

ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* E ANTI-*Neospora caninum* EM CÃES DA ZONA RURAL DO MUNICÍPIO DE BOTUCATU – SÃO PAULO, BRASIL

Fernanda Conceição Gaió¹
Anelise Salina¹
Benedito Donizete Menozzi²
Helio Langoni³

RESUMO

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* são protozoários importantes causadores de doença sistêmica em muitas espécies animais, inclusive os cães. O objetivo do presente estudo foi determinar a frequência de anticorpos da classe IgG anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em amostras de soros de cães da zona rural do município de Botucatu-SP, correlacionando os títulos sorológicos com a idade, sexo e raça dos animais. Um total de 689 cães hígidos, 298 (43,3%) fêmeas e 391 (56,7%) machos foram selecionados, aleatoriamente, para participarem do estudo. Estes, foram agrupados em três faixas etárias: menores de 12 meses (11,32%), com idades entre um e cinco anos (73,58%) e maiores de cinco anos (15,09%), sendo que 180 (26,1%) tinham raça definida e 509 (73,9%) não. Do total de amostras, 144 (21%) foram positivas para a presença de anticorpos anti-*T. gondii* e 78 (11,3%) para anticorpos anti-*N. caninum*. Foi observada correlação estatística entre os títulos de anticorpos e idade, para as duas infecções, o que não ocorreu com relação ao sexo e a raça.

Palavras-chave: toxoplasmose, neosporose, sorologia, RIFI, cães.

ANTIBODIES ANTI-*Toxoplasma gondii* AND ANTI-*Neospora caninum* IN DOGS OF RURAL MUNICIPALITY OF BOTUCATU – SÃO PAULO, BRAZIL

ABSTRACT

Toxoplasma gondii and *Neospora caninum* are protozoa and important agents of systemic disease in several animal species, including dogs. The aim of this study was to determine the frequency of IgG antibodies anti-*N. caninum* and *T. gondii* in serum samples of dogs from rural area of Botucatu-SP. The serological titers were correlated with age, sex and breed. A total of 689 healthy dogs, 298 (43.3%) females and 391 males (56.7%) were randomly selected for the study. Animals were divided into three age groups: younger than 12 months (11.32%), aged between one and five years (73.58%) and more than five years old (15.09%). A total of 180 (26.1%) were breed and 509 (73.9%) mongrel. Of total samples, 144 (21%) samples were positive for the presence of anti-*T. gondii* and 78 (11.3%) for anti-*N. caninum* antibodies. Correlation was found between antibody titles and age, for the two infections, which did not occur with respect to gender and breed.

Keywords: toxoplasmosis, neosporosis, serology, IFAT, dogs.

¹ Mestrando do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ/Unesp Botucatu

² Ass. de Suporte Acadêmico II - Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ/Unesp Botucatu

³ Prof. Titular do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ/Unesp Botucatu. Correspondência.

ANTICUERPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* Y CONTRA *Neospora caninum* EN PERROS DE LA ZONA RURALE DEL MUNICIPIO DE BOTUCATU – SÃO PAULO, BRASIL

RESUMEN

Toxoplasma gondii y *Neospora caninum* son protozoários importantes que causan enfermedad sistémica en muchas especies animales, incluyendo perros. El objetivo de este estudio fue determinar la frecuencia de anticuerpos IgG contra *N. caninum* y contra *T. gondii* en muestras de suero de los perros de las zonas rurales de Botucatu-SP, la correlación serológica con la edad, sexo y raza. Un total de 689 perros sanos, 298 hembras (43,3%) y 391 machos (56,7%) fueron seleccionados al azar para participar del estudio. Se agruparon en tres grupos de edad: menores de 12 meses (11,32%), con edades comprendidas entre uno y cinco años (73,58%) y más de cinco años (15,09%). 180 (26,1%) eran de raza definida y 509 (73,9%) mestizo. Del total de muestras, 144 (21%) fueron positivas para la presencia de anticuerpos contra *T. gondii* y 78 (11,3%) para anticuerpos contra *N. caninum*. Se encontró correlación entre los títulos de anticuerpos y la edad, para ambas infecciones, lo que no ocurrió con respecto al género y la raza.

