.7.1 Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI

A RIFI foi à primeira das técnicas utilizadas para diagnóstico do *N. caninum*. Este teste é utilizado como prova de referência para comparação com outras técnicas (DUBEY et al., 1988).

Os testes diagnósticos desenvolvidos são frequentemente comparados como método de referência, denominado de padrão ouro (NOORDHUIZEN et al., 1997). O RIFI é baseado no princípio da fixação de taquizoítos de *N. caninum* em lâminas de microscopia, que são incubadas inicialmente com soros diluídos e em uma segunda etapa, com anticorpos ligados a uma fluoresceína (conjugado). Esses anticorpos são direcionados contra as imunoglobulinas

da espécie animal sob investigação. O teste de RIFI para *N. caninum* tem sido utilizado para um grande número de espécies animais, incluindo cães, raposas, gatos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos, eqüinos, roedores e primatas (BJORKMAN; UGGLA, 1999). A reação é avaliada em microscopia de fluorescência e o ponto de corte utilizado nos testes de RIFI difere entre os laboratórios, porém os mais utilizados são 1:50 em caprinos, 1:16 em cães, e 1:64 para bovinos. Contudo, essa divergência entre os laboratórios dificulta uma comparação direta dos resultados obtidos. Taquizoítos de *N. caninum* isolados, tanto de bovinos quanto de cães, também são utilizados como antígenos de testes da RIFI por diversos laboratórios. Não havendo indicação de que diferenças antigênicas entre os isolados afetem a exatidão do teste.

3.8 PATOGENIA

A Neosporose é uma doença que se manifesta durante a gestação quando o feto em desenvolvimento é particularmente vulnerável. A doença clínica é raramente observada em fêmeas não gestantes com excessão de animais infectados que podem mostrar sinais de danos neurológicos logo após o nascimento (DUBEY; LINDSAY, 1996). Para ocorrer abortos associados ao *N. caninum*, o feto ou placenta tem de ser danificado, isso ocorre devido a danos nos tecidos primário, causada pela multiplicação do *N. caninum* no feto, ou em decorrência da insuficiência de oxigênio/nutrição, secundário a danos placentários (DUBEY et al., 2006; GIBNEY et al., 2008). A atuação do *N. caninum* no organismo do hospedeiro ocorre pela capacidade de modular resposta pró-inflamatória desde a primeira hora de infecção, o que pode ser útil ao parasita para invadir células alvos aumentando sua replicação causando com isso danos ao hospedeiro (KHAN et al., 1997; DIANA et al., 2005).

3.9 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA E MEDIDAS DE CONTROLE

Não existem dados precisos sobre as perdas econômicas causadas pela neosporose, sendo calculadas de acordo com uma estimativa quantitativa dos efetivos atribuídos diretamente á infecção, por exemplo, o número de abortos ocorrido no rebanho, e ainda, os custos desses efeitos sobre a produção, como o valor do feto abortado (TREES et al., 1999). Os custos incluem gastos feitos com ajuda profissional, diagnóstico, repetição de cio,

aumento de intervalos entre partos, infertilidade, aumento no descarte de animais por baixo desempenho reprodutivo e possíveis perdas na produção de leite (HERNANDEZ et al., 2001).

Para evitar perdas econômicas devem ser empregadas medidas de controle, tendo em vista principalmente o bloqueio da transmissão entre o hospedeiro definitivo e intermediário. É importante aplicar medidas efetivas de controle evitando que a doença permaneça cronicamente no rebanho. Entre essas medidas algumas se destacam, como transferência de embrião, onde deve-se usar somente receptoras soronegativas; redução da exposição de cães aos tecidos infectados como fetos abortados, crias mortas e placentas, retirando-os do ambiente (LINDSAY et al., 1999); uso de maternidades individuais; reduzir o número de cães coabitando com o rebanho; evitar o acesso de canídeos a silos e depósitos de ração; enviar ao laboratório fetos abortados e placentas para diagnosticar a causa do aborto, bem como realizar a sorologia do rebanho (ANDREOTTI, 2001).

Além disso, os bovinos mortos, de qualquer idade, devem ser removidos ou queimados antes que os carnívoros tenham acesso às carcaças. Os cães devem ser alimentados com rações ou, quando ingerirem carne ou vísceras, estas sempre devem ser cozidas. Deve ser controlada a população de cães errantes. Uma vez prevenida à transmissão pelos cães, a incidência do aborto bovino endêmico deve decrescer lentamente, ao longo de vários anos.

Não existe vacina para prevenir abortos por *N. caninum* nos bovinos ou a eliminação de oocistos pelos cães (DUBEY, 1999). Vacinas estão sendo testadas em várias partes do mundo, porém com resultados pouco satisfatórios (ANDERSON et al., 2000).

Para o controle da transmissão vertical, as vacas infectadas devem ser identificadas através de provas sorológicas e gradativamente eliminadas do rebanho, uma vez que têm grande probabilidade de transmitir a infecção à sua progênie além de maior chance de abortar e/ou repetir o aborto. No entanto essa medida se torna impraticável nas propriedades com altas prevalências. No caso de animais de alto valor zootécnico, a vaca positiva pode vir a ser utilizada como doadora na transferência de embriões para receptoras negativas, como alternativa de evitar a transmissão vertical (DUBEY, 1999).

Deve-se também realizar testes sorológicos a fim de evitar a entrada de animais infectados na propriedade e avaliar o perfil epidemiológico e sua prevalência, empregando com isso o descarte de animais soropositivos e clinicamente afetados. Em rebanhos controlados, devem ser introduzidos somente animais soronegativos (ANDREOTTI, 2001).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MARCO AMOSTRAL

O Rio Grande do Norte possui 405.983 caprinos, com 4,8% deste rebanho, distribuída em quatro mesorregiões, onde 54% encontrados no Oeste, 29% na região Central, 14% no Agreste e 3% no Leste potiguar. Dessa forma a região Central e Oeste Potiguar em estudo formam 83% do rebanho norte rio grandense (IBGE, 2010). O rebanho é caracterizado basicamente por animais sem raça definida (SRD) e nativos, indistintamente de funções produtivas, sendo frequente o consorciamento das espécies caprina e ovina. Nos estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte e Bahia, mais de 50% dos produtores criam conjuntamente caprinos e ovinos, com grande variação do número de animais por propriedade (GUTIERREZ, 1982).

4.2 DELIMITAÇÃO DA AMOSTRA

O número amostral foi calculado considerando prevalência esperada de 50%, com intervalo de confiança de 95% e erro estatístico de 5%. Com base nos indicadores o tamanho da amostra (n) mínima para o estudo seria de 384 animais (ASTRUDILLO, 1979). No entanto foram coletadas 682 amostras procedentes de 35 propriedades em seis municípios para garantir a representatividade do estudo, distribuídas em mesorregiões distintas.

