

Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária
Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos

**INVESTIGAÇÃO DA GALINHA (*Gallus domesticus*) COMO
HOSPEDEIRO INTERMEDIÁRIO NATURAL DE *Neospora*
*caninum***

KATTYANNE DE SOUZA COSTA

Salvador – Bahia

2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**INVESTIGAÇÃO DA GALINHA (*Gallus domesticus*) COMO HOSPEDEIRO
INTERMEDIÁRIO NATURAL DE *Neospora caninum***

Dissertação apresentada à Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos, na área de Saúde Animal.

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Pita Gondim

**Salvador – Bahia
2008**

FICHA CATALOGRÁFICA

COSTA, Kattyanne de Souza

Investigação da galinha (*Gallus domesticus*) como hospedeiro intermediário natural de *Neospora caninum*/Kattyanne de Souza Costa. – Salvador, 15/08/2008. 58p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, 2008.

Professor Orientador – Prof. Dr. Luis Fernando Pita Gondim

Palavras-chave – *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, Galinhas, Anticorpos, Infecção.

1 – Costa, Kattyanne de Souza 2 – *Neospora caninum* 3 – Infecção em galinhas I- Investigação da galinha (*Gallus domesticus*) como hospedeiro intermediário natural de *Neospora caninum*.

Aos meus pais, Emyr e Nicéa, pelo incentivo constante e amor, em todos os momentos, independente da distância.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis Fernando Pita Gondim, pelo incentivo, ensinamentos e confiança;

À Prof. Angela, pelo apoio constante, exemplo de paciência e sabedoria;

Ao Prof. Hélio, pelos ensinamentos e descontração;

À Erica e Alexandre, pela dedicação e exigência, responsáveis pela minha organização e disciplina no Laboratório;

Aos meus colegas e amigos, Rosinha, Mari, Sara, Lari, Zé (Matheus), Alan, Sheilinha, Taíse, Léa, Ilka, Tati e Del, presentes nos momentos de trabalho e diversão;

Ao grupo do Lasab, pela realização das coletas, especialmente Prof. Lia, Tati e Éllen;

À Flábio, pela orientação na etapa final do trabalho;

Ao Dr. McAllister, pela colaboração e participação neste trabalho;

Aos colegas do Laboratório de Infectologia Veterinária, Babi, Dani e Adriano, pela ajuda em etapas do projeto;

Aos Prof., técnicos e estudantes do Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses, pela atenção e convivência harmoniosa;

À minha família, papai, mamãe, Kelly, Keu, Pepi, Kai, Bam, Kezinha e Leca, que mesmo distantes foram incentivadores para mais essa conquista;

Às minhas amigas, Liu e Karlinha, pelo conforto através de palavras doces e verdadeiras;

À Du, pela paciência, compressão e carinho;

Ao Colegiado de Pós-Graduação da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia;

À FAPESB pela concessão da bolsa de mestrado e do auxílio dissertação;

Por fim, a todos que contribuíram para a realização desse trabalho.

"Há muitas razões para duvidar e uma
só para crer."

(Carlos Drummond de Andrade)

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	X
LISTA DE ABREVIATURAS.....	XI
RESUMO.....	XII
SUMMARY	XIII
1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1. Histórico	16
2.2. Impacto econômico na neosporose.....	168
2.3. Caracterização de estágios evolutivos de <i>N. caninum</i>	20
2.4. Ciclo de vida e transmissão.....	21
2.5. Epidemiologia	25
2.5.1. Infecção por <i>N. caninum</i> em mamíferos domésticos	25
2.5.2. Infecção por <i>N. caninum</i> em mamíferos silvestres	27
2.5.3. Infecção por <i>N. caninum</i> em aves	29
2.6. Controle	31
2.7. Diagnóstico	32
2.7.1. Provas sorológicas	32
2.7.2. Exames histopatológico e imunoistoquímica.....	34
2.7.3. Provas moleculares	35
2.7.4. Isolamento do parasito	35
3. ARTIGO CIENTÍFICO.....	37
4. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	40
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em canídeos silvestres em diferentes países	28
---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Criação de galinhas e de bovinos leiteiros em uma fazenda no município de Conceição de Feira, Bahia15

Figura 2 - Ciclo de vida do parasito *Neospora caninum*. Estão representados o ciclo entre animais domésticos (ciclo doméstico), o ciclo entre animais silvestres (ciclo silvestre), e os ciclos cruzados, envolvendo animais domésticos e silvestres25

LISTA DE ABREVIATURAS

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática

EUA – Estados Unidos

H & E - Hematoxilina e eosina

IFAT - Indirect Immunofluorescent Antibody Test

IFI - Imunofluorescência Indireta

ITP – Infecção transplacentária

pb - Pares de base

PCR - Reação de Polimerase em Cadeia

SNC – Sistema nervoso central

COSTA, K. S. **Investigação da galinha (*Gallus domesticus*) como hospedeiro intermediário natural de *Neospora caninum***. Salvador, Bahia, 2008. 58p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) - Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2008.

RESUMO

Neospora caninum é um importante causador de abortamentos em bovinos e que gera grande impacto econômico nas criações. O parasito infecta muitos mamíferos domésticos e silvestres, mas não tem sido demonstrado em aves. O objetivo deste trabalho foi investigar se galinhas são hospedeiros intermediários de *N. caninum*. Amostras sorológicas foram analisadas para anticorpos anti-*N. caninum* e anticorpos anti-*T. gondii* através do teste de imunofluorescência indireta em 400 galinhas no Estado da Bahia-Brasil, sendo 200 amostras provenientes de cinco propriedades rurais de manejo semi-intensivo (semi-confinadas) e 200 amostras de animais confinados em gaiolas suspensas de duas granjas comerciais. A frequência de aves infectadas por *N. caninum* foi maior nas galinhas semi-confinadas (23.5% versus 1.5%, $P < 0.001$), assim como para *T. gondii* (25% versus 3%, $P < 0.001$). Para a realização da reação da polimerase em cadeia, o gene *Nc5* de *N. caninum* foi amplificado com os primers Np21 e Np6 em dez galinhas soropositivas. Os amplicons de duas amostras foram seqüenciados e apresentaram entre 97-98% de identidade com *N. caninum*. Estes resultados indicam que galinhas são hospedeiros intermediários naturais de *N. caninum*.

Palavras-chave: *Neospora caninum*; *Toxoplasma gondii*; galinha; anticorpos; infecção.

COSTA, K. S. **Investigation of chicken (*Gallus domesticus*) natural intermediate hosts of *Neospora caninum***. Salvador, Bahia, 2008. 58p. Dissertation (Master of Animal Science in the Tropics) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2008.

SUMMARY

Neospora caninum is a major cause of abortion in cattle that induces great economical impact in livestock. The parasite infects many domestic and wild mammals, but has not previously been demonstrated in birds. The aim of this work was to investigate whether chicken are intermediate hosts of *N. caninum*. Sera were examined for antibodies anti-*N. caninum* and anti-*T. gondii*, using an indirect immunofluorescent test in 400 chickens in the state of Bahia-Brazil, being 200 outdoor chickens from five farms and 200 chickens confined indoors in suspended crates from two commercial companies. Seroprevalence for *N. caninum* was greater in outdoor chickens (23.5% versus 1.5%, $P < 0.001$), as for *T. gondii* (25% versus 3%, $P < 0.001$). Polymerase chain reaction (PCR) was performed with amplification of the gene Nc5 of *N. caninum* with the primers Np21 and Np6 in 10 seropositive chickens. PCR testing was positive in six chickens. Amplicons from two of these were sequenced and had 97–98% nucleotide identity with *N. caninum*. These results indicate that chickens are natural intermediate hosts of *N. caninum*.

Keywords: *Neospora caninum*; *Toxoplasma gondii*; Chicken; Antibodies; Infection.

1. INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um protozoário do Filo Apicomplexa, família Sarcocystidae e sub-família Toxoplasmatinae (Dubey et al., 1988a), que infecta várias espécies animais domésticas e silvestres, e possui cães e coiotes (*Canis latrans*) como hospedeiros definitivos (McAllister et al., 1998a; Gondim et al., 2004a).

N. caninum é um parasito de importância mundial por induzir abortamentos, perdas neonatais e alterações neurológicas em animais de produção, além de acometer animais de companhia (Dubey, 2003). A neosporose causa prejuízos econômicos em rebanhos bovinos (Hemphill & Gottstein, 2000), no entanto é pouco comum em outros ruminantes domésticos, como ovinos e caprinos (Barr et al., 1992; Hässig et al., 2003). Embora títulos de anticorpos anti-*N. caninum* tenham sido detectados em humanos, até o momento não existe relato da neosporose no homem (Tranas et al., 1999; Petersen et al., 1999; Lobato et al., 2006).

N. caninum possui características fenotípicas semelhantes a *Toxoplasma gondii*, *Neospora hughesi* e *Hammondia* sp. A diferenciação entre esses táxons é realizada por análises moleculares, ultra-estruturais e antigênicas. Estudos filogenéticos demonstraram que *N. caninum* e *Hammondia heydorni* são mais próximos entre si, enquanto que *T. gondii* está mais relacionado a *H. hammondi*. *N. caninum* e *N. hughesi* são monofiléticos, porém espécies diferentes (Ellis et al., 1999; Mugridge et al., 1999; 2000; Slapeta et al., 2002a).

Evidências epidemiológicas apontam galinhas como fatores de risco na transmissão de *N. caninum*. Em um estudo realizado na Holanda, a presença de galinhas foi associada estatisticamente com abortamento bovino (Bartels et al., 1999). Em outro estudo, na Itália, cães e galinhas foram considerados fatores de risco significativos no aumento da soropositividade para *N. caninum* em rebanhos bovinos (Otranto et al., 2003).

Até a realização do presente estudo, não havia relato de infecção natural em aves, apenas trabalhos de infecção experimental (Packham et al., 1998; McGuire et al., 1999; Furuta et al., 2007). Portanto, não se sabe se a infecção por *N. caninum* pode ocorrer naturalmente em aves após estas ingerirem oocistos do parasito no ambiente, assim como ocorre com *T. gondii* (Dubey et al., 1993), ou se aves são somente vetores mecânicos de oocistos de *N. caninum*.

As aves têm um papel significativo na epidemiologia da toxoplasmose e são consideradas marcadores de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*, já que possuem o hábito de se alimentar diretamente no solo (Dubey et al., 2003a; 2006a; 2006b). Muitos trabalhos demonstraram a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas, diversas cepas foram isoladas nesta espécie animal, e gatos eliminaram oocistos após a ingestão de tecidos de galinhas naturalmente infectadas (Dubey et al., 2002a, 2004).

O Brasil possui um grande efetivo de aves comerciais, e além disso, é comum nas propriedades rurais a criação semi-intensiva de galinhas juntamente com outras espécies animais (IBGE, 2006) (Figura 1).



Figura 1. Criação de galinhas e de bovinos leiteiros em uma fazenda no município de Conceição de Feira, Bahia.