Palabras clave: toxoplasmosis, neosporosis, serología, RIFI, perros.

INTRODUÇÃO

O primeiro caso de toxoplasmose canina foi relatado por Mello, na Itália em 1910 e no Brasil, em 1911 por Carini apud Cademartori et al. (1).

Toxoplasma gondii e *Neospora caninum* são protozoários do filo Apicomplexa, apresentam distribuição mundial e são causadores de doença sistêmica em diversas espécies animais, inclusive em caninos, que podem ingerir oocistos presentes no solo ou vegetais (2).

Os cães se comportam como hospedeiros intermediários, mas podem carrear oocistos em seu pelame, favorecendo a infecção humana, pela relação próxima (3).

A toxoplasmose é uma importante zoonose de alta prevalência, responsável por grandes perdas econômicas, sendo considerada relevante na saúde pública. É diagnosticada em todas as espécies de sangue quente (2). Acredita-se que cerca de um terço da população humana encontra-se infectada, fato confirmado pelas altas taxas de soroprevalência tanto em animais como no homem (4). Os cães se comportam como hospedeiros intermediários, mas podem carrear oocistos em seu pelame, favorecendo a infecção humana, pela relação próxima (5).

No Brasil encontra-se amplamente distribuída, como mostram os estudos de Varandas et al. (6), Barbosa et al. (7), Azevedo et al. (8), Ortolani et al. (9), Romanelli et al. (10), Langoni et al. (11), Bresciani et al. (12), Dubey et al. (13), Camossi et al. (14), Figueiredo et al. (15), Moura et al. (16).

Caninos e bovinos podem se infectar por *Neospora caninum*, bem como, caprinos, ovinos, equinos, bubalinos e cervídeos (17, 18). Camelos, raposas, mão-peladas, felinos e outros canídeos selvagens podem também ser hospedeiros intermediários do parasita (19), no entanto, a infecção é mais prevalente em cães e bovinos. É considerada como uma das principais causas de abortamentos em bovinos (20). O estudo da neosporose canina é de grande interesse, uma vez que os cães são os hospedeiros definitivos, eliminando oocistos pelas fezes (21, 22), contribuindo para a contaminação ambiental e infecção de outras espécies.

O primeiro caso de infecção canina foi descrito na Noruega, em animais com sinais clínicos neuromusculares, que possuíam cistos cerebrais e na musculatura, e apresentavam sorologia negativa para *T. gondii* (23). A caracterização do gênero, cultivo *in vitro* e

padronização de um teste sorológico que diferenciase infecção por este protozoário, da causada por *T. gondii*, só ocorreram em 1988 (20), o que possibilitou a realização de muitas pesquisas em vários países.

A primeira descrição do parasita no Brasil se deu em 1999, quando Gondim et al. (24) o detectou em tecidos de um feto bovino. O primeiro isolamento de *N. caninum*, se deu no Estado da Bahia, a partir de amostra de cérebro de um cão da raça Collie, macho de sete anos, naturalmente infectado, que apresentava sinais clínicos de incoordenação e paralisia dos membros posteriores (24). Muitos estudos de soroprevalência foram conduzidos em diversos Estados brasileiros, como em São Paulo (6, 12, 25), Minas Gerais (26), Mato Grosso (27), Bahia (28), Goiás (29), Maranhão (30), Rio Grande do Sul (31). Considerando-se a importância das duas enfermidades na espécie canina, estudaram-se ambas em amostras de soro de cães provenientes da zona rural do município de Botucatu-SP.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de sangue de 689 cães hígidos, 298 (43,3%) fêmeas e 391 (56,7%) machos, foram obtidas aleatoriamente de cães da zona rural do município de Botucatu, São Paulo. Quanto à idade, foram agrupados em três categorias: menores de 12 meses (n=78; 11,32%), com idades entre um e cinco anos (n=507; 73,58%) e maiores que cinco anos (n=104; 15,09%). Quanto à raça, 180 (26,19%) tinham raça definida e 509 (73,9%) não apresentavam definição racial. A colheita de sangue foi realizada após a autorização de seus proprietários com assinatura de termo de consentimento.

