

TATIANA EVELYN HAYAMA UENO

**Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e  
*Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de  
rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil**

São Paulo

2005

TATIANA EVELYN HAYAMA UENO

**Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e  
*Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de  
rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

**Departamento:**

Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

**Área de Concentração:**

Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses

**Orientador:**

Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares

São Paulo

2005

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1592  
FMVZ

Ueno, Tatiana Evelyn Hayama

Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil / Tatiana Evelyn Hayama Ueno. – São Paulo : T. E. H. Ueno, 2005.  
107 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, 2005.

Programa de Pós-graduação: Epidemiologia Experimental e Aplicadas às Zoonoses.

Área de concentração: Epidemiologia Experimental e Aplicadas às Zoonoses.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares.

1. *Toxoplasma gondii*. 2. *Neospora caninum*. 3. Ovinos. 4. Distrito Federal. 5. Prevalência. I. Título.



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Assistência Acadêmica

Comissão Bioética

## CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em ovinos da região rural do Distrito Federal, Brasil", protocolo nº488/2004, utilizando 50 camundongos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendun".

(We certify that the Research "Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from area of Distrito Federal, Brazil", protocol number 488/2004, utilizing 50 mice, under the responsibility of Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendun", meeting.

São Paulo, 25 de outubro de 2005

  
Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Júlia Maria Matêra  
Presidente da Comissão de Bioética  
FMVZ/USP

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: UENO, Tatiana Evelyn Hayama

Título: Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof.Dr. \_\_\_\_\_  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof.Dr. \_\_\_\_\_  
Assinatura: \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_  
Julgamento: \_\_\_\_\_

***Aos meus pais Toshiharu e Maria, pelo apoio e amor, sempre***

***Aos meus irmãos Noemy, Humberto e Rogério***

***À Vida***

*“Não quero ter a terrível limitação de quem vive apenas do que  
é passível de fazer sentido.  
Eu não: Quero é uma verdade inventada”.*

***Clarice Lispector***

## **AGRADECIMENTOS**

*Ao Prof. Dr. Rodrigo Martins Soares, por toda a confiança e liberdade conferidas a mim, pelo convívio e por ter mantido o espírito do pós-graduando.*

*Ao Prof. Dr. Silvio Vasconcellos, por ter aberto as portas do VPS, primeiramente no estágio, e depois no Mestrado.*

*À Profa. Dra. Solange Maria Gennari, por ter aberto as portas do Laboratório de Doenças Parasitárias.*

*À Profa. Dra. Terezinha Schumacker, pelo apoio à época da admissão para a pós-graduação.*

*Ao Prof. Dr. Vitor Salvador Picão Gonçalves, pelo delineamento do trabalho, análises estatísticas e recepção em Brasília. Por todo o auxílio prestado.*

*Ao Prof. Dr. Marcos Bryan Heinemann, pelo delineamento do trabalho e colheita do material nas propriedades.*

*Aos alunos da UnB Bruno Akimoto e Tales Bezerra Dilli, pela colheita de material nas propriedades.*

*À EMATER-DF, pela localização das propriedades e auxílio na colheita do material.*

*À Ana Paula e Liandra, pelo auxílio na colheita de material no abatedouro e pela recepção em Brasília.*

*Ao Sr. Eldi, por ter aberto as portas do seu estabelecimento e por todo o auxílio prestado na colheita do material no abatedouro.*

*Ao Prof. Dr. Heitor Franco de Andrade, pela gentileza em fotografar as lâminas de imunofluorescência.*

*Ao Prof. Dr. Ricardo Dias, pelo auxílio nas análises estatísticas e amizade.*

*À Aline e Sílvia, por terem me ensinado os segredos da imunofluorescência, e pela amizade.*

*À Luciana, pelo auxílio na lavagem do material.*

*Ao Tonhão, pelo fornecimento dos camundongos.*

*Aos amigos que encontrei/reencontrei no VPS, Cris Brito, Leandro, Renata, Ivan e Daniel.*

*Aos demais amigos do Laboratório de Doenças Parasitárias: Adriano, Alessandra, Alexandre, Eliana, Iara, Lúcia, Mikaela, Maurício, Ricardo, Richard.*

*Aos demais pós-graduandos: Adriana, Cristina, Cristiana, Daniela, Ester, Eugênia, Flávia, Gisele, Lara, Leslie, Letticie, Patrícia, Roberto, Sabrina e Simone.*

*Aos funcionários da Secretaria do VPS, Danival, Virgínia e Cristina por toda a ajuda prestada durante esses dois anos e pelo convívio.*

*Aos demais funcionários do VPS, Sandra, Alexandre e Pedrinho.*

*Às companheiras de república Lilian e Tatiana (Xexel), pelas noites etílicas, desabafos e amizade.*

*Às minhas grandes amigas "botocudas" Márcia, Luciana (Perseguida) e Taís, por todos os momentos partilhados e pela amizade que continua apesar da distância.*

*Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Paes, da UNESP-Botucatu, pelo exemplo e por ter sido uma ilha de sensibilidade em tempos conturbados.*

*A todos os anos passados em Botucatu e todas as pessoas que lá conheci, que hoje fazem parte do que sou.*

*A todos os animais (ovinos e camundongos), que involuntariamente participaram do estudo. A todos os animais com que tive contato na vida acadêmica e profissional.*

*À funcionária da Biblioteca da FMVZ Elza pela atenção e paciência na correção da dissertação.*

*A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, auxiliaram-me nestes dois anos.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp), pela concessão da bolsa de Mestrado.*

*“A felicidade real sempre parece bastante sórdida em comparação com as supercompensações do sofrimento. E, por certo, a estabilidade não é, nem de longe, tão espetacular como a instabilidade. E o fato de estar satisfeito nada tem da fascinação de uma boa luta contra a desgraça, nada do pitoresco de um combate contra a tentação, ou de uma derrota fatal sob os golpes da paixão ou da dúvida. A felicidade nunca é grandiosa.”*

**Aldous Huxley**

*Não entendo. Isso é tão vasto que ultrapassa qualquer entender. Entender é sempre limitado. Mas não entender pode não ter fronteiras. Sinto que sou muito mais completa quando não entendo. Não entender, do modo como falo, é um dom. Não entender, mas não como um simples de espírito. O bom é ser inteligente e não entender. É uma benção estranha, como ter loucura sem ser doida. É um desinteresse manso, é uma doçura de burrice. Só que de vez em quando vem a inquietação: quero entender um pouco. Não demais: mas pelo menos entender que não entendo.*

**Clarice Lispector**

## RESUMO

UENO, T. E. H. **Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil.** [Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in ewes and rams of commercial flocks from Distrito Federal, Brazil]. 2005. 107 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

Foram colhidas, de março a junho de 2004, amostras de sangue de 108 carneiros e 920 matrizes de 32 propriedades comerciais de ovinos do Distrito Federal, totalizando 1028 amostras. Os soros foram submetidos à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), utilizando-se as diluições 1:64 e 1:50 como ponto de corte para, respectivamente, *T. gondii* e *N. caninum*. A prevalência observada para *T. gondii* foi de 38,22% (26,81% < IC 0,95 < 49,62%). Os títulos variaram de 64 a 65536, e o título com maior frequência foi 2048 (21,15%). Para *N. caninum*, a prevalência foi de 8,81% (7,08% < IC 0,95 < 10,53%), com títulos variando de 50 a 51200, sendo o título mais freqüente 50 (21,11%). Ovinos reagentes a ambos os parasitas corresponderam a 4,67%. A análise dos possíveis fatores de risco não foi possível, pois todas as propriedades possuíam ao menos um animal positivo para *T. gondii* e a maioria (87,50%) das propriedades foram positivas para *N. caninum*. A prevalência para *T. gondii* foi significativamente maior entre os machos que entre as fêmeas. Utilizando-se reação em cadeia pela polimerase e enzimas de restrição para o locus SAG2, em uma amostra de cérebro dentre 11 colhidas em um abatedouro da região foi identificado *T. gondii* tipo I. Os resultados demonstram que as infecções pelos dois parasitas estão presentes e disseminadas no rebanho ovino do Distrito Federal.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*. *Neospora caninum*. Ovinos. Distrito Federal. Prevalência.

## ABSTRACT

UENO, T. E. H. **Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in ewes and rams of commercial flocks from Distrito Federal, Brazil.** [Prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil]. 2005. 107 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

From March to June 2004, serum samples from 108 rams and 920 ewes were collected from 32 herds within Distrito Federal, Brazil. The samples were tested by Immunofluorescent Antibody Test, using sera diluted 1:64 and 1: 50 as cut-off values for the detection of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*, respectively. The observed prevalence for *T. gondii* infection was 38.22% (26.81%<IC 0,95<49.62%). The titers encountered ranged from 64 to 65536, with the most prevalent titer being 2048 (21.15%). The observed prevalence for *N. caninum* infection was 8.81% (7.08%<IC 0,95<10,53%). The titers ranged from 50 to 51200, being 50 the most frequent titer value (21.11%). The reactant sera to both pathogens corresponded to 4.67% of the samples. The risk factors for *T. gondii* and *N. caninum* infections were not determined because of the absence of negative herds for *T. gondii* infection and the high proportion of herds positive for *N. caninum* infection (87.50%). The prevalence for *T. gondii* infection was significantly higher among males than in females. By using the polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism of locus SAG2 on 11 brain samples collected in a regional slaughterhouse, only one sample was positive and proved to be archetype I. The results show that infection by both parasites is widespread in the ovine population from Distrito Federal.

Key-words: *Toxoplasma gondii*. *Neospora caninum*. Sheep. Distrito Federal. Prevalence.

## LISTA DE QUADROS E FIGURAS

Quadro 1 -	Freqüências de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em ovinos, segundo o País e teste sorológico empregado.....	29
Quadro 2 -	Freqüências de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em ovinos no Brasil, segundo o Estado e teste sorológico empregado.....	30
Quadro 3 –	Origem dos animais e material colhido de um abatedouro do DF.....	59
Figura 1 -	Representação do Distrito Federal e seus Núcleos Rurais.....	53
Figura 2 -	Amostra positiva para <i>T. gondii</i> na RIFI à diluição 1:64, mostrando taquizoítos com fluorescência periférica total (aumento de 1000 vezes).....	82
Figura 3 -	Amostra positiva para <i>T. gondii</i> na RIFI à diluição 1:64, mostrando taquizoítos corados apenas pelo azul de Evans (aumento de 1000 vezes).....	82
Figura 4 -	Amostra negativa para <i>T. gondii</i> na RIFI à diluição 1;64, mostrando taquizoítos com fluorescência periférica parcial, localizada apenas na região apical (aumento de 1000 vezes).....	82

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Perfil das propriedades e proprietários de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	63
Tabela 2 –	Área total e área destinada à ovinocultura de propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004.....	64
Tabela 3 -.	Tipo de exploração de propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	64
Tabela 4 –	Número de animais por categoria em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	64
Tabela 5 –	Presença de outras espécies animais além de ovinos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	65
Tabela 6 –	Características das instalações em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	65
Tabela 7 –	Número de apriscos e lotação dos apriscos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	65
Tabela 8 –	Utilização de pastos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	66
Tabela 9 –	Fonte da água oferecida aos animais em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	66
Tabela 10 –	Destino de cadáveres de animais em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	66
Tabela 11 –	Destino de fetos abortados e placentas em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	67
Tabela 12 –	Vacinação em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	67
Tabela 13 –	Utilização de anti-parasitários em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	67
Tabela 14 –	Comércio de carneiros e matrizes e realização de seleção em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004.....	68
Tabela 15 –	Índices produtivos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004.....	69

Tabela 16 – Manejo reprodutivo em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004.....	69
Tabela 17 – Índices reprodutivos em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004.....	69
Tabela 18 – Problemas reprodutivos em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004.....	70
Tabela 19 – Frequências de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (RIFI $\geq$ 64) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade – 2004.....	71
Tabela 20 – Número de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos para <i>Toxoplasma gondii</i> pela RIFI ( $\geq$ 64), nos diferentes títulos, por propriedade – 2004.....	73
Tabela 21 – Frequências de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq$ 64) – 2004.....	74
Tabela 22 – Frequências de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> (RIFI $\geq$ 50) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade – 2004.....	76
Tabela 23 – Número de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos para <i>N. caninum</i> pela RIFI ( $\geq$ 50), nos diferentes títulos, por propriedade – 2004.....	78
Tabela 24 – Frequências de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq$ 50) – 2004.....	79
Tabela 25 – Frequências de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos na RIFI para <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Neospora caninum</i> concomitantemente, negativos para ambos os agentes e positivos para apenas um deles, por propriedade – 2004.....	80

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Frequências de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (RIFI $\geq$ 64) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade – 2004.....	72
Gráfico 2 – Frequências de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq$ 64) – 2004.....	74
Gráfico 3 – Frequências de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> (RIFI $\geq$ 50) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade – 2004.....	77
Gráfico 4 – Frequências de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq$ 50) – 2004.....	79
Gráfico 5 – Frequências de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos na RIFI para <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Neospora caninum</i> concomitantemente, negativos para ambos os agentes e positivos para apenas um deles, por propriedade – 2004.....	81

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	síndrome da imunodeficiência adquirida
DAT	teste de aglutinação direta
DF	Distrito Federal
DNA	ácido desoxirribonucleico
EDTA	ácido etileno diamino tetracético
ELISA	enzime linked immunosorbent assay - “ensaio imunoenzimático”
EMATER	Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nation
g	grama
<i>g</i>	gravidade terrestre
GECOMP	Grupo de Estudos sobre a Competitividade e Sustentabilidade do Agronegócio
GO	Goiás
ha	hectare
HAI	hemaglutinação indireta
<i>Hha</i>	<i>Haemophilus haemolyticus</i>
HCl	ácido clorídrico
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	intervalo de confiança
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IF- $\gamma$	Interferon gama
IL	Interleucina
ITS	espaço interno transcrito
KCl	cloreto de potássio
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	fosfato de potássio monobásico anidro
LAT	teste de aglutinação em látex
M	molar

MAT	teste de aglutinação modificado
µg	micrograma
µL	microlitro
mL	mililitro
µm	micrômetro
mM	milimolar
Nº	número
NaCl	cloreto de sódio
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	carbonato de sódio
NaHCO <sub>3</sub>	bicarbonato de sódio
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	fosfato de sódio monobásico anidro
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	fosfato de sódio dibásico anidro
p	prevalência
PAD	Plano de Assentamento Dirigido
PBS	solução tamponada com fosfatos
PCR	reação em cadeia pela polimerase
pH	potencial hidrogeniônico
q.s.p.	quantidade suficiente para
RIFI	reação de imunofluorescência indireta
RFLP	restriction fragment length polymorphism – “polimorfismo dos fragmentos gerados por enzimas de restrição”
RSF	reação de Sabin-Feldman
<i>Sau</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SDS	dodecil sulfato de sódio
TE	tampão Tris-EDTA
TO	Tocantins
UI	Unidade Internacional
v/v	volume a volume

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	19
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	22
3	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	23
3.1	<i>TOXOPLASMA GONDII</i> .....	23
3.1.1	<b>Ciclo Biológico</b> .....	23
3.1.2	<b>Epidemiologia</b> .....	28
3.1.3	<b>Toxoplasmose em Ovinos</b> .....	32
3.1.4	<b>Perdas Econômicas</b> .....	36
3.1.5	<b>Toxoplasmose em Humanos</b> .....	37
3.1.6	<b>Prevenção e Controle</b> .....	38
3.2	<i>NEOSPORA CANINUM</i> .....	39
3.2.1	<b>Ciclo Biológico</b> .....	40
3.2.2	<b>Epidemiologia</b> .....	43
3.2.3	<b>Neosporose em Ovinos</b> .....	46
3.2.4	<b>Perdas Econômicas</b> .....	49
3.2.5	<b>Neosporose em Humanos</b> .....	50
3.2.6	<b>Prevenção e Controle</b> .....	50
4.	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	52
4.1	EXPERIMENTO 1 .....	52
4.1.1	<b>Amostragem</b> .....	52
4.1.2	<b>Colheita de Amostras</b> .....	54
4.1.3	<b>Manutenção de <i>Toxoplasma gondii</i></b> .....	54

4.1.4	<b>Manutenção de <i>Neospora caninum</i></b> .....	55
4.1.5	<b>Preparo de Lâminas para Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)</b> .....	55
4.1.6	<b>Reação de Imunofluorescência Indireta – <i>Toxoplasma gondii</i></b> .....	56
4.1.7.	<b>Reação de Imunofluorescência Indireta – <i>Neospora caninum</i></b> .....	57
4.1.8	<b>Análises Estatísticas</b> .....	58
4.2	<b>EXPERIMENTO 2</b> .....	58
4.2.1	<b>Colheita de Órgãos</b> .....	59
4.2.2	<b>Extração de DNA</b> .....	59
4.2.3	<b>PCR-RFLP</b> .....	60
5	<b>RESULTADOS</b> .....	62
5.1	<b>EXPERIMENTO 1</b> .....	62
5.1.1	<b>Questionário Epidemiológico</b> .....	62
5.1.2	<b>Reação de Imunofluorescência Indireta – <i>Toxoplasma gondii</i></b> .....	70
5.1.3	<b>Reação de Imunofluorescência Indireta – <i>Neospora caninum</i></b> .....	75
5.1.4	<b>Fatores de Risco</b> .....	81
5.2	<b>EXPERIMENTO 2</b> .....	83
5.2.1	<b>RIFI</b> .....	83
5.2.2	<b>PCR-RFLP</b> .....	83
6	<b>DISCUSSÃO</b> .....	84
7	<b>CONCLUSÕES</b> .....	89
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	90
	<b>APÊNDICE</b> .....	104

## 1 INTRODUÇÃO

O efetivo do rebanho ovino no Brasil em 2003 era de 14,5 milhões de cabeças (IBGE, 2005). Nos anos 90 o país chegou a ter 20 milhões de cabeças, mas, devido a uma retração do mercado de lã, houve uma queda no tamanho do rebanho e, atualmente, a ovinocultura está em expansão, mas voltada agora para a produção de corte (ZAFALON, 2005). A região Centro-Oeste responde por 5,5% do rebanho nacional, ficando atrás das tradicionais regiões produtoras de ovinos do país, as regiões Nordeste, que possui 56,56% do rebanho, e a região Sul, com 31,75% (IBGE, 2005). O rebanho do Distrito Federal, entretanto, está em franco crescimento, passando de 6573 cabeças em 1998 para 15020 em 2003, segundo o IBGE (2005).

O consumo de carne ovina no Brasil, que hoje é de 700 gramas per capita por ano, vem aumentando, mas ainda está abaixo de países desenvolvidos (GECOMP-UnB, 2004). Apesar disso, a oferta de carne nacional não consegue atender à demanda. Estima-se que 50 a 90% da carne ovina consumida nos grandes centros seja importada (ZAFALON, 2005). Em 2003, o Brasil importou 3,135 toneladas de carne ovina (FAO, 2005).

Apesar do potencial de crescimento, no DF a produção local ainda não atende à demanda, evidenciada pelo fato de os frigoríficos abaterem animais de outras regiões. A maior parte da carne produzida no DF é destinada ao mercado informal, sendo que grande parte dos animais é abatido clandestinamente para atender a feiras e consumidores diretamente. Os frigoríficos atendem a consumidores diretos, feiras e restaurantes (GECOMP-UnB, 2004).

O *Toxoplasma gondii* é um parasita intracelular obrigatório (DUBEY, 1994) classificado no filo Apicomplexa, família Sarcocystidae e subfamília

Toxoplasmatinae, que agrupa os gêneros *Toxoplasma*, *Neospora*, *Hammondia* e *Besnoitia* (MUGRIDGE et al., 1999). É um dos parasitas que possui maior variedade de hospedeiros e, devido à sua importância médica e veterinária, também é um dos mais estudados (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Segundo estes mesmos autores, existem mais de 15000 artigos originais e mais de 500 revisões sobre o assunto.

A toxoplasmose é uma causa importante de abortamentos e outras falhas reprodutivas em ovinos e caprinos (ANDERSON; BARR; CONRAD, 1994). Os problemas reprodutivos e a infecção transplacentária geralmente ocorrem apenas quando a primoinfecção da ovelha acontece durante a prenhez, sendo que a imunidade é duradoura e abortos repetidos são raros (BEVERLEY; WATSON, 1971). A ingestão de carne ovina crua ou mal cozida é uma importante via de infecção para humanos (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

O *Neospora caninum* foi descrito nos anos 80 (DUBEY et al., 1988a) e, desde então, tem sido admitido como um importante causador de problemas reprodutivos em bovinos e desordens neuromusculares em cães (DUBEY, 1999).

A apresentação clínica da neosporose em ovinos é semelhante à da toxoplasmose (BUXTON et al., 1997), porém, ao contrário da última, pode levar a abortamentos repetidos, mostrando que a imunidade após uma primoinfecção não parece ser efetiva (JOLLEY et al., 1999). Em vacas a transmissão vertical é considerada muito importante, e em algumas propriedades é responsabilizada pela manutenção da infecção no rebanho por muitas gerações (PARÉ; THURMOND; HIETALA, 1996). O peso da neosporose para a ovinocultura comparado com a toxoplasmose ainda é incerto, já que relatos de problemas reprodutivos causados por infecções naturais por *N. caninum* são escassos e, ao mesmo tempo, o volume

de trabalhos em geral sobre este parasito em ovinos é pequeno.