4.3 AMOSTRAGEM

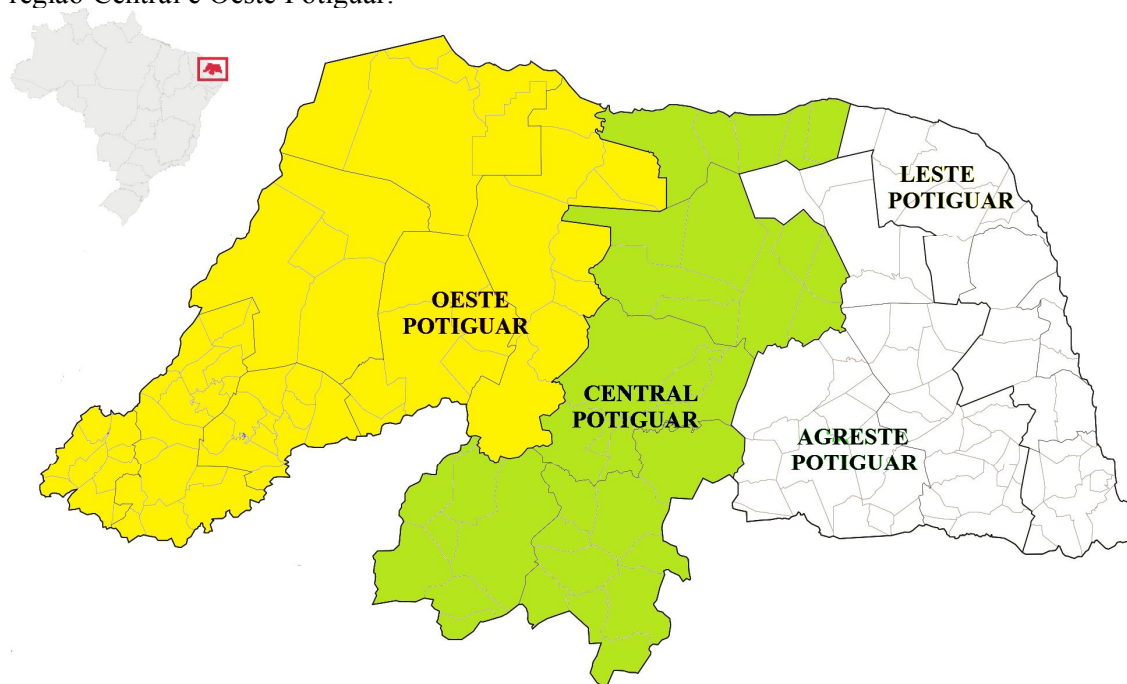
O estudo foi realizado em duas mesorregiões do estado do Rio Grande do Norte (Figura 1), sendo estas as regiões Central e Oeste, compostas pelos municípios de Mossoró, Apodi, Caraúbas, Angicos, Pedro Avelino e Afonso Bezerra, representando 42,4% da população total de caprinos do Estado.

4.4 COLETA DE SANGUE

Os animais foram escolhidos aleatoriamente, sendo selecionados fêmeas e machos com idade menor que um ano, além de matrizes e reprodutores. Os soros obtidos foram

enviados ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), onde foram estocados a -20°C , e enviados ao banco de soro da EMBRAPA Caprinos e Ovinos, e analisados na EMBRAPA Gado de Corte. Todas as amostras de soro foram testadas pela técnica de Reação de Imuno fluorescência Indireta (RIFI), com diluição de 1:50.

Figura 1 - Mapa do Rio Grande do Norte dividido em quatro mesorregiões, destacando-se a região Central e Oeste Potiguar.



Fonte: IBGE, 2010

4.5 REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)

As amostras foram submetidas à técnica RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta) para detectar a presença de anticorpos contra *N. caninum*. O antígeno foi produzido por cultivo de taquizóitos de *N. caninum* da cepa NC-1 (DUBEY et al., 1988) em células Vero (OLIVEIRA et al., 2004). Isotiocianato fluorescente (FITC) conjugado caprino foi utilizada e testados na diluição 1:50 como ponto de corte (PARÉ et al., 1995), em cada lâmina foram incluídos soros controle positivo e negativo segundo Trees et al. (1993).

4.6 IDENTIFICAÇÃO DOS FATORES DE RISCO

Em visitas realizadas a unidades produtoras selecionadas aleatoriamente, foram aplicados questionários (Anexo I) pela equipe técnica do Projeto de Caracterização Zoonosológica da Caprinocultura do RN, enfatizando a Soro-epidemiologia da Neosporose caprina.

Os dados obtidos a partir dos questionários foram digitados em planilha eletrônica, e transferidos para o software estatístico SPSS 17.0 (*Statistical Package for the Social Sciences*) sendo posteriormente codificados para realização das análises. Diversas variáveis foram comparadas, obtendo-se *odds ratio* (OR), com intervalos de confiança de 95%, e significância determinada através do teste do Qui-Quadrado (χ^2) e Exacto de Fisher. Este último, por sua vez, foi utilizado sempre que verificado valores com frequência esperada inferior a 5. Um modelo de regressão logística foi elaborado para estudar, de forma simultânea, os múltiplos efeitos que podem estar envolvidos na prevalência de soropositividade para *N. caninum*. O nível de significância estabelecida foi o valor de $p < 0,05$.

As variáveis que apresentaram nível de significância $p < 0,20$ e algumas variáveis que não apresentaram diferenças significativas, mas que foram consideradas relevantes como fator de risco para infecção por *N. caninum*, foram selecionadas para análise logística multivariada. Em função do número de variáveis estudadas, inicialmente foi montados modelos logísticos para cada grupo, de acordo com características relevantes aos animais e propriedades. Foram excluídas do modelo logístico as variáveis que apresentaram intervalos de confiança de grande amplitude nas estimativas do “*odds ratio*”, bem como as que apresentaram colinearidades. Sendo assim, compuseram a análise para o modelo final variáveis com nível de significância de $p < 0,10$. Estas, por sua vez, foram reagrupadas em modelo único e novamente avaliadas pelo método completo de remoção sucessiva das variáveis, considerando nível de significância $p < 0,05$.