Devido à importância da galinha como fonte de alimento para os animais e o homem, a sua distribuição cosmopolita, e as evidências epidemiológicas como fator de risco na transmissão de *N. caninum* para outros animais, o presente trabalho tem como hipótese que galinhas criadas em regime semi-intensivo (semi-confinadas) estão mais expostas à infecção em relação às aves criadas em regime de total confinamento em gaiolas suspensas e que galinhas são hospedeiros intermediários de *N. caninum*. Portanto, o objetivo desse estudo foi investigar se galinhas (*Gallus domesticus*) são hospedeiros intermediários naturais de *N. caninum*, por meio de testes imunológicos e moleculares.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Histórico

Na Noruega, Bjerkas et al. (1984) relataram um parasito formador de cisto em cães da raça Boxer que tinham histórico de desordem neurológica, paresia de membros posteriores, e exame sorológico negativo para *T. gondii*. À necropsia foram observados numerosos parasitos, severa inflamação e necrose no sistema nervoso central (SNC) e músculos esqueléticos.

Posteriormente, bezerros de diferentes rebanhos de Washington apresentaram mielite que foi associada a um protozoário similar a *T. gondii* e *Sarcocystis* spp (Parish et al., 1987). No Reino Unido um bezerro com sintomatologia nervosa apresentou cistos teciduais na medula espinhal e cérebro, indistinguíveis ultra-estruturalmente de *T. gondii*, no entanto, após análise de imunoistoquímica houve uma fraca reação para *Sarcocystis* spp, sugerindo ser uma espécie de *Sarcocystis* ou *T. gondii* (O' Toole & Jeffrey, 1987).

No final da década de 80, houve a classificação de um novo organismo, *N. caninum*, após revisão de cortes histológicos de 23 cães com histórico de toxoplasmose.

N. caninum formava merontes em muitos tecidos dos cães, principalmente no SNC, a multiplicação ocorria no citoplasma sem o vacúolo parasitóforo, e não reagia ao soro anti-*T. gondii* no teste de imunoistoquímica (Dubey et al., 1988a). No mesmo ano, *N. caninum* foi isolado em cultura celular a partir de tecidos de cães naturalmente infectados que apresentavam polirradiculoneurite e polimiosite granulomatosa (Dubey et al., 1988b). Na cultura celular observou-se que os taquizoítos se multiplicavam dentro do vacúolo parasitóforo, o que não foi observado previamente (Dubey et al., 1988a; 1988b).

Poucos anos após sua classificação *N. caninum* já era considerado uma das principais causas de abortamento em bovinos e responsável por grandes prejuízos econômicos (Thilsted & Dubey, 1989; Dubey et al., 1989; Anderson et al., 1991; Barr et al., 1991; Anderson et al., 1995).

Além de acometer animais domésticos, *N. caninum* também infecta animais silvestres. O primeiro relatado de infecção por *N. caninum* na fauna silvestre foi na Califórnia em um cervídeo *Odocoileus hemionus columbianus* de dois meses de idade, que apresentou lesões nos rins, pulmões e fígado. Essas lesões eram caracterizadas por infiltrados de células mononucleares associadas a taquizoítos de *N. caninum*. O diagnóstico foi confirmado por meio de um teste imunoistoquímico específico para o parasito (Woods et al., 1994).

Passados quase dez anos desde a classificação de *N. caninum*, ainda eram desconhecidos os seus hospedeiros definitivos. Diferentes espécies animais foram testadas em busca da identificação de hospedeiros definitivos do parasito, como aves carnívoras, coiotes, gatos e espécies de mustelídeos, contudo estes animais não excretaram oocistos nas fezes após a ingestão de tecidos infectados com *N. caninum* (Baker et al., 1995; Lindsay et al., 1996; McAllister et al., 1998b; 1999).

Em 1998, o cão foi confirmado como hospedeiro definitivo de *N. caninum* por eliminar oocistos após a ingestão de tecidos de camundongos infectados com cistos teciduais do parasito (McAllister et al., 1998a). Os oocistos, após esporulação

apresentavam morfologia semelhante a *T. gondii* e *Hammondia* sp, e foram identificados como *N. caninum* através da reação da polimerase em cadeia (PCR). Posteriormente, Gondim et al., (2004a) demonstraram que coiotes são hospedeiros definitivos de *N. caninum*, os quais excretaram oocistos após a ingestão de tecidos de bezerros infectados experimentalmente com o parasito.

No Brasil, a primeira confirmação do coccídio foi em um feto bovino abortado, proveniente de uma propriedade leiteira com histórico de abortamentos (Gondim et al., 1999a). O primeiro isolamento do parasito foi somente em 2001, a partir de tecidos de um cão que apresentava sinais de incoordenação e paresia de membros posteriores e sorologia positiva para *N. caninum* (Gondim et al., 2001).

Um número significativo de estudos acerca de *N. caninum* foi desenvolvido no país, incluindo diversos inquéritos epidemiológicos e isolamentos do parasito em diferentes espécies animais (Gondim et al., 1999b; Fujii et al., 2001; Melo et al., 2001; Corbellini et al., 2002; Ragozo et al., 2003; Guimarães et al., 2004; Figliuolo et al., 2004; Rodrigues et al., 2004; Gennari et al., 2005; Locatelli-Dittrich et al., 2004; 2006; Munhoz et al., 2006; Villalobos et al., 2006; Pena et al., 2007; Romanelli et al., 2007; Faria et al., 2007; Uzêda et al., 2007a; Gondim et al., 2007).

2.2. Impacto econômico na neosporose

Infecção por *N. caninum* em rebanhos bovinos induz a grandes prejuízos econômicos devido às falhas reprodutivas, redução na produção leiteira e no peso das carcaças (Thurmond & Hietala, 1997; Barling et al., 2000; Hobson et al., 2005).

O abortamento e reabsorção fetal são problemas reprodutivos comumente encontrados nos rebanhos infectados por *N. caninum*, o que implica no aumento do tempo de concepção e intervalo entre partos (Trees et al., 1999). O retorno ao estro nas vacas após confirmação da prenhez é um indicativo de falha na manutenção da gestação, o que pode ser atribuído ao parasito (Robson et al., 2005).

A presença de anticorpos no rebanho pode indicar maior risco de abortamento. Estudos demonstraram que vacas soropositivas têm 3,3 mais chances de abortar que vacas soronegativas, e o título de anticorpos é 3,4 a 7 vezes maior em vacas que abortaram em relação às vacas com gestação normal (Thurmond et al., 1997; Corbellini et al., 2002).

Estudos de prevalência de abortos em bovinos realizados em diferentes países, inclusive no Brasil, resultaram em 23 a 42,5% dos fetos com neosporose confirmada, o que evidencia a importância da enfermidade como causadora de abortos em bovinos (Anderson et al., 1995; Corbellini et al., 2002; 2006a; Sadrebazzaz et al., 2007). Trabalhos demonstraram prejuízos anuais em milhões de dólares no Canadá e Nova Zelândia, pois o custo por feto perdido varia de acordo com a idade do feto abortado, as doses de sêmen utilizadas na inseminação artificial, o valor genético da matriz e touro, a capacidade reprodutiva da progênie e aumento do intervalo entre partos nas matrizes (Dubey et al., 2007).

Outra consequência da infecção por *N. caninum* é retenção de membranas fetais após o parto, causando um processo inflamatório, que demanda de tratamento quimioterápico e um descanso da fêmea (Hobson et al., 2005).

A produção leiteira pode sofrer influência da infecção pelo *N. caninum* como demonstrado em um estudo na Califórnia, onde vacas soropositivas produziram uma quantidade menor de leite e com menos gordura em relação às vacas soronegativas (Thurmond & Hietala, 1997).

Uma redução no ganho de peso diário foi observada em bezerros de corte soropositivos para *N. caninum*. Esses animais sororreagentes quando acometidos por alguma enfermidade, o custo do tratamento era maior em relação aos animais soronegativos (Barling et al., 2000).

2.3. Caracterização de estágios evolutivos de *N. caninum*

N. caninum possui semelhanças morfológicas e ultra-estruturais com os demais parasitos Toxoplasmatídeos (Speer et al., 1999), no entanto são observadas diferenças genéticas, antigênicas e biológicas entre esses protozoários (Dubey et al., 2002b).

As formas infectantes de *N. caninum* são os taquizoítos, os bradizoítos nos cistos teciduais e os esporozoítos contidos nos oocistos esporulados (Dubey et al., 2002b).

Os taquizoítos são ovóides, lunares ou globulares, medem cerca de 7,5 x 2µm, sendo as formas de multiplicação rápida e assexuada do parasito. Os taquizoítos localizam-se no citoplasma das células (no interior de um vacúolo parasitóforo) em diferentes tecidos no hospedeiro (Dubey & Lindsay, 1996; Speer et al., 1999).

O bradizoíto é o estágio latente da infecção, com divisão lenta e assexuada dentro dos cistos teciduais e mede aproximadamente 8,1 x 2µm. O cisto tecidual é oval, possui até 107µm de diâmetro, apresenta parede com espessura média de 1,9µm (0,5-4µm) e contém cerca de 20-100 bradizoítos (Dubey & Lindsay, 1996; Speer et al., 1999). Os cistos teciduais estão localizados no SNC, entretanto Peters et al. (2001a) relataram também em músculos esqueléticos de cães e bezerros com neosporose.

Os oocistos são as formas resistentes do parasito no ambiente e resultam da fase sexuada que ocorre nas células intestinais do hospedeiro definitivo (McAllister et al., 1998a). Em estudos com oocistos de *T. gondii*, estes permaneceram viáveis por longos períodos no ambiente (Dumètre & Dardé, 2003).

Os oocistos esporulados possuem parede lisa com espessura de 0,6-0,8µm, e apresentam dois esporocistos com quatro esporozoítos cada. Os esporocistos são elipsoidais, apresentam parede lisa, incolor. Os esporozoítos são alongados e medem 6,5 x 2µm. Os oocistos não-esporulados, são esféricos à subsféricos, apresentando 10-11µm de diâmetro, e quando esporulados, medem 11,7±0,43µm por 11,3±0,38µm, com raio de 1.04µm (McAllister et al., 1998a; Lindsay et al., 1999).

2.4. Ciclo de vida e transmissão

N. caninum apresenta um ciclo de vida heteroxênico facultativo com fases sexuada e assexuada, infectando espécies domésticas e silvestres (Mugridge et al., 1999).

Os hospedeiros definitivos de *N. caninum* são cães e coiotes que possuem a fase sexuada do ciclo. Após ingestão de cistos teciduais pelos hospedeiros definitivos ocorre a fase sexuada (gametogênese) no intestino, que culmina com a formação e excreção de oocistos não-esporulados nas fezes (McAllister et al., 1998a; Gondim et al., 2004a).

Os hospedeiros intermediários, domésticos e silvestres, albergam as formas assexuadas do protozoário, como taquizoítos e cistos teciduais contendo bradizoítos, e incluem diferentes espécies de carnívoros, herbívoros e roedores (Dubey et al., 1988a; Barr et al., 1991; Barr et al., 1992; Woods et al., 1994; Jolley et al., 1999; Peters et al., 2001b; Almería et al., 2002; Williams et al., 2002; Rodrigues et al., 2004; Serrano-Martínez et al., 2004; 2007a; Ferroglia et al., 2007).

N. caninum pode ser transmitido de forma vertical (infecção transplacentária) e horizontal. A infecção transplacentária (ITP) foi relatada em algumas espécies domésticas, como cães, caprinos e bovinos, sendo uma eficiente via de transmissão entre os bovinos (Barber et al., 1998; Anderson et al., 2000; Corbellini et al., 2001).