Na esteira do crescimento da ovinocultura no DF, são necessários estudos sobre as enfermidades infecciosas e parasitárias que podem afetar o rebanho, particularmente a toxoplasmose, que possui grande importância do ponto de vista econômico e de saúde pública. Assim, o presente levantamento sorológico foi realizado devido à ausência de informações sobre a prevalência das infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em propriedades produtoras de ovinos da região.

## 2 OBJETIVOS

- estimar, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em matrizes e reprodutores de rebanhos comerciais de ovinos do Distrito Federal (Experimento 1)
- determinar o genótipo de *Toxoplasma gondii* por meio de reação em cadeia pela polimerase seguida de análise do polimorfismo de fragmentos gerados por enzimas de restrição (PCR-RFLP) em amostras de cérebro de ovinos de uma das propriedades da região (Experimento 2)

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 TOXOPLASMA GONDII

O *Toxoplasma gondii* foi descrito pela primeira vez em 1908 por Nicolle e Manceaux, que observaram o parasito num roedor africano, o gondi (*Ctenodactylus gondi*). A princípio, os autores o nomearam *Leishmania gondii*. Ao mesmo tempo, Splendore (1908), no Brasil, descreveu o parasito em coelhos. Em 1909, Nicolle e Manceaux renomearam o parasita para *Toxoplasma gondii* (nome derivado da junção dos termos *toxon*, vocábulo grego para aludir ao formato de arco do parasito e *plasma*, vocábulo que significa forma).

Nos anos 60, formas do parasito foram encontradas em fezes de gatos (HUTCHISON, 1965) e, em 1970, o ciclo biológico foi fechado, quando Frenkel, Dubey e Miller (1970) identificaram os estágios sexuais do *T. gondii* no intestino delgado de gatos e os oocistos nas fezes, confirmando o gato como hospedeiro definitivo.

O agente foi relacionado com abortamentos ovinos pela primeira vez em 1954 na Nova Zelândia (HARTLEY; JEBSON; MCFARLANE, 1954).

##### 3.1.1 Ciclo Biológico

O *T. gondii* é um protozoário intracelular obrigatório (MONTOYA; LIESENFELD, 2004), capaz de infectar e se replicar dentro de praticamente qualquer célula nucleada mamífera ou aviária (BLACK; BOOTHROYD, 2000). Seu ciclo de vida é heteroxeno facultativo (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000),

sendo que o gato e outras espécies selvagens da família Felidae são os únicos hospedeiros definitivos e, portanto, as únicas espécies nas quais ocorre o ciclo sexuado e eliminação de oocistos nas fezes. Várias espécies de mamíferos e aves comportam-se como hospedeiros intermediários, inclusive os próprios felídeos, já que a reprodução assexuada em tecidos extraintestinais também pode ocorrer nesses animais (ANDERSON; BARR; CONRAD, 1994; DUBEY, 1994; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

São três os estágios unicelulares infectantes do parasito: os taquizoítos, os bradizoítos contidos em cistos teciduais e os esporozoítos contidos em oocistos. As duas primeiras são formas assexuadas, presentes em vários tecidos do hospedeiro intermediário e definitivo, enquanto a última é a forma sexuada presente apenas no intestino do hospedeiro definitivo (BLACK; BOOTHROYD, 2000; DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Os taquizoítos têm formato de arco ou ovalado e medem de 2 a 4 por 4 a 8  $\mu\text{m}$  (MONTROYA; LIESENFELD, 2004). Os taquizoítos entram em qualquer célula do hospedeiro intermediário e células não intestinais do hospedeiro definitivo por penetração ativa ou fagocitose e se multiplicam rapidamente por endodiogenia dentro de um vacúolo parasitóforo. A célula hospedeira se rompe quando não suporta mais o crescimento dos taquizoítos, que então invadem células vizinhas (BLACK; BOOTHROYD, 2000; DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; SPEER et al., 1999). Eles são encontrados durante a fase aguda da doença (BLACK; BOOTHROYD, 2000), sendo responsáveis pelas manifestações clínicas e reações inflamatórias (ANDERSON; BARR; CONRAD, 1994). Sob estímulo da resposta imune do hospedeiro, diferenciam-se em bradizoítos (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

Os bradizoítos têm aproximadamente 7 por 1,5  $\mu\text{m}$  e são formas de divisão lenta, localizadas dentro de cistos tissulares. Os cistos jovens são pequenos e aumentam de tamanho conforme os bradizoítos vão se multiplicando em seu interior, podendo abrigar centenas de organismos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Os cistos desenvolvem-se dentro do citoplasma das células do sistema nervoso e muscular principalmente, mas podem ser encontrados também em órgãos viscerais. Cistos intactos não provocam reação inflamatória e podem persistir por meses ou talvez por toda a vida do hospedeiro (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998), constituindo o estágio crônico da infecção (BLACK; BOOTHROYD, 2000).

Os oocistos medem cerca de 10 por 12  $\mu\text{m}$  e cada esporozoíto, cerca de 2 a 6 por 8  $\mu\text{m}$  (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Os esporozoítos contidos dentro de oocistos são formas exclusivas do hospedeiro definitivo. Podem ser eliminados nas fezes dos gatos após estes ingerirem qualquer um dos três estágios infectantes, porém a excreção ocorre numa frequência maior de animais e em um número maior de organismos após ingestão de cistos tissulares (DUBEY, 1994; DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Além disso, o período pré-patente (3 a 10 dias) de infecções adquiridas por cistos é mais curto quando comparado ao período pré-patente de infecções derivadas de ingestão das outras formas biológicas (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Durante o período de eliminação, a quantidade de oocistos pode exceder 10 bilhões de unidades (DUBEY; FRENKEL, 1972).

Após a ingestão do cisto tecidual, os bradizoítos liberados no intestino do felino se diferenciam em outras formas, formando várias gerações do parasito, que por fim se multiplicam por esquizogonia nas células enteroepiteliais e em seqüência dão origem aos merozoítos, os quais provavelmente diferenciam-se para a produção

dos gametas masculinos (microgametas) e femininos (macrogametas), iniciando a fase sexuada da reprodução e originando o oocisto (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

Os oocistos esporulam no ambiente após um a cinco dias da excreção. Cada oocisto contém dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Os oocistos sobrevivem no ambiente por até 18 meses e têm elevada resistência aos desinfetantes (DUBEY, 1994).

Os gatos eliminam oocistos por um período de apenas 7 a 20 dias (DUBEY; FRENKEL, 1972). Não se sabe se a eliminação repetida ocorre naturalmente (HILL; DUBEY, 2002). Em condições experimentais, gatos re-infectados após seis anos da primeira infecção voltaram a excretar oocistos, assim como gatos co-infectados por *Isoospora felis* (DUBEY, 1995; DUBEY; BEATTIE, 1988). Filhotes de gatos infectados congenitamente podem eliminar oocistos após o nascimento (DUBEY, 1994).

Beverley et al. (1975) sugeriram que oocistos esporulados ingeridos por ovinos possam passar pelo trato digestório intactos e saírem nas fezes ainda infectantes, sendo que estes animais neste caso funcionariam como transportadores mecânicos de oocistos. Invertebrados como insetos e minhocas também podem transportar mecanicamente os oocistos, contribuindo para a disseminação do agente (HILL; DUBEY, 2002).

Os três meios de transmissão principais são: transplacentária, ingestão de cistos teciduais contidos em tecidos de animais crus ou mal cozidos e ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos (DUBEY, 1994). Hospedeiros intermediários geralmente se infectam pelas duas últimas formas. No caso da ingestão de oocistos, os esporozoítos liberados no intestino se diferenciam em taquizoítos, que se disseminam pelo sangue e linfa e depois se diferenciam em

bradizoítos, formando cistos nos tecidos. Ingerindo bradizoítos, estes se diferenciam em taquizoítos e novamente em bradizoítos para encistarem-se em tecidos viscerais (DUBEY, 1994). A infecção transplacentária ocorre quando o animal se infecta pela primeira vez durante a prenhez (DUBEY, 1994).

Outras formas de transmissão menos comuns são o transplante de órgãos e a transfusão sanguínea (DUBEY, 1994). Em humanos, o meio mais freqüente de transmissão é horizontal, e, provavelmente, a importância do oocisto ou do cisto tecidual para a transmissão deve variar de acordo com a região, o grupo étnico e os hábitos alimentares de cada população. A água parece ter um papel mais importante do que anteriormente imaginado, já que surtos relacionados a fontes de água contaminada têm sido relatados, além da presença da infecção em mamíferos marinhos (DUBEY, 2004; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). O *T. gondii* tem sido encontrado no leite de algumas espécies de animais, porém apenas o consumo de leite de cabra cru já foi associado à infecção em humanos (CHIARI; NEVES, 1984; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Acredita-se que os ovinos e caprinos infectam-se principalmente pela ingestão de oocistos na água ou alimento (HILL; DUBEY, 2002), embora Duncanson et al. (2001) tenham observado alta taxa de transmissão congênita (61%) em um rebanho ovino por meio da detecção do DNA do parasito em placentas e tecidos fetais. Em raras circunstâncias, podem infectar-se ingerindo restos placentários ou de abortos ou leite cru, mas estas vias não são consideradas importantes (HILL; DUBEY, 2002).

Os mecanismos de recrudescência da infecção não são conhecidos. Acredita-se que mesmo em animais infectados cronicamente alguns cistos se rompem e liberam bradizoítos. Se o hospedeiro for imunocompetente, conseguiria destruí-los,

mas se for imunossuprimido, estes bradizoítos se diferenciariam em taquizoítos, que reativariam a infecção (BLACK; BOOTHROYD, 2000; DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

### 3.1.2 Epidemiologia

O parasita tem distribuição mundial em animais e humanos. A infecção é virtualmente ausente apenas em ilhas e atóis que nunca foram habitados por gatos (HILL; DUBEY, 2002; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

As prevalências da infecção por *T. gondii* em ovinos variam conforme a região e o teste sorológico utilizado. Blewett (1983) compilou 33 trabalhos em ovinos e encontrou um valor médio de 30%. Tenter, Heckeroth e Weiss (2000) revisaram levantamentos sorológicos em ovinos de vários países de 1990 a 2000 e observaram frequências variando de 0 a 92%.

Os quadros 1 e 2 mostram alguns trabalhos que relatam frequências de anticorpos anti-*T. gondii* em ovinos no mundo e no Brasil, respectivamente.

Referência	Local	Número de testados	Frequência de positivos	Teste sorológico	Ponto de corte
Sawadogo et al., 2005	Marrakech, Marrocos	261	27,6%	ELISA-IgG	
Masala et al., 2003	Sardenha, Itália	7194	28,4% 9%	RIFI-IgG RIFI-IgM	1:400 1:40
Van der Puije et al., 2000	Gana	732	33,2%	ELISA	
Gorman et al., 1999	Chile	408	12% 28%	HAI RIFI-IgG	1:16 1:16
Freyre et al., 1999	Uruguai	1613	38,5%	DAT	1:64
Skjerve et al., 1998	Noruega	1940	16,2%	ELISA	
Hashemi-Fesharki et al., 1996	Irã	2209 1102	24,3% 24,6%	LAT HAI	1:8 1:64
Marca et al., 1996	Zaragoza, Espanha	2306	33,72% 35,27%	RIFI-IgG MAT	1:80 1:80
Zaki, 1995	Paquistão	40	2,5%	LAT	1:64
Samad, Rahman e Halder, 1993	Bangladesh	17	17,65%	LAT	1:64
Malik, Dreesen e De la Cruz, 1990	Nordeste dos EUA	654	58,56%	ELISA	
O'Donoghue, Riley e Clarke, 1987	Sul da Austrália	1159	7,4% 9,2% 25,2%	HAI ELISA-IgG ELISA-IgM	1:64 1:64 1:64
Ghorbani et al., 1983	Irã	393	22,9%	LAT	1:2
Plant, Freeman e Saunders, 1982	Nova Gales do Sul, Austrália	5724	9%	RIFI-IgG	1:64

ELISA: ensaio imunoenzimático  
RIFI: reação de imunofluorescência indireta  
HAI: hemaglutinação indireta  
DAT: teste de aglutinação direta  
LAT: teste de aglutinação em látex  
MAT: teste de aglutinação modificado

Quadro 1 – Frequências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos, segundo o País e teste sorológico empregado

Referência	Local	Número de testados	Frequência de positivos	Teste sorológico	Ponto de corte
Cavalcante et al., 2004	Monte Negro, Rondônia	141	46,8%	RIFI-IgG	1:64
Figliuolo et al., 2004	São Paulo	597	34,7%	RIFI-IgG	1:64
Silva et al., 2003	Pernambuco	173	35,3%	RIFI-IgG	1:16
Romanelli, 2002	Guarapuava, Paraná	305	51,47%	RIFI-IgG	1:64
Gondim et al., 1999a	Bahia	240	18,75%	LAT	1:64
Larsson et al., 1980	Uruguaiana, Rio Grande do Sul	100	39%	RSF	1:16

RIFI: reação de imunofluorescência indireta  
 LAT: teste de aglutinação em látex  
 RSF: reação de Sabin-Feldman

Quadro 2 - Frequências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos no Brasil, segundo o Estado e teste sorológico empregado

Estudos têm sido feitos na tentativa de associar certas características do animal, rebanho ou ambiente à infecção toxoplásmica.

Dubey et al. (1986) nos EUA, Gorman et al., (1999) no Chile e Van der Puije et al. (2000) em Gana, observaram aumento na prevalência conforme a idade de ovinos, contrariando os resultados de O'Donoghue, Riley e Clarke (1987) e Huffman et al. (1981) que não encontraram diferença significativa entre as idades de ovinos no sul da Austrália e EUA, respectivamente.

Machos tiveram maior prevalência em relação às fêmeas em trabalho no Pernambuco (SILVA et al., 2003), enquanto Van der Puije et al. (2000) observaram maior frequência entre fêmeas em Gana e Samad, Rahman e Halder (1993), no Bangladesh, e Gorman et al. (1999), no Chile, não observaram diferenças entre os

sexos.

Regiões mais úmidas parecem contribuir com uma maior prevalência da infecção. Gondim et al. (1999a) verificaram, na Bahia, maior prevalência de ovinos na região do Recôncavo (região litorânea e úmida) em relação à Caatinga (seca), assim como Silva (2003) encontraram maior soroprevalência em caprinos da Zona da Mata (região mais úmida) em relação ao Agreste (região seca) de Pernambuco. Resultado semelhante foi observado em Gana (VAN DER PUIJE et al., 2000).

Na Austrália, houve diferenças na frequência de soros ovinos positivos entre as regiões estudadas, mas os autores sugerem que o manejo intensivo aliado a uma maior lotação característicos de algumas regiões possam contribuir mais com o aumento da prevalência do que as diferenças climáticas entre as regiões (PLANT; FREEMAN; SAUNDERS, 1982).

Trabalhos demonstram que o confinamento de ovinos e caprinos tem associação com infecção (HARTLEY; MOYLE, 1968; SAVIO; NIETO, 1995; SILVA et al., 2003). Van der Puije et al. (2000), entretanto, verificaram que ovinos sob manejo extensivo tinham prevalência significativamente maior em Gana.

Em Pernambuco, problemas reprodutivos não estavam associados à prevalência da infecção (SILVA et al., 2003), mas Plant, Freeman e Saunders (1982) observaram maior prevalência em propriedades de ovinos com histórico de abortos em relação às demais. Em uma propriedade dos EUA, a mortalidade neonatal foi significativamente maior entre as ovelhas soropositivas (30,7%) quando comparada com as ovelhas soronegativas (13,6%). Além disso, neonatos de ovelhas soropositivas tinham menor sobrevivência em relação aos filhotes das soronegativas, e as ovelhas com título maior ou igual a 128 na HAI tiveram maior perda de cordeiros que aquelas com título menor ou igual a 64 (HUFFMAN et al., 1981). Savio e Nieto

(1995) observaram uma taxa de natalidade maior entre ovelhas que não soroconverteram durante a prenhez em relação às que soroconverteram.

### 3.1.3 Toxoplasmose em ovinos

A infecção pelo protozoário em ovinos geralmente é inaparente e, em animais adultos, costuma se restringir à esfera reprodutiva, não provocando mortalidade (BLEWETT; WATSON, 1983; DUBEY, 1990). Além dos problemas reprodutivos, outro sinal clínico parece ser hipertermia logo após a infecção (BUXTON; FINLAYSON, 1986). Eventualmente, pode haver uma forma neurológica da toxoplasmose, com paralisia progressiva dos membros, febre e leucocitose (MCEARLEAN, 1974). Em condições experimentais, ovinos também podem apresentar letargia, diarreia ou sintomas respiratórios (ANDERSON; BARR; CONRAD, 1994).

O primeiro relato de abortamento em ovinos provocado pela toxoplasmose ocorreu em 1954, numa descrição de surto de abortamentos e natimortalidade em propriedades da Nova Zelândia (HARTLEY; JEBSON; MCFARLANE, 1954). Desde então, o *T. gondii* tem sido reconhecido como importante agente abortivo em ovinos na Nova Zelândia, Austrália, Noruega, Reino Unido, Estados Unidos da América (EUA) e Uruguai (DUBEY et al., 1986; FREYRE et al., 1999). Revisando estudos de vários países que determinaram as causas de mortalidade perinatal e abortamentos em rebanhos ovinos, Blewett e Watson (1984) encontraram prevalências de rebanhos cujo diagnóstico foi toxoplasmose variando entre 0,6% a 27% das propriedades pesquisadas. No centro norte dos Estados Unidos, a toxoplasmose foi a principal doença associada a abortamentos e morte perinatal, com 17,5% dos

casos, seguida por campilobacteriose com 9,9% e clamidiose com 4,7% (DUBEY; KIRKBRIDE, 1990). Já no Oregon, EUA, a toxoplasmose foi diagnosticada como terceira causa infecciosa/parasitária de abortamento e mortalidade perinatal em ovinos, com 12,6% dos diagnósticos, atrás de campilobacteriose, com 15,2% e clamidiose, com 12,8% (DUBEY et al., 1990b).

Os abortamentos podem ocorrer de forma esporádica ou epidêmica dentro de uma propriedade, dependendo do nível de exposição do rebanho e da presença de animais imunes ou não (ANDERSON; BARR; CONRAD, 1994).

Os problemas reprodutivos geralmente acontecem quando a ovelha infecta-se pela primeira vez durante a prenhez. Ovelhas infectadas antes da prenhez não apresentam falhas reprodutivas (BEVERLEY; WATSON, 1971). Blewett, Miller e Buxton (1982) confirmaram que uma única infecção pode conferir imunidade duradoura: ovelhas não imunes (não infectadas), quando inoculadas durante a prenhez tiveram 22% de perdas fetais, enquanto ovelhas previamente infectadas dois anos antes não abortaram, mantiveram títulos altos na HAI durante esses dois anos e pariram filhotes saudáveis e não infectados. A explicação provável é a de que a infecção crônica previne novas parasitemias e impede que o agente alcance o feto (BUXTON; FINLAYSON, 1986). Essa imunidade também faz com que as ovelhas raramente abortem por toxoplasmose repetidamente, mesmo que sejam re-infectadas durante uma nova gestação, sendo que a maioria delas gera produtos livres de infecção (BUXTON; FINLAYSON, 1986; WATSON; BEVERLEY, 1971).

O efeito da infecção transplacentária depende do estágio da gestação em que ocorre a infecção. Se esta ocorrer antes dos 50 dias de gestação, o resultado é a morte embrionária precoce e reabsorção. Se ocorrer entre 50 e 90 dias pode levar à morte fetal seguida de abortamento ou mumificação, natimortalidade ou morte

neonatal. Se ocorrer no último mês da gestação o cordeiro pode nascer vivo com infecção inaparente ou nascer livre de infecção (BLEWETT; WATSON, 1983). Inoculação experimental em ovelhas na metade da gestação provocou 50% de morte fetal, enquanto todas as ovelhas inoculadas no último mês de gestação deram à luz filhotes vivos (WATSON; BEVERLEY, 1971).

A distocia geralmente não está associada à toxoplasmose (DUBEY et al., 1986).

O organismo circula primeiro no sangue da ovelha, depois chega ao septo caruncular, onde se multiplica, provocando necrose focal e finalmente invade o trofoblasto e se dissemina no feto. Após 20 a 30 dias ocorre uma resposta celular fetal. O sistema imune fetal não precisa estar totalmente maduro para responder ao *T.gondi*, o que explicaria em parte a sobrevivência do feto quando a infecção ocorre no final da gestação (BUXTON; FINLAYSON, 1986).

Soro e líquidos cavitários fetais podem ser utilizados para o diagnóstico de aborto por toxoplasmose, pois os anticorpos da mãe não atravessam a placenta. A ausência de anticorpos, entretanto, não exclui o diagnóstico de toxoplasmose, uma vez que o desenvolvimento de anticorpos depende da idade do feto e do tempo decorrente entre a infecção e o exame (DUBEY et al., 1986; DUBEY et al., 1990b). A soropositividade da mãe, por sua vez, não confirma o diagnóstico porque a prevalência entre os ovinos é grande e títulos altos na ovelha podem permanecer até a próxima gestação (DUBEY; KIRKBRIDE, 1984). Se anticorpos maternos não forem detectados há pequena chance da toxoplasmose ter provocado o abortamento, pois o título costuma aumentar antes do abortamento (DUBEY, 1990).