Foram colhidas amostras de 3 a 5 mililitros (mL) de sangue por punção venosa das veias jugular ou cefálica, com seringas de 5mL e agulhas 10x7mm descartáveis, e transferidas para tubos de 15 mL sem anticoagulante. Em seguida, foram submetidas à centrifugação a 3000 rpm por 10 minutos, no Núcleo de Pesquisas em Zoonoses (NUPEZO) do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da FMVZ Unesp-Botucatu. Os soros foram acondicionados em tubos de poliestireno (Eppendorf®) de 1,5 mL, identificados e congelados à temperatura de -20°C até o processamento.

Foi realizada a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para detecção de anticorpos da classe IgG, anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum*.

Para toxoplasmose procedeu-se de acordo com Camargo (32). As amostras foram diluídas em Solução Salina Tamponada (SST) pH 7,2 em placa de 96 cavidades de fundo chato, obtendo-se as diluições 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096. Uma alíquota de cada diluição da amostra foi transferida para orifícios de lâmina de imunofluorescência, previamente sensibilizadas com taquizoítos formalizados da cepa RH de *T. gondii*, obtidos de exsudato peritoneal de camundongos (*Mus musculus*), considerando-se como ponto de corte a diluição 1:16.

Para neosporose procedeu-se de acordo com Dubey et al. (33). As amostras foram diluídas em SST pH 7,2 para a obtenção das diluições 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, correspondendo aos títulos 25, 50, 100, 200 e 400 unidades internacionais (UI) respectivamente. O antígeno utilizado para sensibilização das lâminas foi produzido no Núcleo de Pesquisas em Zoonoses (NUPEZO) a partir de taquizoítos de *Neospora caninum* (cepa NC-1) mantidos em passagens contínuas em cultivos de células VERO (34). As reações foram consideradas positivas, a partir da diluição 1:25 (35). Em ambos os casos, foi utilizado conjugado anti-IgG canino, na diluição de 1:250, marcado com isotiocianato de fluoresceína (Sigma®).

Todas as lâminas continham amostras de soro padrão positivo e negativo, como controles. A leitura foi realizada em microscópio de imunofluorescência “Zeiss SH250”, em aumento de 40x. Foram consideradas positivas as diluições nas quais os taquizoítos apresentavam

fluorescência periférica total. Reações de fluorescência parcial, apical, também chamada de fluorescência polar, ou ausência de fluorescência, foram consideradas negativas (36).

Os resultados foram analisados pelo Teste do Qui-quadrado (χ^2) para correlacionar as variáveis ordinais, e o Teste Exato de Fisher foi empregado para a correlação das variáveis nominais, adotando-se como significância estatística 95% ($P \leq 0,05$), em ambos os testes.

RESULTADOS

Os resultados referentes aos títulos de anticorpos para toxoplasmose mostram que dos 689 animais avaliados 144 (21,0%) foram positivos com 85 (12,4%), 51 (7,4%), 6 (0,9%) e 2 (0,3%) com títulos 16, 64, 256 e 1024 UI, respectivamente.

Na tabela 1, podem ser apreciados os resultados, classificados como reagentes e não reagentes para toxoplasmose, de acordo com o sexo dos animais e respectivos valores de significância.

Tabela 1. Resposta sorológica para presença de anticorpos anti-*T. gondii* de acordo com o sexo e a raça dos animais. Botucatu, 2013.

Variáveis	Anticorpos Anti- <i>T.gondii</i>		Total de Animais	Valor P
	Reagentes n/%	Não Reagentes n/%		
RD*	30 (20,8)	150 (27,5)	180	0,063
SRD**	114 (79,2)	395 (72,5)	509	
Fêmeas	65 (45,10)	233 (42,80)	298	0,337
Machos	79 (54,90)	312 (57,20)	391	
Total	144 (100)	545 (100)	689	

*Animais com Raça Definida; **Animais sem Raça Definida.