Trees & Williams (2005) classificaram a ITP em endógena e exógena. A ITP endógena é caracterizada pela recrudescência da infecção materna durante a gestação, podendo ocorrer em bovinos por sucessivas gerações (Anderson et al., 1997). A ITP exógena é definida como a infecção adquirida no período gestacional. Experimentalmente a ITP exógena por *N. caninum* foi demonstrada em bovinos após a administração de oocistos do parasito para vacas gestantes, resultando em abortamento (Gondim et al., 2004b).

A transmissão transplacentária pode estar relacionada com a quantidade de oocistos ingerida pelas matrizes e o período da infecção durante a gestação. Trees et al. (2002) não constataram a ITP após administrar oralmente 600 oocistos em vacas com 10 semanas de gestação. No entanto, a ITP foi induzida com 1.500 oocistos em vacas com 160 dias de gestação, mas 70.000 oocistos com 70 dias de gestação não induziram a infecção fetal (Gondim et al., 2004b). Essa diferença na indução da infecção fetal está relacionada com o tipo de resposta modulada pelo sistema imune. No início da gestação a resposta é do tipo Th1, eficiente no combate a infecção por protozoários intracelulares, no entanto no final da gestação observa-se a resposta tipo Th2, resposta protetora para a manutenção do feto e pouco eficiente na infecção por patógeno intracelular (Innes et al., 2002).

A infecção em rebanhos bovinos por *N. caninum* não pode ser sustentada sem a transmissão horizontal, na qual os hospedeiros intermediários se infectam através da ingestão de oocistos esporulados (McAllister, 1999). A transmissão horizontal, que pode levar a surtos de abortamentos nos bovinos, pode ser observada nos rebanhos pela soroconversão com aumento da idade dos animais e quando não há associação entre a soropositividade de vacas e bezerros (Davison et al., 1999; Dijkstra et al., 2001b).

No hospedeiro definitivo a transmissão horizontal ocorre através da ingestão de tecidos contendo cistos do protozoário (McAllister et al., 1998a), como descrito por Dijkstra et al. (2001a), após cães ingerirem placenta bovina e eliminarem oocistos.

A eficiência da transmissão horizontal tem sido questionada devido ao pequeno número de oocistos excretados pelos cães (McAllister et al., 1999), porém sabe-se que a ingestão de tecidos infectados de diferentes espécies animais e a idade dos cães podem influenciar na proporção de oocistos excretados (Gondim et al., 2002; Gondim et al., 2005). Gondim et al. (2002) observaram uma maior eliminação de oocistos em cães que ingeriram tecidos de bezerros infectados, quando comparados com cães que consumiram tecidos de camundongos infectados. Camundongos e bovinos são hospedeiros intermediários naturais, entretanto tecidos de bovinos mostraram-se mais eficientes na produção de oocistos em cães (Gondim et al., 2002; Ferroglio et al., 2007).

Outro fator a ser considerado na quantidade eliminada de oocistos é a idade do cão infectado, já que filhotes eliminaram uma quantidade significativamente maior de oocistos em relação aos cães adultos (Gondim et al., 2005); estes autores demonstraram que cães que excretaram previamente oocistos, quando reinfectados após um intervalo de 18 a 20 meses, re-excretaram oocistos.

A infectividade de oocistos de *N. caninum* tem sido pouco estudada, o que é provavelmente justificado pela dificuldade em se produzir oocistos experimentalmente. Uzêda et al. (2007b) demonstraram que oocistos com 46 meses, conservados em solução de ácido sulfúrico 2% a 4°C, não induziram infecção em gerbis. Parte dos mesmos oocistos, mantidos até 108 dias nas mesmas condições, foram infectantes para gerbis e vacas (Gondim et al., 2002; 2004b).

A transmissão venérea tem sido considerada uma via potencial de transmissão de *N. caninum*. Ortega-Mora et al. (2003) avaliaram amostras de sêmen de animais soropositivos e soronegativos para *N. caninum*. DNA de *N. caninum* foi detectado em poucas amostras de sêmen de animais soropositivos, mas não foi detectado em amostras de animais soronegativos. Um pequeno número de animais PCR-positivos para *N. caninum* foi descrito por Caetano-da-Silva et al. (2004) após a análise de amostras de sêmen de animais sororreagentes provenientes de uma central de inseminação. A baixa detecção de DNA do parasito nas amostras de sêmen sugere que a transmissão sexual ou por inseminação artificial é provavelmente baixa.

Estudos recentes demonstraram que reprodutores bovinos quando inoculados por via intravenosa com 10^8 taquizoítos de *N. caninum*, apresentaram sorologia positiva para o parasito, como também o DNA do protozoário foi detectado no sêmen e sangue dos animais (Serrano-Martínez et al., 2007b; Ferre et al., 2008). No entanto, novilhas inseminadas com sêmen dos touros infectados experimentalmente não apresentaram anticorpos anti-*N. caninum*, como também os bezerros nascidos dessas fêmeas (Ferre et al., 2008).

Infecção em vacas foi demonstrada após a inseminação artificial com amostras de sêmen infectadas experimentalmente com 10^7 taquizoítos de *N. caninum*, o que gerou danos na mucosa uterina, com presença de inflamação e redução de embriões viáveis (Serrano et al., 2006).

Especula-se que leite pode ser uma outra fonte de infecção. Estudou-se a transmissão de *N. caninum* em um grupo de bezerros alimentados com leite infectado experimentalmente com 10^7 taquizoítos do parasito, enquanto outro grupo recebeu leite de vacas soropositivas. Animais dos dois grupos não apresentaram sintomatologia clínica ou lesão histológica. Os animais alimentados com leite infectado com taquizoítos apresentaram anticorpos, mas foram PCR negativos (Davison et al., 2001). Posteriormente, DNA de *N. caninum* foi detectado em amostras de colostro de vacas sorologicamente positivas, o que sugere uma possível infecção através do colostro (Moskwa et al., 2007).

A transmissão de *N. caninum* entre animais domésticos e silvestres foi demonstrada experimentalmente (Figura 2). Cães foram alimentados com tecidos de cervídeos infectados naturalmente e eliminaram oocistos nas fezes (Gondim et al., 2004c). Em outro estudo, coiotes excretaram oocistos do parasito após a ingestão de tecidos de bezerros infectados (Gondim et al., 2004a).

A transmissão horizontal em bovinos está associada a abortamentos epidêmicos que ocorrem em um período de tempo relativamente curto, por uma fonte comum de infecção. Os abortamentos endêmicos ocorrem em taxas anuais em torno de 5%, por longos períodos, sendo mais relacionados com a transmissão vertical (McAllister et al., 1996; Anderson et al., 2000).

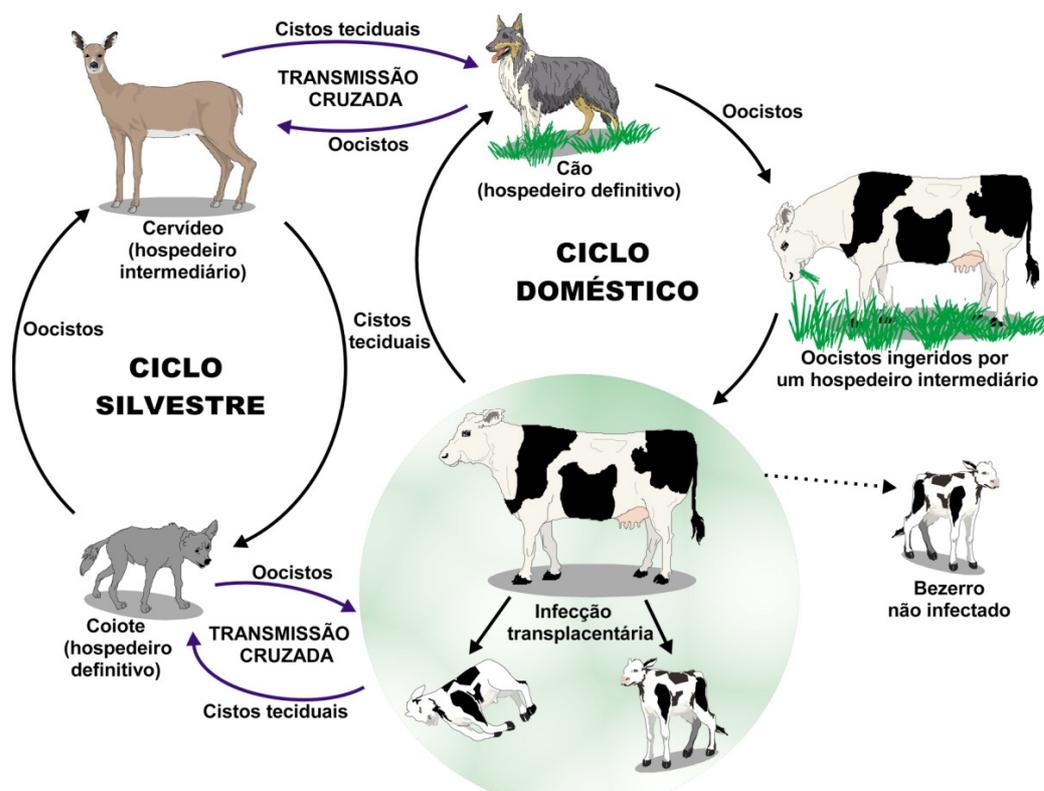


Figura 2 - Ciclo de vida do parasito *Neospora caninum*. Estão representados o ciclo entre animais domésticos (ciclo doméstico), o ciclo entre animais silvestres (ciclo silvestre), e os ciclos cruzados, envolvendo animais domésticos e silvestres. (cortesia: Gondim, L.F.P.)

2.5. Epidemiologia

2.5.1. Infecção por *N. caninum* em mamíferos domésticos

N. caninum é um coccídio cosmopolita, relatado em diferentes espécies animais domésticas, especialmente bovinos. Os cães têm uma importante participação na epidemiologia de *N. caninum*, pois são hospedeiros definitivos do parasito e eliminam as formas resistentes do parasito no ambiente, infectando conseqüentemente uma variedade enorme de hospedeiros (Bartels et al., 1999; Corbellini et al., 2006b).

Os rebanhos bovinos têm sido amplamente investigados no mundo, sendo a presença de anticorpos anti-*N. caninum* observadas entre 1 a 85% dos animais (Hemphill & Gottstein, 2000; Dubey, 2003). As condições climáticas e de sanidade nos rebanhos possivelmente colaboram para uma frequência variável de anticorpos para o parasito em regiões geográficas diferentes (Dubey, 2003).

A pesquisa de anticorpos para *N. caninum* em búfalos foi relatada inicialmente no Vietnã e Egito (Huong et al., 1998; Dubey et al., 1998). Posteriormente, na Itália 81% dos rebanhos com histórico de abortamentos apresentaram anticorpos anti-*N. caninum*, cuja soroprevalência foi de 34,6%, ocorrendo uma maior positividade em búfalos adultos em comparação aos jovens (Guarino et al., 2000). No Brasil, a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em búfalos foi de 35,9% na Bahia, 63,9% em São Paulo e 70,9% no Pará (Fujii et al., 2001; Gennari et al., 2005; Gondim et al., 2007).