Macroscopicamente, a placenta infectada apresenta pequenos nódulos esbranquiçados nos cotilédones que podem chegar a dois milímetros de diâmetro, e

que correspondem, na microscopia, a áreas de inflamação focal que progridem para necrose com material caseoso e calcificação (BEVERLEY; WATSON; PAYNE, 1971; BUXTON; FINLAYSON, 1986; DUBEY et al., 1986; DUBEY et al., 1990b; DUBEY; KIRKBRIDE, 1984; DUBEY; SCHMITZ, 1981; HARTLEY; JEBSON; MCFARLANE, 1954).

Os fetos não apresentam lesões macroscópicas patognomônicas de toxoplasmose (BEVERLEY; WATSON; SPENCE, 1971; HARTLEY; JEBSON; MCFARLANE, 1954). O órgão mais frequentemente atingido no feto é o cérebro, que apresenta encefalite não supurativa com necrose e infiltração de células mononucleares ao exame histopatológico. Outros órgãos, como pulmão, fígado, coração e rins também podem apresentar inflamação e necrose. Pontos brancos podem ser vistos a olho nu em pulmão e fígado (BEVERLEY; WATSON; SPENCE, 1971; BUXTON; FINLAYSON, 1986; DUBEY et al., 1986; DUBEY et al., 1990b; DUBEY; KIRKBRIDE, 1984; DUBEY; SCHMITZ, 1981).

As lesões placentárias são muito mais comuns e severas que as lesões fetais (BEVERLEY; WATSON; PAYNE, 1971).

O diagnóstico histopatológico da enfermidade depende mais do encontro das lesões placentárias do que do encontro do parasita, que dificilmente é observado e muitas vezes pode estar em meio a áreas de necrose, dificultando a identificação (BEVERLEY; WATSON; PAYNE, 1971).

Em algumas propriedades, os abortos ocorrem apenas em ovelhas recentemente introduzidas. Isso pode acontecer se a toxoplasmose for endêmica na propriedade e ovelhas não imunes introduzidas forem colocadas imediatamente em reprodução, não havendo tempo para se infectarem antes da prenhez. Assim, alguns autores sugerem que essas ovelhas sejam introduzidas algum tempo antes

da reprodução para que se infectem e adquiram imunidade (BEVERLEY; WATSON, 1971).

Em machos adultos o único sinal clínico observado em infecção experimental foi febre; não houve alteração na qualidade do sêmen (TEALE et al., 1982). Apesar dos carneiros eliminarem *T. gondii* no sêmen, a transmissão venérea provavelmente não é importante porque a eliminação ocorre durante um curto período de tempo (TEALE et al., 1982).

Há evidências de que a infecção toxoplásmica possa interferir na imunidade contra outros patógenos: ovinos infectados com *T. gondii* tiveram uma resposta de anticorpos contra clamidiose mais pobre após vacinação contra essa enfermidade do que os ovinos não infectados por *T. gondii* (BUXTON et al., 1981).

#### **3.1.4 Perdas Econômicas**

São raros os trabalhos que mensuram as perdas provocadas pela toxoplasmose em ovinos. No Uruguai, estima-se que de 1,4 a 3,9% das gestações sejam perdidas devido à enfermidade, o que significaria US\$1,4 milhão a US\$4,68 milhões por ano, ou US\$10 a US\$12 por cordeiro (FREYRE et al., 1999).

#### **3.1.5 Toxoplasmose em Humanos**

Aproximadamente um terço da humanidade foi exposta ao parasita (HILL; DUBEY, 2002). As prevalências variam de 0 a 100%, conforme a região e o grupo étnico estudado (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

A maioria das infecções humanas é assintomática. A doença manifesta-se

principalmente em crianças infectadas congenitamente e em indivíduos imunocomprometidos (BLACK; BOOTHROYD, 2000).

Em 10% das crianças infectadas congenitamente a toxoplasmose pode levar à clássica tétrade de sinais (retinocoroidite, hidrocefalia, calcificação intracerebral e distúrbios psicomotores). Estima-se que um terço das crianças infectadas congenitamente desenvolvam problemas oculares em alguma época da vida (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Em imunossuprimidos a enfermidade é importante em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e pacientes transplantados submetidos à terapia imunossupressora (HILL; DUBEY, 2002). A toxoplasmose pode provocar encefalite em até 40% dos pacientes com AIDS. Além disso, estima-se que de 10 a 30% dos pacientes com AIDS morram por toxoplasmose (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

No entanto, mesmo em pacientes sem comprometimento imunológico, a toxoplasmose vem sendo associada a linfadenopatia, febre, fraqueza, debilidade, oftalmite, infecções multisistêmicas e, recentemente, à esquizofrenia e outras desordens psiquiátricas (MCALLISTER, 2005).

Em 1997, foi relatado surto de toxoplasmose aguda em humanos, causado por ingestão de carne ovina crua, na cidade de Bandeirantes, Paraná, atingindo 17 pessoas (BONAMETTI et al., 1997).

### **3.1.6 Prevenção e Controle**

O controle e a prevenção passam por medidas que visam evitar ou minimizar a contaminação da água e alimentos pelos gatos, como controle da população de

gatos na propriedade, manutenção desses animais fora da área de criação dos ovinos e o correto armazenamento de grãos e feno (BLEWETT; TREES, 1987; BUXTON, 1998; DUBEY, 1994).

Outras medidas incluem a remoção imediata seguida de incineração ou enterro de abortos e membranas fetais e exposição de animais introduzidos na propriedade ao ambiente contaminado antes da cobertura (BEVERLEY; WATSON, 1971; BUXTON, 1998; DUBEY, 1994).

Uma vacina para ovinos está comercialmente disponível na Nova Zelândia e Europa (Toxovax, Intervet®). Feita a partir de taquizoítos atenuados da amostra S48, ela diminui as perdas fetais de ovelhas em reprodução, porém não impede a infecção do feto, sendo uma vantagem o fato de o parasita não persistir no tecido da ovelha vacinada (BUXTON, 1998; DUBEY, 1996).

### 3.2 NEOSPORA CANINUM

Em 1984, foi descrita uma enfermidade que provocava encefalomielite e miosite em filhotes de cães de uma mesma ninhada na Noruega (BJERKÅS et al., 1984). O quadro dos animais evoluiu para paresia após alguns meses. À microscopia foram observados parasitos livres no cérebro e músculos e parasitos encistados no cérebro que lembravam *Toxoplasma gondii*, porém o teste sorológico e o bioensaio em camundongos resultaram negativos para este agente.

Em um estudo retrospectivo feito em 1988 com 23 casos de cães dos EUA anteriormente diagnosticados como toxoplasmose, oito casos foram confirmados como toxoplasmose por imunoperoxidase, enquanto em outros 10 casos foram observados parasitos que à microscopia eletrônica eram estruturalmente diferentes de *T. gondii* e não eram reagentes à imunoperoxidase. Este parasito foi então denominado *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988a). No mesmo ano Dubey et al. (1988b) isolaram *Neospora caninum* em cultivo celular, camundongos e cães, a partir de um combinado de tecidos de cães dos EUA. Este isolado foi denominado NC-1, a partir do qual foi desenvolvido um teste de imunofluorescência indireta.

Bjerkås e Dubey (1991) confirmaram, por meio de imunoistoquímica específica para *Neospora caninum* e para outros coccídios, que os parasitos encontrados nos cães da Noruega em 1984 eram *Neospora caninum*.

Em 1998, o cão foi definido como hospedeiro definitivo (MCALLISTER et al., 1998) e, em 2004, o coiole (*Canis latrans*) também foi reconhecido como tal (GONDIM et al., 2004).

No Brasil o primeiro trabalho relacionado ao agente foi um inquérito sorológico feito em 1996 em bovinos do Mato Grosso do Sul e São Paulo, quando foi

encontrada uma ocorrência de 12,22% (BRAUTIGAM et al., 1996).

A primeira detecção do parasita no país foi feita por Gondim et al. (1999b), por meio de imunistoquímica, em um feto bovino abortado.

Posteriormente, em 2001, Gondim et al. obtiveram o primeiro isolado de *N. caninum* do Brasil, denominado NC-Bahia, a partir do cérebro de um cão da Bahia com sintomatologia nervosa.

Marsh et al. (1998) compararam um isolado de tecido nervoso de um eqüino da Califórnia, denominado NE1 (MARSH et al., 1996), com amostras isoladas de cão e bovino e observaram diferenças ultraestruturais, em proteínas imunorreativas e em 7 nucleotídeos analisando-se a região ITS1. Sugeriram, então, que a amostra eqüina tratava-se de uma nova espécie, denominada *Neospora hughesi*.

### 3.2.1 Ciclo Biológico

Há três formas infectantes do parasito: taquizoítos, bradizoítos contidos em cistos teciduais e esporozoítos contidos em oocistos (DUBEY, 2003). O hospedeiro pode infectar-se pela ingestão de oocistos ou de cistos teciduais, ou pela via transplacentária (DUBEY, 2003; DUBEY et al., 2002a).

O ciclo biológico do parasito foi elucidado em 1998, quando foi demonstrada a eliminação de oocistos nas fezes por cães que ingeriram cistos contidos em cérebro de camundongo infectado, concluindo-se que o cão era um hospedeiro definitivo (MCALLISTER et al., 1998). Em outro experimento, Lindsay, Dubey e Duncan (1999) observaram excreção de oocistos por cães cinco dias após a ingestão de cistos teciduais, durante seis dias consecutivos. Neste estudo, os oocistos esporularam no ambiente após 24 horas e um dos cães eliminou oocistos, embora não tenha sido

verificada conversão sorológica. Basso et al. (2001) confirmaram a condição do cão como hospedeiro definitivo ao observarem a eliminação de oocistos por cão naturalmente infectado. Mais recentemente foi observado que o coiote (*Canis latrans*) também pode eliminar oocistos nas fezes e representar um hospedeiro definitivo (GONDIM et al., 2004).

O oocisto esporulado apresenta dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (DUBEY et al., 2002a) e, à microscopia óptica, são muito semelhantes aos de *Hammondia heydorni* em fezes de cães e de *Toxoplasma gondii* e *Hammondia hammondi* em fezes de gatos (LINDSAY; UPTON; DUBEY, 1999). A quantidade de oocistos eliminada pelos cães nas fezes é pequena em comparação à quantidade eliminada de oocistos de *T. gondii* pelos gatos (DUBEY et al., 2002), mas Gondim, Mcallister e Gao (2005) observaram que filhotes eliminam uma quantidade maior que cães adultos. Neste mesmo estudo, foi verificada re-excreção espontânea de oocistos por cães dois meses após a primeira inoculação, e ainda após um segundo desafio 18 a 20 meses depois do primeiro desafio. Em contrapartida, cães re-inoculados após oito meses não eliminaram oocistos, sugerindo a existência de uma possível imunidade durante esse período.

O ciclo sexuado ocorre apenas no hospedeiro definitivo, mas os estágios entero-epiteliais no cão ou coiote ainda não foram demonstrados (DUBEY et al., 2002a). O cão pode comportar-se como hospedeiro definitivo ou intermediário (DUBEY et al., 2002a).

No hospedeiro intermediário ocorrem os estágios assexuados: os taquizoítos e bradizoítos (WOUDA, 2000).

Há relatos de infecções naturais em cães (DUBEY et al., 1988b), bovinos (CONRAD et al., 1993), búfalos (RODRIGUES et al., 2004), ovinos (KOBAYASHI et

al., 2001), caprinos (DUBEY; ACLAND; HAMIR, 1992), eqüinos (LINDSAY et al., 1996), raposas (ALMERIA et al., 2002), veados (DUBEY et al., 1996b), rinoceronte (WILLIAMS et al., 2002), lhama e alpaca (SERRANO-MARTINEZ et al., 2004), ratos (HUANG et al., 2004), e apenas infecções experimentais em gatos (DUBEY; LINDSAY; LIPSCOMB, 1990), suínos (JENSEN et al., 1998), camundongos (LINDSAY; DUBEY, 1990), gerbils (DUBEY; LINDSAY, 2000), coiotes (GONDIM et al., 2004) e macacos (BARR et al., 1994).

Os taquizoítos penetram ativamente na célula do hospedeiro e se dividem rapidamente por endodiogenia, provocando a lise da célula e subsequentemente infectando novas células (INNES et al., 2000). Com a resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos, formas de multiplicação lenta contidas em cistos teciduais (INNES et al., 2000; WOUDA, 2000). Uma queda de imunidade do hospedeiro poderia provocar reativação dos bradizoítos e rompimento do cisto (WOUDA, 2000).

Os taquizoítos podem ter formato ovóide, lunar ou globular, medem de 3 a 7  $\mu\text{m}$  por 1 a 5  $\mu\text{m}$  e localizam-se dentro de um vacúolo parasitóforo no citoplasma da célula hospedeira (DUBEY et al., 2002a; SPEER et al., 1999). Taquizoítos já foram observados em macrófagos, neutrófilos, células do tecido nervoso, hepatócitos, fibroblastos, miócitos, células epiteliais tubulares renais e células endoteliais vasculares (DUBEY; LINDSAY, 1996; SPEER; DUBEY, 1989).

Os cistos teciduais podem ter formato redondo ou ovalado, possuem uma parede de 0,5 a 4  $\mu\text{m}$  de espessura que geralmente apresenta-se mais espessa que a de *T. gondii*, dependendo do tempo de infecção (DUBEY et al., 2002a; SPEER; DUBEY, 1989; SPEER et al., 1999). Essa parede cística encerra os bradizoítos, que medem aproximadamente 8 por 2  $\mu\text{m}$  (DUBEY et al., 2002a) e podem estar em

número de 20 a 100 (SPEER et al., 1999). Os cistos de *N. caninum* são encontrados em baixo número nos tecidos quando comparado aos de *T. gondii* (SPEER et al., 1999). Eles são observados comumente no sistema nervoso (DUBEY et al., 2002a; DUBEY; LINDSAY, 1996), mas já foram encontrados em músculo ocular de potro (LINDSAY et al., 1996) e músculo de bovino e cão (PETERS et al., 2001)

### 3.2.2 Epidemiologia

A distribuição do parasita é mundial, sendo que a infecção já foi relatada nos cinco continentes (DUBEY, 1999).

Na Califórnia, a neosporose foi apontada como a maior causa de abortamentos em bovinos de leite (ANDERSON et al., 1991). Na Inglaterra e País de Gales, foi estimado que 12,5% dos abortamentos bovinos são causados pela neosporose (DAVISON; OTTER; TREES, 1999b).

Dados a respeito da prevalência de infecção na espécie ovina no Brasil e no mundo são escassos.

Helmick et al. (2002) encontraram, pela reação de imunofluorescência indireta (ponto de corte 1:50), três soros positivos (0,45%) num total de 660 soros provenientes de ovelhas da Inglaterra e País de Gales que haviam abortado.

No Brasil Figliuolo et al. (2004) analisaram 597 soros de ovinos do Estado de São Paulo pela RIFI (ponto de corte 1:50) e encontraram uma prevalência de 9,2%.

Um resultado semelhante foi observado por Romanelli (2002), em um inquérito que utilizou 305 soros ovinos do município de Guarapuava, Paraná, e encontrou uma freqüência de 9,51% de positivos pela RIFI ( $\geq 50$ ).

Na Bahia, Otero et al. (2002) observaram uma freqüência de positivos de

7,4% entre 282 ovinos analisados pela RIFI ( $\geq 50$ ).

Aguiar et al. (2004), encontraram uma prevalência maior, de 29%, em 141 soros de ovinos provenientes de Monte Negro, Rondônia, pela RIFI ( $\geq 50$ ).

Em um estudo com 58 animais do município de Ribas do Rio Pardo, Mato Grosso do Sul, os autores encontraram uma frequência de 12% de positivos pelo ELISA (GONÇALVES et al., 2004).

Algumas pesquisas demonstram que a transmissão vertical ocorre numa proporção muito maior que a horizontal em bovinos, e é o principal meio pelo qual a infecção mantém-se no rebanho por muitas gerações (PARÉ; THURMOND; HIETALA, 1996; WOUDA; MOEN; SCHUKKEN, 1998, DAVISON, OTTER; TREES, 1999a). Wouda, Moen e Schukken (1998) observaram que vacas soropositivas filhas de vacas que abortaram por neosporose têm três vezes mais risco de abortar que as vacas soronegativas. Neste estudo, apenas duas vacas soronegativas (teste feito antes da ingestão de colostro) filhas de vacas soropositivas também abortaram, sugerindo que a infecção pós natal também ocorre, mas numa proporção bem menor.

Entretanto, as altas prevalências em alguns rebanhos e a manutenção da infecção na propriedade por tempo prolongado não poderiam ser resultado somente de transmissões verticais (WOUDA et al., 1999). Assim, outros trabalhos demonstram influência de fatores de risco relacionados à transmissão horizontal em bovinos. Paré et al. (1998) encontraram forte associação entre rebanhos de bovinos de leite com casos de neosporose com presença de cães na propriedade, enquanto para outros fatores, como o tipo de manejo, não houve associação. Bartels, Wouda e Schukken (1999) observaram associação entre a presença de cães e de aves domésticas (que poderiam servir como vetores de oocistos eliminados por cães) com

a ocorrência de abortamentos por neosporose em bovinos de leite nos Países Baixos. Já Wouda et al. (1999) encontraram associação da soropositividade em cães de fazendas com a prevalência nos bovinos, sendo que a prevalência em cães de áreas rurais foi maior que a de cães de áreas urbanas, indicando que talvez haja maior risco de exposição nos cães rurais devido ao carnivorismo. Sob condições naturais, não se sabe como os cães infectam-se. Possíveis formas de infecção seriam a ingestão de placentas, fetos ou outros tecidos de bovinos ou predação de pequenos mamíferos ou aves (WOUDA et al., 1999).

O confinamento no inverno também pode aumentar a soroprevalência (SANDERSON; GAY; BASZLER, 2000), apesar de Wouda, Bartels e Moen (1999) terem constatado maior ocorrência de abortamentos no verão.

Não se sabe se os surtos de abortamentos por neosporose ocorrem pela exposição recente aos oocistos ou por uma recrudescência de uma infecção latente provocada por imunossupressão (BARTELS; WOUDA; SCHUKKEN, 1999). A alimentação com silagem de milho durante o verão teve associação com abortamentos causados pela neosporose, e a hipótese sugerida seria a produção de micotoxinas na silagem, que provocariam imunossupressão no animal. Porém, infecções intercorrentes com o vírus da diarreia viral bovina, com o herpesvirus bovino tipo 1, com *Leptospira hardjo* e com *Salmonella dublin* não tiveram associação (BARTELS; WOUDA; SCHUKKEN, 1999).

Foi realizada experimentalmente a infecção de bezerros pela ingestão de colostro acrescido de taquizoítos de *N. caninum*, demonstrando que esta poderia ser uma possível via de transmissão (UGGLA et al., 1998).

### 3.2.3 Neosporose em Ovinos

Há poucos relatos de infecção natural em ovinos; a maior parte dos conhecimentos sobre a neosporose nesta espécie advêm de inoculações experimentais, cujas alterações clínicas e histopatológicas assemelham-se às da toxoplasmose ovina e neosporose bovina (BUXTON et al., 1997; MCALLISTER et al., 1996).

O primeiro relato da enfermidade na espécie foi feito em 1990 (DUBEY et al., 1990a). Estes autores reanalisaram o tecido neurológico de um cordeiro do Reino Unido com suspeita de toxoplasmose que apresentava sinais neurológicos e veio a óbito com uma semana de idade. Ao exame histopatológico do cérebro e medula espinhal, foram observadas encefalomielite não supurativa e redução da massa cinzenta com focos de cavitação, além de cistos semelhantes aos de *T. gondi*, porém o diagnóstico não fora comprovado (HARTLEY; BRIDGE, 1975). A nova análise, feita por microscopia eletrônica e imunoistoquímica, confirmou a presença de cistos de *N. caninum* no cérebro e medula espinhal.

Em outro trabalho, Kobayashi et al. (2001) relataram a presença de cistos teciduais de *N. caninum* no cérebro de uma ovelha prenhe assintomática e no cérebro de seus dois fetos, confirmada por imunoperoxidase e reação em cadeia pela polimerase. Ao exame histopatológico, os cérebros dos fetos mostraram encefalite multifocal. No mesmo ano, no Japão, o parasita foi isolado do cérebro de uma ovelha prenhe assintomática sem histórico de abortamento (KOYAMA et al., 2001).

Até agora não há evidência de que a neosporose seja uma causa importante de abortamentos em ovinos. Num estudo com 281 fetos ovinos abortados na

Inglaterra e País de Gales, nenhum deles mostrou-se infectado por *Neospora caninum* pela imunistoquímica ou sorologia do líquido pleural dos fetos (OTTER et al., 1997). Em 2003 relatou-se pela primeira vez a detecção do agente em abortos ovinos resultantes de infecção natural. O estudo foi feito em uma propriedade da Suíça com histórico de abortamentos, sendo que, de 20 abortos analisados, quatro foram positivos para o agente na PCR e cistos teciduais foram observados no cérebro por imunistoquímica (HÄSSIG et al., 2003).

