

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA
BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Roberto Alves Bezerra

AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO TRANSPLACENTÁRIA DE *Neospora caninum* EM
OVINOS NATURALMENTE INFECTADOS NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA

SOUSA-PB

2019

Roberto Alves Bezerra

AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO TRANSPLACENTÁRIA DE *Neospora caninum* EM
OVINOS NATURALMENTE INFECTADOS NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte das exigências
para a conclusão do Curso de
Graduação de Bacharelado em
Medicina Veterinária do Instituto
Federal da Paraíba, Campus Sousa.

Professora orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Thais Ferreira Feitosa

SOUSA-PB

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Edgreyce Bezerra dos Santos – Bibliotecária CRB 15/586

B574a Bezerra, Roberto Alves.
Avaliação da transmissão transplacentária de *Neospora caninum* em ovinos naturalmente infectados no semiárido da Paraíba / Roberto Alves Bezerra – Sousa, PB : O Autor, 2019.
32 p.
Orientadora: Dra. Thais Ferreira Feitosa.

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao
Curso Superior de Bacharelado em Medicina Veterinária
do IFPB – Sousa.
– Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia
da Paraíba.

1 Ovinocultura. 2. *Neospora caninum*. I. Título. II. Autor.

IFPB Sousa / BC

CDU – 636.3



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA
CAMPUS SOUSA

CURSO SUPERIOR DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

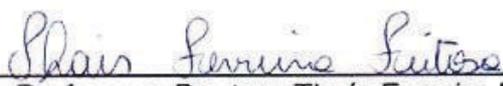
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: *Avaliação da transmissão transplacentária de Neospora caninum em ovinos naturalmente infectados no Semiárido da Paraíba*

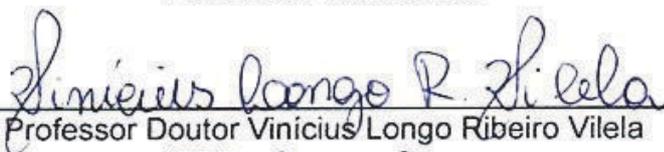
Autor: Roberto Alves Bezerra

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

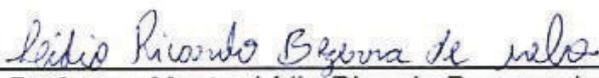
Aprovado pela Comissão Examinadora em: 12/12/2019.



Professora Doutora Thaís Ferreira Feitosa
IFPB – Campus Sousa
Professora Orientadora



Professor Doutor Vinícius Longo Ribeiro Vilela
IFPB – Campus Sousa
Examinador 1



Professor Mestre Lídio Ricardo Bezerra de Melo
IFPB – Campus Sousa
Examinador 2

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, força de vontade e coragem para superar todos os desafios me proporcionando chegar até aqui.

A minha família, especialmente aos meus pais, Sônia e Paulo, por todo apoio, carinho, paciência e compreensão. Que foram durante todos esses anos longe grandes exemplos de inspiração.

A minha irmã Márcia, mesmo diante de todas as divergências, sempre soube de sua torcida pela minha vitória. Aos seus filhos e queridos sobrinhos Pedro e Maria.

Aos meus avós Antônio Feitosa (*in memorian*), Raimunda Rodrigues (*in memorian*), Maria Alves.

A minha prima querida, Eliana, por sempre acreditar em meu potencial, pela amizade e companheirismo de sempre.

Aos meus grandes amigos, Cidinha, Livinha, Túlio, Dna. Lindete, Sr. Vavá, João Batista, Paulo Wbiratan, pelo apoio de sempre.

Aos amigos que encontrei durante toda essa trajetória, em especial, Kaio, Hermano, Matheus, Emerson, Jorge, Gilderlândio que compõem o grupo veterinando.

A equipe dos laboratórios LIDIC e LPV, Larissa, Juliana, Wlysse, Felipe e os demais, pelas inúmeras ajudas em coletas dos Projetos de Pesquisa que desenvolvemos.

Aos professores Thais Feitosa e Vinícius Longo por me orientarem durante minha formação acadêmica, em especial a Profa. Thais pela imensa ajuda e orientação nesse trabalho de conclusão, sempre de forma excepcional, sendo além de orientadores, grandes amigos e conselheiros.

A todos meus professores da graduação por todos os ensinamentos no decorrer do curso.

Aos funcionários do Hospital Veterinário do Adílio Santos de Azevedo, pelo apoio e amizade de sempre, que tive o prazer de conviver.

A todos os colegas que participaram comigo e que estão sempre presentes, e a todos os meus amigos que tenho grande estima por todos.

"A coisa mais bela que o homem pode experimentar é o mistério. É esta a emoção fundamental que está na raiz de toda ciência e arte. O homem que desconhece esse encanto, incapaz de sentir admiração e estupefação, já está, por assim dizer, morto, e tem os olhos extintos."

(Albert Einstein)

RESUMO: A ovinocultura é uma relevante atividade para pecuária no Nordeste brasileiro. Como toda atividade pecuária, a ovinocultura deve apresentar alta produtividade e, dentre os fatores que implicam na produtividade do rebanho, a eficácia reprodutiva é um dos mais importantes. Um importante agente infeccioso que pode desencadear falhas reprodutivas, transmissão vertical e abortos em ruminantes é o *Neospora caninum*. Portanto, o objetivo dessa pesquisa foi observar a ocorrência da transmissão transplacentária desse protozoário em ovelhas naturalmente infectadas no Semiárido paraibano. O estudo foi realizado na região do Semiárido paraibano. Foram selecionadas 55 matrizes no estágio final da gestação para obtenção do soro sanguíneo e realização de testes sorológicos para anticorpos anti-*N. caninum*. Essas matrizes foram acompanhadas a cada 60 minutos, 24 horas por dia, até o nascimento de suas crias, para serem realizadas as coletas de sangue dos filhos antes dos mesmos ingerirem o colostro. O teste sorológico utilizado foi a Reação de Imunofluorescência Indireta com ponto de corte de 1:50 para as matrizes e 1:25 para os neonatos. Observou-se que 34,54% das ovelhas foram positivas para anticorpos anti-*N. caninum*. Os títulos anticorpos das matrizes positivas foram entre 50 a 12.800. Foi verificada a ocorrência de 31,57% de transmissão transplacentária dos partos ocorridos de mães positivas. Os recém-nascidos positivos na coleta pré-colostral demonstraram variação dos títulos de IgG entre 50 e 3.200. Este é o primeiro estudo avaliando a transmissão transplacentária de *N. caninum* em ovelhas naturalmente infectadas no Semiárido brasileiro. Concluiu-se que a infecção por *N. caninum* está presente na espécie ovina no Semiárido brasileiro e que ocorre a transmissão transplacentária frequentemente em ovelhas naturalmente infectadas.