4.7 PARCERIAS E APÓIO TÉCNICO

Tendo em vista a importância da caprinocultura na economia e os efeitos deletérios das inúmeras enfermidades que acometem os rebanhos. O estudo foi realizado como tese do programa de pós graduação em Ciência Animal da Universidade Federal Rural do Semi-Árido

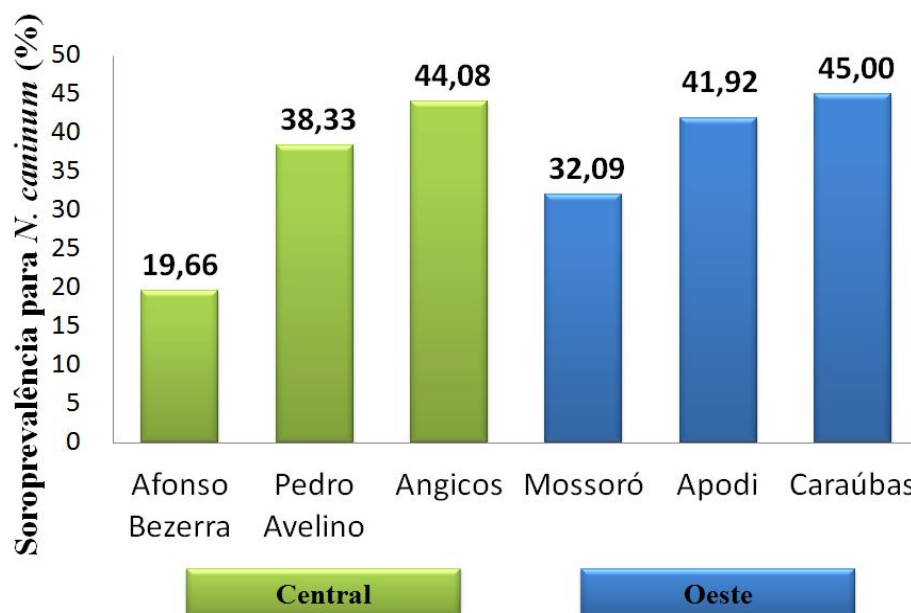
(UFERSA), com parceria do Centro Nacional de Pesquisa de Caprinos e Ovinos (EMBRAPA Caprinos e Ovinos) que se localiza no estado do Ceará, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (EMBRAPA Gado de Corte) localizado em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, onde foram realizados parte do projeto, apoio técnico, treinamento, recursos e processamento das amostras sorológicas respectivamente.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 682 amostras sorológicas caprinas coletadas na região Cetral e Oeste do Rio Grande do Norte, 249 apresentaram-se positivas, representando uma soroprevalência de 36,5% (RIFI $\geq$ 1:50) para *Neospora caninum*. Entre as propriedades, a prevalência variou de zero a 100%, com frequência acima de 5% dentre as positivas. Foi constatada reação positiva para *N. caninum* em 33 (94,3%) dentre as 35 propriedades pesquisadas, onde apenas duas (5,7%) apresentaram resultados negativos para o agente causador da neosporose caprina.

Em estudos realizados por Lima et al. (2007), no município de Mossoró-RN, observou-se positividade para *N. caninum* de 1,05%, variando de 2,5% a 5% com 28,6% das propriedades com caprinos positivos, apresentando prevalência inferior ao presente estudo, onde observou-se positividade de 32,09% (Figura 2) variando de zero a 75%, com 85,7% dos caprís apresentando animais infectados com o coccídios, observados no mesmo município utilizando metodologia semelhante, podendo ser notada a circulação e expansão do *N. caninum* nos rebanhos da região.

Figura 2 - Frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em rebanhos caprinos de acordo com municípios estudados, oriundo das mesorregiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte.



Fonte: Dados do experimento.

O que pôde se observar na microrregião de Afonso Bezerra (19,66%), localizada na mesorregião Central, foi a baixa soroprevalência no rebanho caprino, quando comparadas às demais microrregiões, possivelmente decorrente de maior busca de mão de obra especializada, considerando que os caprinos são destinados a produção de leite, onde as propriedades empregam sistema de criação semi-intensivo, fornecendo suplementação no cocho, associado ao manejo mais adequado empregado a criação, visando aumento da produção e produtividade do rebanho, inibem a expansão do parasita coccídeo *N. caninum* no rebanho caprino da região.

Na região Nordeste existem ampla variação sorológica para *N. caninum* em caprinos, sendo a menor descrita na Paraíba por Faria et al. (2007), onde relataram soroprevalência de 3,3%. Já no estado de Alagoas, Anderlini (2011) mostrou soro conversão de 5,3% com 62,5% das propriedades apresentando caprinos positivos. Uzêda et al. (2007), propuseram a Bahia com 15% de positividade, contudo Silva et al. (2009) relataram frequência de 1,96% em caprinos abatidos utilizando teste de PCR em amostras de cérebro, no mesmo estado. No entanto estudos sorológicos realizados por Tembue et al. (2011) em Pernambuco demonstraram positividade de 26,6% em rebanhos caprinos que, embora seja a maior sorologia descrita até o presente momento em caprinos, demonstram sorologia inferior a descrita no presente estudo, evidenciando elevada prevalência para o Rio Grande do Norte quando comparada aos estudos descritos em Alagoas, Bahia, Paraíba e Pernambuco.

No Sudeste do Brasil existem três relatos na literatura, sendo um, no estado de Minas Gerais, onde Varaschin et al. (2011) descreveram soro reação de 10,7% para *N. caninum* em rebanho caprino, e duas no estado de São Paulo, sendo o primeiro proposto por Figliuolo et al. (2004), que descreveram sorologia positiva para 6,34% dos caprinos estudados com 42,1% das propriedades positivas, no entanto Modolo et al. (2008) observou após quatro anos por meio de teste NAT (*Neospora Agglutination Test*), prevalência de 17,44%, afetando 94,1% das propriedades. Já na região Norte do país, Moraes et al. (2011), demonstraram soroprevalência de 17,39% para caprinos proveniente do Oeste do Maranhão.

Quando se analisa a sorologia para *N. caninum* em caprinos e ovinos, observa-se que em ovinos de um modo geral, a soroprevalência apresenta-se maior que as relatadas em caprinos, de acordo com sorologia descrita nos estado do Paraná, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Rondônia, Distrito Federal, Bahia, Minas Gerais, Rio Grande do Sul, Rio Grande do Norte e Pernambuco (ROMANELLI, 2002; FIGLIOULO et al., 2004; AGUIAR et al., 2004;

GONÇALVES et al., 2004; UENO et al., 2009; OTERO et al. 2005; VOGEL et al., 2006; ANDREOTTI et al., 2009; MUNHOZ et al., 2010; LANGONI et al., 2010; SALABERRY et al., 2010), variando sorologicamente de 1,8% no Rio Grande do Norte descrito por Soares et al. (2009), até 64,2% em Pernambuco, relatados por Tembue et al. (2011). Segundo Sharif et al. (2007), a baixa prevalência encontrada em caprina pode ser justificada pelo fato desses animais pastejarem a parte mais alta de gramíneas e pequenos arbustos, mantendo-se com a boca longe do solo e, portanto com menor risco de ingestão de oocistos.