Apesar da escassez de relatos de infecções naturais associadas a abortos, infecções experimentais têm demonstrado facilmente a ocorrência de transmissão vertical, de abortamentos e outras falhas reprodutivas (BUXTON et al., 1997; BUXTON et al., 1998; JOLLEY et al., 1999; MCALLISTER et al., 1996). Em inoculação experimental de ovelhas prenhes, McAllister et al. (1996) observaram a ocorrência de abortamentos, fetos mumificados, fetos natimortos, nascimento de filhotes fracos e nascimento de filhotes clinicamente saudáveis, mas congenitamente infectados, dependendo do período de gestação em que a fêmea era infectada (todas as ovelhas inoculadas com 65 dias de gestação abortaram, enquanto as que foram inoculadas com 120 dias de gestação deram à luz cordeiros vivos). Neste experimento, as lesões histológicas mais significativas foram encefalite multifocal não supurativa e miosite não supurativa nos fetos, além de placentite necrotizante não supurativa, sendo que os cistos foram encontrados apenas no sistema nervoso central dos fetos e taquizoítos foram encontrados na placenta. As ovelhas infectadas não apresentaram outros sintomas além dos reprodutivos.

Em um outro estudo, ovelhas prenhes inoculadas experimentalmente apresentaram febre e *Neospora caninum*, além de ter sido identificado no sistema nervoso central dos fetos e na placenta, foi detectado também em fígado e coração.

As alterações histológicas no SNC dos fetos foram semelhantes ao estudo anterior, e necrose de placentoma foi a alteração mais significativa encontrada na placenta (BUXTON et al., 1997). Outro experimento de Buxton et al. (1998) demonstrou a ocorrência de morte e reabsorção embrionária, além de outras falhas reprodutivas já citadas, de acordo com a idade gestacional em que a ovelha era infectada.

O protozoário parece ter predileção pelo epitélio coriônico fetal e vasos sanguíneos placentários, induzindo a vasculite, trombose e necrose de placentomas (BUXTON et al., 1998).

Jolley et al. (1999) verificaram que as ovelhas podem abortar repetidamente por neosporose após uma infecção inicial que se torna crônica, mas parece haver um certo grau de imunidade contra novos abortamentos ou transmissão transplacentária (BUXTON et al., 2001). Um experimento demonstrou que ovelhas inoculadas antes da prenhez e depois desafiadas com 90 dias de gestação desenvolveram algum grau de imunidade ao darem à luz cordeiros mortos e vivos, sendo que a maioria dos cordeiros vivos não nasceu infectada, ao contrário do grupo que teve a primoinfecção durante a gestação, em que ocorreu perda de todos os fetos. Um terceiro grupo, inoculado uma única vez antes da prenhez não apresentou nenhum abortamento, mas deu à luz cordeiros infectados (BUXTON et al., 2001).

Innes et al. (2001) observaram resultados semelhantes com inoculação de vacas prenhes. No entanto, em outro estudo, vacas naturalmente infectadas e depois desafiadas durante a gestação não abortaram, mas deram à luz bezerros congenitamente infectados (WILLIAMS et al., 2003). Os autores sugerem que a transmissão transplacentária possa ter ocorrido devido à recrudescência da primoinfecção, e não pela re-infecção, já que também ocorreu transmissão vertical no grupo de vacas naturalmente infectadas, mas não desafiadas na gestação. A

infecção pelo parasita estimula uma resposta humoral e celular, mas acredita-se que a resposta celular seja mais importante devido ao fato de o parasita ser intracelular (INNES et al., 2002). Segundo Innes et al. (2002), durante a gestação pode haver regulação da liberação de IL-2, IL-12 e IF- $\gamma$ , citocinas importantes na imunidade celular contra o *N. caninum*, mas que em altos níveis poderiam levar a abortamento. A diminuição dessas citocinas seria uma possível explicação para a reagudização da infecção durante a prenhez.

#### 3.2.4 Perdas Econômicas

Há poucos estudos que quantifiquem os prejuízos da neosporose. Não há estudos relacionados a esse tópico em ovinos.

Os custos da doença em bovinos decorreriam de abortamentos, redução do valor do animal, aumento do intervalo entre partos, infertilidade, aumento do descarte e queda da produção de leite (TREES et al., 1999). As perdas estimadas com abortamentos em bovinos por neosporose na Califórnia são de 35 milhões de dólares por ano (DUBEY, 1999).

Hernandez, Risco e Donovan (2001) verificaram que vacas soropositivas produziram 3 a 4% menos leite que vacas soronegativas. Já Barling et al. (2000) observaram associação entre soropositividade para *N. caninum* em bezerros de corte e redução do ganho de peso e peso vivo ao abate.

#### 3.2.5 Neosporose em Humanos

Até o momento não há evidência de que o parasita possa provocar doença

em humanos, apesar de alguns trabalhos demonstrarem a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em soros. Tranas et al. (1999) observaram 69 soros positivos (6,7%) dentre 1029 soros de doadores de sangue da Califórnia pela reação de imunofluorescência indireta à diluição 1:100, mas à diluição 1:200 todos foram negativos. Porém, Robert, Tourte-Schaefer e Klein (1998) não encontraram nenhum soro positivo entre 500 pertencentes a mulheres grávidas da França pela RIFI à diluição 1:80, assim como Petersen et al. (1999), que investigaram soros de 76 mulheres da Dinamarca com histórico de abortamento pelas técnicas de ELISA, RIFI e Western blot e não encontraram nenhum soro positivo.

### 3.2.6 Prevenção e Controle

As medidas de prevenção e controle da neosporose muitas vezes podem tornar-se inviáveis economicamente ou pouco práticas. Entre elas incluem-se a remoção de fetos abortados, placentas e filhotes mortos do pasto, adoção de medidas para minimizar a contaminação fecal de água e alimentos por cães e outros canídeos, evitar a introdução de animais infectados no rebanho e descarte dos infectados (DUBEY, 2003; INNES et al., 2002). Em rebanhos bovinos com alta prevalência, em que o descarte de todos os animais soropositivos é economicamente inviável, sugere-se evitar a utilização de novilhas positivas para reprodução e o descarte paulatino de matrizes, utilizando a soropositividade para *N. caninum* como um dos critérios de seleção (WOUDA, 2000).

Uma vacina para bovinos feita a partir de taquizoítos inteiros inativados (Bovilis Neoguard®, Intervet), que tem como objetivo diminuir a taxa de abortamentos por neosporose, está comercialmente disponível (BIELSA; ROMERO;

HEUER, 2004).

Recentemente foi demonstrado que a transferência de embriões previne a transmissão transplacentária de uma vaca soropositiva para os seus bezerros, se for utilizada uma receptora não infectada (LANDMANN et al., 2002).

## 4 MATERIAL E MÉTODO

### 4.1 EXPERIMENTO 1

Nesta seção serão descritos os procedimentos utilizados para a determinação da prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum*.

#### 4.1.1 Amostragem

Em levantamento realizado junto à Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Distrito Federal (EMATER-DF) e a Secretaria de Agricultura do Distrito Federal, foram selecionadas para o estudo as propriedades que pertenciam ao Distrito Federal, possuíam criação comercial de ovinos e pelo menos 20 matrizes no rebanho. Foram contabilizadas 32 propriedades com estas características na região, localizadas nos Núcleos Rurais do Gama, Plano de Assentamento Dirigido-DF (PAD-DF), Jardim, Tabatinga, Rio Preto, Taquara, Pípiripau, Planaltina e Sobradinho. As 32 propriedades possuíam ao todo 4507 reprodutores (entre machos e fêmeas). Devido ao baixo número de propriedades, todas foram incluídas na pesquisa. Os Núcleos Rurais estão representados na figura 1.

Dentro de cada propriedade, foram colhidas amostras de todos os machos reprodutores e uma amostragem das matrizes. O número total de ovinos amostrados foi 1028, sendo 108 machos e 920 fêmeas.

A amostragem das matrizes por rebanho foi realizada segundo a fórmula (CANNON; ROE, 1982; MARTIN; SHOUKRI; THORNBURN, 1992; NOORDHUIZEN et al., 1997):

$$[1-(1-C)^{1/(D.SENS)}].[M-(D.SENS-1)/2]$$

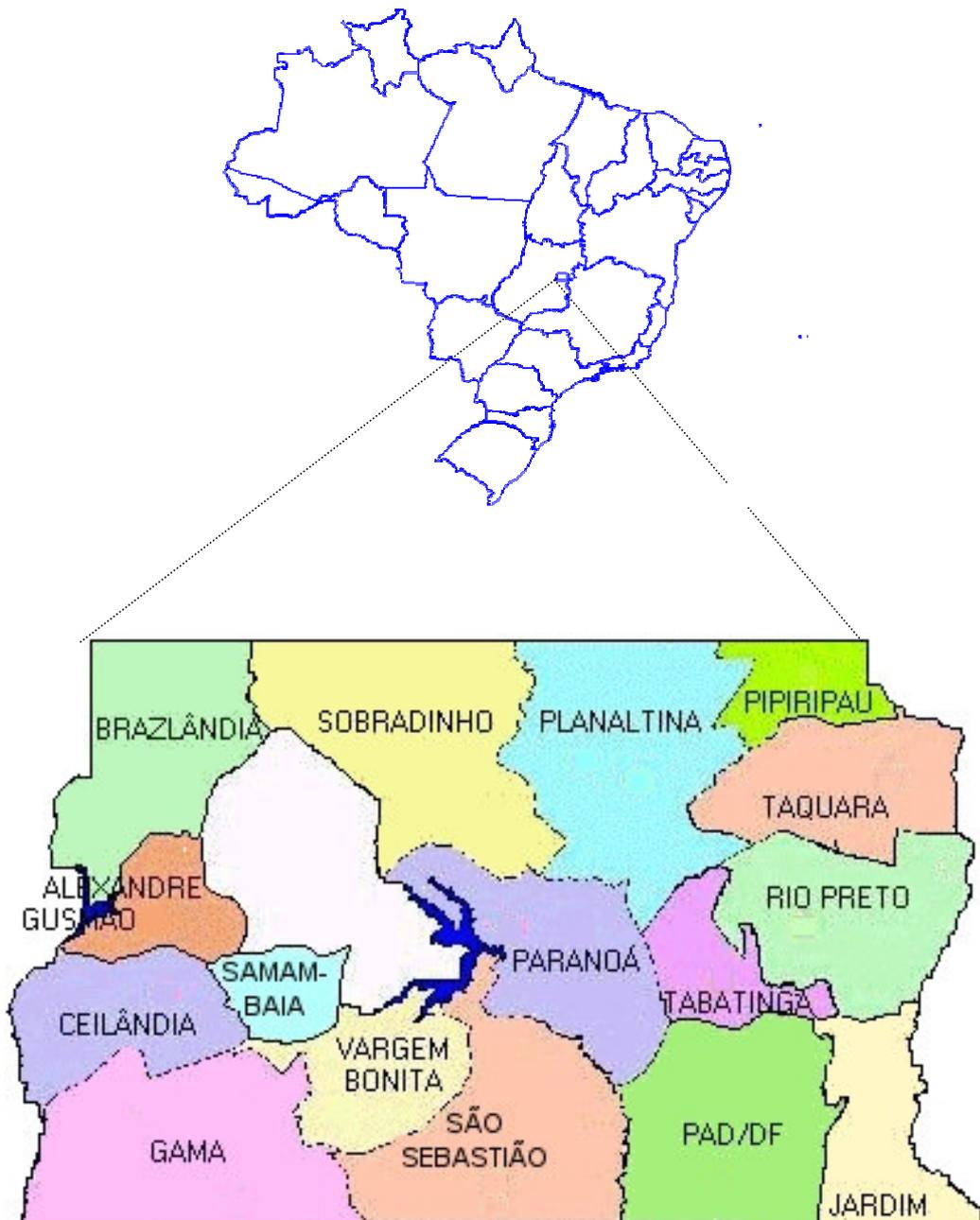
Onde :

C = grau de confiança (0,95)

M = nº de unidades (animais/rebanho) em risco

D = nº de unidades com doença/infecção (10% do rebanho)

SENS = sensibilidade do teste (100%)



Fonte: EMATER-DF, 2005

Figura 1 – Representação do Distrito Federal e seus Núcleos Rurais

#### 4.1.2 Colheita de Amostras

De março a junho de 2004 foram colhidas amostras de ovinos das 32 propriedades incluídas no estudo. De cada animal foram colhidos 5 mL de sangue total sem anti-coagulante por meio de punção da veia jugular. As amostras foram transportadas sob refrigeração até a Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária (FAV) da Universidade de Brasília (UnB), onde foram centrifugadas e os soros recolhidos. Estes, por sua vez, foram encaminhados ao Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP), onde foram armazenados a -20°C em microtubos tipo “ependorf” até a realização das provas sorológicas.

Em cada visita às propriedades também foi aplicado um questionário junto ao produtor a respeito de aspectos sanitários e de manejo que poderiam ser potencialmente incriminados como fatores de risco para as infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*. O questionário encontra-se no apêndice A.

#### 4.1.3 Manutenção de *Toxoplasma gondii*

Taquizoítos da amostra RH (SABIN, 1941) de *Toxoplasma gondii* foram mantidos no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da FMVZ-USP por meio de inoculações seriadas em camundongos suíços albinos fêmeas de aproximadamente 30 a 40 dias de idade, segundo Camargo et al. (1974). Para tanto, 0,3 mL de uma suspensão de taquizoítos foi inoculado por via intraperitoneal em cada animal. Os camundongos foram então observados diariamente após a inoculação e, quando apresentassem

sinais de doença (pêlos arrepiados, apatia, agrupamento), o que ocorria com aproximadamente quatro dias pós-inoculação, eram eutanasiados por deslocamento cervical e logo em seguida os taquizoítos eram recuperados por lavagem peritoneal com solução salina de NaCl 0,85% acrescida de penicilina 2000 UI/mL e estreptomicina 200 µg/mL. Este lavado peritoneal era inoculado em um novo camundongo, e assim sucessivamente.

#### **4.1.4 Manutenção de *Neospora caninum***

Taquizoítos da amostra NC-1 (DUBEY et al., 1988b) de *Neospora caninum* foram mantidos no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da FMVZ-USP por meio de passagens consecutivas em cultivo de monócito bovino (MB) M-617. Suspensões de taquizoítos eram depositadas em garrafas contendo uma monocamada de células e, após multiplicação dos taquizoítos nas células e lise destas, os taquizoítos eram depositados em uma nova garrafa, e assim sucessivamente.

#### **4.1.5 Preparo de Lâminas para Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)**

Os taquizoítos inteiros de ambos os agentes foram utilizados como antígeno para a RIFI.

Suspensões de taquizoítos de *T. gondii* e *N. caninum* foram lavadas duas vezes conforme procedimento a seguir: centrifugação a 2000 x g com uma solução fosfatada tamponada (PBS) pH 7,2 (1,37M NaCl, 0,027M KCl, 0,105M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 0,018M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) por 10 minutos, desprezo do sobrenadante e ressuspensão do

sedimento com a mesma solução. Uma terceira lavagem foi realizada com solução salina de NaCl 0,85%, o sobrenadante foi dispensado e o sedimento por fim foi ressuspensionado nesta mesma solução.

Os taquizoítos foram então contados em câmara de Neubauer e a concentração final foi ajustada para  $1,0 \times 10^7$  taquizoítos/mL. Em lâminas contendo 12 poços (PGC Scientifics 60-5453-46) foram depositadas alíquotas de 20  $\mu$ L da suspensão de taquizoítos em cada poço, retirando-se o excesso; em seguida as lâminas foram secas à temperatura ambiente, fixadas em metanol e armazenadas em caixas de polipropileno sob congelamento a  $-20^\circ\text{C}$  até a realização da RIFI.

#### 4.1.6 Reação de Imunofluorescência Indireta - *Toxoplasma gondii*

O teste foi realizado segundo protocolo de Camargo (1974). Primeiramente os soros foram diluídos em PBS pH 7,2 na proporção 1/64, que foi considerada ponto de corte para a espécie ovina (FIGLIUOLO et al., 2004). Em seguida 20  $\mu$ L dos soros diluídos foram depositados nos respectivos poços de uma lâmina já sensibilizada com antígeno de *T. gondii*, sendo a lâmina logo após incubada em estufa a  $37^\circ\text{C}$  por 30 minutos em câmara úmida. Procedeu-se então a lavagem das lâminas com a mesma solução tampão já citada, durante 10 minutos, por três vezes.

Após a secagem das lâminas à temperatura ambiente, foram adicionados nos poços 20  $\mu$ L de uma solução contendo conjugado (anti-IgG ovina marcada com isotiocianato de fluoresceína – SIGMA® F7634) diluído a 1:400 em PBS pH 7,2 contendo azul de Evans a 0,001%. As lâminas foram novamente incubadas a  $37^\circ\text{C}$  durante 30 minutos em câmara úmida, submetidas às três lavagens e secas à temperatura ambiente sob proteção da luz. Em seguida foi feita montagem com

glicerina tamponada pH 8,0 e lamínula.

Soros controles positivo e negativo de ovinos para *Toxoplasma gondii* foram submetidos aos mesmos procedimentos descritos acima e adicionados em cada lâmina.

A leitura foi feita em microscópio de fluorescência com aumento de 400 x (Olympus® BX60-FLA), sendo considerados positivos os poços que apresentaram taquizoítos com fluorescência periférica total e homogênea, enquanto os poços que apresentavam taquizoítos com fluorescência parcial ou apical foram considerados negativos (PARÉ; HIETALA; THURMOND, 1995), como mostram as figuras 2, 3 e 4.

Os soros positivos na diluição 1:64 foram diluídos sucessivamente na base 2 e submetidos à RIFI, conforme protocolo já descrito, para titulação. O título da amostra foi o denominador da maior diluição observada como positiva.

#### **4.1.7 Reação de Imunofluorescência Indireta - *Neospora caninum***

A reação foi feita segundo Dubey et al. (1988b). Os soros foram diluídos a 1:50 (HELMICK et al., 2002) em PBS pH 7,2 acrescida de soroalbumina bovina 1% (0,147M NaCl, 0,0018M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,0084M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) e 20 µL do soro diluído foram depositados nas lâminas já sensibilizadas, as quais foram então incubadas a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Em seguida, foram feitas três lavagens de 5 minutos cada com solução tampão carbonatada pH 9,0 (0,145M NaCl, 0,108M Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,4M NaHCO<sub>3</sub>) e adicionado o conjugado anti-IgG ovina diluído a 1:600 em solução de PBS pH 7,2 contendo azul de Evans a 0,001%. As lâminas foram incubadas novamente a 37°C por 30 minutos e depois submetidas novamente às três lavagens já citadas. Após secagem à temperatura ambiente sob proteção da luz,

a montagem das lâminas e a leitura foram realizadas conforme descrito no item anterior. Em cada lâmina foram utilizados soros controle positivo e negativo de ovinos para *Neospora caninum*.

Soros positivos à diluição 1:50 foram submetidos à titulação para obtenção do título.

#### 4.1.8 Análises Estatísticas

O cálculo das prevalências e a tabulação dos dados foram feitos no programa Microsoft Excel® 2003. As análises de associação foram feitas pelo teste de Qui-quadrado e Teste Exato de Fischer utilizando-se o programa SPSS® versão 9.0.

Como a amostragem das fêmeas não foi proporcional ao número de animais existentes na propriedade, foi feita uma correção do valor da prevalência segundo a fórmula (BENNETT et al., 1991):

$$p = \frac{\sum w_i y_i \text{ (somatória do n}^\circ \text{ de positivos ponderado)}}{\sum w_i x_i \text{ (somatória do n}^\circ \text{ de amostras ponderado)}}$$

Onde:

p = prevalência ponderada

w<sub>i</sub> = n<sup>o</sup> total de animais na propriedade/n<sup>o</sup> total de animais na região

y<sub>i</sub> = n<sup>o</sup> de positivos na propriedade

x<sub>i</sub> = n<sup>o</sup> de amostrados na propriedade

## 4.2 EXPERIMENTO 2

Nesta seção serão descritos os procedimentos utilizados para a determinação de genótipo de *T. gondii*.

### 4.2.1 Colheita de Órgãos

No mês de maio de 2005 foram colhidos sangue e cérebro de ovinos em um abatedouro exclusivo de pequenos ruminantes da região, sendo 11 amostras de animais advindos da propriedade nº 9 do Distrito Federal, e 28 amostras de animais originários de Tocantins e Goiás (Quadro 3).

Origem dos animais	Nº de amostras	Material colhido	
		Soro	Cérebro
DF	11		X
TO/GO	28	X	X

Quadro 3 – Origem dos animais e material colhido de um abatedouro do DF

A partir do sangue total, foram obtidos os soros conforme procedimento descrito no item 4.1.2. Eles foram submetidos à RIFI para *T. gondii* e *N. caninum* segundo procedimento já descrito com o objetivo de se realizar uma triagem para a posterior realização de PCR do cérebro. Como a colheita de sangue dos ovinos do DF não foi possível, a PCR foi realizada em todos os 11 cérebros sem uma prévia triagem.

Após a colheita, os cérebros foram armazenados congelados a -20°C até a sua utilização.

#### **4.2.2 Extração de DNA**

Porções de várias regiões do cérebro, totalizando 6 g, foram maceradas em cadinho e pistilo estéreis com 24 mL de solução de Tris-EDTA (TE) pH 8,0 (Tris-HCl 10 mM, EDTA 1 mM), resultando num macerado a 20%. Este material foi armazenado em tubos Falcon em freezer a - 20°C até o momento do processamento.

Dessa solução, foram retiradas 6 alíquotas de 750 µL cada, que foram acondicionadas em microtubos tipo eppendorf, e de cada alíquota foi feita extração de DNA segundo protocolo de Ausubel et al. (1995).