Palavras-chave: Neosporose. Ovinocultura. RIFI. Transmissão Vertical.

ABSTRACT: Sheep farming is a relevant activity for livestock in the Brazilian Northeast. Like all livestock activities, sheep production must have high productivity and, among the factors that imply herd productivity, reproductive efficiency is one of the most important. An important infectious agent that can trigger reproductive failure, vertical transmission and abortion in ruminants is *Neospora caninum*. Therefore, the objective of this research was to observe the occurrence of transplacental transmission of this protozoan in naturally infected sheep in the Paraiban Semiarid. The study was conducted in the Paraíba semiarid region. Fifty-five mothers were selected at the final stage of pregnancy to obtain blood serum and serological tests for anti-*N. caninum* antibodies. These mothers were followed every 60 minutes, 24 hours a day, until the birth of their offspring, to collect blood from their children before they ingested colostrum. The serological test used was the Indirect Immunofluorescence Reaction with a cutoff of 1:50 for the mothers and 1:25 for the newborns. 34.54% of the sheep were found to be positive for anti-*N. caninum* antibodies. Antibody titers of positive matrices were between 50 and 12,800. The occurrence of 31.57% of transplacental transmission of deliveries of positive mothers was verified. Positive newborns in pre-colostral collection showed a variation of IgG titers between 50 and 3,200. This is the first study evaluating the transplacental transmission of *N. caninum* in naturally infected sheep in the Brazilian semiarid. It was concluded that *N. caninum* infection is present in sheep in the Brazilian semiarid region and that transplacental transmission occurs frequently in naturally infected sheep.

Keywords: Neosporosis. Sheep farming. IFI. Vertical Transmission.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Ciclo de vida de <i>N. caninum</i> em ovinos.....	16
Figura 2 - Reação de imunofluorescência indireta para detecção de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> . A. Controle positivo. B. Controle negativo, aumento de 400X.....	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequência de anticorpos IgG ovino anti- <i>N. caninum</i> das matrizes positivas e dos neonatos, realizada através da RIFI, com titulação $\geq 1:50$ para as matrizes e titulação $\geq 1:25$ para os cordeiros.....	24
Tabela 2 – Ocorrência de anticorpos IgG anti- <i>N. caninum</i> em cordeiros nascidos de matrizes positivas ou negativas avaliadas quanto a infecção por <i>N. caninum</i> , realizada através da RIFI (Titulação $\geq 1:25$).....	25

LISTA DE ABREVIATURAS

HI	Hospedeiro intermediário
HD	Hospedeiro definitivo
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
PCR	Reação de Cadeia em Polimerase
IHQ	Imuno-histoquímica
ELISA	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
ME	Microscopia Eletrônica
Min	Minutos
PBS	Tampão Fosfato Salino
IgG	Imunoglobulina G
<i>N. caninum</i>	<i>Neospora caninum</i>
spp.	Espécies
IL	Interleucina
INF γ	Interferon gama
Th1 e Th2	Linfócitos T helper 1 e Linfócitos T helper 2
TNF α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor beta</i> (Fator Transformador de Crescimento beta)
xG	Unidades de gravidade
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido

LISTA DE SÍMBOLOS

μL	Microlitros
g	Gramas
%	Por cento
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
mL	Mililitros
μm	Micrômetros
\geq	Maior ou igual a
®	Marca registrada
mg	Miligrama
kg	Quilograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
2.1. Ovinocultura no Brasil	15
2.2. Aspectos gerais da neosporose em ovinos	15
2.3. Ciclo Biológico	16
2.4. Epidemiologia de <i>N. caninum</i> no Nordeste brasileiro	17
2.5. Imunidade ovina ao <i>N. caninum</i>	17
2.6. Reação de Imunofluorescência Indireta	18
3. MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1. Delineamento experimental	20
3.2. Colheita das amostras de sangue	20
3.3. Exame sorológico	21
3.4. Avaliação da transmissão vertical	22
3.5. Análise dos dados	22
4. RESULTADOS E DUSCUSSÃO	23
5. CONCLUSÃO	27
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	28

1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura no nordeste brasileiro é uma relevante atividade para produção de alimentos, geração de emprego e renda, possuindo elevada importância cultural, social e econômica para a região. Essa importância é atribuída a boa adaptabilidade dos ovinos aos ecossistemas locais, o que torna essa atividade pecuária muito frequente nessa região.

Como toda atividade pecuária, a ovinocultura deve apresentar alta produtividade, para ser uma atividade rentável. Dentre os fatores que implicam na produtividade do rebanho, a eficácia reprodutiva está entre um dos mais importantes. O aborto, assim como a perda da habilidade de ovulação e distúrbios na manutenção da gestação tem sido relacionado como importantes irregularidades reprodutivas capazes de causar prejuízos econômicas na ovinocultura, esses distúrbios são associados principalmente a doenças infecciosas (PINHEIRO et al., 2000). Neste contexto o *Neospora caninum* é um importante agente infeccioso que pode desencadear abortos e/ou falhas reprodutivas em ruminantes. Sua transmissão ocorre através da ingestão do oocisto liberado no ambiente pelos hospedeiros definitivos (HD), os canídeos domésticos e silvestres, infectando hospedeiros intermediários (HI) como ovinos, caprinos, bovinos, equinos e os próprios caninos (DUBEY et al., 2007).