Na tabela 2 pode ser observada a distribuição dos títulos de anticorpos anti-*T. gondii* de acordo com a faixa etária.

Tabela 2. Distribuição dos títulos de anticorpos anti-*T. gondii* de acordo com as faixas etárias. Botucatu, 2013.

Títulos	< 12 meses (n/%)	1-5 anos (n/%)	> 5 anos (n/%)	Total (n/%)	P
0	73 (93,6)	403 (79,5)	69 (63,3)	545 (79,0)	0.004
16	4 (5,1)	62 (12,3)	19 (18,3)	85 (12,4)	
64	1 (1,3)	36 (7,1)	14 (13,5)	51 (7,4)	
256	0 (0)	4 (0,8)	2 (1,9)	6 (0,9)	
1024	0 (0)	2 (0,4)	0 (0)	2 (0,3)	
Total	78 (100)	507 (100)	104 (100)	689 (100)	

Quanto aos resultados referentes à neosporose, entre as 689 amostras examinadas, 78 (11,3%) foram positivas, sendo 48, 23, 5 e 2 com títulos 25, 50, 100 e 200 UI respectivamente. A distribuição desses resultados com relação ao sexo e a raça dos animais, com respectivos valores de significância estão representados na tabela 3.

Tabela 3. Resposta sorológica para a presença de anticorpos anti-*N. caninum* de acordo com o sexo e raça dos animais. Botucatu, 2013.

Variáveis	Anticorpos Anti- <i>N. caninum</i>		Total de Animais	Valor P
	Reagentes n/%	Não Reagentes n/%		
RD*	16 (20,5)	164 (26,8)	180	0,114
SRD**	62 (79,5)	447 (73,2)	509	
Fêmeas	32 (41,0)	266 (43,5)	298	
Machos	46 (59,0)	345 (56,5)	391	
Total	78 (100)	611 (100)	689	

*Animal com Raça Definida; **Animal sem Raça Definida.

A distribuição dos resultados de acordo com os títulos e a faixa etária dos animais pode ser observada na tabela 4.

Tabela 4. Distribuição de títulos de anticorpos anti-*N. caninum* nas diferentes faixas etárias. Botucatu, 2013.

Títulos	< 12 meses (n/%)	1-5 anos (n/%)	> 5 anos (n/%)	Total (n/%)	P
0	77 (98,7)	449 (88,50)	85 (81,7)	611 (88,70)	0.002
25	1 (1,30)	35 (6,90)	12 (11,50)	48 (7,0)	
50	0 (0)	18 (3,60)	5 (4,80)	23 (3,30)	
100	0 (0)	4 (8,0)	1 (1)	5 (0,70)	
200	0 (0)	1 (0,20)	1 (1)	2 (0,30)	
Total	78 (100)	507 (100)	104 (100)	689 (100)	

DISCUSSÃO

A soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii*, encontrada no presente estudo, pode ser considerada baixa se comparada com outros autores. Figueiredo et al. (15) obtiveram 44,4% de positividade em 108 cães em Pernambuco. Na Paraíba, Azevedo et al. (8) 45,1% em 286 cães. No Estado de São Paulo, Dubey et al. (13) encontraram 42 (35,8%) cães positivos entre os 118 avaliados.

Varandas et al. (6) encontraram 51,19% de positividade em 195 animais e Ortolani et al. (9) verificaram 82,8% de soropositividade entre 29 cães da aldeia indígena Krucutu e 57,4% de 61 animais amostrados da aldeia Morro da Saudade, ambas no município de São Paulo. Por outro lado, Langoni et al. (11) observaram 33,1% de positividade em 780 cães aparentemente saudáveis na cidade de Botucatu e desta vez Camossi et al. (14) trabalhando com 100 animais de um bairro carente com características rurais, também em Botucatu, obtiveram 56% de positividade.