De acordo com Georgieva et al. (2006) as diferenças sorológicas observadas entre as regiões de um estado ou país, assim como em regiões do mundo podem estar relacionados a fatores climáticos, podendo interferir na manutenção e viabilidade de oocistos no meio ambiente, bem como os diversos tipos de manejo sanitário, exploração animal, métodos amostrais distintos empregados em estudos, testes sorológicos e valor de cut-off podem dificultar a comparação da frequência de infecção entre regiões estudadas. Todos esses fatores são acrescidos das variações alélicas (DRB31001 e DRB32703) individuais dos hospedeiros, que estão associados à susceptibilidade ao *N. caninum* (DUBEY; SHARES, 2011).

De acordo com as mesorregiões estudadas, o rebanho caprino da região Oeste apresentou maior soro conversão para *N. caninum*, com 162 (65%) caprinos positivos, quando comparada à região Central com 87 (35%), sendo Caraúbas o município de maior prevalência, com 45% dos caprinos infectados, variando de 25% a 95%. O estudo observou prevalência maior para anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos que as relatadas anteriormente no Brasil, descritas na região nordeste nos estados da Bahia, Paraíba, Rio Grande do Norte e Pernambuco (UZÊDA et al., 2007; FARIA et al., 2007; LIMA et al., 2008; SOUZA NETO et al., 2009), e na região Sudeste, em São Paulo e Minas Gerais (FIGLIOULO et al., 2004; TEMBUE et al., 2011; MACHADO et al., 2011; VARANSCHIN et al., 2011), além de estudos descritos no oeste do Maranhão (MORAES et al., 2011).

Comparando-se a positividade entre caprinos machos e fêmeas, observou-se que 144 (21,1%) eram do sexo masculino e 538 (78,9%) feminino (Tabela 1). Após análise sorológica verificou-se que a prevalência para *N. caninum* foi de 38,8% e 35,8% para machos e fêmeas respectivamente. Embora a variável sexo não tenha associação estatística significativa (IC 95%: 0,779-1,1661; $p>0,05$) os caprinos do sexo masculino apresentou um risco de 13,8% maior de ser acometido pelo agente, sendo 36,8% para aqueles com idade inferior a 12 meses, já para as fêmeas não ocorreu associação quando analisada esta variável.

Tabela 1 - Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* por idade e sexo, em rebanhos caprinos na região Central e Oeste do Rio Grande do Norte.

SEXO	Amostras	Frequência Relativa		IC 95%	p
		n	%		
Machos	144	56	38,8	0,686-2,729	0,373
≤ 12 meses	86	36	41,8		
≥ 12 meses	58	20	35,7		
Fêmeas	538	193	35,8	0,602-1,416	0,714
≤ 12 meses	119	41	34,4		
≥ 12 meses	419	152	36,3		

IC 95%: Intervalo de Confiança de 95%; n: número de amostras positivas; Fonte: Dados do experimento.

Resultados semelhantes foram observados por Lima et al. (2008) no município de Mossoró e Modolo et al. (2008) no estado de São Paulo, não encontrando correlação estatística significativa entre a variável sexo e a positividade para anticorpos anti-*N. caninum*. Faria et al. (2007) na Paraíba, relataram que embora tenham encontrado positividade de 5% e 2,2% para machos e fêmeas respectivamente, não encontraram correlação positiva entre estas variáveis. Resultados semelhantes foram descritos por Varaschin et al. (2011) em Minas Gerais, que observaram a não associação estatística entre sexos, porém relataram correlação entre as faixas etárias, sendo os caprinos de dois a três anos com probabilidade de 1,2 vezes maior de ser acometido pelo *N. caninum*.

Quanto à presença de cães verificou-se que em 29 (82,86%) propriedades existiam cães convivendo com o rebanho caprino (Tabela 2). Em 23 (65,71%) propriedades tinham livre acesso as instalações, e em 22 (62,85%) tinham acesso a água oferecida aos caprinos.

Tabela 2 - Distribuição de caprís positivos a anticorpos anti-*N. caninum*, e sua associação com a presença de cães na região Central e Oeste do Rio Grande do Norte.

Município	Número total de Caprís	Caprís com presença de cães		Soros Positivos	variação sorológica (%)
		N	%		
Pedro Avelino	3	3	100	23	30-50
Angicos	5	4	80	41	30-65
Apodi	10	9	90	83	10-100
Caraubas	4	4	100	36	25-95
Afonso Bezerra	6	2	33	23	0-35
Mossoró	7	7	100	43	0-75

Fonte: Dados do experimento.

Embora 17,14% (6/35) das propriedades analisadas não se observaram a presença de cães domésticos, em 80% destas existem canídeos selvagens adentrando as propriedades, o que pode está relacionado com a disseminação do *N. caninum* na região decorrente do aumento da eliminação de oocistos pelas fezes desses animais.

Existem divergências entre aqueles que acreditam haver uma relação entre a presença de cães e a probabilidade da ocorrência de abortamentos por *N. caninum* disseminado pelas fezes dos cães (LINDSAY et al., 2002). Entretanto de acordo com análise estatística não ocorreu associação significativa entre a presença de cães nas propriedades (Tabela 3) e a soroprevalência em caprinos para *N. caninum* (IC 95%: 0,665-1,516; $p>0,05$). Contudo em propriedades que se observou presença de canídeos selvagens o risco para os caprinos foi de 57,2% (OR=1,572) maior para o agente, embora não significativo (IC 95%: 0,921-2,685; $p>0,05$). Resultados estes, observados quando se analisa a propriedade que apresentou 100% das amostras sorológicas positivas, localizadas no município de Apodi, mesorregião Oeste potiguar, na qual não apresentavam criação de cães, porém relataram a presença de canídeos silvestres com livre acesso a região de pastejo e criação de caprinos.

Tabela 3 - Distribuição dos casos positivos para anticorpos anti-*N. caninum* de acordo com características associadas aos canídeos na região Central e Oeste do Rio Grande do Norte.