Surtos de abortos provocados por *N. caninum* em ovinos foram relatados por Howe et al. (2011) na Nova Zelândia, no qual 13% das amostras teciduais do cérebro dos fetos avaliados foram positivas quanto a presença desse parasito na Polymerase Chain Reaction (PCR). No Brasil, existe apenas a descrição de um surto de abortos em ovinos devido à neosporose, este ocorreu no estado de Mato Grosso do Sul e foi observado que das 10 fêmeas que abortaram, o protozoário foi detectado em três fetos através da imuno-histoquímica (IHQ) (PINTO et al., 2012).

Animais infectados por *N. caninum* apresentam a capacidade de manter o agente circulando no rebanho entre as gerações, esse fato ocorre através da transmissão vertical. Uma matriz infectada cronicamente por esse coccídeo pode desenvolver a recrudescência da infecção, ocorrendo a reativação do protozoário, conseqüentemente mudança do estágio cístico para o estágio infeccioso, esse fenômeno pode ser explicado pela imunossupressão causada pela gestação. Desta forma, não é necessário que a matriz seja infectada durante a gestação para ocorrer a transmissão vertical para o feto (WILLIAMS et al., 2003). Paré et al. (1996) descreveram que a transmissão congênita pode ser avaliada pela detecção de anticorpos em soro pré-colostral de bezerros recém-nascidos, visto que em ruminantes não ocorre a passagem de

anticorpos da mãe para o feto durante a gestação, devido às características da placenta que é do tipo sindesmocorial.

Existem vários exames que detectam anticorpos séricos específicos para *N. caninum*, o teste imunoenzimático (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay* - ELISA) e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) são os mais utilizados, porém a RIFI é o teste sorológico considerado como padrão ouro (ANDREOTTI et al., 2004), sendo uma alternativa economicamente viável para o diagnóstico sorológico de anticorpos anti-*N. caninum* apresentando um tempo relativamente baixo para a execução da técnica.

Estudos para avaliar a transmissão vertical de *N. caninum* em ovinos naturalmente infectados ainda são bastante escassos. Portanto, objetivou-se com essa pesquisa observar a ocorrência da transmissão transplacentária desse protozoário em ovelhas naturalmente infectadas no Semiárido paraibano.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Ovinocultura no Brasil

O desenvolvimento da cadeia produtiva de ovinos no Brasil se apresenta como uma importante ferramenta no agronegócio, proporcionando geração de renda, além de matéria prima de qualidade tais como lã, carne e leite. O Brasil possui 17,98 milhões de cabeças de ovinos distribuídos por todo o país, a região nordeste se destaca concentrando 64,22% do rebanho, seguido pela região sul com 23,69% e as regiões centro-oeste, norte e sudeste com 4,97%, 3,65% e 3,47% respectivamente (IBGE, 2017).

Na região Nordeste, a ovinocultura é considerada uma forma de subsistência, sendo importante fonte de alimento e de renda para as populações rurais (VASCONCELOS, 2005).

O Estado da Paraíba tem um rebanho de 573.688 ovinos com mais da metade inseridos na zona semiárida, distribuídos em 19.826 propriedades (IBGE, 2017). A grande maioria da criação é caracterizada pelo manejo semi-intensivo, com propriedades possuindo área entre 15 e 40 hectares. Os animais normalmente são criados sem suplementação alimentar e mineral, alimentando-se apenas da vegetação nativa. Os rebanhos têm em média 50 animais, representados por animais rústicos como ovinos da raça Santa Inês e mestiços. A maior parte dos produtores tem a ovinocultura para subsistência e comercialização, sendo importante fonte de alimento para as populações do meio rural, fornecendo carne e subprodutos (LEITE; SIMPLÍCIO, 2005).

2.2. Aspectos gerais da neosporose em ovinos

A neosporose é uma enfermidade causada pelo protozoário *N. caninum*, sua classificação taxonômica é: Filo: Apicomplexa, Classe: Coccidia, Ordem: Eucoccidiorida, Subordem: Eimeriorina, Família: Sarcocystidae, Gênero: Neospora, Espécie: *N. caninum* (MUGRIDGE et al., 1999; JONES et al., 2000; GOODSWEN et al., 2013).

Historicamente, essa doença foi reconhecida em ovinos por Hartley e Bridge na Inglaterra, no ano de 1975, identificada em um borrego de uma semana de idade que veio a óbito, sendo o *T. gondii* como a principal suspeita. Porém 15 anos depois Dubey et al. (1990) descreveram a ocorrência de um novo agente infeccioso após realizarem uma nova análise do tecido desse cordeiro através do exame de imuno-histoquímica e microscopia eletrônica (ME), descobriram que se tratava de *N. Caninum*.

As principais causas de redução da produtividade em rebanhos ovinos estão associadas especialmente as doenças infectocontagiosas. Dentre essas, destaca-se a neosporose que apesar de ser responsável por abortos e falhas reprodutivas em bovinos de todo o mundo, está constantemente associada a abortos em pequenos ruminantes como se demonstra em alguns estudos (BUXTON et al., 2001; ARRANZ-SOLÍS et al., 2015; PORTO et al., 2016). Além dos abortos, Bishop et al. (2010), na Austrália, descreveram o parasito causando também sinais neurológicos em uma ovelha.

2.3. Ciclo Biológico

A neosporose é causada por um protozoário intracelular obrigatório, (MCALLISTER et al., 1996b). Possui um típico ciclo de vida heteróximo facultativo, envolvendo o HD e uma série de HI (Figura 1) (WILLIAMS et al., 2009). O ciclo de vida de *N. caninum* foi esclarecido por McAllister et al. (1998), após confirmação experimental que os canídeos eliminaram oocistos pelas fezes após ingerirem cistos contidos no encéfalo de camundongos infectados, levando a concluir que o cão doméstico é o principal hospedeiro definitivo.