As amostras foram lavadas três vezes em Tris-EDTA pH 8,0 por meio de centrifugação a 12000 x *g* durante 5 minutos e descarte do sobrenadante. Em seguida, foi adicionado o tampão de extração (NaCl 100 mM, Tris-HCl 10 mM, EDTA 25 mM, SDS 0,5%, proteinase K 0,1 mg/mL, água mQ q.s.p. para 600 µL), com posterior incubação overnight a 37°C.

Para a purificação, foi adicionada à amostra fenol-clorofórmio v/v e, após centrifugação a 12000 x *g* por 10 minutos, o sobrenadante foi aspirado e transferido para outro microtubo.

Em seguida, foi feita precipitação adicionando-se acetato de sódio (10% do volume da amostra) e propanol (v/v). As amostras foram mantidas em freezer a - 20°C overnight, e depois centrifugadas a 12000 x *g* por 30 minutos. Logo após foi adicionado etanol 70%, foi feita centrifugação, desprezo do sobrenadante e secagem do microtubo. Após a secagem, o sedimento foi ressuscitado em TE e as amostras foram mantidas em freezer a - 20°C até a realização da PCR-RFLP.

#### 4.2.3 PCR-RFLP

Para a genotipagem das amostras foi adotado o protocolo de Howe et al. (1997), que utilizaram uma reação em cadeia pela polimerase (PCR), seguida de análise dos comprimentos dos fragmentos de restrição (RFLP).

Primeiramente foi feita uma amplificação por nested-PCR de dois fragmentos do locus SAG2, um deles na terminação 5', de 241 pares de bases, e outro na terminação 3', de 221 pares de bases. Este locus contém o gene que codifica a proteína de superfície p22.

Os fragmentos foram então submetidos à ação das enzimas de restrição *Sau3AI* na terminação 5' e *HhaI* na terminação 3'. A primeira enzima cliva apenas amostras de tipo III, enquanto a segunda cliva apenas amostras de tipo II. Amostras de tipo I não sofrem ação de nenhuma das enzimas.

Os produtos da nested-PCR após a restrição foram visualizados por meio de corrida eletroforética em gel de agarose a 2%, corado com brometo de etídio e observado sob luz ultravioleta.

## **5 RESULTADOS**

### **5.1 EXPERIMENTO 1**

#### **5.1.1 Questionário Epidemiológico**

Das 32 propriedades, obteve-se resposta ao questionário de 31 delas.

Os dados estão apresentados nas tabelas 1 a 18.

A maioria das propriedades (41,38%) iniciou suas atividades recentemente, a partir de 2001, sendo que 45,16% delas têm a ovinocultura como principal atividade econômica. Dentre as atividades econômicas conjuntas, a agricultura foi a mais freqüente, com 48,39% das propriedades.

A área das propriedades foi bastante heterogênea, variando de 3 a 4200 ha.

Em relação ao sistema produtivo, 100% das propriedades dedicam-se à ovinocultura de corte e, refletindo essa característica, 100% criam a raça Santa Inês ou cruzas dessa raça, com 48,39% adotando o sistema extensivo de manejo e 45,16% o sistema semi-confinado. O número total de animais no rebanho, entre adultos e cordeiros, variou de 26 a 960, sendo que a lotação variou de 1,05 a 86 animais/ha. De 31 propriedades que responderam à questão, 28 (90,32%) têm instalações específicas para a ovinocultura.

A presença de cães foi relatada por 93,55% das propriedades, enquanto gatos estão presentes em 32,26% delas.

A origem da água oferecida aos animais foi predominantemente de bebedouro (54,84%), seguido de poço (32,26%), rio (12,90%) e açude (9,68%).

A maioria das propriedades enterra os cadáveres de animais mortos (77,42%)

e os abortos e restos placentários (74,19%).

Quanto aos problemas reprodutivos, em 12 (38,71%) das 31 propriedades ocorreu abortamento nos últimos 12 meses e seis propriedades relataram problemas de fertilidade, das quais quatro observaram repetição de cio e duas aumento do intervalo entre partos.

Tabela 1 - Perfil das propriedades e proprietários de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão	Frequência
<b>Ano de início da atividade</b>		
A partir de 2001	12/29	41,38%
De 1996 a 2000	7/29	24,14%
De 1991 a 1995	5/29	17,42%
De 1986 a 1990	1/29	3,45%
De 1981 a 1985	2/29	6,90%
De 1977 a 1980	2/29	6,90%
<b>Escolaridade do proprietário</b>		
Ensino médio	1/18	5,56%
Ensino superior	17/18	94,44%
<b>Possui assistência técnica</b>		
	23/31	74,19%
Médico Veterinário	17/23	73,91%
Zootecnista	5/23	21,74%
Agrônomo	1/23	4,35%
<b>Ovinocultura como principal atividade econômica</b>		
	14/31	45,16%
<b>Outras atividades econômicas na propriedade</b>		
Agricultura	15/31	48,39%
Bovinocultura de leite	7/31	22,58%
Avicultura	6/31	19,35%
Bovinocultura de corte	5/31	16,13%
Caprinocultura	4/31	12,90%
Eqüinocultura	2/31	6,45%

Tabela 2 - Área total e área destinada à ovinocultura de propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004

	<b>Nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Valor mínimo</b>	<b>Valor máximo</b>	<b>Média</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio padrão</b>
Área total da propriedade (ha)	30	3	4200	442,28	115	841,09
Área destinada à ovinocultura (ha)	29	1	150	29,76	12	37,25

Tabela 3 – Tipo de exploração de propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF - 2004

	<b>Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Frequência</b>
<b>Exploração de corte</b>	31/31	100,00%
<b>Raça predominante</b>		
Santa Inês	25/31	80,65%
Cruza de Santa Inês	6/31	19,35%
<b>Tipo de criação</b>		
Extensiva	15/31	48,39%
Semi-confinada	14/31	45,16%
Confinada	2/31	6,45%

Tabela 4 – Número de animais por categoria em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF - 2004

	<b>Nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Valor mínimo</b>	<b>Valor máximo</b>	<b>Média</b>	<b>Mediana</b>	<b>Desvio padrão</b>
Nº total de animais	31	26	960	216,52	138	240,98
Nº de reprodutores	31	1	13	3,39	2	3,30
Nº de matrizes	31	20	650	139,90	80	171,57
Nº de crias	31	5	297	73,16	42	76,28
Lotação (nº de animais/hectare)	29	1,05	86	14,22	9,38	17,49

Tabela 5 – Presença de outras espécies animais além de ovinos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF - 2004

	Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão	Frequência
Presença de cães	29/31	93,55%
Presença de gatos	10/31	32,26%
Presença de caprinos	5/31	16,13%
Presença de bovinos	28/31	90,32%
Presença de eqüinos	24/31	77,42%
Presença de suínos	15/31	48,39%

Tabela 6 – Características das instalações em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão	Frequência
<b>Possui instalações específicas para a ovinocultura</b>	28/31	90,32%
<b>Aprisco</b>		
No chão	17/28	60,71%
Elevado	11/28	39,29%
<b>Piso</b>		
Ripado	11/28	39,29%
Terra	9/28	32,14%
Cimento	8/28	28,57%
<b>Estrutura</b>		
Madeira	14/28	50,00%
Alvenaria	14/28	50,00%
<b>Cobertura</b>		
Telha	23/28	82,14%
Metal	4/28	14,29%
Palha	1/28	3,57%

Tabela 7 – Número de apriscos e lotação dos apriscos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades que responderam à questão	Valor mínimo	Valor máximo	Média	Mediana	Desvio padrão
Nº de apriscos	31	0	9	1,77	1	1,73
Nº de animais/aprisco	28	14,5	500	129,48	69	133,09

Tabela 8 – Utilização de pastos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	<b>Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Frequência</b>
<b>Aluguel de pastos de terceiros</b>	3/31	9,68%
<b>Aluguel de pastos para terceiros</b>	6/31	19,35%
<b>Compartilhamento de pasto com terceiros</b>	3/31	9,68%
<b>Divide pasto com outra espécie animal</b>	24/31	77,42%
Divide com bovino	16/24	66,67%
Divide com eqüino	4/24	16,67%
Divide com caprino	2/24	8,33%
Divide com bovino e eqüino	2/24	8,33%
<b>Realização de rotação de pastagem</b>	26/31	83,87%
<b>Presença de piquete maternidade</b>	18/31	58,06%
<b>Separa animais por categoria</b>	17/31	54,84%
<b>Presença de área alagadiça a que os animais têm acesso</b>	6/31	19,35%
<b>Presença de área de reserva de mata ou cerrado na propriedade</b>	30/31	96,77%

Tabela 9 – Fonte da água oferecida aos animais em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	<b>Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Frequência</b>
Bebedouro	17/31	54,84%
Poço	10/31	32,26%
Rio	4/31	12,90%
Açude	3/31	9,68%

Tabela 10 – Destino de cadáveres de animais em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	<b>Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Frequência</b>
Enterra	24/31	77,42%
Incinerar	8/31	25,81%
Deixa no pasto	1/31	3,23%

Tabela 11 – Destino de fetos abortados e placentas em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	<b>Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Frequência</b>
Enterra	23/31	74,19%
Incinera	2/31	6,45%
Deixa no pasto	8/31	25,81%

Tabela 12 - Vacinação em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	<b>Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Frequência</b>
Clostridioses	25/31	80,65%
Raiva	19/31	61,29%
Outras	3/31	9,68%

Tabela 13 – Utilização de anti-parasitários em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	<b>Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão</b>	<b>Frequência</b>
Endoparasitcidas	31/31	100,00%
Ectoparasitcidas	9/31	29,03%

Tabela 14 – Comércio de carneiros e matrizes e realização de seleção em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão	Frequência
<b>Compra de matrizes</b>	1	
Compra em fazendas	15/31	48,39%
Compra em exposições ou feiras	6/31	19,35%
Compra em leilões	1/31	3,23%
<b>Utilização de matrizes nascidas na própria fazenda</b>	17/31	54,84%
<b>Venda de matrizes</b>		
Fazenda	8/31	25,81%
Exposições ou feiras	3/31	9,68%
Leilões	1/31	3,23%
<b>Estado de origem das matrizes</b>		
Distrito Federal	16/31	57,14%
Sergipe	5/31	17,86%
Bahia	4/31	14,29%
Goiás	1/31	3,57%
Minas Gerais	1/31	3,57%
Rio Grande do Sul	1/31	3,57%
<b>Compra de reprodutores</b>		
Compra em fazendas	20/31	64,52%
Compra em exposições ou feiras	15/31	48,39%
Compra em leilões	2/31	6,45%
<b>Utilização de reprodutores nascidos na própria fazenda</b>	0/31	0
<b>Empréstimo de reprodutores</b>		
Empréstimo de reprodutores para outros produtores	9/31	29,03%
Utilização de reprodutores de outros produtores	11/31	35,48%
<b>Venda de reprodutores</b>		
Fazenda	11/31	35,48%
Exposições ou feiras	3/31	9,68%
Leilões	2/31	6,45%
<b>Estado de origem de reprodutores</b>		
Sergipe	11/31	40,74%
Bahia	6/31	22,22%
Distrito Federal	4/31	14,81%
Goiás	4/31	14,81%
Rio Grande do Sul	1/31	3,70%
Ceará	1/31	3,70%
<b>Realiza algum tipo de seleção</b>	18/31	58,06%
Seleção por reprodução	12/18	66,67%
Seleção por produção	7/18	38,89%
Seleção por sanidade	2/18	11,11%

Tabela 15 – Índices produtivos em propriedades de rebanhos comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades que responderam à questão	Valor mínimo	Valor máximo	Média	Mediana	Desvio padrão
<b>Idade de desmame (meses)</b>	22	2	5	3,07	3	1,03
<b>Idade de descarte das matrizes (anos)</b>	15	2	10	5,1	5	2,36
<b>Idade de descarte dos reprodutores (anos)</b>	13	1	8	3,69	3	2,22
<b>Taxa de natalidade (%)</b>	9	0,36	1,6	0,94	0,8	0,47
<b>Taxa de mortalidade (%)</b>						
Até 4 dias de idade	15	0	25	6,4	5	7,70
Até o desmame	15	0	30	5,67	2	8,24
Matrizes	12	0	10	2,82	0,65	4,05
<b>Frequência de natimortos (%)</b>	10	0	3	0,4	0	0,97

Tabela 16 – Manejo reprodutivo em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão	Frequência
<b>Realiza estação de monta</b>	8/31	25,81%
<b>Divide machos por grupo de fêmeas</b>	12/31	38,71%
Relação macho/fêmea		
1/até 30 fêmeas	3/8	37,50%
1/até 60 fêmeas	4/8	50,00%
1/até 80 fêmeas	1/8	12,50%
<b>Realiza diagnóstico de prenhez</b>	3/31	9,68%
<b>Realiza espermograma</b>	3/31	9,68%

Tabela 17 – Índices reprodutivos em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades que responderam à questão	Valor mínimo	Valor máximo	Média	Mediana	Desvio padrão
Idade à primeira cobertura (meses)	17	5	12	8,29	8	1,65
Idade ao primeiro parto (meses)	18	10	17	13,22	13	1,63

Tabela 18 – Problemas reprodutivos em propriedades comerciais de ovinos do DF – 2004

	Nº de propriedades com a variável/ nº de propriedades que responderam à questão	Frequência
<b>Observou problema de fertilidade nas matrizes</b>	6/31	19,35%
Repetição de cio	4/6	66,67%
Aumento do intervalo entre partos	2/6	33,33%
<b>Abortamento nos últimos 12 meses</b>	12/31	38,71%
<b>Retenção de placenta</b>	1/31	3,22%
<b>Observou problema reprodutivo nos carneiros</b>	0/31	0

### 5.1.2 Reação de Imunofluorescência Indireta - *Toxoplasma gondii*

Foram processados 1028 soros, dos quais 364 foram positivos para *Toxoplasma gondii* à diluição 1:64 na RIFI, determinando uma frequência de 35,41%.

A prevalência ponderada foi de 38,22% (26,81% < IC 0,95 < 49,62%).

Foram consideradas positivas as propriedades que contivessem ao menos um animal positivo. Desse modo, a prevalência por propriedade foi de 100%, pois todas as 32 propriedades continham pelo menos um animal positivo, com prevalências dentro das propriedades variando de 4,76% a 96,55%, conforme mostra a tabela 19 e o gráfico 1 .

Os títulos de anticorpos variaram de 64 a 65536, sendo que os títulos com maior frequência foram 2048 (21,15%), 1024 (18,13%), 4096 (17,86%), 64 (10,44%) e 512 (10,16%), segundo as tabelas 20 e 21 e o gráfico 2.

Tabela 19 - Freqüências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (RIFI  $\geq$  64) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade – 2004

Propriedade	N° de carneiros e matrizes positivos para anticorpos anti- <i>T. gondii</i>	Frequência de carneiros e matrizes positivos para anticorpos anti- <i>T. gondii</i>	Intervalo de confiança 0,95 (%)	N° de animais amostrados	N° total de carneiros e matrizes na propriedade
1	7	18,42%	7,74-34,33	38	121
2	10	22,73%	11,47-37,84	44	600
3	6	8,82%	3,31-18,22	68	180
4	6	21,43%	8,30-40,95	28	32
5	14	41,18%	24,65-59,30	34	200
6	8	24,24%	11,09-42,26	33	110
7	39	50,65%	39,00-62,24	77	650
8	11	31,43%	16,85-49,29	35	150
9	9	25,71%	12,49-43,26	35	170
10	14	34,15%	20,08-50,59	41	550
11	26	89,66%	72,65-97,81	29	80
12	38	95,00%	83,08-99,39	40	300
13	28	96,55%	82,24-99,91	29	40
14	6	16,67%	6,37-32,81	36	150
15	8	21,05%	9,55-37,32	38	300
16	1	6,25%	0,16-30,23	16	30
17	5	15,15%	5,11-31,90	33	70
18	9	31,03%	15,28-50,83	29	90
19	7	23,33%	9,93-42,28	30	40
20	7	46,67%	21,27-73,41	15	20
21	3	15,00%	3,21-37,89	20	21
22	17	48,57%	31,38-66,01	35	80
23	5	27,78%	9,69-53,48	18	20
24	16	57,14%	37,18-75,54	28	50
25	8	42,11%	20,25-66,50	19	20
26	20	51,28%	34,78-67,58	39	180
27	4	14,29%	4,03-32,67	28	80
28	1	4,76%	0,12-23,82	21	30
30	9	30,00%	14,73-49,40	30	45
31	6	42,86%	17,66-71,14	14	22
32	11	55,00%	31,53-76,94	20	22
33	5	17,86%	6,06-36,89	28	54
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>364</b>	<b>35,41%</b>	<b>1028</b>	<b>4507</b>

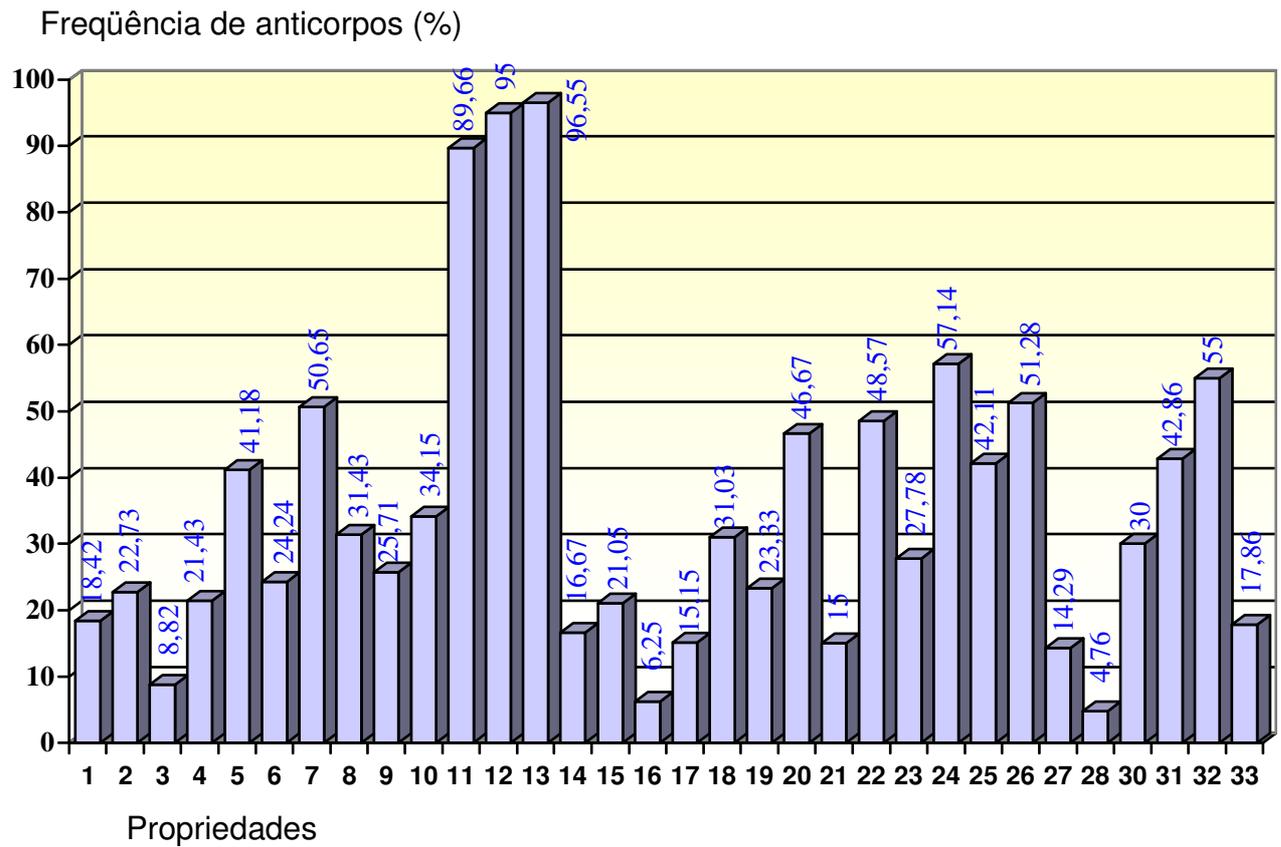


Gráfico 1 - Freqüências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (RIFI  $\geq$  64) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade - 2004

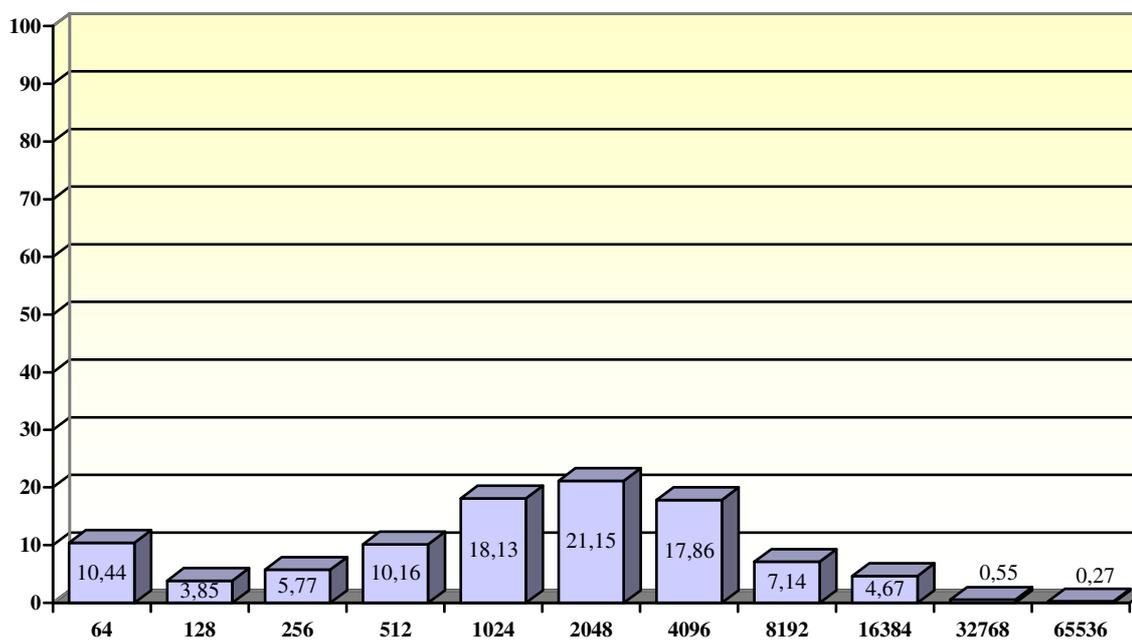
Tabela 20 - Número de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos para *Toxoplasma gondii* pela RIFI ( $\geq 64$ ), nos diferentes títulos, por propriedade – 2004