Variáveis	n	%	OR	IC 95%	p
Presença de cães na propriedade					
Sim	206	82,7	1,004	0,665-1,516	0,999
Não	43	17,3			
Controle populacional de cães					
Não	174	89,7	2,559	1,507-4,345	<0,001
Sim	20	10,3			
Presença de canídeos selvagens					
Sim	214	91,1	1,572	0,921-2,685	0,122
Não	21	8,9			

n: número de amostras; OR- *Odds Ratio*; IC 95%: Intervalo de confiança de 95%; Fonte: Dados do experimento.

Quando se correlaciona o controle populacional de cães e a positividade para anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos observa-se estatística significativa ($p<0,001$) demonstrando que as propriedades que não promovem controle populacional, independente do método utilizado, apresentaram risco de 2,5 vezes maior dos caprinos contrair o agente.

O resultado do presente estudo corrobora com o observado por Souza Neto et al. (2009) em Pernambuco, Modolo et al. (2008) em São Paulo e Moraes et al. (2011) no

Maranhão, onde descreveram a não correlação existente entre a presença de cães e a positividade para *N. caninum*. Entretanto relataram maior frequência de animais positivos encontradas em propriedades onde ocorreu a presença de cães, fato também relatados por Lima et al. (2008) no Rio Grande do Norte e Figliuolo et al. (2004) em São Paulo. Diferentemente de Uzêda et al. (2007) na Bahia, onde observaram associação significativa entre a presença de cães nos caprís com prevalência de caprinos soropositivos para *N. caninum*, considerando este fato de fundamental importância a infecção em caprinos.

As unidades produtoras foram caracterizadas de acordo com manejo zoonositária (Tabela 4) e posteriormente os soros caprinos foram avaliados para presença de anticorpos anti-*N. caninum*. Visitou-se 35 propriedades, sendo 14 localizadas na região Central e 21 na região Oeste. Quanto ao tipo de exploração 81,2% das propriedades avaliadas, criavam caprinos de corte, 6,8% para leite e 12% empregaram a exploração mista, não apresentando correlação significativa ($p>0,05$) entre o tipo de exploração e a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos. Contudo quando se compara a idade dos animais a venda, observou-se que aqueles com idade de 7 a 12 meses apresentaram um risco 63,3% maior para adquirir o *N. caninum*, sugerindo que a permanência dos caprinos nas propriedades representa uma probabilidade maior de contrair o protozoário *N. caninum*.

Tabela 4 - Distribuição dos casos positivos para *N. caninum* de acordo com as características das unidades produtoras da região Central e Oeste do Rio Grande do Norte.

Variáveis	n	%	OR	IC 95%	p
Sistema de criação					
Intensivo	19	7,9	35,70	4,748-268,425	<0,001
Semi-intensivo	223	92,1	0		
Fonte de água					
Açude*	113	48	-	1,232-3,350	0,005
Poço/Açude	25	11	2,032		
Poço	95	41	0,739		
Idade média dos animais a venda					
7 a 12 meses	140	66,0	1,633	1,154-2,310	0,006
< 6 meses	72	34,0			

* Categoria de referência; n: número de amostras; OR- *Odds Ratio*; IC 95%: Intervalo de confiança de 95%; p: significância; Perguntas que não tiveram respostas e variáveis de confusão foram excluídas da análise; Fonte: Dados do experimento.

Quando se observa o sistema de criação adotado pelos caprinocultores do Rio Grande do Norte, nota-se que ao longo do tempo o sistema antes adotado de forma extensiva vem se modificando gradativamente, visando aumento da produção e produtividade do rebanho, onde

94,3% das propriedades amostrais empregam a produção semi-intensiva, apresentando risco de 35,7% ($p < 0,05$) para aquelas que adotam sistema de criação intensivo, com maior acometimento pelo *N. caninum*. No entanto quando se avalia a fonte de água fornecida aos caprinos, observa-se que em 16 (45,7%) propriedades a água era proveniente de açude, 11 (31,4%) de poço e 6 (17,2%) forneciam as duas fontes, apresentando análise estatística significativa ($p = 0,005$), com risco 2 vezes maior para aquelas que forneciam água apenas de açude. Resultados explicados quando analisar o acesso livre dos açudes pelos canídeos, elevando com isso a contaminação da água ingerida pelos caprinos que podem se contaminar após o nascimento mantendo o ciclo do protozoário.

O manejo empregado ao rebanho pode influenciar diretamente na presença de agentes causadores de doença como o *N. caninum*. A preocupação com aquisição de matrizes e reprodutores, assim como métodos de cobertura são fatores relevantes para controle desse agente, dessa forma pode-se observar que a compra de matrizes oriundas de rebanhos desconhecidos, podem elevar o risco em 31% ($p > 0,05$) para presença de anticorpos anti-*N. caninum*, quando se compara com aquisição em rebanhos conhecidos (Tabela 5).

Tabela 5 - Distribuição da positividade para *N. caninum* de acordo com o manejo reprodutivo das unidades produtoras da região Central e Oeste do Rio Grande do Norte.

Variáveis	n	%	OR	IC 95%	p
Método de cobertura					
Monta não Controlada	291	77,2	2,364	1,678-3,332	<0,001
Monta Controlada	86	22,8			
Com que frequência substitui o reprodutor					
Velho*	61	28	-		
2/2 anos	90	41	0,995	0,664-1,492	0,999
>2 anos	46	21	1,350	0,849-2,147	0,240
Anual	23	10	0,382	0,188-0,778	0,011
Com que frequência substitui as matrizes					
Velho	226	95,4	2,952	1,503-5,799	<0,001
≥ 2 anos	11	4,6			
De onde vem as matrizes					
Rebanho desconhecido	67	33,7	1,317	0,907-1,912	0,150
Rebanho conhecido	132	66,3			

* Categoria de referencia; n: número de amostras positivas; OR- *Odds Ratio*; IC 95%: Intervalo de confiança de 95%; p: significância; Perguntas que não tiveram respostas e variáveis de confusão foram excluídas da análise; Fonte: Dados do experimento.

Quando se analisa a substituição de reprodutores e matrizes, observa-se que em 30 (85,7%) propriedades a substituição ocorre quando as matrizes são consideradas velhas para reprodução, elevando em aproximadamente 3 vezes o risco (IC 95%: 1,503-5,799; $p<0,001$) para as matrizes de ser acometidas pelo *N. caninum*. Quanto aos reprodutores o risco elevou-se em 35% quando substituídos na velhice em comparação à substituição após dois anos de idade, entretanto quando ocorre anualmente torna-se fator de proteção ($p<0,05$) aos animais. Dessa forma, observa-se que quanto maior o tempo que os reprodutores e matrizes permanecem na propriedade maior é o risco a exposição pelo *N. caninum*.