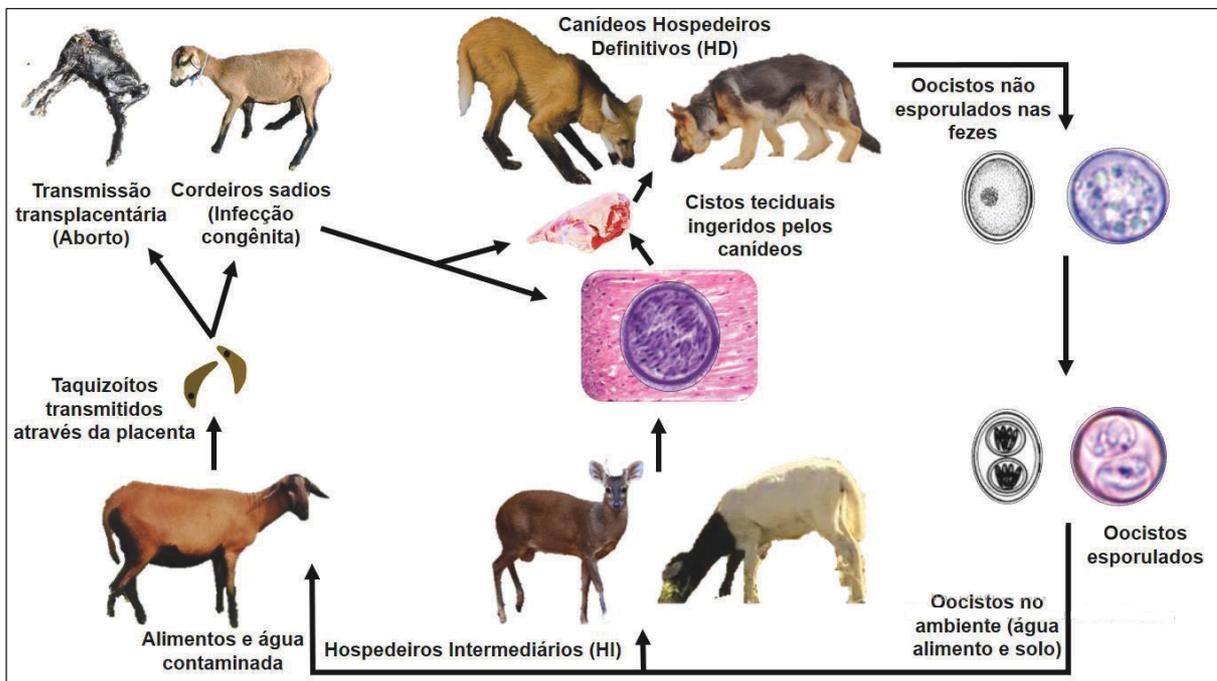


Figura 1 – Ciclo de vida de *N. caninum* em ovinos.

Fonte: Adaptado de Dubey et al. (2003).

Os HIs podem se infectar por *N. caninum* por meio das seguintes formas: transmissão transplacentária, ingestão de tecidos de animais contendo cistos infectantes e ingestão de água

e alimentos contaminados com fezes contendo oocistos esporulados eliminado pelos HD (cães, raposas e coiotes) (GONDIM et al. 2004; DUBEY et al., 2007).

Várias espécies de animais podem servir como HI de *N. caninum*, dentre elas: bovinos, ovinos e caprinos (DUBEY et al., 2007). Nesses animais, o protozoário é capaz de causar abortos, partos prematuros e, ainda as crias que não foram a óbito podem manter o protozoário no rebanho, pois o agente pode ser transmitido da mãe infectada a sua cria, tornando esse animal infectado por transmissão endógena, e esta cria, caso seja fêmea, pode passá-lo à próxima geração (ANDERSON et al., 2000; DUBEY et al., 2007).

2.4. Epidemiologia de *N. caninum* no Nordeste brasileiro

Estudos epidemiológicos realizados através da RIFI no nordeste brasileiro demonstram frequências de anticorpos anti-*N. caninum* variáveis. No estado da Bahia foi investigada a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em ovinos e encontrada uma prevalência de 13,2%, com títulos variando entre 50, e 3200 (ROCHA et al., 2014). No Maranhão verificou-se a ocorrência desse parasito em 4,69% dos animais estudados (MORAES et al., 2011). Já no estado de Sergipe Rizzo et al. (2017) encontrou uma alta prevalência de *N. caninum*, 38,83% em 460 animais, com a titulação de anticorpos variando entre 50 e 6400. Souza Neto et al. (2009) realizaram um estudo de frequência para o protozoário no município de gravatá no Pernambuco, onde encontraram uma frequência de 10,1% nos animais testados, sendo considerado baixo quando comparado aos resultados de Tembue et al. (2011) onde observaram uma frequência de 64,2% no mesmo estado. No estado da Paraíba foi realizado um estudo por Valêncio et al. (2019), onde observaram a prevalência de 20% em ovinos na região do sertão paraibano.

2.5. Imunidade ovina ao *N. caninum*

A patogenia da neosporose, a qual é amplamente estudada na espécie bovina, ainda não se apresenta totalmente esclarecida na espécie ovina. Quinn et al. (2002) sugeriram que fatores imunológicos influenciem nos mecanismos de perda fetal e de transmissão transplacentária para esse protozoário em bovinos.