Título	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192	16384	32768	65536	Total	
<b>Propriedade</b>													
1	1	1	0	0	2	1	1	0	1	0	0	7	
2	4	2	0	0	2	1	0	1	0	0	0	10	
3	1	0	0	0	0	2	2	1	0	0	0	6	
4	2	0	0	0	2	1	1	0	0	0	0	6	
5	0	1	1	0	0	3	7	1	1	0	0	14	
6	2	0	0	1	2	2	1	0	0	0	0	8	
7	3	0	3	3	3	3	10	7	5	1	1	39	
8	3	0	0	1	0	2	3	2	0	0	0	11	
9	2	1	0	2	0	2	2	0	0	0	0	9	
10	1	1	2	2	4	4	0	0	0	0	0	14	
11	1	0	0	1	8	8	3	2	3	0	0	26	
12	0	0	1	3	3	10	12	5	4	0	0	38	
13	2	0	1	3	7	8	6	1	0	0	0	28	
14	0	1	1	1	2	0	1	0	0	0	0	6	
15	0	2	0	2	0	1	1	0	1	1	0	8	
16	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
17	2	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	5	
18	3	0	0	0	1	3	2	0	0	0	0	9	
19	2	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	7	
20	4	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	7	
21	0	0	0	1	0	2	0	0	0	0	0	3	
22	0	0	1	5	1	4	4	1	1	0	0	17	
23	0	0	0	0	4	1	0	0	0	0	0	5	
24	1	0	1	1	5	2	2	4	0	0	0	16	
25	1	0	0	1	2	4	0	0	0	0	0	8	
26	2	2	1	3	3	5	2	1	1	0	0	20	
27	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	4	
28	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
30	0	1	2	2	3	1	0	0	0	0	0	9	
31	0	0	3	0	2	1	0	0	0	0	0	6	
32	0	0	1	2	3	3	2	0	0	0	0	11	
33	1	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	5	
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>38</b>	<b>14</b>	<b>21</b>	<b>37</b>	<b>66</b>	<b>77</b>	<b>65</b>	<b>26</b>	<b>17</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>364</b>
<b>Frequência em relação ao total de positivos</b>	<b>10,44%</b>	<b>3,85%</b>	<b>5,77%</b>	<b>10,16%</b>	<b>18,13%</b>	<b>21,15%</b>	<b>17,86%</b>	<b>7,14%</b>	<b>4,67%</b>	<b>0,55%</b>	<b>0,27%</b>		

Tabela 21 - Frequências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq 64$ ) – 2004

Título	Nº de carneiros e matrizes positivos	Frequência de positivos
64	38	10,44%
128	14	3,85%
256	21	5,77%
512	37	10,16%
1024	66	18,13%
2048	77	21,15%
4096	65	17,86%
8192	26	7,14%
16384	17	4,67%
32768	2	0,55%
65536	1	0,27%
<b>Total</b>	<b>364</b>	<b>100,00%</b>

Frequências (%)



Títulos de anticorpos

Gráfico 2 – Frequências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq 64$ ) – 2004

### 5.1.3 Reação de Imunofluorescência Indireta - *Neospora caninum*

Dos 1028 animais testados, 90 (8,75%) foram positivos na RIFI para *Neospora caninum* à diluição 1:50.

A prevalência ponderada foi de 8,81% (7,08% < IC 0,95 < 10,53%).

Das 32 propriedades testadas, 28 propriedades (87,50%) possuíam ao menos um animal positivo para neosporose e apenas quatro propriedades (12,50%) foram negativas. As prevalências entre as propriedades variaram de 0 a 27,78%. Os resultados estão expressos na tabela 22 e gráfico 3.

Os títulos de anticorpos variaram de 50 a 51200, sendo que os títulos mais freqüentes foram 50 (21,11%), 1600 (14,44%), 3200 (12,22%) e 100 (12,22%), segundo as tabelas 23 e 24 e o gráfico 4.

Conforme mostram as tabelas 25 e o gráfico 5, 48 animais (4,67%) foram positivos para ambos os parasitas, enquanto 30,74% foram positivos apenas para *T. gondii* e 4,09% apenas para *N. caninum*.

Tabela 22 - Frequências de anticorpos anti-*Neospora caninum* (RIFI  $\geq$  50) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade - 2004

Propriedade	Nº de carneiros e matrizes positivos para anticorpos anti- <i>N. caninum</i>	Frequência de carneiros e matrizes positivos para anticorpos anti- <i>N. caninum</i>	Intervalo de confiança 0,95 (%)	Nº de animais amostrados	Nº total de carneiros e matrizes na propriedade
1	6	15,79%	6,02-31,25	38	121
2	3	6,82%	1,43-18,66	44	600
3	2	2,94%	0,36-10,22	68	180
4	0	0,00%	0-12,34	28	32
5	1	2,94%	0,007-15,33	34	200
6	2	6,06%	0,74-20,23	33	110
7	7	9,09%	3,73-17,84	77	650
8	5	14,29%	4,81-30,26	35	150
9	4	11,43%	3,20-26,74	35	170
10	3	7,32%	1,54-19,92	41	550
11	4	13,79%	3,89-31,66	29	80
12	7	17,50%	7,34-32,78	40	300
13	3	10,34%	2,19-27,35	29	40
14	1	2,78%	0,07-14,53	36	150
15	5	13,16%	4,41-28,09	38	300
16	2	12,50%	1,55-38,35	16	30
17	3	9,09%	1,92-24,33	33	70
18	0	0,00%	0-11,94	29	90
19	2	6,67%	0,82-22,07	30	40
20	3	20,00%	4,33-48,09	15	20
21	1	5,00%	0,13-24,87	20	21
22	5	14,29%	4,81-30,26	35	80
23	5	27,78%	9,69-53,48	18	20
24	2	7,14%	0,88-23,50	28	50
25	1	5,26%	0,13-26,03	19	20
26	4	10,26%	2,87-24,22	39	180
27	2	7,14%	0,88-23,50	28	80
28	5	23,81%	8,22-47,17	21	30
30	0	0,00%	0-11,57	30	45
31	0	0,00%	0-23,16	14	22
32	1	5,00%	0,13-24,87	20	22
33	1	3,57%	0,09-18,35	28	54
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>8,75%</b>		<b>1028</b>	<b>4507</b>

## Frequência de anticorpos

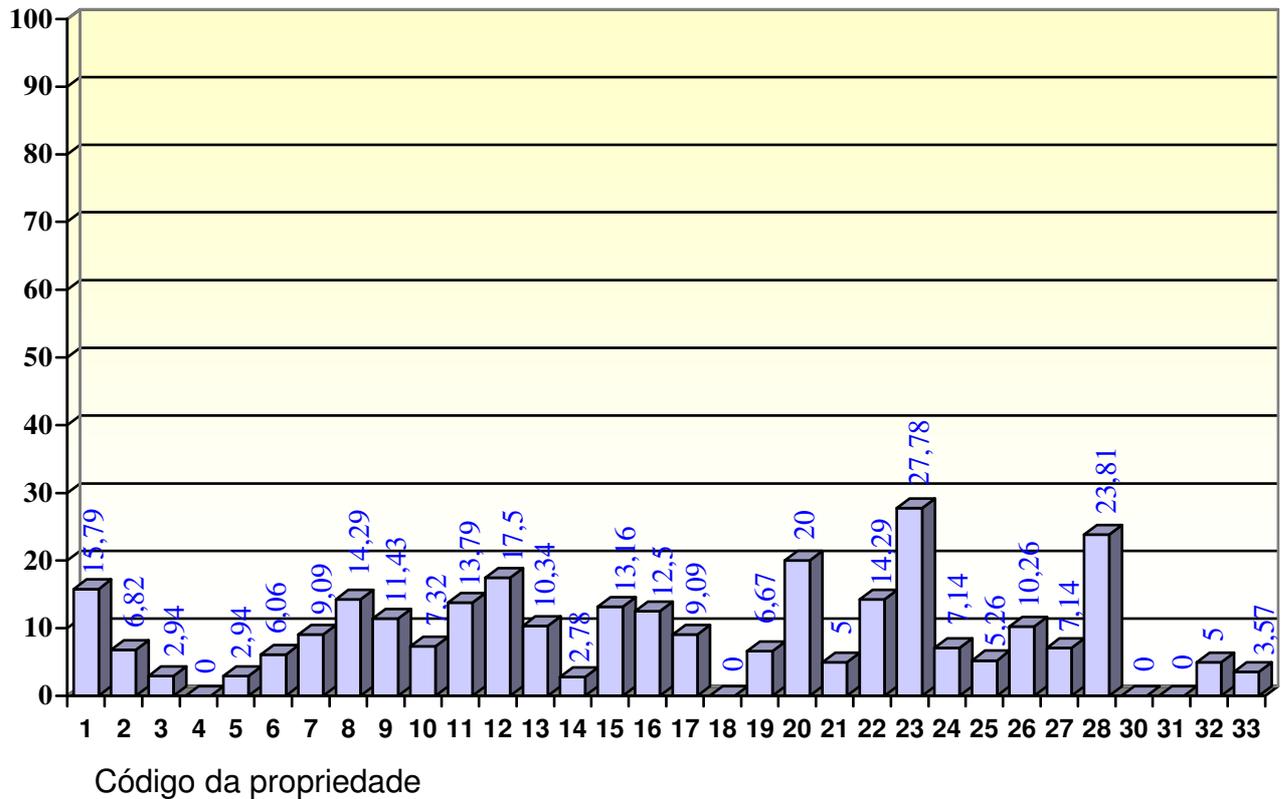


Gráfico 3 - Frequências de anticorpos anti-*Neospora caninum* (RIFI  $\geq$  50) em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF, por propriedade - 2004

Tabela 23 - Número de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos para *N. caninum* pela RIFI ( $\geq 50$ ), nos diferentes títulos, por propriedade – 2004

Título	50	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	51200	Total	
<b>Propriedade</b>													
1	2	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0	6	
2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	3	
3	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	2	
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
6	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	
7	2	3	0	0	0	1	1	0	0	0	0	7	
8	2	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	5	
9	2	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	4	
10	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	3	
11	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	4	
12	0	2	0	0	1	0	0	0	3	1	0	7	
13	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	3	
14	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
15	2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	5	
16	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	2	
17	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	0	3	
18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
19	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	2	
20	0	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	3	
21	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
22	1	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	5	
23	0	0	0	1	0	2	1	1	0	0	0	5	
24	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	
25	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
26	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	4	
27	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	
28	0	0	0	1	0	2	1	0	0	1	0	5	
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
32	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	
33	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>19</b>	<b>11</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>8</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>7</b>	<b>5</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>90</b>
<b>Frequência em relação ao total de positivos</b>	<b>21,11%</b>	<b>12,22%</b>	<b>5,56%</b>	<b>5,56%</b>	<b>8,89%</b>	<b>14,44%</b>	<b>12,22%</b>	<b>7,78%</b>	<b>5,56%</b>	<b>3,33%</b>	<b>3,33%</b>		

Tabela 24 - Frequências de anticorpos anti-*Neospora caninum* em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq 50$ ) – 2004

Título	Nº de carneiros e matrizes positivos	Frequência de positivos
50	19	21,11%
100	11	12,22%
200	5	5,56%
400	5	5,56%
800	8	8,89%
1600	13	14,44%
3200	11	12,22%
6400	7	7,78%
12800	5	5,56%
25600	3	3,33%
51200	3	3,33%
<b>Total</b>	<b>90</b>	<b>100,00%</b>

Frequências (%)

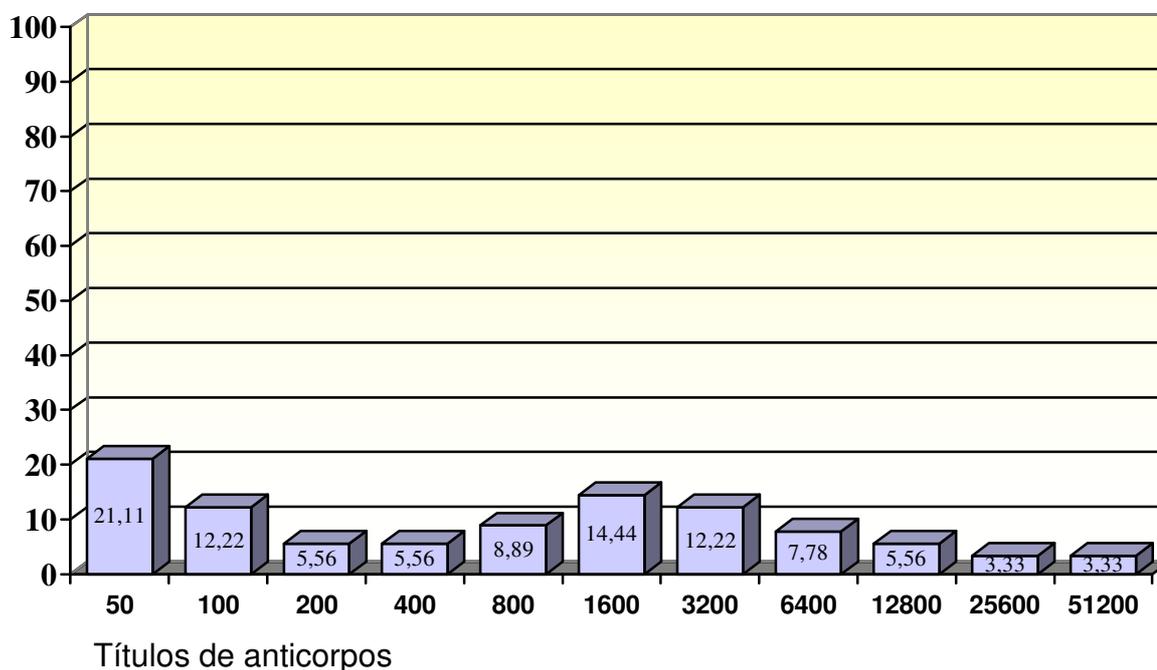


Gráfico 4 - Frequências de anticorpos anti-*Neospora caninum* em carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF nas diferentes titulações, pela RIFI ( $\geq 50$ ) – 2004

Tabela 25 - Frequências de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos na RIFI para *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* concomitantemente, negativos para ambos os agentes e positivos para apenas um deles, por propriedade – 2004

Propriedade	Nº de animais positivos para toxoplasmose e neosporose	%	Nº de animais negativos para toxoplasmose e neosporose	%	Nº de animais positivos apenas para toxoplasmose	%	Nº de animais positivos apenas para neosporose	%	Total de amostras
1	2	5,26	27	71,05	5	13,16	4	10,53	38
2	0	0	31	70,45	10	22,73	3	6,82	44
3	0	0	60	88,24	6	8,82	2	2,94	68
4	0	0	22	78,57	6	21,43	0	0	28
5	0	0	19	55,88	14	41,18	1	2,94	34
6	0	0	23	69,70	8	24,24	2	6,06	33
7	7	9,09	38	49,35	32	41,56	0	0	77
8	3	8,57	22	62,86	8	22,86	2	5,71	35
9	1	2,86	23	65,71	8	22,86	3	8,57	35
10	1	2,44	25	60,98	13	31,71	2	4,88	41
11	3	10,34	2	6,90	23	79,31	1	3,45	29
12	6	15,00	1	2,50	32	80,00	1	2,50	40
13	3	10,34	1	3,45	25	86,21	0	0	29
14	1	2,78	30	83,33	5	13,89	0	0	36
15	3	7,89	28	73,68	5	13,16	2	5,26	38
16	1	6,25	14	87,50	0	0	1	6,25	16
17	0	0	25	75,76	5	15,15	3	9,09	33
18	0	0	20	68,97	9	31,03	0	0	29
19	1	3,33	22	73,33	6	20,00	1	3,33	30
20	3	20,00	8	53,33	4	26,67	0	0	15
21	1	5,00	17	85,00	2	10,00	0	0	20
22	5	14,29	18	51,43	12	34,29	0	0	35
23	0	0	8	44,44	5	27,78	5	27,78	18
24	0	0	10	35,71	16	57,14	2	7,14	28
25	1	5,26	11	57,89	7	36,84	0	0	19
26	3	7,69	18	46,15	17	43,59	1	2,56	39
27	1	3,57	23	82,14	3	10,71	1	3,57	28
28	0	0	15	71,43	1	4,76	5	23,81	21
30	0	0	21	70,00	9	30,00	0	0	30
31	0	0	8	57,14	6	42,86	0	0	14
32	1	5,00	9	45,00	10	50,00	0	0	20
33	1	3,57	23	82,14	4	14,29	0	0	28
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>4,67</b>	<b>622</b>	<b>60,51</b>	<b>316</b>	<b>30,74</b>	<b>42</b>	<b>4,09</b>	<b>1028</b>

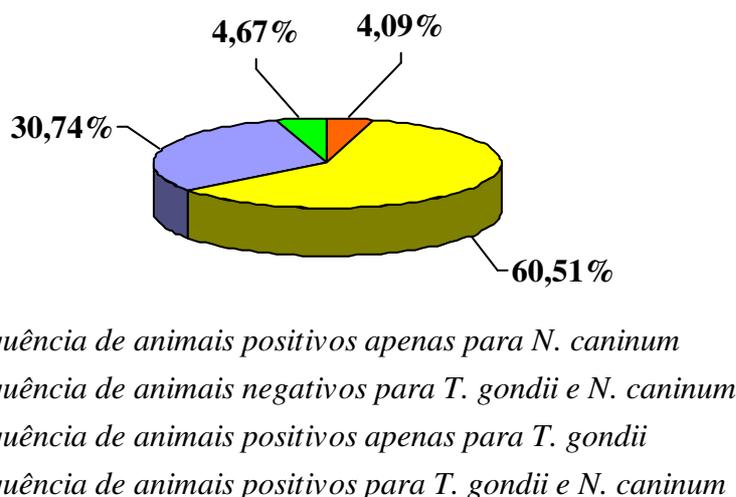


Gráfico 5 - Frequências de carneiros e matrizes de rebanhos comerciais de ovinos do DF positivos na RIFI para *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* concomitantemente, negativos para ambos os agentes e positivos para apenas um deles, por propriedade – 2004

#### 5.1.4 Fatores de Risco

A análise dos fatores de risco entre as propriedades para as infecções por *T. gondii* e *N. caninum* não foi possível, uma vez que não foram encontradas propriedades controle para *T. gondii* e, em relação ao *N. caninum*, apenas quatro propriedades foram negativas, dificultando a análise de associação.

Em vista disso, as propriedades foram divididas em quartis, sendo que o quartil que continha as maiores prevalências foi comparado com o quartil que continha as menores prevalências. Não houve associação estatisticamente significativa para nenhuma das variáveis ao nível de significância de 0,05.

A prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* entre os carneiros foi significativamente maior que entre as matrizes ( $\chi^2 = 9,854$ ,  $p = 0,002$ ), o que não ocorreu com a infecção por *N. caninum*.

A prevalência da infecção por *T. gondii* foi significativamente maior que a da infecção por *N. caninum* ( $p < 0,0001$ ).