Após regressão logística pode-se observar que as variáveis (Tabela 6) consideradas fatores de risco foram sistema de criação intensivo, fonte de água proveniente de açude e presença de canídeos selvagens adentrando as instalações, sendo o pastejo em outras propriedades consideradas fatores de proteção (OR=0,263; IC 95%: 0,075 - 0,922; $p<0,05$) para *N. caninum*.

Tabela 6 - Variáveis que permaneceram no modelo logístico final da análise multivariada para anticorpos anti-*N. caninum* na região Central e Oeste do estado do Rio Grande do Norte.

Variáveis	OR	IC 95%	p
Sistema de Criação	40,674	5,189 - 318,816	<0,001
Fonte de água	6,048	1,370 - 26,700	0,018
Canídeos selvagens	2,262	1,160 - 4,409	0,017
Pastejam em outras propriedades	0,263	0,075 - 0,922	0,037

OR=Odds Ratio; IC 95%: Intervalo de Confiança; Fonte: Dados do experimento.

Fatores de risco semelhante foram descritas por Souza Neto et al. (2009) que relataram as propriedades com sistema de criação intensivo apresentando elevada frequência de caprinos positivos para *N. caninum*, promovida pela concentração de animais e maior exposição a alimentos contaminados. Resultados quanto à fonte de água fornecida aos caprinos foram descritos por Rosa (2008), em Santa Catarina, em que não encontraram correlação estatística significativa entre a fonte de água e a positividade para *N. caninum*. Já para Souza Neto et al. (2009), embora não tenham encontrado correlação entre estas variáveis observaram maior frequência de acometimento de caprinos por *N. caninum*, em propriedades que forneciam água de açude e companhia de abastecimento.

Diversos fatores podem influenciar na prevalência do *N. caninum* em rebanhos caprinos, tornando os cuidados de higiene imprescindíveis para o controle desse agente. No

entanto os produtores desconhecem as práticas adequadas e riscos provenientes de falhas de manejo, associada à falta de conhecimento e assistência técnica, tornando a disseminação do *N. caninum* cada vez maior na região estudada.

6 CONCLUSÕES

As análises sorológicas demonstraram elevada soro-conversão e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em rebanho caprino oriundos das regiões Central e Oeste do Rio Grande do Norte;

A mesorregião Oeste apresentou maior disseminação de anticorpos anti-*N. caninum*, sendo Apodi a de maior prevalência;

Não houve correlação entre a positividade para anticorpos anti-*N. caninum* e a presença de cães nas propriedades estudadas;

Os fatores de risco associados com a alta prevalência do *N. caninum* foram: sistema de criação intensiva, água fornecida ao rebanho proveniente de açude e presença de canídeos selvagens adentrando as instalações.

REFERÊNCIAS

- ABO-SHEHADA, M. N.; ABU-HALAWEH, M. M. Flock-level seroprevalence of, and risk factors for, *Neospora caninum* among sheep and goats in northern Jordan. **Preventive Veterinary Medicine**. v.93, p.25-32, 2010.
- AGUADO-MARTINEZ, A. et al. Usefulness of rNcGRA7- and rNcSAG4-based ELISA tests for distinguishing primo-infection, recrudescence, and chronic bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**. v.157, p.182-195, 2008.
- ALMEIDA, M. A. O. Epidemiologia de *Neospora caninum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.13, p.38-40, 2004.
- ALMERÍA, S. et al. Specific anti-*Neospora caninum* IgG1 and IgG2 antibody responses during gestation in naturally infected cattle and their relationship with gamma interferon production. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.130, p.35-42, 2009.
- ANDERLINE, G. A. Aspectos epidemiológicos das infecções por *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* e *Chlamydophila abortus* em caprinos no estado de Alagoas. **Veterinária e Zootecnia**. v.18, n.4. p.583-590 2011.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**. v.60-61, p.417-431, 2000.
- ANDREOTTI, R. **Neosporose: Um possível problema reprodutivo para o rebanho bovino**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, Campo Grande-MS, 2001. 14p.
- ANDREOTTI, R. et al. Comparison of indirect ELISA based on recombinant protein NcSRS2 and IFAT for detection of *Neospora caninum* antibodies in sheep. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.18, p.20-24, 2009.
- AGUIAR, D. M. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, RO, Amazônia Ocidental brasileira, **Arquivos do Instituto Biológico**. v.71, p.616-618, 2004.
- ASTRUDILLO, V. M. **Encuestas por muestro para estudo epidemiologicos en poblaciones animales**. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de la Salud – Centro Panamericano de Fiebre Aftosa, 1979. 60p.
- BARR, B. C. et al. *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**. v.4, p.365-367, 1992.
- _____. Experimental fetal and transplacental neospora infection in the nonhuman primate. **Laboratory Investigation**. v.1, p.236-242, 1994.
- BARBER, J. S.; TREES, A. J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **International Journal for Parasitology**. v.28, p.57-64, 1998.

- BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands. **Theriogenology**. v.52, n.2, p.247-257, 1999.
- BASSO, W. et al. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal Parasitology**. v.87, p.612-618, 2001.
- BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Undetified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift Fuer Parasitenkunde**. Berlin, v.70, n.2, p.271-274, 1984.
- BJORKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STENLUND, S. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.208, p.1441-1444, 1996.
- BJORKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**. Oxford, v.29, p.1497-1507. 1999.
- BUXTON, D.; MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P. The Comparative Pathogenesis of Neosporosis. **Trends in Parasitology**. v.18, n.12, 2002.
- CAVALCANTE, A. C. R. et al. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. v.60, p.36-41, 2008.
- CORBELLINI, L. G.; COLODEL E. M.; DRIEMEIER D. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.13, n.5, p.416-419, 2001.
- CZOPOWICZ, M. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in 217 goats in Poland. **Veterinary Parasitology**. v.178, p.333-341, 2011.
- DAVISON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. **International Journal Parasitology**. v.29, p.1683-1689, 1999.
- DIANA, J. et al. *Toxoplasma gondii* regulates recruitment and migration of human dendritic cells via different soluble secreted factors. **Clinical & Experimental Immunology**. v.141, p.475-484, 2005.
- DIJKSTRA, T. et al. Dogs shed *Neospora caninum* oocyst 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, 2001.
- DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.214, p.1160-1163, 1999.

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

_____. *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis* and other cystforming coccidia of humans and animals In: KREIER, J. P. **Parasitic Protozoa**. New York: Academic Press, p.1-158, 1993.

DUBEY, J. P.; ACLAND, H. M.; HAMIR, A. N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. **Journal Parasitology**. v.78, n.3, p.532-534, 1992a.