Na gestação a mãe passa por imunomodulações para possibilitar que o desenvolvimento fetal ocorra, pelo feto se tratar de um "enxerto alógeno". Sabe-se que os hormônios produzidos durante a fase gestacional possuem efeitos imunomoduladores. O mais importante é a progesterona, levando a uma resposta imune do tipo Th2, induzindo a produção de IL-4

(RAGHUPATHY, 1997; QUINN et al., 2002). Alguns estudos apontam que a resposta Th1 mediada por linfócitos CD8⁺ e regulada por citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , IL-12 e TNF- α , é de extrema importância para controle de patógenos intracelulares, ocorrendo feedback negativo durante a gestação diante da resposta Th2 mediada por linfócitos CD4⁺, onde citocinas como IL-4, IL-10 e TGF- β são sintetizadas e prevalecem (WEGMANN et al., 1993). Esse feedback negativo da resposta Th1, durante a gestação é necessário, pois o excesso de IFN- γ na placenta apresenta efeitos prejudiciais para a gestação e comprometer a viabilidade fetal, em contrapartida favorece a proliferação do parasito nos tecidos placentários (ENTRICAN, 2002; INNES, 2007).

Vários estudos com infecções experimentais demonstraram o potencial abortivo que este protozoário tem, Arranz-solís et al. (2015) verificaram que nas ovelhas infectadas experimentalmente no início da gestação ocorreram 100% de morte fetal. Já Buxton et al. (2001), demonstraram resultados de imunidade adquirida em animais que foram desafiados 3 semanas antes da gestação, e no dia 90 durante a gestação. Foi inoculado *N. caninum* em dois grupos compreendendo 12 ovelhas cada, o primeiro grupo não foi inoculado antes da gestação ocorrendo a perda de todos os fetos, no segundo grupo, foi inoculado antes e aos 90 dias de gestação com a mesma dose, observou-se um grau de imunização contra o desafio subsequente, resultando na sobrevivência de nove cordeiros e na morte de sete. Não houve mortes fetais no segundo grupo, embora foi confirmado em amostras sorológicas a transmissão vertical em quatro animais clinicamente normais.

A transmissão transplacentária, pode acontecer de duas formas, exógena ou endógena, ambas podem culminar com o aborto ou com o nascimento de animais infectados congenitamente. A forma exógena ocorre quando a fêmea gestante se infecta através da ingestão de oocistos esporulados encontrados no ambiente, ocasionando em uma posterior fase aguda da doença e transmissão ao feto. Já a transmissão vertical endógena compreende na transmissão fetal a partir da recrudescência da infecção crônica materna, havendo, portanto, reativação dos bradizoítos, forma encistada do parasito, cursando com parasitemia sistêmica (TREES; WILLIAMS, 2005).

2.6. Reação de Imunofluorescência Indireta

A RIFI ocorre pela detecção de anticorpos direcionados aos antígenos da superfície celular dos taquizoítas. Durante o ensaio os anticorpos do soro positivo em teste ligam-se aos antígenos de superfície dos taquizoítas fixados na lâmina. Em seguida é usado o anticorpo

sensibilizado contra o anticorpo da espécie animal em teste conjugado ao isotiocianato de fluoresceína que se liga ao anticorpo positivo em teste (ANDREOTTI et al., 2004). A Reação de Imunofluorescência indireta é um método de diagnóstico amplamente utilizada, tida como teste de referência para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*, apresenta alta sensibilidade e especificidade, sendo considerada como padrão ouro (BJORKMAN; UGGLA, 1999).

Resultados positivos no método da RIFI é indicado pela fluorescência de todo o taquizoíto, nos soros com títulos moderados a elevados. Pires (1987) afirmou que fluorescência reduzida ou apical ocorre nos soros com títulos baixos, e nas reações cruzadas não específicas causadas por infecção com espécies relacionadas, como *Toxoplasma gondii*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa foi desenvolvida no Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba – IFPB, Campus Sousa, Unidade São Gonçalo, com aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IFPB – Sousa, protocolo n°. 23000.001402.2018-64.

Para todas as propriedades que participaram do estudo foram entregues aos proprietários o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE) descrevendo todos os procedimentos que seriam realizados com as matrizes e os neonatos.

3.1. Delineamento experimental

Foram escolhidas cinco propriedades criadoras de ovinos, localizadas na região do Semiárido paraibano. As propriedades escolhidas apresentavam no mínimo 50 ovinos, sendo em sua maioria da Raça Santa Inês, Dorper e sem raça definida. De cada propriedade foram selecionadas e identificadas matrizes que estavam no estágio final da gestação para obtenção do soro sanguíneo e realização de testes sorológicos para anti-*N. caninum*. Foram selecionadas 55 matrizes e encaminhadas para o setor de Ovinocultura do IFPB – Sousa, Unidade São Gonçalo e observadas a cada 60 minutos, 24 horas por dia, até o nascimento das crias para serem realizadas as coletas de sangue dos filhotes antes do mesmo ingerir o colostro, e assim verificar a ocorrência de transmissão transplacentária de *N. caninum*.

Para os diagnósticos de gestação para a inclusão das ovelhas no experimento foi realizado palpação abdominal nas propriedades e exame de ultrassonografia transabdominal, com intuito de avaliar o *status* reprodutivo das matrizes selecionados.

3.2. Colheita das amostras de sangue

De cada matriz selecionada, foi coletado o sangue por venopunção da veia jugular externa, aproximadamente 5 ml. As amostras de sangue foram encaminhadas ao laboratório sob refrigeração e submetidas a centrifugação de 1000 xG por 10 minutos. Após centrifugado o sangue de cada animal, se obteve o soro sanguíneo que foi identificado e acondicionado à temperatura de -20° C, até o momento do exame.

As coletas de sangue dos cordeiros recém-nascidos foram realizadas apenas nos animais que não fizeram a ingestão do colostro e as amostras oriundas desses animais seguiram a mesmo processamento descrito para as matrizes.

3.3. Exame sorológico

Os soros sanguíneos obtidos após o processamento do material coletado foram examinados através da RIFI.

Os exames sorológicos para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*, foram realizados no Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas (LIDIC), localizado no Hospital Veterinário do IFPB – Campus Sousa, unidade - São Gonçalo.