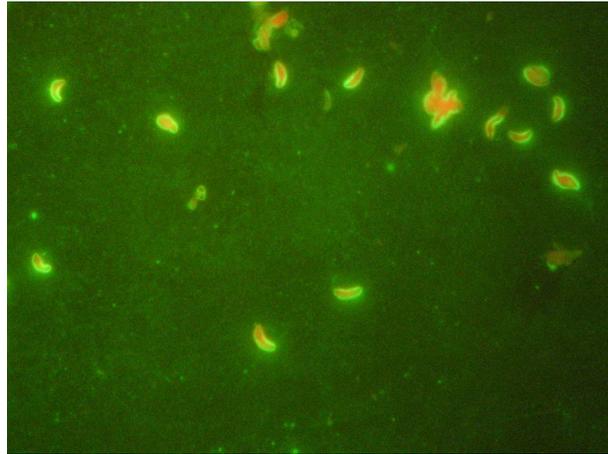


Figura 2 - Amostra positiva para *T. gondii* na RIFI à diluição 1:64, mostrando tachizoítos com fluorescência periférica total (aumento de 1000 vezes)

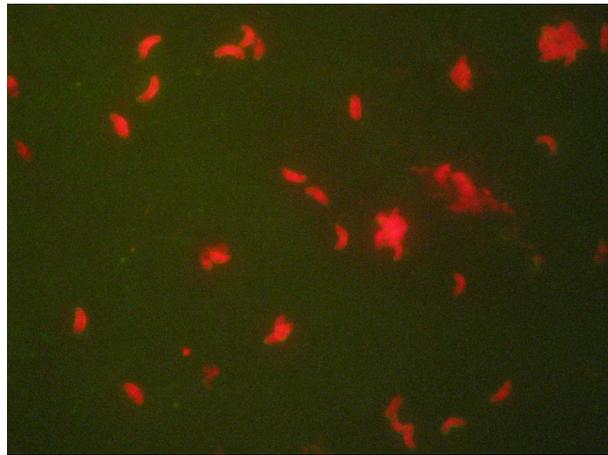


Figura 3 - Amostra negativa para *T. gondii* na RIFI à diluição 1:64, mostrando tachizoítos corados apenas pelo azul de Evans (aumento de 1000 vezes)

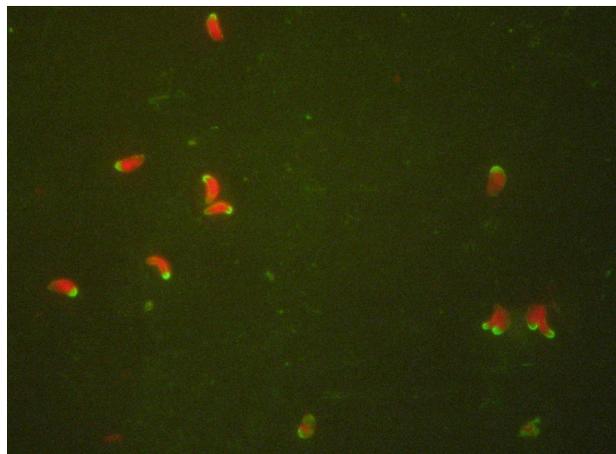


Figura 4 - Amostra negativa para *T. gondii* na RIFI à diluição 1:64, mostrando tachizoítos com fluorescência parcial, localizada apenas na região apical (aumento de 1000 vezes)

## 5.2 EXPERIMENTO 2

### 5.2.1 RIFI

Dos 28 soros provenientes de Tocantins e Goiás submetidos à RIFI, nenhum foi positivo para *T. gondii* e apenas um (3,57%) foi positivo para *N. caninum* com o título 800.

### 5.2.2 PCR-RFLP

Dos 11 cérebros provenientes da propriedade nº 9 do DF submetidos à nested-PCR, apenas um foi positivo (9,09%). Os amplicons submetidos à restrição não foram clivados pelas enzimas, portanto a amostra foi classificada como tipo I.

## 6 DISCUSSÃO

A prevalência encontrada para a infecção por *Toxoplasma gondii* no presente trabalho foi de 38,22%, resultado semelhante ao de outras regiões do país, como no estado de São Paulo, em que a prevalência foi de 34,7% (FIGLIUOLO et al., 2004) e em Pernambuco, onde a frequência foi de 35,3% (SILVA et al., 2003).

Trabalhos em outros países também tiveram valores semelhantes, como em Gana, onde a frequência foi de 33,2% (VAN DER PUIJE, 2000), Uruguai, com 38,5% de positivos (FREYRE et al., 1999) e Espanha, onde observou-se 33,72% de positivos (MARCA et al., 1996).

Cavalcante et al. (2004), entretanto, encontraram uma ocorrência com um valor superior (46,8%) em rebanhos de Monte Negro, Rondônia, e em Guarapuava, Paraná, Romanelli (2002) observou uma prevalência de 51,47%, assim como Malik, Dreesen e De la Cruz (1990), que encontraram 58,56% dos animais testados positivos no nordeste dos EUA.

Valores mais baixos têm sido observados no Brasil e em outros países. Gondim et al. (1999a) encontraram uma frequência de 18,75% em ovinos da Bahia, enquanto Sawadogo et al. (2005) no Marrakech (Marrocos), Masala et al. (2003) na Sardenha (Itália), Gorman et al (1999) no Chile, Skjerve et al. (1998) na Noruega e Hashemi-Fesharki (1996) no Irã obtiveram frequências de 27,6%, 28,4%, 28%, 16,2% e 24,3%, respectivamente. Em contrapartida, apenas 2,5% dos soros colhidos em um abatedouro no Paquistão foram positivos (ZAKI, 1995).

Quanto à infecção por *Neospora caninum*, a prevalência observada neste trabalho foi 8,81%, semelhante à encontrada em São Paulo, 9,2% (FIGLIUOLO et al., 2004), assim como em Guarapuava, Paraná, onde a frequência foi de 9,51%

(ROMANELLI, 2002), enquanto Otero et al. (2002) obtiveram 7,4% de positivos na Bahia. Gonçalves et al. (2004) encontraram uma frequência de 12% no município de Ribas do Rio Pardo, e Aguiar et al. (2004) observaram uma prevalência maior (29%) em Monte Negro, Rondônia.

Segundo Tenter, Heckeroth e Weiss (2000), diferenças na prevalência da infecção por *T. gondii* podem ser relacionadas ao tipo de manejo, higiene das instalações, densidade de gatos e felídeos selvagens, temperatura, umidade e localização geográfica.

A comparação de prevalências entre trabalhos que utilizam diferentes testes sorológicos com variados pontos de corte não é segura, uma vez que ocorrem diferenças na sensibilidade e especificidade dos testes. Outro parâmetro que pode ser afetado é o valor preditivo do teste, que varia de acordo com a prevalência da população estudada (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999).

A RIFI é um teste bastante utilizado para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e foi o primeiro desenvolvido para *N. caninum*, sendo até hoje considerado padrão ouro para a infecção por este agente (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999; BUXTON, 1998). A utilização de taquizoítos inteiros e a consideração de que a positividade ocorre apenas quando há fluorescência periférica total, buscando-se assim antígenos de superfície, tornam o teste muito específico (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999). Reações cruzadas entre *N. caninum*, *Toxoplasma gondii* e *Sarcocystis* sp parecem ser mínimas (DUBEY et al., 1996a). No entanto, alguns fatores dificultam comparações, mesmo considerando-se trabalhos que utilizaram a RIFI. Os pontos de corte para *T. gondii* e principalmente para *N. caninum* sofrem divergências entre laboratórios ou grupos de pesquisa. O microscópio utilizado e os reagentes e suas diluições, como o conjugado, são outros fatores que podem afetar o resultado. Além

---

disso, a leitura das lâminas depende da interpretação individual de cada pesquisador, fato que acrescenta certa subjetividade ao teste (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999).

Deve-se salientar também que os trabalhos utilizam-se de diferentes amostragens, sendo que alguns obtêm prevalências, enquanto outros a ocorrência, quando a amostra não representa a população. A categoria zootécnica utilizada pode também interferir no resultado. No presente estudo, foram colhidas amostras apenas de ovinos adultos, o que pode ter elevado a prevalência se fosse considerada a população total, já que muitos trabalhos verificaram um aumento da prevalência com a idade (BLEWETT, 1983).

Infelizmente não foi possível a análise dos fatores de risco, pois todas as propriedades foram positivas para *T. gondii* e 87,5% foram positivas para *N. caninum*, significando que as infecções por estes parasitos estão disseminadas nas propriedades da região. Os valores de prevalência para *T. gondii* variaram de 4,76% a 96,55%, sendo maiores que as prevalências de *N. caninum*, que variaram de 0 a 27,78% entre as propriedades. A prevalência de toxoplasmose em ovinos geralmente revela-se alta e normalmente é superior à de bovinos e eqüinos (BLEWETT, 1983). Devido aos vários relatos sobre a importância da toxoplasmose em problemas reprodutivos em ovinos, acredita-se que eles possam ter uma maior suscetibilidade à infecção comparada a outras espécies, além de persistência maior de anticorpos (BLEWETT, 1983). Esteban-Redondo et al. (1999), comparando infecção experimental em ovinos e bovinos, verificaram que o parasita persistiu no tecido dos ovinos, enquanto nos bovinos ele não pôde mais ser detectado 6 semanas após a inoculação. Já em relação à neosporose, parece ocorrer o contrário. Dados de prevalência em ovinos freqüentemente são mais baixos que os

encontrados em bovinos e a doença clínica raramente é relatada em condições naturais, apesar de infecções experimentais facilmente induzirem a falhas reprodutivas.

A prevalência da infecção por *T. gondii* foi significativamente maior em machos que em fêmeas, concordando com Silva et al. (2003). Já Van der Puije et al. (2000) observaram frequência maior entre as fêmeas de ovinos de Gana, enquanto Samad, Rahman e Halder (1993) não observaram diferença entre os sexos em amostras de ovinos, caprinos e bovinos de Bangladesh, assim como Gorman et al. (1999) em amostras ovinas do Chile. Devido às variações encontradas entre os trabalhos e à carência de explicação biológica, é possível que o fator sexo leve a resultados derivados do acaso.

Os títulos de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* variaram de 64 a 65536 e de 50 a 51200, respectivamente. Títulos acima de 1024 podem sugerir infecção recente (MALEY et al., 1997), porém uma única tomada do soro não é suficiente para avaliar o tempo de infecção. Além disso, altos títulos podem permanecer no ovino por muito tempo (BUXTON et al., 1998), como ocorre na hemaglutinação indireta (HAI), dificultando o diagnóstico (BLEWETT; BRYSON; MILLER, 1983). No presente estudo os títulos mais freqüentes anti-*T. gondii* foram 2048 e 1024 e os títulos mais freqüentes anti-*N. caninum* foram 50 e 1600. Figliuolo et al. (2004) observaram uma frequência maior em títulos mais baixos (64 e 1024) para *T. gondii* e, para *N. caninum*, os títulos mais freqüentes foram 50, 200 e 100.

Em apenas um dos cérebros de ovino de uma das propriedades da região foi detectado *T. gondii* por PCR, sendo que a amostra era de tipo I. Estudos observaram um predomínio do tipo I em humanos com toxoplasmose congênita (HOWE et al., 1997; HOWE; SIBLEY, 1995), sinalizando um possível potencial

zoonótico, já que o consumo de carne ovina vem aumentando recentemente. Amostras de tipo I são consideradas extremamente virulentas para camundongos, enquanto as de tipo II estariam mais relacionadas com toxoplasmose em humanos imunodeprimidos e o tipo III seria bastante frequente em animais (HOWE et al., 1997; HOWE; SIBLEY, 1995),

No Brasil apenas os tipos I e III foram encontrados em animais, com alta frequência do tipo I (DUBEY et al., 2002b; PENA, 2004; SILVA et al., 2005).

## 7 CONCLUSÕES

- as infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* estão presentes e disseminadas entre os rebanhos comerciais de ovinos do Distrito Federal;
- a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* é mais alta que a de anticorpos anti-*Neospora caninum* na região;
- as infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* podem ocorrer simultaneamente num mesmo animal, gerando a necessidade de diagnóstico diferencial;
- *T. gondii* tipo I está presente em uma das propriedades da região.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D. P.; RODRIGUES, A. A. R.; CAVALCANTE, G. T.; LABRUNA, M. B.; GENNARI, S. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, RO, Amazônia Ocidental brasileira. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 616-618, 2004. Suplemento. Trabalho apresentado à 17. Reunião Anual do Instituto Biológico, São Paulo, 2004 – Resumo n. 277.
- ALMERIA, S.; FERRER, D.; PABON, M.; CASTELLA, J.; MANAS, S. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 107, n. 4, p. 287-294, 2002.
- ANDERSON, M. L.; BARR, B. C.; CONRAD, P. A. Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. **Veterinary Clinics of North America**, v. 10, n. 3, p. 439-461, 1994.
- ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; BARR, B. C.; 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 American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 2, p. 241-244, 1991.
- AUSUBEL, F. M.; BRENT, R.; KINGSTON, R. E.; MOORE, D. P.; SEIDMAN, J. G.; SMITH, J. A.; ATRUHL, K. **Short protocols in molecular biology**. 3. ed. New York: Wiley, 1995. 750 p.
- BARLING, K. S.; MCNEILL, J. W.; THOMPSON, J. A.; PASCHAL, J. C.; MCCOLLUM III, F. T.; CRAIG, T.; ADAMS, L. G. Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 9, p. 1356-1360, 2000.
- BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; SVERLOW, K. W.; TARANTAL, A. F.; HENDRICKX, A. G. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. **Laboratory Investigation**, v. 71, n. 2, p. 236-242, 1994.
- BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum* associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology**, v. 52, n. 2, p. 247-257, 1999.
- BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; HILL, D. E.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; DUBEY, J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 3, p. 612-618, 2001.
- BENNETT, S.; WOODS, T.; LIYANAGE, W. M.; SMITH, D. L. A simplified general method for cluster-sample surveys of health in developing countries. **World Health Quarterly Rapport Trimestriel de Sanitaires Mondiales**, v. 44, n. 3, p. 98-106, 1991.

- BEVERLEY, J. K. A.; HUTCHISON, W. M.; ALLSUP, T. N.; SPENCE, J. B.; WATSON, W. A. Studies on the spread of *Toxoplasma gondii* to sheep. **British Veterinary Journal**, v. 131, n. 2, p. 130-136, 1975.
- BEVERLEY, J. K. A.; WATSON, W. A. Prevention of experimental and of naturally occurring ovine abortion due to toxoplasmosis. **The Veterinary Record**, v. 88, n. 2, p. 39-41, 1971.
- BEVERLEY, J. K. A.; WATSON, W. A.; PAYNE, J. M. The pathology of the placenta in ovine abortion due to toxoplasmosis. **The Veterinary Record**, v. 88, n. 5, p. 124-128, 1971.
- BEVERLEY, J. K. A.; WATSON, W. A.; SPENCE, J. B. The pathology of the foetus in ovine abortion due to toxoplasmosis. **The Veterinary Record**, v. 88, n. 7, p. 174-178, 1971.
- BIELSA, J. M.; ROMERO, J. J.; HEUER, C. Controle de neosporose em bovinos com Bovilis® Neoguard: a experiência de campo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 34-37, 2004. Suplemento 1.
- BJERKÅS, I.; DUBEY, J. P. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the *Toxoplasma*-like parasite of Norwegian dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 32, n. 3, p. 407-410, 1991.
- BJERKÅS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984.
- BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1497-1507, 1999.
- BLACK, M. W.; BOOTHROYD, J. C. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, n. 3, p. 607-623, 2000.
- BLEWETT, D. A. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. I. The interpretation of data for the prevalence of antibody in sheep and other host species. **British Veterinary Journal**, v. 139, n. 6, p. 537-545, 1983.
- BLEWETT, D. A.; BRYSON, C. E.; MILLER, J. K. Studies of antibody titres in experimentally induced ovine toxoplasmosis. **Research in Veterinary Science**, v. 34, n. 2, p. 163-166, 1983.
- BLEWETT, D. A.; MILLER, J. K.; BUXTON, D. Response of immune and susceptible ewes to infection with *Toxoplasma gondii*. **The Veterinary Record**, v. 111, n. 9, p. 175-177, 1982.
- BLEWETT, D. A.; TREES, A. J. The epidemiology of ovine toxoplasmosis with especial respect to control. **British Veterinary Journal**, v. 143, n. 2, p. 128-135, 1987.

BLEWETT, D. A.; WATSON, W. A. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. III. Observations on outbreaks of clinical toxoplasmosis in relation to possible mechanisms of transmission. **British Veterinary Journal**, v. 140, n. 1, p. 54-63, 1984.

BLEWETT, D. A.; WATSON, W. A. The epidemiology of ovine toxoplasmosis. II. Possible sources of infection in outbreaks of clinical disease. **British Veterinary Journal**, v. 139, n. 6, p. 546-555, 1983.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K. da; BORTOLIERO, A. L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, n. 1, p. 21-25, 1997.

BRAUTIGAM, F. E.; HIETALA, S. K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PAN-AMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15., 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: Associação Pan-americana de Ciências Veterinárias, 1996. p. 284.

BUXTON, D. Protozoan infections (*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis* spp) in sheep and goats: recent advances. **Veterinary Research**, v. 29, n. 3-4, p. 289-310, 1998.

BUXTON, D.; FINLAYSON, J. Experimental infection of pregnant sheep with *Toxoplasma gondii*: pathological and immunological observations on the placenta and foetus. **Journal of Comparative Pathology**, v. 96, n. 3, p. 319-333, 1986.

BUXTON, D.; MALEY, S. W.; THOMSON, K. M.; TREES, A. J.; INNES, E. A. Experimental infection of non-pregnant and pregnant sheep with *Neospora caninum*. **Journal of Comparative Pathology**, v. 117, n. 1, p. 1-16, 1997.

BUXTON, D.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S.; THOMSON, K. M.; RAE, A. G.; INNES, E. A. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v. 118, n. 4, p. 267-279, 1998.

BUXTON, D.; REID, H. W.; FINLAYSON, J.; POW, I.; ANDERSON, I. Immunosuppression in toxoplasmosis: studies in sheep with vaccines for chlamydial abortion and louping-ill virus. **The Veterinary Record**, v. 109, n. 25-26, p. 559-561, 1981.

BUXTON, D.; WRIGHT, S.; MALEY, S. W.; RAE, A. G.; LUNDÉN, A.; INNES, E. A. Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. **Parasite Immunology**, v. 23, n. 2, p. 85-91, 2001.

CAMARGO, M.E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v.10, p.143-169, 1974.

CANNON, R. M.; ROE, R. T. **Livestock disease surveys: a field manual for veterinarians**. Canberra: Australian Government Publishing Service, 1982. 35 p.

- CAVALCANTE, G. T.; AGUIAR, D. M.; CHIEBAO, D. P.; MEIRELES, L. R.; ANDRADE JR., H. F.; CAMARGO, L. M. A.; LABRUNA, M. B.; RUIZ, V. L. A.; GENNARI, S. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em humanos e animais domésticos da zona rural do município de Monte Negro, Rondônia. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 217, 2004. Suplemento 1. Trabalho apresentado ao 13. Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Ouro Preto, 2004 – Resumo n. 44.
- CHIARI, C. A.; NEVES, D. P. Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 79, n. 3, p. 337-340, 1984.
- 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, pt. 3, p. 239-249, 1993.
- 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, n. 10, p. 1683-1689, 1999a.
- DAVISON, H. C.; OTTER, A.; TREES, A. J. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 8, p. 1189-1194, 1999b.
- DUBEY, J. P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 3, p. 410-415, 1995.
- DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999.
- DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 41, n. 1, p. 1-16, 2003.
- DUBEY, J. P. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 259-262, 1990.
- DUBEY, J. P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v. 64, n. 1-2, p. 65-70, 1996.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis: a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1-2, p. 57-72, 2004.
- DUBEY, J. P.; ACLAND, H. M.; HAMIR, A. N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. **The Journal of Parasitology**, v. 78, n. 3, p. 532-534, 1992.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKÄS, 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 coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 929-946, 2002a.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton, Florida: CRC Press, 1988. 220 p.

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

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **Journal of Protozoology**, v. 19, n. 1, p. 155-177, 1972.

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 characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2002b.

DUBEY, J. P.; HARTLEY, W. J.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. **The Journal of Parasitology**, v. 76, n. 1, p. 127-130, 1990a.

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 American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 10, p. 1259-1263, 1988b.

DUBEY, J. P.; KIRKBRIDE, C. A. Epizootics of ovine abortion due to *Toxoplasma gondii* in north central United States. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 184, n. 6, p. 657-660, 1984.

DUBEY, J. P.; KIRKBRIDE, C. A. Toxoplasmosis and other causes of abortions in sheep from north central United States. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 287-290, 1990.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis, **Veterinary Parasitology**, v. 67, n. 1-2, 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.; LINDSAY, D. S.; ADAMS, D. S.; GAY, J. M.; BAZZLER, T. V.; BLAGBURN, B. L.; THULLIEZ, P. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 3, p. 329-336, 1996a.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; LIPSCOMB, T. P. Neosporosis in cats. **Veterinary Pathology**, v. 27, n. 5, p. 335-339, 1990.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.
- DUBEY, J. P.; MILLER, S.; POWELL, E. C.; ANDERSON, W. R. Epizootiologic investigations on a sheep farm with *Toxoplasma gondii*-induced abortions. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 188, n. 2, p. 155-158, 1986.
- DUBEY, J. P.; RIGOULET, J.; LAGOURETTE, P.; GEORGE, C.; LONGEART, L.; LENET, J. L. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). **The Journal of Parasitology**, v. 82, n. 2, p. 338-339, 1996b.
- DUBEY, J. P.; SCHMITZ, J. A. Abortion associated with toxoplasmosis in sheep in Oregon. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 178, n. 7, p. 675-678, 1981.
- DUBEY, J. P.; SONN, R. J.; HEDSTROM, O.; SNYDER, S. P.; LASSEN, E. D. Serologic and histologic diagnosis of toxoplasmic abortions in sheep in Oregon. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 291-294, 1990b.
- DUNCANSON, P.; TERRY, R. S.; SMITH, J. E.; HIDE, G. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 14, p. 1699-1703, 2001.
- EMATER. **A EMATER-DF. Onde atuamos**. Disponível em: <<http://www.emater.df.gov.br/>>. Acesso em: 31 out 2005.
- ESTEBAN-REDONDO, I.; MALEY, S. W.; THOMSON, K.; NICOLL, S.; WRIGHT, S.; BUXTON, D.; INNES, E. A. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 3, p. 155-171, 1999.
- FAO. **Statistical Databases. Agricultural Data**. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/faostat/collections?version=ext&hasbulk=0>>. Acesso em: 28 out 2005.
- FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A. M. A.; PAULA, V. S. O. de; DIAS, R. A.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3-4, p. 161-166, 2004.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. **Science**, v. 167, n. 919, p. 893-896, 1970.