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

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

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

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals-The last five years. **Veterinary Parasitology**. v.180, p.90-108, 2011.

_____. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**. v.140, p.1-34, 2006.

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

DUBEY et al. Induced transplacental transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.201, p.709-713, 1992b.

_____. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.193, n.10, p.1259-1263, 1988.

_____. Neosporosis-associated abortion in dairy goat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.208, n.2, p.263-265, 1996.

_____. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal Parasitology**. v.32, p.929-946, 2002.

FARIA, E. B. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraiba State, Northeast region of Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.149, p.126-129, 2007.

FUCHS, N., SONDA, S., GOTTSTEIN, B. Differential expression of cell surface-and dense granule-associated *Neospora caninum* proteins in tachyzoites and bradyzoites. **Journal of Parasitology**. v.84, p.753-758, 1998.

- FIGLIUOLO, L. P. C. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.123, n.3-4, p.161-166, 2004.
- GEORGIEVA, D. A., PRELEZOV, P. N., KOINARSKI, V. T. *Neospora caninum* and neosporosis in animals – A Review. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**. Stara Zagora, Bulgaria. v.9, p.1-26, 2006.
- GIBNEY, E. H. et al. The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death. **International Journal Parasitology**. v.38, p.579-588, 2008.
- GONÇALVES, K. N. et al. Infecção por *N. caninum* em rebanho ovino do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. São Paulo, v.13, p.223, 2004.
- GONDIM, L. F. P. et al. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **Journal Parasitology**. v.34, p.159-161, 2004.
- GUTIERREZ, A. N. **Interações de recursos e características econômicas dos criadores de ovinos e caprinos no sertão do Ceará, Nordeste do Brasil: resultados preliminares**. Sobral, CE, EMBRAPA-CNPC, 1982. 49p. (EMBRAPA-CNPC Boletim de Pesquisa, 3).
- HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. **Parasitology**. Cambridge, v.112, n.2, p.183-197, 1996.
- HERNANDEZ, J.; RISCO, C.; DONOVAN, A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. Schaumburg, v.219, n.5, p.632-635, 2001.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática, SIDRA: **Efetivo dos rebanhos, segundo as grandes Regiões e Unidades da Federação– Brasil – 2010**. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br/bda/>. Acesso em: 20 de Nov. 2011.
- INNES, E. A. et al. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**. v.108, p.29-36, 2005.
- IOVU, A. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dairy goats from Romania. **Veterinary Parasitology**. v.2, n.68, p.3-5, 2011.
- JOLLEY, W. R. et al. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. **Veterinary Parasitology**. v.82, p.251-257, 1999.
- KHAN, I. A. et al. *Neospora caninum*: role for immune cytokines in host immunity. **Experimental Parasitology**. v.85, p.24-34, 1997.

LALLY N. C.; JENHINS M. C.; DUBEY J. P. Evaluation of two *Neospora caninum* recombinant antigens for use in an enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of bovine neosporosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, Washington, v.3, n.3, p.275-279, 1996.

LANGONI, H. et al. Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.177, n.1-2, p.4-50, 2010.

LIMA, J. M. S. C. et al. Cloning and expression of an antigenic domain of a major surface protein (NC-P43) of *Neospora caninum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.16, n.2, p.61-66, 2007.

LIMA, J. T. R. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.45, n.2, p.81-86, 2008.

LINDSAY, D. S.; RITTER, D. M.; BRAKE, D. Oocyst excretion in dogs fed mouse brains containing tissue cysts of a cloned line of *Neospora caninum*. **The Journal of Parasitology**. v.87, n.4, p.909-911, 2002.

LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. **International Journal for Parasitology**. v.29, p.1521-1523, 1999.

LINDSAY, D. S. et al. *Neospora*-induced protozoal abortion in cattle. The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian. **Princeton**. v.15, n.6, p.882-889, 1993.

_____. Central nervous system neosporosis in a foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.8, p.507-510, 1996.

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. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**. v.13, p.84-89, 2006.

LOBATO, Z. I. P. et al. Língua azul em ovinos e caprinos na Região Mineira da SUDENE. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE BUIATRIA, 4., Campo Grande. **Resumos...** Campo Grande: Associação Brasileira de Buiatria, p.165, 2001.

MACHADO, G. P. et al. Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dog from farms. **Veterinary Parasitology**. v.182, p.356-358, 2011.

McALLISTER, M. M. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**. v.28, p.1473-1478, 1998.

MODOLO, J. R. et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.28, n.12, p.597-600, 2008.

MORAES, L. M. B. et al. Occurrence os anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Jaboticabal, v.20, n.4, p.312-317, 2011.

MUNHOZ, K. F. et al. Occurrence os anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from farms located in northern Parana, Brasil. **Ciências Agrárias**. Londrina, v.31, n.4, p.1031-1040, 2010.

NAGULESWARA, A. et al. Elaboration of a crude antigen ELISA for serodiagnosis of caprine neosporosis: validation of the test by detection of *Neospora caninum*-specific antibodies in goats from Sri Lanka. **Veterinary Parasitology**. v.126, p.257-262, 2004.

NOORDHUIZEN, J. P. T. M. et al. **Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology**. Wageningen Pers, 1997. 443p.

OLIVEIRA, J. M. et al. Prevalence of anti- *Neospora caninum* antibodies in dogs in the urban area of Campo Grande, MS, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.13, n.4, p.155-158, 2004.

OTERO, A. R. S. et al. Ocorrência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* em rebanho de ovinos no Estado da Bahia. In: FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1., São Paulo, 2005. **Anais...** São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p. 66.

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, p.133-138, 2007.

OVIEDO, T. S. **Infecção experimental de ovelhas deslanadas com *Neospora caninum***. 2001. 73f. Dissertação (Mestre em Ciência Animal), Minas Gerais: Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais. 2001.

OVIEDO, T. S. et al. Histopatologia de la infección experimental de ovejas sin Lana *Ovis aries* por *Neospora caninum*. **Revista MVZ-Córdoba**. v.8, p.261-264, 2003.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND M. C. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.7, p.352-359, 1995.

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

PEREIRA-BUENO, J. et al. Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. **Veterinary Parasitology**. Amsterdam, v.111, n.2-3, p.143-152, 2003.

PETERS, M. et al. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dog and cattle. **International Journal Parasitology**. v.31, p.1144-1148, 2001.

PETERSEN E. et al. *Neospora caninum* Infection and repeated abortions in humans, **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v.5, n.2, p.278-280, 1999.

PINHEIRO, R. R. et al. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. Belo Horizonte, v.52, n.5, p.534-543, 2000.