Os dados do presente estudo são relevantes, uma vez que foram obtidos de animais provenientes do mesmo município. Apesar de os animais avaliados por Camossi et al. (14) viverem em ambiente com características rurais, as condições higiênico-sanitárias do bairro, considerado carente, diferem muito das encontradas na zona rural de Botucatu-SP, o que pode justificar a menor soropositividade do presente estudo. No entanto, a prevalência obtida de 21% se assemelha à observada por Cademartori et al. (1) no município de Capão Leão-RS, onde 10 amostras (20%) entre as 50 testadas, foram positivas, no entanto, os títulos foram superiores a 2048 UI com ponto de corte 32. No presente estudo, o maior título foi 1024 UI em 0,3% dos

animais. Moura et al. (16) obtiveram 26% de positividade, com títulos de 16, 64, 256 e 1024 UI correspondendo a 13,5%, 6%, 5% e 1,5%, respectivamente.

No presente estudo, não houve associação entre a presença de anticorpos e as variáveis raça e sexo, o que está de acordo com Moura et al. (16), Varandas et al. (6), Azevedo et al. (8) que não obtiveram variação para o sexo, e com Bresciani et al. (12), no que diz respeito à raça.

De acordo com os resultados, houve associação entre a idade e a prevalência da infecção ($p < 0,005$). Esta relação é bastante acentuada, o que está de acordo com Azevedo et al. (8) e se, quanto maior a idade, maiores as chances do animal se infectar, o que mostra a importância da transmissão horizontal na toxoplasmose canina, a partir da contaminação ambiental ou pelo hábito do carnivorismo. Os resultados mostram a importância do cão como animal sentinela nas ações de vigilância para medidas de controle da toxoplasmose humana.

A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* foi de 11,3% com 78 animais positivos, o que está de acordo com Valadas et al. (37), que entre as 104 amostras caninas 32 (30,7%) provenientes da região urbana do município de Santarém, e 72 (69,2%) da zona rural de diferentes municípios do Estado do Pará, 11 (10,6%) foram reagentes. Gennari et al. (25) utilizando o teste “Neospora Agglutination Test” (NAT), apesar da maior prevalência (24,7%), em animais domiciliados e errantes do município de São Paulo-SP, obtiveram distribuição semelhante nos títulos de anticorpos.

Jesus et al. (28) analisando pela RIFI 415 amostras séricas de cães domiciliados e errantes, procedentes dos municípios de Salvador e Lauro de Freitas-BA, obtiveram 13,3% de positividade em 165 cães domiciliados e 11,2% em 250 errantes, resultados semelhantes aos do presente estudo. Por outro lado, resultados superiores foram encontrados por Moraes et al. (38) na microrregião da serra de Botucatu-SP com 25,4% de positividade em 963 cães examinados, por Benetti et al. (27) com 45% de positividade entre os 60 cães examinados em Cuiabá-MT, com títulos variáveis entre 50 a 1600 e por Boaventura et al. (29) com 32,9% de positividade em 197 animais em Goiânia-GO. Como no presente estudo, Cunha Filho et al. (31) obtiveram 20,4% de positividade entre 230 cães da zona rural de Pelotas-RS e Teixeira et al. (30) verificaram 31,1% em cães do Maranhão. Menor prevalência foi obtida por Varandas et al. (6) com somente 8,48% de positividade em 295 cães.

De acordo com a raça não houve diferença significativa entre título de anticorpos para neosporose, o que está de acordo com Varandas et al. (6), Teixeira et al. (30) e Benetti et al. (27). São concordantes ainda no que se refere ao sexo, com os resultados de Jesus et al. (28) e Boaventura et al. (29).

Quanto à distribuição dos títulos de anticorpos anti-*N. caninum* nas três faixas etárias, pela análise do teste χ^2 ($p=0,02$) depreende-se que há relação entre títulos de anticorpos e idade do animal, concordando com Moraes et al. (38), na mesma região, discordando, entretanto de Varandas et al. (6) que não encontraram correlação entre a idade e título de anticorpos.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos permitem concluir que os dois protozoários estão disseminados na população canina na zona rural do município de Botucatu-SP, e que os cães são importantes animais sentinelas para os estudos de soroprevalência na medida em que se expõe às formas infectantes dos dois agentes infecciosos pesquisados.