A diluição utilizada como ponto de corte para as matrizes foram de 1:50 (LIMA et al., 2008). Como antígeno foi utilizada a amostra Nc-1 de taquizoítas fixados em lâmina. O soro foi diluído em microplaca de 96 poços, utilizando 3 µL do soro a ser testado e 147 µL de PBS pH 7,2. Após a distribuição das amostras diluídas nas lâminas, estas foram incubadas em estufa (37°C por 30 minutos). Em seguida foram submetidas a três lavagens por imersão de cinco minutos cada, com PBS pH 7,2. Após secagem, a lâmina foi recoberta por 20µL de anticorpos anti-IgG de ovino conjugados ao isotiocinato de fluoresceína (molécula inteira, SIGMA, St. Louis, MO, EUA). O material foi incubado por mais 30 minutos a 37°C em estufa. As lâminas foram novamente lavadas como descrito anteriormente. Após a secagem definitiva das lâminas, foi adicionada glicerina tamponada às mesmas, recobertas com lamínulas e examinadas ao microscópio de fluorescência com emissão de luz ultravioleta (objetiva de 40x) (Figura 2) (DUBEY et al., 1988).

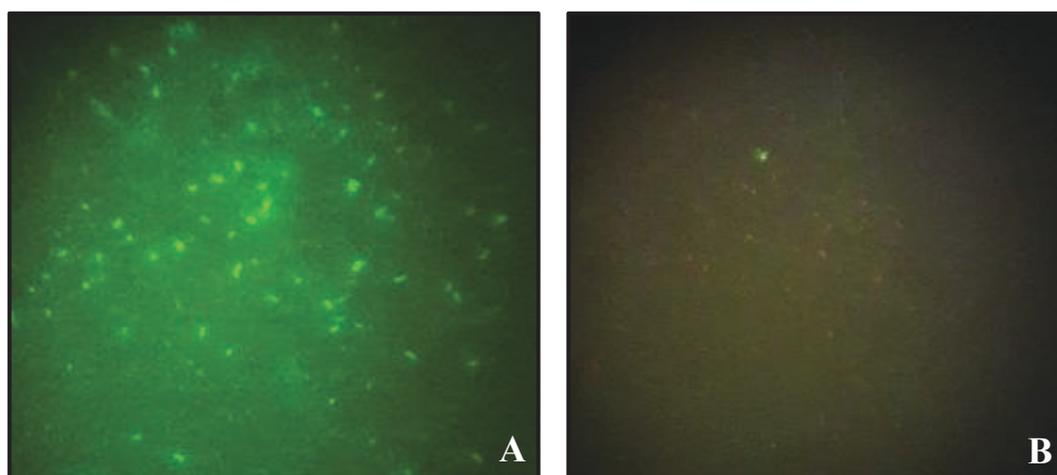


Figura 2 – Reação de imunofluorescência indireta para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*. A. Controle positivo. B. Controle negativo, aumento de 400X.

Fonte: LIDIC/IFPB, 2019.

Em todas as reações foi utilizado soros controles positivo e negativo de ovinos anteriormente testados para a validação da reação. Os soros que se apresentaram positivos foram titulados, sendo submetidos às diluições sequenciais na base dois até a negatificação.

3.4. Avaliação da transmissão vertical

Para avaliação da transmissão vertical, foi utilizado como ponto de corte a diluição de 1:25 para os neonatos que tiveram o sangue colhido antes da ingestão do colostro (ALVAREZ-GARCIA et al., 2003).

Foram considerados positivos no exame sorológico aqueles soros que reagiram nas diluições iguais ou maiores a 1:25 e titulados seguindo a mesma metodologia acima.

3.5. Análise dos dados

Os dados foram tabulados e organizados em planilhas no programa *Microsoft Excel* 2010[®]. A estatística utilizada foi do tipo descritiva, através das frequências relativas e absolutas das variáveis coletadas (THRUSFIELD, 2004).

4. RESULTADOS E DUSCUSSÃO

Das 55 das matrizes monitoradas no estágio final da gestação, detectou-se que 34,54% (19/55) das ovelhas foram positivas na RIFI para anticorpos anti-*N. caninum*. Filho et al. (2017) ao realizarem um estudo sobre *N. caninum* em ovinos naturalmente infectados no estado de Pernambuco, Nordeste brasileiro, encontraram resultados aproximados e observaram uma prevalência de 26,0%. Corroborando com este trabalho, no Mato Grosso do Sul a prevalência encontrada foi de 30,1% e 30,8% (OSHIRO et al., 2008; ANDREOTTI et al., 2009). Já em Minas Gerais, foi realizado um estudo de prevalência por Rossi et al. (2011) e encontrado uma frequência maior, 47,1%.

Os títulos de IgG ovino anti-*N. caninum* das matrizes positivas apresentaram variações de 50 a 12.800 (Tabela 1). McAllister et al. (1996a) avaliaram sorologicamente 24 ovelhas inoculadas experimentalmente, onde obtiveram valores de titulações variando entre 1:400 a 1:12.800, resultados semelhantes aos encontrados no presente estudo. Pivatto (2017) realizou infecção experimental em ovelhas para avaliar a transmissão congênita de *N. caninum*, nos exames sorológicos realizados durante todo o estudo observou-se baixas variações de anticorpos quando comparado ao nosso estudo, compreendendo titulações entre 50 e 800.

Tabela 1 - Frequência de anticorpos IgG ovino anti-*N. caninum* das matrizes positivas e dos neonatos, realizada através da RIFI, com titulação $\geq 1:50$ para as matrizes e titulação $\geq 1:25$ para os cordeiros.