ROMANELLI, P. R. **Avaliação soroepidemiológica do *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em ovinos do município de Guarapuava, Paraná**. 2002. 53f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2002.

ROSA, L. D. **Prevalência e fatores de risco para infecção por *Neospora caninum* em ovinos no município de Lages, Santa Catarina, Brasil**. 2008.53f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina- UDESC, 2008.

SALABERRY, S. R. S. et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks os Uberlândia country, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.9, n.3, p.148-151, 2010.

SILVA, C. H. S. **Estudo da transmissão vertical de *Neospora caninum* em ovelhas deslançadas**. 2005. 54f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Viçosa, 2005.

SILVA, M. S. A. et al. *Hammondia heydorni*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em caprinos abatidos no estado da Bahia, Brasil. **Veterinary Parasitology**. v.162, n.1-2, p.156-159, 2009.

SHARIF, M. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran. **Veterinary Journal**. v.174, p.422-4, 2007.

SOUZA NETO, O. L. et al. Prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e fatores de risco associados a infecção em ovinos no município de Gravatá, Pernambuco, Brasil. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UFRPE, 11., **Anais...** Pernambuco: Universidade Federal Rural de Pernambuco, Centro de Ensino de Graduação, CEGOE, 2009.

SOARES, H. S. et al. Prevalence os anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. **Veterinary Parasitology**. v.160, p.211-214, 2009.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum*. **The Journal of Protozoology**. Lawrence, v.36, p.458-463, 1989.

STENLUND, S. et al. Serum antibody profile and pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**. v.85, p.227-234, 1999.

TEMBUE, A. A. S. M. et al. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Jaboticabal. v.20, n.3, p.246-248, 2011.

TRANAS, J. et al. Serological Evidence of Human Infection with the Protozoan *Neospora caninum*. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**. v.6, p.765-767, 1999.

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

_____. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**. Oxford, v.29, p.1195-1200, 1999.

UZÊDA, R. S. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. **Small Ruminant Research**. v.70, p.257-259, 2007.

UENO, T. V. H. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. **Tropical Animal Health Production**. v.41, p.547-552, 2009.

VARASCHIN, M. S. et al. Fatores associados a soroprevalência de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos na região sul de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.31, n.1, p.53-58, 2011.

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

WILLIAMS, D. J. L. et al. Endogenous and exogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* - how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease. **Parasitology**. v.136, n.14, p.1895-1900, 2009.

_____. *Neospora caninum* associated abortion in cattle: The time of experimentally – induced parasitaemia during gestation determines foetal survival. **Parasitology**. v.12, p.347-358, 2000.

WOUDA, W. et al. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**. v.29, p.1677-1682, 1999.

ANEXO – Questionário epidemiológico da neosporose caprina na região Central e Oeste
Potiguar do Rio Grande do Norte

Dados propriedade

Nome da Propriedade: _____ Endereço: _____

Distrito/Localidade: _____ Município _____ UF _____

Dados proprietário

Nome: _____

Nível de instrução

Alfabetizado () Ensino fundamental -1ª a 8ª () Ensino médio ()

Ensino superior ()

Reside na propriedade? sim () não ()

1. Qual a principal atividade?() Corte () Leite () Mista () Outros:

2. o sistema de criação é? () semi-intensivo () intensivo () extensivo

3. Qual a fonte de água oferecida aos caprinos?

() açude () poço () cisterna () adutora () outros _____

4. Os caprinos pastejam em outras propriedades () sim () não

5. Qual é o intervalo entre partos das cabras? _____

6. Para cada 10 caprinos nascidos quantos morreram ao nascer? _____

Quantos morreram até o desmame? _____

7. Qual a idade média dos caprinos à venda? _____

8. Quais métodos de cobertura ou práticas reprodutivas adotadas nos caprinos?

- a. Inseminação artificial
- b. Monta natural controlada
- c. Monta natural não controlada
- d. Transferência de embriões
- e. Combinadas (descrever)

9. Controla os nascimentos de caprinos? () Não () sim

() Outras (descreva) _____

10. Com que frequência substitui o reprodutor caprino?

- a. Uma vez por ano
- b. De dois em dois anos
- c. Com mais de dois anos
- d. Quando esta muito velho
- e. Morre

11. De onde vem a maioria das matrizes?

- a. Compra de empresas especializadas na venda de matrizes
- b. Compra em exposição
- c. Adquire de outros rebanhos conhecidos/vizinhos
- d. Adquire nas feiras de rebanhos desconhecidos
- e. Do próprio rebanho
- f. Outros (descreva) _____

12. Com que frequência substitui as matrizes caprinas?

- a. Uma vez por ano
- b. De dois em dois anos
- c. Com mais de dois anos
- d. Quando esta muito velho
- e. Morre
- f. Outro (especifique)

Dados referentes a ausência ou presença de canídeos na propriedade**1. Quantos cães domésticos existem na propriedade?**

Nº de Cães	
------------	--

2. De que os cães se alimentam?

Alimentos	(X)
Ração	
Somente do que caçam	
Sobra de alimentos e caça	
Vísceras de animais abatidos na propriedade	
Leite	
Leite, sobras de alimento, vísceras, caça	
*Sobra de alimentos	

*Sobras de alimento – arroz, feijão, farofa, restos de carne, pedaços de pão etc.

3. Na área onde está localizada a propriedade é comum a presença de cães selvagens?

Sim () Não ()

4. Os cães (domésticos ou selvagens) têm acesso água oferecida aos caprinos.

Sim () Não () Às vezes ()

5. Na propriedade existe alguma instalação utilizada para estocar alimentos destinados a suplementação de caprinos?

Sim () Não ()

6. A água oferecida aos caprinos é proveniente de:

Fontes de água	(X)
Cacimba	
Açude	
Lagoa	
Poço Profundo	
Cisterna	

Poço artesiano	
----------------	--

7. A água é oferecida aos caprinos em:

Forma de ofertar água aos animais	(X)
Vasilhames dentro das instalações	
Vasilhames fora das instalações	
Os caprinos e ovinos bebem direto na fonte – Açude, barragem, etc	

8. Os cães (domésticos ou selvagens) têm acesso a estas instalações?

Sim () Não () Às vezes ()

9. Já foi observado cães se alimentando de restos placentários? Sim () Não ()

10. É feito algum controle da população de cães na propriedade? Sim () Não ()

11. No caso de positivo qual o tipo de controle?

TIPO DE CONTROLE	(X)
Castração dos machos	
Esterilização de fêmeas – (castra)	
Sacrifício	
Doação dos cães recém nascidos	
Outros _____	