REFERÊNCIAS

1. Cademartori BG, Recuero RC, Jorge S, Dias DG, Fernandes CPH, Recuero ALC, et al. Detecção de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii em cães do bairro Jardim América, município do Capão do Leão-RS. In: Anais do 14º Congresso de Iniciação Científica; Pelotas. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas; 2005.
2. Langoni H, Matteucci G, Medici B, Camossi LG, Richini-Pereira VB, Silva RC. Detection and molecular analysis of Toxoplasma gondii and Neospora caninum from dogs with neurological disorders. Rev Soc Bras Med Trop. 2012;45:365-8.
3. Dubey JP, Lappin MR. Toxoplasmosis and neosporosis. In: Greene CE, editor. Infectious diseases of dogs and cats. St. Louis, MO: Saunders-Elsevier; 2005. p.754-75.
4. Frenkel JK, Bermudez JEV. Toxoplasmose. In: Veronesi: tratado de infectologia. Focaccia R, editor. São Paulo: Atheneu; 2005. p.1635-52.
5. Lindsay DS, Dubey JP, Butler JM, Blagburn BL. Mechanical transmission of Toxoplasma gondii oocysts by dogs. Vet Parasitol. 1997;73:27-33.
6. Varandas NP, Abi Rached P, Costa GHN, Souza LM, Castangnolli KC, Costa AJ. Frequência de anticorpos anti-Neospora caninum e anti-Toxoplasma gondii em cães da região nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com neuropatias. Semin Cienc Agrar. 2001;22:105-11.
7. Barbosa MVF, Guimarães JE, Almeida MAO, Gondim LFP, Regis GB. Frequência de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii em soros de cães errantes da cidade de Salvador-Bahia, Brasil. Braz J Vet Res Anim Sci. 2003;40:457-65.
8. Azevedo SS, Batista CSA, Vasconcellos AS, Aguiar DM, Ragozo AMA, Rodrigues AAR, et al. Seroepidemiology of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in dogs from the State of Paraíba, Northeast region of Brazil. Res Vet Sci. 2005;79:51-6.
9. Ortolani ES, Gennari SM, Pinheiro SR, Rodrigues AAR, Chiebao DP, Soares RM. Prevalência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em populações animais das aldeias indígenas Krucutu e Morro da Saudade, no município de São Paulo, Brasil. Vet Zootec. 2005;12:25-8.
10. Romanelli PR, Freire RL, Vidotto O, Marana ERM, Ogawa AL, De Paula VSO, et al. Prevalence of Neospora caninum and Toxoplasma gondii in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. Res Vet Sci. 2007;82:202-7.
11. Langoni H, Modolo JR, Pezerico SB, Silva RC, Castro APB, Da Silva AV, et al. Serological profile of anti-Toxoplasma gondii in apparently health dogs of the city of Botucatu, São Paulo State, Brazil. J Venom Anim Toxins incl Trop Dis. 2006;12:142-4.
12. Bresciani KDS, Costa AJ, Nunes CM, Serrano ACM, Moura AB, Stobbe NS, et al. Ocorrência de anticorpos contra Neospora caninum e Toxoplasma gondii e estudo de fatores de risco em cães de Araçatuba-SP. Ars Vet. 2007;23:40-6.