Número da Matriz	Titulação da Matriz	Número da cria	Titulação da Cria*
3	1:50	3	1:400
4	1:50	4	-
5	1:50	5	-
6	1:50	6	-
7**	1:50	7	-
		8	-
8	1:50	9	-
10	1:50	12	-
11	1:50	13	-
12**	1:50	14	-
		15	-
13	1:50	16	-
14	1:50	17	-
17	1:50	20	1:3200
1	1:100	1	1:1600
15	1:100	18	-
18	1:100	21	-
19**	1:100	22	-
		23	-
16	1:400	19	1:1600
9**	1:6400	10	1:200
		11	-
2	1:12800	2	1:50

* Titulação da cria, coleta realizada antes da ingestão do colostro

** Matrizes com partos gemelares

Essa alta variação na titulação de mães positivas pode ser explicada pelo tipo de resposta imune que o animal apresentava no momento da coleta, como é sabido, animais em períodos gestacionais sofrem imunomodulações, sofrendo alteração no tipo de resposta imunológica, sendo mais expressiva a resposta humoral. Como as matrizes avaliadas foram infectadas naturalmente, não se sabia de qual tipo de infecção se tratava, se era uma primo infecção ou uma infecção crônica. Importante destacar que Kashiwazaki et al. (2004) afirmaram que animais com níveis elevados e crescentes de anticorpos podem apresentar riscos maiores de aborto quando comparado a animais com baixos títulos.

Quanto a transmissão transplacentária, foi verificado a ocorrência em 31,57% (06/19) dos partos ocorridos de mães positivas. Quando se observa a quantidade de cordeiros nascidos

de mães positivas, considerando os partos gemelares, 26,08% apresentaram anticorpos contra *N. caninum* (Tabela 2). Nenhum cordeiro filho de mães negativas apresentou-se positivo na RIFI.

Tabela 2 - Ocorrência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em cordeiros nascidos de matrizes positivas ou negativas avaliadas quanto a infecção por *N. caninum*, realizada através da RIFI (Titulação $\geq 1:25$)

Animais	Partos	Positivos	Negativos	Total
Cordeiros nascidos de mães positivas	19	6 (26,08%)	17 (73,92%)	23
Cordeiros nascidos de mães negativas	36	0 (0%)	47 (100%)	47
Total	55	6 (8,57%)	64 (91,43%)	70

Durante o estudo nenhuma ovelha acompanhada abortou e todos os cordeiros nasceram clinicamente saudáveis, pesando entre 2 e 3 kg. Silva (2005) avaliou durante cinco gerações ovelhas deslanadas, infectadas experimentalmente com cepas de *N. caninum* para determinar se as progênes permaneceriam infectadas congenitamente, foi comprovado através da RIFI que todos os animais se apresentaram positivos à infecção durante todas as gerações, sugerindo que em condições naturais pode haver a manutenção da cepa no rebanho sem, no entanto, causar morte fetal. Williams et al. (2009) observaram na espécie bovina, no qual a transmissão transplacentária endógena por *N. caninum* é muito comum e bastante estudada, e que a recrudescência da infecção durante a prenhez não causa danos a gestação e os bezerros nascem clinicamente saudáveis, porém infectados congenitamente.

Este é o primeiro estudo avaliando a transmissão transplacentária de *N. caninum* em ovelhas naturalmente infectadas no Semiárido brasileiro. A taxa de transmissão vertical no presente estudo foi considerada alta, em que todas as matrizes positivas levaram a gestação a termo, sem influência aparente no desempenho reprodutivo. Filho et al. (2017) observaram na RIFI para anticorpos IgG anti-*N. caninum* a taxa de transmissão vertical de 15,4% em soro pré colostrado de dois borregos, com titulação de $\geq 1:25$ para ambos, no referido estudo também não foi observado casos de aborto. Syed-Hussain et al. (2015) avaliaram a taxa de transmissão vertical na segunda cria pós inoculação em cordeiros nascidos de ovelhas inoculadas

experimentalmente, e foi constatado que, nos primeiros nascimentos não houve transmissão congênita, porém na segunda parição, sete dos 11 cordeiros foram positivos para *N. caninum*.

Os recém-nascidos positivos na coleta pré-colostral demonstraram variação dos títulos de IgG entre 50 e 3.200 (Tabela 1). Observou-se que, na maioria das vezes, a titulação dos cordeiros foi superior às das mães. Pivatto (2017) realizou um estudo experimental avaliando a transmissão vertical de *N. caninum* em ovinos, foi inoculado dez ovelhas, no qual seis soroconverteram, ocorrendo a transmissão transplacentária em três cordeiros. Dois borregos apresentaram titulação inferior às das mães, em um borrego verificou-se a titulação maior do que a da sua progenitora com títulos de 1:400 do cordeiro e 1:100 da matriz. Mesmo com número de animais menores, esses resultados divergem dos resultados encontrados nesse estudo, onde a titulação dos borregos se mostraram em quase todos os casos superior a titulação das mães.

Uma matriz, de número nove, apresentou parto gemelar e foi observado que apenas um dos cordeiros o de número dez apresentou infecção transplacentária, com título de 200 para IgG ovino anti-*N. caninum*. Neste caso, há duas hipóteses, primeiramente o neonato negativo poderia estar infectado com o *N. caninum*, mas no início da infecção, com níveis de anticorpos não detectáveis na RIFI. A segunda hipótese pode ser explicada devido aos aspectos fisiológicos dos ruminantes, quando a gestação é gemelar, os dois cornos se desenvolvem paralelamente, contendo um ou mais fetos, cada corno. Neste caso, os dois podem estar isolados por dois córions independentes (KING; ATKINSON, 1987), possibilitando desta forma a infecção de um córion e de outro não.

Observou-se que a transmissão vertical pode ser a principal forma de manutenção do agente nos rebanhos, sendo necessário a análise sorológica desses animais e o descarte posterior dos mesmos. Portanto, estudos envolvendo animais infectados de forma natural são complexos para ser realizados, mas de grande valia, pois são estudos os observacionais que refletem o que realmente ocorre quando não se tem parâmetros controlados.