A exposição ao *N. caninum* tem sido observada em outros animais de produção. Em suínos, dois trabalhos descreveram frequências de anticorpos anti-*N. caninum* de 3,3% e 8,8% em animais naturalmente infectados (Helmick et al., 2002; Damriyasa et al., 2004). Caprinos apresentaram uma baixa soropositividade (Naguleswaran et al., 2004; Figliuolo et al., 2004; Faria et al., 2007), sendo que a maior frequência encontrada foi de 15% na Bahia-Brasil (Uzêda et al., 2007a). A detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em ovinos foi menor em relação aos outros animais de produção, sendo de 0,45% na Inglaterra, de 10,3% na Suíça e de 9,5% no Brasil (Helmick et al., 2002; Hässig et al., 2003; Romanelli et al., 2007).

Equínos podem ser infectados por *N. caninum* e *N. hughesi*, não sendo possível a diferenciação dos dois sorologicamente (Marsh et al., 1998; Pitel et al., 2003; Gondim et al., 2008, no prelo), contudo as duas espécies foram confirmadas como geneticamente distintas (Ellis et al., 1999). Anticorpos anti-*Neospora* spp foram detectados em equínos nos EUA (McDole & Gay, 2002), França (Pitel et al., 2003), Itália (Ciaramella et al., 2004), Brasil (Locatelli-Dittrich et al., 2006; Villalobos et al., 2006), Suíça (Jakubek et al., 2006) e Israel (Kligler et al., 2007).

2.5.2. Infecção por *N. caninum* em mamíferos silvestres

Um amplo espectro de hospedeiros silvestres de *N. caninum* tem sido identificado desde a sua classificação. A primeira descrição do parasito na fauna silvestre foi em um cervídeo (*Odocoileus hemionus columbianus*) na Califórnia (Woods et al., 1994). Posteriormente, estudos epidemiológicos relataram uma alta detecção de anticorpos para *N. caninum* em cervídeos *Odocoileus virginianus*, *Ozotoceros bezoarticus* e em animais do gênero *Mazama* (Dubey et al., 1999; Tiemann et al., 2005a; 2005b), indicando a possível importância dos cervídeos como reservatórios do parasito.

Outras espécies de cervídeos foram sororreagentes ao coccídio como *Alces alces* e *Rangifer tarandus* nos EUA, *Cervus albirostris*, *Cervus elaphus canadensis*, *Cervus nippon pseudaxis*, *Elaphurus davidianus* na Tcheca e Eslováquia, e *Cervus elaphus* e *Capreolus capreolus* na Espanha (Dubey & Thulliez, 2005; Sedlák & Bártoová, 2006; Almería et al., 2007).

Evidência sorológica de infecção por *N. caninum* foi observada em outros herbívoros silvestres, incluindo bovídeos, camelídeos e equídeos (Hilali et al., 1998; Ferroglio et al., 2003; Chávez-Velásquez et al., 2004; Dubey & Thulliez, 2005; Sedlák & Bártoová, 2006; Sadrebazaz et al., 2006; Almería et al., 2007; Rajkhowa, et al., 2008; Liu et al., 2008). Em duas espécies de camelídeos, *Vicugna pacos* e *Llama glama*, na América do Sul, além de realizados estudos de prevalência de anticorpos anti-*N. caninum*, indicando exposição dos animais ao parasito, foram observados abortamentos associados a *N. caninum* (Serrano-Martínez et al., 2007a).

Estudos de prevalência de infecção por *N. caninum* em canídeos silvestres têm sido realizados em diferentes países (tabela 1). A raposa (*Vulpes vulpes*) foi confirmada como hospedeiro intermediário de *N. caninum*, pois foi detectado DNA do parasito em tecidos nessa espécie animal. O coioote é o único canídeo silvestre identificado como

hospedeiro definitivo do parasito, embora suspeita-se que outros canídeos possam servir como hospedeiros definitivos (Almería et al., 2002, Gondim et al., 2004a).

Outras espécies de carnívoros, nas quais foram identificados anticorpos anti-*N. caninum* incluem felinos como *Acinonyx jubatus*, *Herpailurus yaguarondi*, *Lynx lynx*, *Panthera leo goojratensis*, mustelídeos (*Martes pennanti*), hiena (*Crocuta crocuta*), raccoon (*Procyon lotor*) (Lindsay et al., 2001; Ferroglio et al., 2003; Sedlák & Bártoová, 2006). Marsupiais, suínos selvagens e mamíferos marinhos também apresentaram anticorpos para *N. caninum*, sugerindo que esses animais podem se infectar com o parasito e participar no ciclo de vida de *N. caninum* (Yai et al., 2003; Dubey et al., 2003b; Almería et al., 2007).

Tabela 1: Frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em canídeos silvestres em diferentes países.

Espécie de canídeo	Nº amostras	Frequência (%)	Técnica	Referência
<i>Canis latrans</i>	52	10	IFI ^a	Lindsay et al., 1996
	113	11	IFI	Gondim et al., 2004c
	201	2,5	ELISA ^b	Wapenaar et al., 2007
	201	1,5	IFI	Wapenaar et al., 2007
	183	14,8	TA ^c	Wapenaar et al., 2007
<i>Canis familiaris dingo</i>	169	8,9	IFI	Barber et al., 1997
<i>Canis aureus</i>	114	1,7	IFI	Steinman et al., 2006
<i>Canis lupus</i>	122	3,3	TA	Dubey & thulliez, 2005
	164	39	IFI	Gondim et al., 2004c
	9	11	IFI	Steinman et al., 2006
<i>Canis lupus lupus</i>	10	20	IFI	Sedlák & Bártoová, 2006
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	6	16,7	IFI	Sedlák & Bártoová, 2006
<i>Vulpes vulpes</i>	54	2	IFI	Barber et al., 1997
	123	17	IFI	Buxton et al., 1997
	54	1,8	IFI	Steinman et al., 2006
	53	69,8	TA	Marco et al., 2008
	271	2,6	ELISA	Wapenaar et al., 2007
	271	1,1	IFI	Wapenaar et al., 2007
	270	34,8	TA	Wapenaar et al., 2007
	2	100	IFI	Sedlák & Bártoová, 2006
<i>Vulpes zerda</i>	2	100	IFI	Sedlák & Bártoová, 2006
<i>Lycalopex gymnocercus</i>	12	41,7	IFI	Cañón-Franco et al., 2004
<i>Cerdocyon thous</i>	15	26,7	IFI	Cañón-Franco et al., 2004

^aIFI – imunofluorescência indireta

^bELISA – ensaio de imunoadsorção enzimática

^cTA – Teste de aglutinação

2.5.3. Infecção por *N. caninum* em aves

São escassas as informações do papel das aves no ciclo de vida de *N. caninum*, contudo estudos epidemiológicos apontaram aves domésticas como fatores de riscos na transmissão do protozoário (Bartels et al., 1999; Otranto et al., 2003). Ao contrário de *N. caninum*, as aves foram extensivamente investigadas no ciclo de vida de *T. gondii*, sendo hospedeiros intermediários naturais do parasito (Dubey et al., 1993).

O primeiro trabalho acerca de *N. caninum* em aves foi realizado por Baker et al. (1995) com o objetivo de identificar o hospedeiro definitivo de *N. caninum*. No experimento foram utilizadas nove aves carnívoras – dois falcões (*Buteo jamaicensis*), dois urubus (*Cathartes aura*), duas corujas (*Tyto alba*) e três corvos (*Corvus brachyrhynchus*) – que ingeriram camundongo ou rato infectado com cistos teciduais de *N. caninum*, porém não ocorreu soroconversão ou excreção de oocistos.

Anticorpos anti-*N. caninum* foram detectados em “blackbirds” após inoculação experimental dos animais com taquizoítos do parasito. O experimento teve como objetivo a produção de anticorpos em aves para serem testados na padronização de um teste sorológico (Packham et al., 1998).

Para investigar a possibilidade de aves serem hospedeiros intermediários de *N. caninum*, aves da espécie *Columbia livia* (Columbiforme) e *Poephila guttata* (Passeriforme) foram inoculadas com taquizoítos de *N. caninum* e ao final de seis semanas, foram sacrificadas para análise das amostras teciduais. A presença de anticorpos anti-*N. caninum*, a amplificação de DNA e o isolamento do parasito em cultura celular foi observada na espécie da ordem Columbiforme, enquanto que os três exemplares *P. guttata* demonstraram resistência à infecção por *N. caninum* (McGuire et al., 1999).

Em outro estudo, infecções experimentais foram realizadas em pintos e poedeiras por meio de inoculações de taquizoítos por via intraperitoneal, e em ovos embrionados mediante inoculação de taquizoítos pela cavidade alantoidiana. Frangos e

galinhas não apresentaram alterações clínicas, entretanto a presença de anticorpos anti-*N. caninum* foi observada após 15 dias de inoculação, mas ausentes após 60 dias de inoculação. Não houve a transmissão vertical, pois os ovos provenientes de poedeiras foram negativos para o parasito na PCR e no bioensaio com camundongos. Uma alta mortalidade foi verificada nos ovos embrionados, entretanto ovos embrionados infectados ingeridos por cães foram capazes de induzir excreção de oocistos, sendo assim, galinhas foram consideradas potenciais hospedeiros intermediários de *N. caninum* (Furuta et al., 2007).

A importância das aves na epidemiologia da neosporose foi relatada em estudos de fatores de risco, que demonstraram associações significativas entre o número de cães, a presença de aves e o aumento de soropositividade nos rebanhos bovinos (Otranto et al., 2003), assim como abortamentos bovinos associados à presença de aves (Bartels et al., 1999).

Em contraste ao escasso número de trabalhos sobre *N. caninum* em aves, há muitos trabalhos acerca de infecções por *T. gondii* em diversas espécies de aves (Dubey, 2002). Não é comum a sintomatologia clínica da infecção por *T. gondii* em aves, contudo animais em condições de estresse podem apresentar algumas alterações, como depressão, inapetência e perda de peso (Work et al., 2000), como também distúrbios respiratórios e miocardite (Szabo et al., 2004).

As galinhas são eficientes hospedeiros intermediários de *T. gondii*. Experimentalmente, galinhas não apresentaram alterações clínicas após a ingestão de 10.000 e 100.000 oocistos de *T. gondii*. Cistos teciduais foram observados duas semanas após a ingestão dos oocistos e encontravam-se em vários tecidos, incluindo músculos, o que pode ser um dado importante na disseminação da zoonose (Dubey et al., 1993).

Estudos de virulência de cepas de *T. gondii* têm sido realizados mundialmente em isolamentos do parasito a partir dos tecidos de galinhas, já que as mesmas possuem o hábito de se alimentar diretamente no solo, sendo boas indicadoras de contaminação

ambiental por oocistos de *T. gondii*. Nestes estudos, galinhas oriundas de criações extensivas demonstraram soropositividades entre 16,9% e 65,5% (Dubey et al., 2003c, 2003d).

Em uma região endêmica de toxoplasmose no Brasil foi investigada a frequência de *T. gondii* em galinhas, e 65,15% dos animais foram sororreagentes, sugerindo que oocistos podem representar uma fonte de infecção importante para humanos e galinhas naquela região (Silva et al., 2003).

2.6. Controle

Diversos fatores de riscos são incriminados no aumento da soropositividade e abortamentos em rebanhos bovinos. Medidas de controle devem ser incorporadas, para evitar a disseminação e permanência da infecção nos rebanhos. O primeiro passo como medida de controle em um rebanho bovino seria analisar a exposição dos animais a *N. caninum* e posteriormente identificar qual a via de transmissão mais comum dentro do rebanho, se horizontal ou transplacentária (Dubey et al., 2007).