FREYRE, A.; BONINO, J.; FALCÓN, J.; CASTELLS, D.; CORREA, O.; CASARETTO, A. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v. 81, n. 1, p. 85-88, 1999.

GECOMP-UnB. **Análise econômica da ovinocultura no DF. Sistemas de referência para apoio à tomada de decisão na cadeia produtiva - produtores rurais e frigoríficos**. Brasília: Grupo de Estudos sobre a Competitividade e Sustentabilidade do Agronegócio da Universidade de Brasília, 2004. 83 p. Relatório final.

GHORBANI, M.; HAFIZI, A.; SHEGERFCAR, M. T.; REZAIAN, M.; NADIM, A.; ANWAR, M.; AFSHAR, A. Animal toxoplasmosis in Iran. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 86, n. 2, p. 73-76, 1983.

GONÇALVES, K. N.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; MELLO, H. J. H.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Infecção por *N. caninum* em rebanho ovino do Mato Grosso do Sul. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, p. 223, 2004. Suplemento 1. Trabalho apresentado ao 13. Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Ouro Preto, 2004 – Resumo n. 67.

GONDIM, L. F. P.; BARBOSA JR., H. V.; RIBEIRO FILHO, C. H. A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 273-276, 1999a.

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

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

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, n. 1, 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, n. 1, p. 35, 1999b.

GORMAN, T.; ARANCIBIA, J. P.; LORCA, M.; HIRD, D.; ALCAINO, H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (*Llama pacos*) in Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, n. 3-4, p. 143-149, 1999.

- HARTLEY, W. J.; BRIDGE, P. S. A case of suspected congenital *Toxoplasma* encephalomyelitis in a lamb associated with a spinal cord anomaly. **British Veterinary Journal**, v. 131, n. 4, p. 380-384, 1975.
- HARTLEY, W. J.; JEBSON, J. L.; MCFARLANE, D. New Zealand type II abortion in ewes. **The Australian Veterinary Journal**, v. 30, n. 7, p. 216-218, 1954.
- HASHEMI-FESHARKI, R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. **Veterinary Parasitology**, v. 61, n. 1-2, p. 1-3, 1996.
- HÄSSIG, M.; SAGER, H.; REITT, K.; ZIEGLER, D.; STRABEL, D.; GOTTSTEIN, B. *Neospora caninum* in sheep: a herd case report. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 3, 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, n. 2, p. 187-189, 2002.
- HERNANDEZ, J.; RISCO, C.; DONOVAN, A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 219, n. 5, p. 632-635, 2001.
- HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 8, n. 10, p. 634-640, 2002.
- HOWE, D. K.; HONORÉ, S.; DEROUIN, F.; SIBLEY, L. D. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 35, n. 6, p. 1411-1414, 1997.
- HOWE, D. K.; SIBLEY, L. D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 172, n. 6, p. 1561-1566, 1995.
- HUANG, C. C.; YANG, C. H.; WATANABE, Y.; LIAO, Y. K.; OOI, H. K. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). **Veterinary Research**, v. 35, n. 3, p. 283-290, 2004.
- HUFFMAN, E. M.; KIRK, J. H.; WINWARD, L.; GORHAM, J. R. Relationship of neonatal mortality in lambs to serologic status of the ewe for *Toxoplasma gondii*. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 178, n. 7, p. 679-682, 1981.
- HUTCHISON, W. M. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. **Nature**, v. 206, n. 987, p. 961-962, 1965.
- IBGE. **Bancos de Dados Agregados**. Disponível em:  
<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=20&u1=1&u2=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1>. Acesso em: 28 out 2005.

- INNES, E. A.; ANDRIANARIVO, A. G.; BJÖRKMAN, C.; WILLIAMS, D. J. L.; CONRAD, 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.; BUXTON, D.; MALEY, S.; WRIGHT, S.; MARKS, J.; ESTEBAN, I.; RAE, A.; SCHOCK, A.; WASTLING, J. Neosporosis: aspects of epidemiology and host immune response. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 916, p. 93-101, 2000. Apresentado à 15. Biennial Conference of the Society for Tropical Veterinary Medicine, Key West, Florida, 1999.
- INNES, E. A.; WRIGHT, S. E.; MALEY, S.; RAE, A.; SCHOCK, A.; KIRVAR, E.; BARTLEY, P.; HAMILTON, C.; CAREY, I. M.; BUXTON, D. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 13, p. 1523-1534, 2001.
- JENSEN, L.; JENSEN, T. K.; LIND, P.; HENDRIKSEN, S. A.; UGGLA, A.; BILLE-HANSEN, V. Experimental porcine neosporosis. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**, v. 106, n. 4, p. 475-482, 1998.
- JOLLEY, W. R.; MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A. M.; WILLS, R. A. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 3, p. 251-257, 1999.
- KOBAYASHI, Y.; YAMADA, M.; OMATA, Y.; KOYAMA, T.; SAITO, A.; MATSUDA, T.; OKUYAMA, K.; FUJIMOTO, S.; FURUOKA, H.; MATSUI, T. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 2, p. 434-436, 2001.
- KOYAMA, T.; KOBAYASHI, Y.; OMATA, Y.; YAMADA, M.; FURUOKA, H.; MAEDA, R.; MATSUI, T.; SAITO, A.; MIKAMI, T. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a pregnant sheep. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 6, p. 1486-1488, 2001.
- LANDMANN, J. K.; JILLELLA, D.; O'DONOGHUE, P. J.; MCGOWAN, M. R. Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. **Australian Veterinary Journal**, v. 80, n. 8, p. 502-503, 2002.
- LARSSON, C. E.; JAMRA, L. M. F.; GUIMARÃES, E. C.; PATTOLI, D. B. G.; SILVA, H. L. L. da. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiiana, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 14, n. 4, p. 582-588, 1980.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). **The Journal of Parasitology**, v. 76, n. 3, p. 410-413, 1990.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327-333, 1999.

- LINDSAY, D. S.; STEINBERG, H.; DUBIELZIG, R. R.; SEMRAD, S. D.; KONKLE, D. M.; MILLER, P. E.; BLAGBURN, B. L. Central nervous system neosporosis in a foal. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, n. 4, p. 507-510, 1996.
- 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.
- MALEY, S. W.; THOMSON, K. M.; BOS, H. J.; BUXTON, D. Serological diagnosis of toxoplasmosis in sheep following vaccination and challenge. **The Veterinary Record**, v. 140, n. 21, p. 558-559, 1997.
- MALIK, M. A.; DREESEN, D. W.; DE LA CRUZ, A. Toxoplasmosis in sheep in northeastern United States. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 263-274, 1990.
- MARCA, M. C.; RAMOS, J. J.; LOSTE, A.; SÁEZ, T.; SANZ, M. C. Comparison of indirect immunofluorescent antibody test and modified direct agglutination test methods for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in adult sheep in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 67, n. 1-2, p. 99-103, 1996.
- MARSH, A. E.; BARR, B. C.; MADIGAN, J.; LAKRITZ, J.; NORDHAUSEN, R.; CONRAD, P. A. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 11, p. 1907-1913, 1996.
- MARSH, A. E.; BARR, B. C.; PACKHAM, A. E.; CONRAD, P. A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). **The Journal of Parasitology**, v. 84, n. 5, p. 983-991, 1998.
- MARTIN, S. W., SHOUKRI, M., THORNBURN, M. A. Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 14, n. 1-2, p. 33-43, 1992.
- MASALA, G.; PORCU, R.; MADAU, L.; TANDA, A.; IBBA, B.; SATTA, G.; TOLA, S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 1-2, p. 15-21, 2003.
- MCALLISTER, M. M. A decade of discoveries in veterinary protozoology changes our concept of "subclinical" toxoplasmosis. **Veterinary Parasitology**, v. 132, n. 3-4, p. 241-247, 2005.
- MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.
- MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A. M.; JOLLEY, W. R.; LINDSAY, D. S.; TREES, A. J.; STOBART, R. H. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 6, p. 647-655, 1996.

- MCERLEAN, B. A. Ovine paralysis associated with spinal lesions of toxoplasmosis. **The Veterinary Record**, v. 94, n. 12, p. 264-266, 1974.
- MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, n. 9425, p. 1965-1976, 2004.
- 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, n. 10, p. 1545-1556, 1999.
- NICOLLE, M. M. C.; MANCEAUX, L. Sur un protozoaire nouveau du gondi. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences, Paris**, v. 148, p. 369-372, 1909.
- NICOLLE, M. M. C.; MANCEAUX, L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences, Paris**, v. 147, p. 763-766, 1908.
- NOORDHUIZEN, J. P. T. M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFF, C. M.; GRAAT, E. **Application of quantitative methods in veterinary epidemiology**. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 1997. 430 p.
- O'DONOGHUE, P. J.; RILEY, M. J.; CLARKE, J. F. Serological survey for *Toxoplasma* infections in sheep. **The Australian Veterinary Journal**, v. 64, n. 2, p. 40-45, 1987.
- OTERO, A. R. S.; JESUS, E. E. V. de; SILVA, V. M. G. DA; GONDIM, L. F. P.; ALMEIDA, M. A. O. de. Evidência sorológica da infecção de ovinos por *Neospora caninum* no Estado da Bahia, Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...CD-ROM**.
- OTTER, A.; WILSON, B. W.; SCHOLLES, S. F. E.; JEFFREY, M.; HELMICK, B.; TREES, A. J. Results of a survey to determine whether *Neospora* is a significant cause of ovine abortion in England and Wales. **The Veterinary Record**, v. 140, n. 7, p. 175-177, 1997.
- PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 11, p. 1595-1598, 1998.
- PARÉ, J.; HIETALA, S. K.; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 7, n. 2, p. 273-275, 1995.
- PARÉ, J.; THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1996.

- PENA, H. F. J. **Isolamento e caracterização biológica e genotípica de *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909) de gatos do estado de São Paulo**. 2004. 126 f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.
- PETERS, M.; LÜTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 10, p. 1144-1148, 2001.
- 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.
- PLANT, J. W.; FREEMAN, P.; SAUNDERS, E. Serological survey of the prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in rams in sheep flocks in New South Wales. **The Australian Veterinary Journal**, v. 59, n. 3, p. 87-89, 1982.
- ROBERT, R.; TOURTE-SCHAEFER, C.; KLEIN, F. Lack of evidence of *Neospora* infection in humans. **Parasitology International**, v. 47, p. 374, 1998. Suplemento 1.
- 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, n. 3-4, p. 139-150, 2004.
- ROMANELLI, P. R. **Avaliação soroepidemiológica de *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em ovinos do município de Guarapuava – Paraná**. 2002. 53 f. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, 2002.
- SABIN, A. B. Toxoplasmic encephalitis in children. **Journal of the American Medical Association**, v. 16, p. 801-807, 1941.
- SAMAD, M. A.; RAHMAN, K. B.; HALDER, A. K. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic ruminants in Bangladesh. **Veterinary Parasitology**, v. 47, n. 1-2, p. 157-159, 1993.
- SANDERSON, M. W.; GAY, J. M.; BASZLER, T. V. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. **Veterinary Parasitology**, v. 90, n. 1-2, p. 15-24, 2000.
- SAVIO, E.; NIETO, A. Ovine toxoplasmosis : seroconversion during pregnancy and lamb birth rate in Uruguayan sheep flocks. **Veterinary Parasitology**, v. 60, n. 3-4, p. 241-247, 1995.
- SAWADOGO, P.; HAFID, J.; BELLETE, B.; TRAN MANH SUNG, R.; CHAKDI, M.; FLORI, P.; RABERIN, H.; BENT HAMOUNI, I.; CHAIT, A.; DALAL, A. Seroprevalence of *T. gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. **Veterinary Parasitology**, v. 130, n. 1-2, p. 89-92, 2005.

- SERRANO-MARTINEZ, E.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; RODRIGUEZ-BERTOS, A.; CASAS-ASTOS, E.; ALVAREZ-GARCIA, G.; CHAVEZ-VELASQUEZ, 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.
- SILVA, A. V. da; CUNHA, E. L. P.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R. A.; LANGONI, H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 1, p. 115-119, 2003.
- SILVA, A. V. da; PEZERICO, S. B.; LIMA, V. Y de; MORETTI, L. D.; PINHEIRO, J. P.; TANAKA, E. M.; RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from dogs with neurological signs. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 29-33, 2005.
- SKJERVE, E.; WALDELAND, H.; NESBAKKEN, T.; KAPPERUD, G. Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 35, n. 3, p. 219-227, 1998.
- SPEER, C. A.; DUBEY, J. P. Ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum*. **Journal of Protozoology**, v. 36, n. 5, p. 458-463, 1989.
- 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, n. 10, p. 1509-1519, 1999.
- SPLENDORE, D. A. Un nuovo protozoa parassita de' conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uomo. **Revista Sociedade Scientifica São Paulo**, v. 3, p. 109-112, 1908.
- TEALE, A. J.; BLEWETT, D. A.; MILLER, J.K.; BUXTON, D. Experimentally induced toxoplasmosis in young rams: the clinical syndrome and semen secretion of toxoplasma. **The Veterinary Record**, v. 111, n. 3, p. 53-55, 1982.
- TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1217-1258, 2000.
- TRANAS, J.; HEINZEN, R. A.; WEISS, L. M.; MCALLISTER, M. M. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. **Clinical and Diagnostic Laboratory 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, n. 8, p. 1195-1200, 1999.

- UGGLA, A.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O. J. M.; JAKUBEK, E. B.; THEBO, P.; KINDAHL, H.; BJÖRKMAN, C. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1467-1472, 1998.
- VAN DER PUIJE, W. N. A.; BOSOMPEN, K. M.; CANACOO, E. A.; WASTLING, J. M.; AKANMORI, B. D. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. **Acta Tropica**, v. 76, n. 1, p. 21-26, 2000.
- WATSON, W. A.; BEVERLEY, J. K. A. Ovine abortion due to experimental toxoplasmosis. **The Veterinary Record**, v. 88, n. 2, p. 42-45, 1971.
- WILLIAMS, D. J. L.; GUY, C. S.; SMITH, R. F.; GUY, F.; MCGARRY, J. W.; MCKAY, J. S.; TREES, A. J. First demonstration of protective immunity against foetopathy in cattle with latent *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, v. 33, n. 10, p. 1059-1065, 2003.
- WILLIAMS, J. H.; ESPIE, I.; VAN 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.
- WOUDA, W. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. **The Veterinary Quarterly**, v. 22, n. 2, p. 71-74, 2000.
- WOUDA, W.; BARTELS, C. J. M.; MOEN, A. R. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology**, v. 52, n. 2, p. 233-245, 1999.
- WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A. M. H.; VAN MAANEN, C.; BRINKHOF, J. M. A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1677-1682, 1999.
- WOUDA, W.; MOEN, A. R.; SCHUKKEN, Y. H. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. **Theriogenology**, v. 49, n. 7, p. 1311-1316, 1998.
- ZAFALON, M. Criação e consumo de cordeiro aumentam. **Folha de S. Paulo**, São Paulo, 28 ago 2005. Dinheiro, p. B16.
- ZAKI, M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic animals in Pakistan. **Journal of the Pakistan Medical Association**, v. 45, n. 1, p. 4-5, 1995.

## APÊNDICE A - Questionário epidemiológico

### Identificação

Código da propriedade	Proprietário
Endereço	
Data de visita	Latitude e longitude
Propriedade	

### Perfil Propriedade e Proprietário

1. Início da atividade (ano): \_\_\_\_\_
2. Escolaridade do proprietário: ( ) 1º grau ( ) 2º grau ( ) 3º grau
3. A ovinocultura é a principal atividade: ( ) sim ( ) não
4. Outras atividades econômicas na propriedade:
  - ( ) avicultura ( ) caprinocultura ( ) bovinocultura de leite
  - ( ) bovinocultura de corte ( ) equinocultura ( ) agricultura
5. Área total da propriedade em hectares: \_\_\_\_\_
6. Área ocupada pela ovinocultura em hectares: \_\_\_\_\_

### Exploração

1. Raça predominante: ( ) Santa Inês ( ) Cruza Santa Inês  
Outras \_\_\_\_\_
2. Tipo de exploração: ( ) corte ( ) lã
3. Tipo de criação: ( ) confinado ( ) semi-confinado ( ) extensivo
4. Qual a idade de descarte das matrizes?
5. Qual a idade de descarte do macho?
6. Número de animais: \_\_\_\_\_
- 6.1. Reprodutores: \_\_\_\_\_
- 6.2. Matrizes: \_\_\_\_\_
- 6.3. Crias: \_\_\_\_\_
7. Presença de outros animais na propriedade
  - 7.1. Bovinos: ( ) sim ( ) não
  - 7.2. Eqüinos: ( ) sim ( ) não
  - 7.3. Suínos: ( ) sim ( ) não

- 7.4. Cães: ( ) sim ( ) não
- 7.5. Gatos: ( ) sim ( ) não
- 7.6. Cabras: ( ) sim ( ) não
8. Possui instalações específicas para a atividade: ( ) sim ( ) não
9. Número de apriscos: \_\_\_\_\_
10. Número de cabeças por aprisco: \_\_\_\_\_
11. Aspectos construtivos do aprisco: \_\_\_\_\_
- 11.1 Piso: \_\_\_\_\_
- 11.2 Estrutura: \_\_\_\_\_
- 11.3 Cobertura: \_\_\_\_\_
12. Faz algum tipo de seleção dos animais: ( ) sim ( ) não
- 12.1. Qual tipo de seleção: ( ) por produção ( ) sanitária ( ) reprodução

### Comércio

1. Compra de reprodutores: ( ) exposição ou feiras ( ) leilões ( ) fazendas
2. Compra de matrizes: ( ) exposição ou feiras ( ) leilões ( ) fazendas ( )  
( ) próprias
3. Origem dos machos: \_\_\_\_\_
4. Origem das fêmeas: \_\_\_\_\_
5. Venda de reprodutores: ( ) exposição ou feiras ( ) leilões ( ) fazendas
6. Venda de matrizes: ( ) exposição ou feiras ( ) leilões ( ) fazendas

### Pastos

1. Aluga pasto de terceiros: ( ) sim ( ) não
2. Aluga pasto para terceiros: ( ) sim ( ) não
3. Compartilha pasto com terceiros: ( ) sim ( ) não
4. Divide pasto com outra espécie animal? ( ) sim Qual? \_\_\_\_\_ ( ) não
5. Existe piquete maternidade: ( ) sim ( ) não
6. Separa os animais por categoria: ( ) sim ( ) não
- 6.1. Quais categorias?  
\_\_\_\_\_
7. Faz rotação de pastos: ( ) sim ( ) não
8. Existem áreas alagadiças que os animais tem acesso: ( ) sim ( ) não

9. Número de animais por hectare: \_\_\_\_\_
10. Há reserva de mata / cerrado na propriedade: ( ) sim ( ) não

### **Sanidade**

1. Vacina regularmente contra qual doença (Manqueira; Gangrena gasosa; Botulismo; Enterotoxemia; Tetano; Pneumonia; Raiva; Outras)
2. Usa anti-parasitário: ( ) sim ( ) não
3. Usa carrapaticida: ( ) sim ( ) não
4. Fornecimento de água aos animais:  
( ) rio ( ) açude ( ) bebedouro ( ) cacimba ( ) poço
5. Possui assistência técnica: ( ) sim ( ) não
- 5.1. Qual a formação:  
( ) veterinário ( ) zootecnista ( ) agrônomo ( ) técnico agrícola
6. Qual o destino das carcaças dos animais mortos na propriedade:  
( ) deixa no pasto ( ) incinera/enterra
7. Fornece colostro aos animais ( ) sim ( ) não

### **Manejo reprodutivo**

1. Divide machos por grupo de fêmeas: ( ) sim ( ) não
- 1.1. Qual relação macho/fêmea: \_\_\_\_\_
2. Tem notado problemas de fertilidade nas fêmeas: ( ) sim ( ) não
- 2.1. Quais: ( ) repetição de cio ( ) intervalo entre partos aumentado
3. Tem notado problema de fertilidade nos machos: ( ) sim ( ) não
4. Faz espermograma do sêmen: ( ) sim ( ) não
5. Faz diagnóstico de prenhez: ( ) sim ( ) não
- 5.1. Qual o método de diagnóstico? \_\_\_\_\_
6. Algum animal abortou nos últimos 12 meses: ( ) sim ( ) não
7. O que faz com o feto e placenta: ( ) deixa no pasto ( ) enterra ( ) incinera
8. Usa de estação de monta: ( ) sim ( ) não
9. Empresta reprodutores? ( ) sim ( ) não
10. Usa reprodutores emprestados de outro criador: ( ) sim ( ) não

**Índices produtivos**

1. Taxa de natalidade:
2. Taxa de mortalidade
  - 2.1. Até 4 dias: \_\_\_\_\_
  - 2.2. Até desmame: \_\_\_\_\_
  - 2.3. Matrizes: \_\_\_\_\_
3. Idade da primeira cobertura: \_\_\_\_\_
4. Freqüência de natimorto: \_\_\_\_\_
5. Idade de desmame: \_\_\_\_\_
6. Idade ao 1º parto: \_\_\_\_\_