13. Dubey JP, Gennari SM, Sundar N, Vianna MC, Bandini LM, Yai LE, et al. Diverse and atypical genotypes identified in *Toxoplasma gondii* form dogs in São Paulo, Brazil. *J Parasitol.* 2007;93:60-4.
14. Camossi LG, Faccioli PY, Menozzi BD, Daher SR, Langoni H. Environmental risk factors for canine toxoplasmosis in a deprived district of Botucatu, SP, Brazil. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* 2008;14:450-6.
15. Figueiredo LA, Dantas-Torres F, Faria EB, Gondim LFP, Simões-Mattos L, Brandão-Filho SP, et al. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Vet Parasitol.* 2008;157:9-13.
16. Moura AB, Souza AP, Sartor AA, Bellato V, Teixeira EB, Pisetta GM, et al. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco para a infecção por *Toxoplasma gondii* em cães, nas cidades de Lages e Balneário Camboriú, Santa Catarina, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2009;18:52-6.
17. Dubey JP, Lindsay DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol.* 1996;67:1-59.
18. Gennari SM. *Neospora caninum* no Brasil: situação atual da pesquisa. In: Anais do 12º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & Simpósio Latino-Americano de Ricketisioses; Ouro Preto. Ouro Preto, MG: CBMV; 2004.
19. Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol.* 2003;41:1-16.
20. Dubey JP. Neosporosis the first decade of research. *Int J Parasitol.* 1999;29:1485-8.
21. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol.* 1998;28:1473-8.
22. Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.* 1999;82:327-33.
23. Bjerkas L, Mohn SF, Presthus J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd.* 1984;70:271-4.
24. Gondim LFP, Pinheiro AM, Santos POM, Jesus EEV, Ribeiro MB, Fernandez HS, et al. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Vet Parasitol.* 2001;101:1-7.
25. Gennari SM, Yai LEO, D'Áuria SNR, Cardoso SMS, Kwok OCH, Jenkins MC, et al. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol.* 2002;106:177-9.
26. Mineo TWP, Silva DAO, Näslund K, Björkman C, Ugglå A, Mineo JR. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2004;56:414-7.

27. Benetti AH, Toniollo GH, Santos TR, Gennari SM, Costa AJ. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães do município de Cuiabá, Mato Grosso. *Cienc Anim Bras*. 2008;9:177-80.
28. Jesus EEV, Santos POM, Barbosa MVF, Pinheiro AM, Gondim LFP. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas da Bahia-Brasil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2006;43:5-10.
29. Boaventura CM, Oliveira VSF, Melo DPG, Borges LMP, Silva AC. Prevalência de *Neospora caninum* em cães de Goiânia. *Rev Patol Trop*. 2008;37:15-22.
30. Teixeira WC, Silva MIS, Pereira JG, Pinheiro AM, Almeida MAO, Gondim LFP. Frequência de cães reagentes para *Neospora caninum* em São Luis, Maranhão. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2006;58:685-7.
31. Cunha Filho NA, Lucas AS, Pappen FG, Ragozo AMA, Gennari SM, Lucia Junior T, et al. Fatores de risco e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2008;17:301-6.
32. Camargo ME. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev Inst Med Trop*. 1964;6:117-8.
33. Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc*. 1988;193:1259-63.
34. Lima JTR, Ahid SMM, Barreto Júnior RA, Pena HFJ, Dias RA, Gennari SM. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte, Brasil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2008;45:81-6.
35. Venturini MC, Venturini L, Bacigalupe D, Machuca M, Echaide I, Basso W, et al. *Neospora caninum* infections in bovine fetuses and dairy cows with abortions in Argentina. *Int J Parasitol*. 1999;29:1705-9.
36. Mineo TWP, Silva DAO, Costa GHN, Von Ancken ACB, Kasper LH, Souza MA, et al. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examines in a veterinary hospital from Brazil. *Vet Parasitol*. 2001;98:239-45.
37. Valadas SYOB, Gennari SM, Minervino AHH, Soares RM, Chiebao DP. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães do Estado do Pará, Amazônia, Brasil [Internet]. São Paulo; 2009 [acesso em 2012 Out 20]. <https://uspdigital.usp.br/siicusp/cdOnlineTrabalhoVisualizarResumo?numeroInscricaoTrabalho=270&numeroEdicao=17>
38. Moraes CCG, Megid J, Pituco EM, Okuda LH, Del Fava C, Stefano E, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da microrregião da Serra de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2008;1:1-6.

Recebido em: 10/12/2012

Aceito em: 24/03/2014