A transmissão horizontal ocorre nos bovinos pela ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos eliminados nas fezes dos cães (McAllister, 1999). Como prevenção à transmissão horizontal do parasito, os cães devem ter acesso restrito aos pastos e galpão de armazenamento de alimento. Deve-se também evitar que cães consumam placenta e membranas fetais de bovinos, já que a excreção de oocistos por cães foi observada após a ingestão de placenta infectada naturalmente por *N. caninum* (Dijkstra et al., 2001a; 2001b; 2002).

A ITP pode ocorrer entre os bovinos endemicamente. Uma forma de prevenir a transmissão vertical seria a reposição do rebanho por animais soronegativos, contudo não eliminaria a possibilidade da transmissão horizontal (Anderson et al., 1997). Outra forma de diminuir a ITP seria através da transferência de embriões, já que embriões

provenientes de animais soropositivos, quando implantados em animais soronegativos, não há infecção fetal (Baillargeon et al., 2001).

A formulação de uma vacina eficaz é difícil devido à interação entre a resposta imune materna, desenvolvimento da resposta imune fetal e do parasito. A vacina ideal deveria intervir favoravelmente ao hospedeiro sem comprometer a gestação (Innes et al., 2002; 2005).

Estudos demonstraram variação na resposta à imunização com antígeno de *N. caninum* em bovinos. Nos EUA, a transmissão vertical em vacas não foi evitada pela inoculação de taquizoítos mortos entre o 35º e 63º dias de gestação, ocorrendo morte e reabsorção fetal (Andrianarivo et al., 2000). Em outro experimento, a proteção contra a morte fetal foi observada em vacas gestantes que receberam taquizoítos vivos, mas não em vacas imunizadas com antígeno solúvel (Williams et al., 2007).

A HAVLOGEN (Neoguard) é uma vacina comercialmente utilizada para vacinação em bovinos, aprovada pelo Departamento de Agricultura dos EUA, porém não há testes assegurando a sua eficácia. Em um estudo na Costa Rica, vacas imunizadas com HAVLOGEN apresentaram 11,2% de abortamentos, enquanto que vacas imunizadas com placebo apresentaram 20,8%, resultado considerado pelos autores como razoável (Romero et al., 2004).

2.7. Diagnóstico

Diferentes técnicas diagnósticas têm sido utilizadas para a identificação de animais infectados por *N. caninum* (Björkman & Uggla, 1999), para o diagnóstico de neosporose (Dubey & Schares, 2006), ou para a identificação de oocistos do parasito no ambiente (McAllister et al., 1998a).

2.7.1. Provas sorológicas

As técnicas sorológicas se prestam para a identificação de animais expostos ao agente infeccioso, sendo empregadas comumente em estudos epidemiológicos e como auxílio diagnóstico (Dubey & Schares, 2006).

O primeiro teste sorológico realizado para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum* foi a imunofluorescência indireta (IFI) (Dubey et al., 1988b). A IFI é uma técnica com elevadas sensibilidade e especificidade, considerada o padrão ouro no diagnóstico sorológico para *N. caninum*. No entanto, é necessário o uso de anticorpo secundário espécie-específico e a leitura das reações positivas deve ser feita por um técnico experiente em microscópio com emissão de raio ultra-violeta, o que torna a técnica laboriosa (Björkman & Uggla, 1999).

O ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA) é comumente utilizado para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*, com a vantagem de ser mais conveniente para a análise de amostras mais numerosas, pois a leitura das reações é geralmente feita de forma automatizada. Neste teste é empregado antígeno processado de diferentes formas, como taquizoítos inteiros, antígeno solúvel, antígeno recombinante, sendo geralmente necessário o uso de anticorpo secundário espécie-específico (Björkman & Uggla, 1999; Nishikawa et al., 2002). Entre os diferentes testes de ELISA, um foi desenvolvido para distinção entre as infecções agudas e crônicas, o ELISA de avidéz (Bjorkman et al., 1999). Neste teste é avaliada a avidéz com que anticorpos anti-*N. caninum* se ligam ao antígeno, sendo um baixo índice de avidéz indicativo de infecção recente, e um alto índice de avidéz relacionado à infecção crônica.

A aglutinação direta é um teste que apresenta como vantagens principais a leitura das reações por observação direta das placas, sem o auxílio de equipamentos, e a aplicação para qualquer espécie animal sem a necessidade do emprego de conjugados espécie-específicos, com sensibilidade e especificidade comparáveis a IFI (Packham et al., 1998; Romand et al., 1998).

O western blotting é um teste que possibilita diferentes aplicações, contudo é utilizado com frequência para a caracterização de antígenos de *N. caninum* e para a identificação de anticorpos específicos (Howe & Sibley, 1999; García et al., 2006; Silva et al., 2006). Muitas proteínas específicas de *N. caninum*, identificadas por meio dessa técnica, são utilizadas em outros testes diagnósticos como ELISAs e em estudos de imunização (Aguado-Martínez et al., 2005).

Nas provas sorológicas, reações cruzadas podem ocorrer entre táxons próximos filogeneticamente, como observado entre *N. caninum* e *N. hughesi*, assim como *N. caninum* e *T. gondii* (Nishikawa et al., 2002; Packham et al., 2002; Pitel et al., 2003; Gondim et al., 2008, no prelo).

2.7.2. Exames histopatológico e imunoistoquímica

O exame histopatológico consiste na investigação de lesões em cortes de tecidos corados com hematoxilina e eosina (H&E). As alterações histológicas podem ser encontradas em vários tecidos, mas localizam-se principalmente no cérebro e se caracterizam por focos de encefalite não supurativa, comumente associados à necrose (Wouda et al., 1997).

A observação de lesões não supurativas em secções histológicas e de estágios parasitários associados às lesões, não são suficientes para o diagnóstico de neosporose, já que outros agentes infecciosos podem causar lesões similares e se assemelham morfológicamente com *N. caninum* (Dubey & Schares, 2006). O exame imunoistoquímico pode ser utilizado para a confirmação do agente, já que este teste é realizado em cortes histológicos onde lesões foram observadas no exame histopatológico, empregando-se anticorpos monoclonais ou policlonais específicos para o parasito (Wouda et al., 1997; Peters et al., 2001a).

2.7.3. Provas moleculares

O emprego de técnicas moleculares tem contribuído significativamente em estudos filogenéticos e em aplicações diagnósticas relacionadas a *N. caninum*. A PCR por exemplo, além de possuir elevadas sensibilidade e especificidade, em algumas situações é o único recurso disponível para a diferenciação de determinados organismos (Mindell & Honeycutt, 1990; Ellis et al., 1999; Slapeta et al., 2002b).

Diferentes protocolos de PCR permitem detectar o DNA do parasito, como também quantificá-lo em diversos tecidos animais (Ortega-Mora et al., 2003; Dubey & Schares, 2006; Serrano-Martínez et al., 2007b; Ferre et al., 2008).

O gene *Nc5* de *N. caninum* tem sido utilizado com frequência em diversos estudos. Em uma PCR com os primers Np21 e Np6 foi possível detectar um taquizoíto do parasito em 2mg da amostra. Esses primers não amplificaram amostras de *T. gondii*, *Sarcocystis* spp e *H. hammondi* (Yamaga et al., 1996).

As semelhanças entre *N. caninum*, *Neospora hughesi* e *H. heydorni*, impossibilitam a diferenciação entre estágios desses parasitas por características morfológicas, sendo feito apenas por PCR e sequenciamento do fragmento de DNA alvo (Yamaga et al., 1996; Marsh et al., 1998; Slapeta et al., 2002a; 2002b).

A clonagem molecular é uma ferramenta da tecnologia do DNA recombinante que consiste no isolamento e amplificação da informação genética em centenas de cópias idênticas, aumentando consideravelmente a quantidade de amplicons (Nascimento et al., 2003).

2.7.4. Isolamento do parasito

N. caninum tem sido isolado a partir de inoculação direta de tecido infectado em cultura celular ou por meio de bioensaio em roedores e cães (Dubey et al., 2007). O parasito tem sido isolado de cães, bovinos, bubalinos, ovinos e cervídeos naturalmente infectados (Corand et al., 1993; Dubey et al., 1988b; Gondim et al., 2001; Locatelli-Dittrich et al., 2004; Rodrigues et al., 2004; Vianna et al., 2005; Pena et al., 2007). Apenas sete cepas do parasito foram obtidas de fezes de cães naturalmente infectados que excretaram oocistos do protozoário (Basso et al., 2001; Schares et al., 2005).

Diferentes linhagens celulares podem ser utilizadas no isolamento de *N. caninum*, além de bioensaio em animais (Dubey & Lindsay, 1996; Dubey et al., 2007). Camundongos imunodeficientes e gerbil (*Meriones unguiculatus*) têm sido empregados nos bioensaios (Dubey & Lindsay, 2000; Dubey et al., 2007).

Devido as semelhanças fenotípicas entre membros da sub-família Toxoplasmatinae, análises moleculares devem ser realizadas nas amostras isoladas para a confirmação da espécie do protozoário (Scharés et al., 2001).

4. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Desde a sua classificação, *N. caninum* tem sido considerado um dos principais causadores de abortamento e alterações neonatais em bovinos, além de acometer outras espécies animais. A infecção transplacentária é comum nos animais, contudo a transmissão horizontal é necessária para a manutenção da infecção.

Embora poucos autores tenham investigado o papel das aves na epidemiologia de *N. caninum*, aves domésticas foram associadas ao aumento de soropositividade e abortamento em bovinos. As aves são hospedeiros intermediários de *T. gondii*, podendo se infectar por meio da ingestão de oocistos no solo, o que provavelmente ocorre com oocistos de *N. caninum*.

Até a conclusão do presente trabalho, apenas estudos de infecção experimental haviam sido realizados em aves. Para investigação das aves no ciclo de vida de *N. caninum*, amostras sorológicas de galinhas semi-confinadas e confinadas do Estado da Bahia foram examinadas por testes imunológicos e moleculares. Amostras teciduais de galinhas semi-confinadas foram PCR-positivas, sendo que duas amostras seqüenciadas apresentaram 97-98% de identidade com *N. caninum*. Estes resultados indicam que galinhas são hospedeiros intermediários naturais de *N. caninum*.

Mesmo com a comprovação da galinha como hospedeiro intermediário de *N. caninum*, mais estudos devem ser realizados para avaliar a eficiência com que tecidos de galinhas naturalmente infectadas transmitem o parasito para outras espécies animais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUADO-MARTÍNEZ, A.; ALVAREZ-GARCÍA, G.; ARNAIZ-SECO, I.; INNES, E.; ORTEGA-MORA, L. M. Use of avidity enzyme-linked immunosorbent assay and avidity Western blot to discriminate between acute and chronic *Neospora caninum* infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 17, p. 442–450, 2005.

ALMERÍA, S.; FERRER, D.; PABÓN, M.; CASTELLÀ, J.; MAÑAS, S. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 107, p. 287–294, 2002.

ALMERÍA, S.; VIDAL, D.; FERRER, D.; PABÓN, M.; FERNÁNDEZ-DE-MERA, M. I. G.; RUIZ-FONS, F.; ALZAGA, V.; MARCO, I.; CALVETE, C.; LAVIN, S.; GORTAZAR, C.; LÓPEZ-GATIUS, F.; DUBEY, J. P. Seroprevalence of *Neospora caninum* in non-carnivorous wildlife from Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 21–28, 2007.

ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; BARR, C. B.; DUBEY, J. P.; HOFFMAN, R. L.; CONRAD, P. A. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 2, p. 241-244, 1991.

ANDERSON, M. L.; PALMER, C. W.; THURMOND, M. C.; PICANSO, J. P.; BLANCHARD, P. C.; BREITMEYER, R. E.; LAYTON, A. W.; MCALLISTER, M. M.; DAFT, B.; KINDE, H.; READ, D. H.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A.; BARR, C. B. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 207, n. 9, p. 1206-1210, 1995.

ANDERSON, M. L.; REYNOLDS, J. P.; ROWE, J. D.; SVERLOW, K. W.; PACKHAM, A. E.; BARR, C. B.; CONRAD, P. A. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp infection in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, n. 8, p. 1169-1172, 1997.

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

ANDRIANARIVO, A. G.; ROWE, J. D.; BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; PACKHAM, A. E.; SVERLOW, K. W.; CHOROMANSKI, L.; LOUI, C.; GRACE, A.; CONRAD, P. A. A POLYGEN-adjuvanted killed *Neospora caninum* tachyzoite preparation failed to prevent foetal infection in pregnant cattle following i.v./i.m. experimental tachyzoite challenge. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 985–990, 2000.

- BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARÉ, J.; LAMOTHE, P.; SAUVÉ, R. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, p. 1803–1806, 2001.
- BAKER, D. G.; MORISHITA, T. Y.; BROOKS, D. L.; SHEN, S. K.; LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Experimental oral inoculations in birds to evaluate potential definitive hosts of *Neospora caninum*. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 5, p. 783-785, 1995.
- 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. **Journal of Parasitology**, v. 86, n. 6, p. 1056-1058, 1997.
- BARBER, J. S.; TREES, A. J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 7-64, 1998.
- BARLING, K. S.; MCNEILL, J. W.; THOMPSON, J. A.; PASCHAL, J. C.; MCCOLLUM III, F. T.; CRAIG, T. M.; ADAMS, L. G. Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 9, p. 1356-1360, 2000.
- BARR, C. B.; ANDERSON, M. L.; WOODS, L.W.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A. *Neospora* - like protozoan infections associated with abortion in goats. **Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 4, p. 365 – 367, 1992.
- BARR, C. B.; CONRAD, P. A.; DUBEY, J. P.; ANDERSON, M. L. *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 3, p. 39-46, 1991.
- BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortions storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology**, v. 52, p. 247-257, 1999.
- BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; HILL, D. E.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K.; DUBEY, J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 3, p. 612-618, 2001.
- BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984.
- BJORKMAN, C.; NASLUND, K.; STENLUND, S.; MALEY, S. W.; BUXTON, D.; UGGLA, A. An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 11, p. 41-44, 1999.

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

BUXTON, D.; MALEY, S. W.; PASTORET, P. P.; BROCHIER, B.; INNES, E. A. Examination of red foxes (*Vulpes vulpes*) from Belgium for antibody to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **The Veterinary Record**, v. 141, p. 308-309, 1997.

CAETANO-DA-SILVA, A.; FERRE, I.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; NAVARRO, V.; ADURIZ, G.; UGARTE-GARAGALZA, C.; ORTEGA-MORA, L. M. Occasional detection of *Neospora caninum* DNA in frozen extended semen from naturally infected bulls. **Theriogenology**, v. 62, p. 1329-1336, 2004.

CAÑÓN-FRANCO, W. A.; YAI, L. E. O.; SOUZA, S. L. P.; SANTOS, L. C.; FARIAS, N. A. R.; RUAS, J.; GOMES, A. A. B.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Detection of antibodies to *Neospora caninum* in two species of wild canids, *Lycalopex gymnocercus* and *Cercdocyion thous* from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 275-277, 2004.

CHÁVEZ-VELÁSQUEZ, A.; ALVAREZ-GARCÍA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; CASAS-ASTOS, E.; ROSADIO-ALCÁNTARA, R.; SERRANO-MARTÍNEZ, E.; ORTEGA-MORA, L. M. First Report of *Neospora caninum* Infection in Adult Alpacas (*Vicugna pacos*) and Llamas (*Lama glama*). **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 4, p. 864–866, 2004.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; SANTORO, D.; DI LORIA, A.; RIGATO, R. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 11–15, 2004.

CONRAD, P. A.; BARR, B. C.; SVERLOW, K. W.; ANDERSON, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J. P.; MUNSON, L.; ARDANS, A. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. **Parasitology**, v. 106, p. 239–249, 1993.

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.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. F.; GONDIM, L. F.; WALD, V. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 103, p. 195-202, 2002.

CORBELLINI, L. G.; PESCADOR, C. A.; FRANTZ, F.; WUNDER, E.; STEFFEN, D.; SMITH, D. R.; DRIEMEIER, D. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: Importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 172, p. 114-120, 2006a.

CORBELLINI, L. G.; SMITH, D. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D. J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 74, p. 130-141, 2006b.

DAMRIYASA, I. M.; BAUER, C.; EDELHOFER, R.; FAILING, K.; LIND, P.; PETERSEN, E.; SCHARES, G.; TENTER, A. M.; VOLMER, R.; ZAHNER, H. Cross-sectional survey in pig breeding farms in Hesse, Germany: seroprevalence and risk factors of infections with *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis spp.* and *Neospora caninum* in sows. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 271-286, 2004.

DAVISON, H. C.; GUY, C.S.; MCGARRY, J. W.; GUY, F.; WILLIAMS, D. J. L.; KELLY, D. F.; TREES, A. J. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 70, p. 163-168, 2001.

DAVISON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1683-1689, 1999.

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, 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, p. 209-215, 2001b.

DIJKSTRA, T.; EYSKER, M.; SCHARES, G.; CONRATHS, F. J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H. W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 747-752, 2001a.

DUBEY, J. P. A review of toxoplasmosis in wild birds. **Veterinary Parasitology**, v. 106, p. 121-153, 2002.

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

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

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. **Parasitology Research**, v. 86, n. 2, p. 165-168, 2000.

DUBEY, J. P.; CAMARGO, M. E.; SHEN, S. K.; WILKINS, B. S.; KWOK, O. C. H.; THULLIEZ, P. Serologic and parasitologic responses of domestic chicken after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, v. 54, n. 10, p. 1668-1672, 1993.

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

DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, p. 1259-1263, 1988b.

DUBEY, J. P.; LEATHERS, C. W.; LINDSAY, D.S. *Neospora caninum*-like protozoon associated with fatal myelitis in newborn calves. **Journal of Parasitology**, v. 75, n. 1, p. 146-148, 1989.

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. 323–367, 2007.

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild animals. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 5, p. 1217-1218, 2005.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKAS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; MCALLISTER, M. M.; MODRÝ, 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 coccidian. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.929-946, 2002b.

DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; VIANNA, M. C. B.; MARCET, P. L.; LEHMANN, T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 92, n. 1, p. 36-40, 2006b.

DUBEY, J. P.; GRAHAM, D. H.; BLACKSTON, C. R.; LEHMANN, T.; GENNARI, S. M.; RAGOZO, A. M. A.; NISHI, S. M.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; HILL, D. E.; THULLIEZ, P. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. **Internacional Journal for Parasitology**, v. 32, p. 99-115, 2002a.

DUBEY, J. P.; GRAHAM, D. H.; DAHL, E.; HILALI, M.; EL-GHAYSH, A.; SREEKUMAR, C.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; LEHMANN, T. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens and ducks from Egypt. **Veterinary Parasitology**, v. 114, p. 89-95, 2003a.

DUBEY, J. P.; GRAHAM, D. H.; DAHL, E.; SREEKUMAR, C.; LEHMANN, T.; DAVIS, M.F.; MORISHITA, T.Y. *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 5, p. 1060-1062, 2003c.

DUBEY, J. P.; HOLLIS, K.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O. C. H.; HUNGERFORD, L.; ANCHOR, C.; ETTER, D. High prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1709-1711, 1999.

DUBEY, J. P.; OLIVEIRA, J.; MORALES, J. A.; BOLAÑOS, R. V.; SUNDAR, N.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K. Biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Costa Rica, Central America. **Veterinary Parasitology**, v. 139, p. 29-36, 2006a.

DUBEY, J. P.; ROMAND, S.; HILALI, M.; KWOK, O. C. H.; THULLIEZ, P. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Egypt. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 527-529, 1998.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 240, p.1-34, 2006.

DUBEY, J. P.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L.; PISCOPO, M.; GRAHAM, D. H.; SREEKUMAR, C.; VIANNA, M. C.; LEHMANN, T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Argentina. **Journal of Parasitology**, v. 89, n.5, p. 1063-1064, 2003d.

DUBEY, J. P.; ZARNKE, R.; THOMAS, N. J.; WONG, S. K.; VAN BONN, W.; BRIGGS, M.; DAVIS, J. W.; EWING, R.; MENSE, M.; KWOK, O. C. H.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Sarcocystis neurona*, and *Sarcocystis canis*-like infections in marine mammals. **Veterinary Parasitology**, v. 116, p. 275-296, 2003b.

DUBEY, J. P.;SALANT, H.; SREEKUMAR, C.; DAHL, E.; VIANNA, M. C. B.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; SPIRA, D.; HAMBURGER, J.; LEHMANN, T. V. High prevalence of *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications of free-range farming. **Veterinary Parasitology**, v. 121, p. 317-322, 2004.

DUMÈTRE, A.; DARDÉ, M. L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? **FEMS Microbiology Reviews**, v. 27, p. 651-661, 2003.

ELLIS, J. T.; MORRISON, D. A.; LIDDELL, S.; JENKINS, M. C.; MOHAMMED, O. B.; RYCE, C.; DUBEY, J. P. The genus *Hammondia* is paraphyletic. **Parasitology**, v. 118, p. 357-362, 1999.

FARIA, E. B.; GENNARI, S. M.; PENA, H. F. J.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, M. L. C. R.; AZEVEDO, S. S. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba state. **Veterinary Parasitology**, v.149, P.126-129, 2007.

FIGLIUOLO, L. P. C.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; AGUIAR, D. M.; KASAI, N.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. **Small Ruminant Research**, v.55, p.29-32, 2004.

FERRE, I.; SERRANO-MARTÍNEZ, E.; MARTÍNEZ, A.; OSORO, K.; MATEOS-SANZ, A.; DEL-POZO, I.; ADURIZ, G.; TAMARGO, C.; HIDALGO, C. O.; ORTEGA-MORA, L. M. Effects of re-infection with *Neospora caninum* in bulls on parasite detection in semen and lood and immunological responses. **Theriogenology**, v. 69, p. 905-911, 2008.

FERROGLIO, E.; PASINO, M.; ROMANO, A.; GRANDE, D.; PREGEL, P.; TRISCIUOGLIO, A. Evidence of *Neospora caninum* DNA in wild rodents. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 346-349, 2007.

FERROGLIO, E.; WAMBWA, E.; CASTIELLO, M.; TRISCIUOGLIO, A.; PROUTEAU, A.; PRADERE, E.; NDUNGU, S.; DE MENEGHI, D. Antibodies to *Neospora caninum* in wild animals from Kenya, East Africa. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 43-49, 2003.

FUJII, T. U.; VASCONCELLOS, S. A.; RICHTZENHAIN, L. J.; CORTEZ, A.; SOUZA, S. L. P.; BARUSELLI, P. S.; NISHI, S. M.; FERREIRA, F.; GENNARI, S. M. Anticorpos anti- *Neospora caninum* e contra outros agentes de abortamentos em búfalas da região do Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.68, p.5-9, 2001.

FURUTA, P. I.; MINEO, T.W. P.; CARRASCO, A. O. T.; GODOY, G. S.; PINTO, A. A.; MACHADO, R. Z. *Neospora caninum* infection in birds: experimental infections in chicken and embryonated eggs. **Parasitology**, v. 134, p. 1931-1939, 2007.

GARCÍA, G. Á.; PÉREZ, I. L.; INNES, E.; FERNANDEZ, E. C.; GARCIA, A. F.; BAUTISTA, M. G.; ORTEGA-MORA, L. M. Use of an immunodominant p17 antigenic fraction of *Neospora caninum* in detection of antibody response in cattle. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 5, p. 529-534, 2006.

GENNARI, S. M.; RODRIGUES, A. A. R.; VIANA, R. B.; CARDOSO, E. C. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from the Northern region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 169–171, 2005.

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, p. 159-161, 2004a.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; ANDERSON-SPRECHER, R. C.; BJÖRKMAN, C.; LOCK, T. F.; FIRKINS, L. D.; GAO, L.; FISCHER, W. R. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 6, p. 1394-1400, 2004b.

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, p. 33-39, 2005.

GONDIM, L. F. P.; PINHEIRO, A. M.; SANTOS, P. O. M.; JESUS, E. E. V.; RIBEIRO, M. B.; FERNANDES, H. S.; ALMEIDA, M. A. O.; FREIRE, S. M.; MEYER, R.; MCALLISTER, M. M. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology**, v. 101, p 1 – 7, 2001.

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; MONTEIRO JR., L. A.; HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine foetus in Brazil. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 47, p. 35, 1999a.

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

GONDIM, L. F. P.; LINDSAY, D. S.; MCALILSTER, M. M. Canine and bovine *Neospora caninum* control sera examined for cross-reactivity using *N. caninum* and *N. hughesi* Indirect Fluorescent Antibody Tests. **Journal of Parasitology**, 2008, no prelo.

GONDIM, L. F. P.; MCALILSTER, 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, 2004c.

GONDIM, L. F. P.; PINHEIRO, A. M.; ALMEIDA, M. A. O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em búfalos (*Bubalus bubalis*) criados no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 8, n. 2, p. 92-96, 2007.

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M.; YAMANE, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 71-75, 1999b.

GUIMARÃES JR., J. S.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 1-8, 2004.

GUARINO, A.; FUSCO, G.; SAVINI, G.; DI FRANCESCO, G.; CRINGOLI, G. Neosporosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 91, p.15–21, 2000.

HÄSSIG, M.; SAGER, H.; REITT, K.; ZIEGLER, D.; STRABEL, D.; GOTTSTEIN, B. *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. **Veterinary Parasitology**, v. 117, p. 213-220, 2003.

HELMICK, B.; OTTER, A.; MCGARRY, J.; BUXTON, D. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. **Research in Veterinary Science**, v. 73, p. 187–189, 2002.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B. A European perspective on *Neospora caninum*. **Internacional Journal for Parasitology**, v. 30, p. 877-924, 2000.

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

HOBSON, J. C.; DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE, K.; HIETALA, S. K.; LESLIE, K. E.; MCEWEN, B.; PEREGRINE, A. S. Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 177-188, 2005.

HOWE, D. K.; SIBLEY, L. D. Comparison of the major antigens of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Internacional Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1489-96, 1999.

HUONG, L. T. T.; LJUNGSTRÖM, B. L.; UGGLA, A.; BJÖRKMAN, C. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes in southern Vietnam. **Veterinary Parasitology**, v.75, p.53-57, 1998.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2006. Apresenta dado sobre o efetivo dos rebanhos brasileiros. Disponível em: <www.sidra.ibge.gov.br>. Acesso em: 15 jul. 2008.

INNES, E. A.; ANDRIANARIVO, A. G.; BJÖRKMAN, C.; WILLIAMS, D. J. L.; CORAND, P. A. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **TRENDS in Parasitology**, v. 18, n. 11, p. 497-504, 2002.

INNES, E. A.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; MALEY, S.; MACALDOWIE, C.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 108, p. 29-36, 2005.

JAKUBEK, E. B.; LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. **Veterinary Parasitology**, v. 138, p. 194–199, 2006.

JOLLEY, W. R.; MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A. M.; WILLS, R. A. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 251-257, 1999.

KLIGLER, E. B.; SHKAP, V.; BANETH, G.; MILDENBERG, Z.; STEINMAN, A. Seroprevalence of *Neospora* spp. among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. **Veterinary Parasitology**, v. 148, p. 109–113, 2007.

LINDSAY, D. S.; KELLY, E. J.; MCKOWN, R. D.; STEIN, F. J.; PLOZER, J.; HERMAN, J.; BLAGBURN, B. L.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. **Journal of Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 657-659, 1996.

LINDSAY, D. S.; SPENCER, J.; RUPPRECHT, C.; BLAGBURN, B. L. Prevalence of agglutinating antibodies to *Neospora caninum* in raccoons, *Procyon lotor*. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 5, p. 1197-1198, 2001.

LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1521-1523, 1999.

LOBATO, J.; SILVA, D. A.; MINEO, T. W.; AMARAL, J. D.; SEGUNDO, G. R.; COSTA-CRUZ, J. M.; FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S.; MINEO, J. R. 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 Vaccine Immunology**, v. 13, n. 1, p. 84–89, 2006.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; DITTRICH, J.R.; RICHARTZ, R. R. T. B.; GASINO JOINEAU, M. E.; ANTUNES, J.; PINCKNEY, R. D.; DECONTO, I.; HOFFMANN, D. C. S.; THOMAZ-SOCCOL, V. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana State, Southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 215–221, 2006.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; RICHARTZ, R. R. T. B.; GASINO-JOINEAU, M. E.; VINNE, R. V.; PINCKNEY R. D. Isolamento de *Neospora caninum* de feto bovino de rebanho leiteiro no Paraná. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 3, p. 103–109, 2004.

LIU, J.; CAI, J. Z.; ZHANG, W.; LIU, Q.; CHEN, D.; HAN, J. P.; LIU, Q. R. Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in yaks (*Bos grunniens*) in Qinghai, China. **Veterinary Parasitology**, v. 152, p. 330–332, 2008.

MARCO, I.; FERROGLIO, E.; LÓPEZ-OLVERA, J. R.; MONTANÉ, J.; LAVÍN, S. High seroprevalence of *Neospora caninum* in the red fox (*Vulpes vulpes*) in the Pyrenees (NE Spain). **Veterinary Parasitology**, v. 152, p. 321–324, 2008.

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, n.5, p.983-991, 1998.

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

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

MCALLISTER, M. M.; HUFFMAN, E. M.; HIETALA, S. K.; CONRAD, P. A.; ANDERSON, M. L.; SALMAN, M. D. Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, p. 355-357, 1996.

MCALLISTER, M. M.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; LINDSAY, D. S.; MCGUIRE, A. M.; TRANAS, J. D. Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 59, p. 441-444, 1998b.

MCALLISTER, M. M.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M.; JOLLEY, W. R.; TRANAS, J. D.; WILLIAMS, E. S.; LINDSAY, D. S.; BJÖRKMAN, C.; BELDEN, E. L. Ingestion of *Neospora caninum* tissue cysts by *Mustela* species. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1531-1536, 1999.

MCDOLE, M. G.; GAY, J. M. Seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in diagnostic equine serum samples and their possible association with fetal loss. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 257–260, 2002.

MCGUIRE, A. M.; MCALLISTER, M.; WILLS, R. A.; TRANAS, J. D. Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columbia livia*) and zebra finches (*Poephila guttata*) with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1525-1529, 1999.

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

MINDELL, D. P.; HONEYCUTT, R. L. Ribosomal RNA in vertebrates: Evolution and phylogenetic. **Annual Reviews of Ecology and Sistematics**, v.21, p.541-566, 1990.

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

MUGRIDGE, N. B.; MORRISON, D. A.; HECKEROTH, A. R.; JOHNSON, A. M.; TENTER, A. M. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora caninum* is more closely related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1545-1556, 1999.

MUGRIDGE, N. B., MORRISON, D. A., HECKEROTH, A. R., TENTER, A. M., JOHNSON, A. M. Effects of sequence alignment and structural domains of ribosomal DNA on phylogeny reconstruction for the protozoan family Sarcocystidae. **Molecular Biology and Evolution**, v. 17, n. 12, p. 1842–1853, 2000.

MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, p. 101–104, 2006.

NAGULESWARAN, A.; HEMPHILL, A.; RAJAPAKSE, R. P. V. J.; SAGER, H. Elaboration of a crude antigen ELISA for serodiagnosis of caprine neosporosis: validation of the test by detection of antibodies in goats from Sri Lanka. **Veterinary Parasitology**, v.6, p. 257–262, 2004.

NASCIMENTO, A. A. C.; ESPREAFICO, E. M.; LARSON, M. L. P.; MONESI, N.; ROSSI, N. M. M.; RODRIGUES, V. Tecnologia do DNA Recombinante. Disponível em: <http://capitu.fmrp.usp.br/td/td_files/apostilas/apostila_TD_2005.pdf> Acesso em: 15 jul. 2008.

NISHIKAWA, Y.; CLAVERIA, F. G.; FUJISAKI, K.; NAGASAWA, H. Studies on serological cross-reaction of *Neospora caninum* with *Toxoplasma gondii* and *Hammondia heydorni*. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v. 64, n. 2, p. 161-164, 2002.

ORTEGA-MORA, L. M.; FERRE, I.; DEL-POZO, I.; CAETANO-DA-SILVA, A.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; REGIDOR-CERRILLO, J.; UGARTE-GARAGALZA, C.; ADURIZ, G. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. **Veterinary Parasitology**, v. 117, p. 301-308, 2003.

O' TOOLE, D.; JEFFREY, M. Congenital sporozoan encephalomyelitis in a calf. **The Veterinary Record**, v. 12, p. 563-566, 1987.

OTRANTO, D.; LLAZARI, A.; TESTINI, G.; TRAVERSA, D.; REGALBONO, A. F.; BADAN, M.; CAPELLI, G. Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 7-18, 2003.

PACKHAM, A. E.; SVERLOW, K. W.; CONRAD, P. A.; LOOMIS, E. F.; ROWE, J. D.; ANDERSON, M. L.; MARSH, A. E.; CRAY, C.; BARR, B. C. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, p. 467-473, 1998.

PACKHAM, A. E.; CONRAD, P. A.; WILSON, W. D.; JEANES, L.V.; SVERLOW, K. W.; GARDNER, I. A.; DAFT, B. M.; MARSH, A. E.; BLAGBURN, B. L.; FERRARO, G. L.; BARR, B. C. Qualitative evaluation of selective tests for detection of *Neospora hughesi* antibodies in serum and cerebrospinal fluid of experimentally infected horses. **Journal of Parasitology**, v. 88, p. 1239-1246, 2002.

PARISH, S. M.; MAAG-MILLER, L.; BESSR, T. E.; WEIDNER, J. P.; MCELWAIN, T.; KNOWLES, D. P.; LEATHERS, C. W. Myelitis associated with protozoal infection in newborn calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 191, n. 12, p. 1599-1600, 1987.

PENA, J. H. J.; SOARES, R. M.; RAGOZO, A. M. A.; MONTEIRO, R. M.; YAI, L. E. O.; NISHI, S. M.; GENNARI, S. M. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.147, p. 61-66, 2007.

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

PETERS, M.; WOHLSEIN, P.; KNIERIEM, A.; SCHARES, G. *Neospora caninum* infection associated with stillbirths in captive antelopes (*Tragelaphus imberbis*). **Veterinary Parasitology**, v. 97, p. 153–157, 2001b.

PETERSEN, E.; LEBECH, M.; JENSEN, L.; LIND, P.; RASK, M.; BAGGER, P.; BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. *Neospora caninum* infection and repeated abortions in humans. **Emerging Infectious Diseases**, v. 5, n. 2, p. 278-280, 1999.

PITEL, P. H.; ROMAND, S.; PRONOST, S., FOUCHER, N.; GARGALA, G.; MAILLARD, K.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT-LAUGIER, C.; TAINTURIER, D.; FORTIER, G.; BALLEST, J. J. Investigation of *Neospora* sp. antibodies in aborted mares from Normandy, France. **Veterinary Parasitology**, v. 118, p. 1-6, 2003.

RAGOZO, A. M. A.; PAULA, V. S. O.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados Brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, p. 33–37, 2003.

RAJKHOWA, S.; RAJKHOWA, C.; DUTTA, P. R.; MICHUI, P.; DAS, R. Serological evidence of *Neospora caninum* infection in mithun (*Bos frontalis*) from Índia. **Research in Veterinary Science**, v. 84, p. 250–253, 2008.

RODRIGUES, A. A. R.; GENNARI, S. M.; AGUIAR, D. M.; SREEKUMAR, C.; HILL, D. E.; MISKA, K. B.; VIANNA, M. C. B.; DUBEY, J. P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 139–150, 2004.

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

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

ROMERO, J. J.; PÉREZ, E.; FRANKENA, K. Effect of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite vaccine on the crude abortion rate of Costa Rican dairy cows under field conditions. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p. 149–159, 2004.

SADREBAZZAZ, A.; HABIBI, G.; HADDADZADEH, H.; ASHRAFI, J. Evaluation of bovine abortion associated with *Neospora caninum* by different diagnostic techniques in Mashhad, Iran. **Parasitology Research**, v. 100, p. 1257–1260, 2007.

SADREBAZZAZ, A.; HADDADZADEH, H.; SHAYAN, P. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in camels (*Camelus dromedarius*) in Mashhad, Iran. **Parasitology Research**, v. 98, p. 600–601, 2006.

SCHARES, G.; HEYDORN, A. O.; CÜPPERS, A.; CONRATHS, F. J.; MEHLHORN, H. *Hammondia heydorni*-like oocysts shed by a naturally infected dog and *Neospora caninum* NC-1 cannot be distinguished. **Parasitology Research**, v. 87, n. 10, p. 808-816, 2001.

SCHARES, G.; PANTCHEV, N.; BARUTZKI, D.; HEYDORN, A. O.; BAUER, C.; CONRATHS, F. J. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p. 1525–1537, 2005.

SEDLÁK, K.; BÁRTOVÁ, E. Seroprevalences of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in zoo animals. **Veterinary Parasitology**, v. 136, p. 223–231, 2006.

SERRANO-MARTÍNEZ, E.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; CHÁVEZ-VELÁSQUEZ, A.; RODRÍGUEZ-BERTOS, A.; CASAS-ASTOS, E.; RISCO-CASTILHO, V.; ROSADIO-ALCANTARA, R.; ORTEGA-MORA, L.M. Evaluation of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in alpaca (*Vicugna pacos*) and llama (*Lama glama*) aborted foetuses from Peru. **Veterinary Parasitology**, v. 150, p. 39–45, 2007a.

SERRANO-MARTÍNEZ, E.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; RODRÍGUEZ-BERTOS, A.; CASAS-ASTOS, E.; ALVAREZ-GARCÍA, G.; CHÁVEZ-VELÁSQUEZ, A.; ORTEGA-MORA, L. M. *Neospora* species-associated abortion in alpacas (*Vicugna pacos*) and llamas (*Llama glama*). **The Veterinary Record**, v.155, n. 23, p. 748-749, 2004.

SERRANO-MARTÍNEZ, E.; FERRE, I.; MARTÍNEZ, A.; OSORO, K.; MATEOS-SANZ, A.; DEL-POZO, I.; ADURIZ, G.; TAMARGO, C.; HIDALGO, C. O.; ORTEGA-MORA, L. M. Experimental neosporosis in bulls: Parasite detection in semen and blood and specific antibody and interferon-gamma responses. **Theriogenology**, v. 67, p. 1175–1184, 2007b.

SERRANO, E.; FERRE, I.; OSORO, K.; ADURIZ, G.; MATEOS-SANZ, A.; MARTÍNEZ, A.; ATXAERANDIO, R.; HIDALGO, C. O.; ORTEGA-MORA, L. M. Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers. **Veterinary Parasitology**, v. 135, p. 197-203, 2006.

SILVA, D. S.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; LEHMAN, T.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 2, p. 394-396, 2003.

SILVA, D. A. O.; LOBATO, J.; MINEO, T. W. P.; MINEO, J. R. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: Optimization of cut off titers

and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, v. 143, p. 234-244, 2006.

SLAPETA, J.R.; KOUDELA, B.; VOTÝPKA, J.; MODRÝ, D.; HOREJS, R.; LUKES, J. Coprodiagnosis of *Hammondia heydorni* in dogs by PCR based amplification of ITS 1 rRNA: differentiation from morphologically indistinguishable oocysts of *Neospora caninum*. **The Veterinary Journal**, v. 163, p. 147-154, 2002b.

SLAPETA, J.R.; MODRÝ, D.; KYSELOVÁ, I.; HOREJS, R.; LUKES, J.; KOUDELA, B. Dog shedding oocysts of *Neospora caninum*: PCR diagnosis and molecular phylogenetic approach. **Veterinary Parasitology**, v. 109, p. 157-167, 2002a.

SPEER, C. A.; DUBEY, J. P.; MCALLISTER, M. M.; BLIXT, J. A. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1509-1519, 1999.

STEINMAN, A.; SHPIGEL, N. Y.; MAZAR, S.; KING, R.; BANETH, G.; SAVITSKY, I.; SHKAP, V. Low seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild canids in Israel. **Veterinary Parasitology**, v. 137, p. 155-158, 2006.

SZABO, K. A.; MENSE, M. G.; LIPSCOMB, T. P.; FELIX, K. J.; DUBEY, J. P. Fatal toxoplasmosis in a bald eagle (*Haliaeetus leucocephalus*). **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 4, p. 907-908, 2004.

TIEMANN, J. C. H.; RODRIGUES, A. A. R.; SOUZA, S. L. P.; DUARTE, J. M. B.; GENNARI, S. M. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in Brazilian cervids kept in captivity. **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 341-343, 2005a.

TIEMANN, J. C. H.; SOUZA, S. L. P.; RODRIGUES, A. A. R.; DUARTE, J. M. B.; GENNARI, S. M. Environmental effect on the occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in pampas-deer (*Ozotoceros bezoarticus*). **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 73-76, 2005b.

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

THURMOND, M. C.; HIETALA, 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, 1997.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K.; BLANCHARD, P. C. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, p. 44-49, 1997.

TRANAS, J.; HEINZEN, R. A.; WEISS, L. M.; MCALLISTER, M. M. Serology evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. **Clinical and Diagnostic Immunology**, v. 6, n. 5, p. 765-767, 1999.

TREES, A. J.; DAVISON, H. C.; INNES, E. A.; WASTLING, J. M. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1195-1200, 1999.

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, 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, n. 12, p. 558-560, 2005.

UZÊDA, R. S.; COSTA, K. S.; SANTOS, S. L.; PINHEIRO, A. M.; ALMEIDA, M. A. O.; MCALLISTER, M. M.; GONDIM, L. F. P. Loss of infectivity of *Neospora caninum* oocysts maintained for a prolonged time. **Korean Journal of Parasitology**, v. 45, n. 4, p. 295-299, 2007b.

UZÊDA, R. S.; PINHEIRO, A. M.; FERNÁNDEZ, S. Y.; AYRES, M. C. C.; GONDIM, L. F. P.; ALMEIDA, M. A. O. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 70, p. 257-259, 2007a.

VIANNA, M. C. B.; SREEKUMAR, C.; MISKA, K. B.; HILL, D. E.; DUBEY, J. P. Isolation of *Neospora caninum* from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Veterinary Parasitology**, v. 129, p. 253-257, 2005.

VILLALOBOS, E. M. C.; UENO, T. E. H.; SOUZA, S. L. P.; CUNHA, E. M. S.; LARA, M. C. C. S. H.; GENNARI, S. M.; SOARES, R. M. Association between the presence of serum antibodies against *Neospora* spp. and fetal loss in equines. **Veterinary Parasitology**, v. 142, p. 372-375, 2006.

WAPENAAR, W.; BARKEMA, H. W.; SCHARES, G.; ROUVINEN-WATT, K.; ZEIJLEMAKER, L.; POORTER, B.; O'HANDLEY, R. M.; KWOK, O. C. H.; DUBEY, J. P. Evaluation of four serological techniques to determine the seroprevalence of *Neospora caninum* in foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*) on Prince Edward Island, Canada. **Veterinary Parasitology**, v. 145, p. 51-58, 2007.

WILLIAMS, D. J. L.; GUY, C. S.; SMITH, R. F.; ELLIS, J.; BJÖRKMAN, C.; REICHEL, M. P.; TREES, A. J. Immunization of cattle with live tachyzoites of *Neospora caninum* confers protection against fetal death. **Infection and Immunity**, v. 75, n. 3, p. 1343-1348, 2007.

WILLIAMS, J. H.; ESPIE, I.; WILPE, E.; MATTHEE, A.; Neosporosis in a white rhinoceros (*Ceratotherium simum*) calf. **Journal of the South African Veterinary Association**, v. 73, n. 1, p. 38-43, 2002.

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

WORK, T. M.; MASSEY, J. G.; RIDEOUT, B. A.; GARDINER, C. H.; LEDIG, D. B.; KWOK, O. C. H.; DUBEY, J. P. Fatal toxoplasmosis in free-ranging endangered 'Alala from Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, n. 2, p. 205-212, 2000.

WOUDA, W.; MOEN, A. R.; VISSER, I. J. R.; KNAPEN, F. V. Bovine fetal neosporosis: a comparison of epizootic and sporadic abortion cases and different age classes with regard to lesion severity and immunohistochemical identification of organisms in brain, heart, and liver. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, p. 180-185, 1997.

YAI, L. E. O.; CAÑON-FRANCO, W. A.; GERALDI, V. C.; SUMMA, M. E. L.; CAMARGO, M. C. G. O.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in the South American opossum (*Didelphis marsupialis*) from the city of São Paulo, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 89, n. 4, p. 870-871, 2003.

YAMAGE, M.; FLECHTNER, O.; GOTTSTEIN, B. *Neospora caninum*: specific oligonucleotide primers for the detection of brain "cyst" DNA of experimentally infected nude mice by the polymerase chain reaction (PCR). **Journal of Parasitology**, v. 82, n. 2, p. 272-279, 1996.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)