5. CONCLUSÃO

Concluiu-se que a infecção por *N. caninum* está presente na espécie ovina no Semiárido brasileiro e que ocorre a transmissão transplacentária em ovelhas naturalmente infectadas. Além disso, as matrizes infectadas podem não desenvolver um quadro clínico da doença, porém originam animais infectados congenitamente, permitindo a manutenção da cepa no rebanho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVAREZ-GARCÍA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; COSTAS, E.; REBORDOSA, X.; ORTEGA-MORA, L. M. Influence of age and purpose for testing on the cut-off selection of serological methods in bovine neosporosis. **Veterinary Research**, Berlin / Heidelberg, v. 34, n. 3, p. 341-352, 2003.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60, p. 417-431, 2000.
- ANDREOTTI, R.; MATOS, M. F. C.; OLIVEIRA, J. M.; DITTRICH, R. L. **Teste sorológico de imunofluorescência indireta para o diagnóstico da Neosporose em bovinos**. Comunicado Técnico (Embrapa Gado de Corte. Impresso), Campo Grande - MS, v. 86, p. 1-5, 2004.
- ANDREOTTI, R.; MATOS, M. F.; GONÇALVES, K.; OSHIRO, L.; LIMA-JUNIOR, M.; PAIVA, F.; LEITE, F. Comparison of indirect ELISA based on recombinant protein NcSRS2 and IFAT for detection of *Neospora caninum* antibodies in sheep. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 18, p. 19-22, 2009.
- ARRANZ-SOLÍS, D.; BENAVIDES, J.; REGIDOR-CERRILLO, J.; FUERTES, M.; FERRE, I.; FERRERAS M. C.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; HEMPHILL, A.; PÉREZ V.; ORTEGA-MORA, L.M. Influence of the gestational stage on the clinical course, lesional development and parasite distribution in experimental ovine neosporosis. **Veterinary Research**, Berlin / Heidelberg, v. 46, n. 19, p. 1-13, 2015.
- ARRANZ-SOLÍS, D.; BENAVIDES, J.; REGIDOR-CERRILLO, J.; HORCAJO, P.; CASTAÑO, P.; DEL CARMEN FERRERAS, M.; JIMÉNEZ-PELAYO, L.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; FERRE, F.; HEMPHILL, A.; PÉREZ, V. ORTEGA MORA, L. M. Systemic and local immune responses in sheep after *Neospora caninum* experimental infection at early, mid and late gestation. **Veterinary Research**, Berlin / Heidelberg, v. 47 n.1, 2016.
- BJORKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, p. 1497-1507, 1999.
- BISHOP, S.; KING, J.; WINDSOR, P.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J.; SLAPETA, J. The first report of ovine cerebral neosporosis and evaluation of *Toxoplasma gondii* prevalence in sheep in New South Wales. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 170, n. 1-2, p. 137-142, 2010.
- BUXTON, D.; WRIGHT, S.; MALEY, S. W.; RAE, A. G.; LUNDEN, A.; INNES, E. A. Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. **Parasite Immunology**, v.23, p.85-91, 2001.
- DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **The Korean Journal of Parasitology**, Republic of Korea, v. 41, p. 1-16, 2003.
- DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton, Florida: CRC Press, p. 220, 1988.

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

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

ENTRICAN, G. Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. **Journal of Comparative Pathology**. v. 126, p. 79–94, 2002.

FILHO, P. C. G. A.; OLIVEIRA, J. M. B.; ANDRADE, M. R.; SILVA, J. G.; KIM, P. C. P.; ALMEIDA, J. C.; PORTO, W. J. N.; MOTA, R. A. Incidence and vertical transmission rate of *Neospora caninum* in sheep. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 52, p. 19-22, 2017.

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**, Oxford, v. 34, n. 2, p. 159-161, 2004.

GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, p. 133–150, 2013.

HOWE, L.; COLLETT, M. G.; PATTISON, R. S.; MARSHALL, J.; WEST, D. M.; POMROY, W. E. Potential involvement of *Neospora caninum* in naturally occurring ovine abortions in New Zealand, **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 185, p. 64-71, 2011.

IBGE. Pesquisa Pecuária Municipal 2017. Tabela 3939: efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho, ano 2017. [Rio de Janeiro, 2017e]. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/3939>>. Acesso em: 01 set. 2019.

INNES, E. A. The host-parasite relationship in pregnant cattle infected with *Neospora caninum*. **Parasitology**. v. 134, p. 1903–1910, 2007.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. 6ª ed. Editora Manole, São Paulo, p. 1416, 2000.

KASHIWAZAKI, Y.; GIANNEECHINI, R. E.; LUST, M.; GIL, J. Seroepidemiology of neosporosis in dairy cattle in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 120, p. 139–144, 2004.

KING, G. J.; ATKINSON, B. A. The bovine intercaruncular placenta throughout gestation. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 12, p. 241-254, 1987.

LEITE, E. R.; SIMPLÍCIO, A. A. 2005. Sistema de produção de caprinos e ovinos de corte para o Nordeste brasileiro: Importância econômica. Disponível em <<http://www.cnpc.embrapa.br/importancia.htm>>. Acesso em: 11 ago. 2019.

- LIMA, J. T. R.; AHID, S. M. M.; BARRETO-JÚNIOR, R. A.; PENA, H. F. J.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M.; Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 2, p. 81-86, 2008.
- MCALLISTER, M. M.; HUFFMAN, E. M.; HIETALA, S. K.; CONRAD, P. A.; ANDERSON, M. L.; SALMAN, M. D. Evidence Suggesting a Point Source Exposure in an Outbreak of Bovine Abortion Due to Neosporosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, n. 3, p. 355–357, 1996a.
- 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 Journal**, v. 33, n. 6, p. 647-655, 1996b.
- 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**, Oxford, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.
- MESQUITA, L. P.; NOGUEIRA, C. I.; COSTA, R. C.; ORLANDO, D. R.; BRUHN, F. R. P.; LOPES, P. F. R.; NAKAGAKI, K. Y. R.; PECONICK, A. P.; SEIXAS, J. N.; JÚNIOR, P. S. B.; RAYMUNDO, D. L.; VARASCHIN, M. S. Antibody kinetics in goats and conceptuses naturally infected with *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 196, p. 327–333, 2013.
- MORAES, L. M. B.; RAIMUNDO, J. M.; GUIMARÃES, A.; SANTOS, H. A.; MACEDO-JUNIOR, G. M.; MASSARD, C. L.; MACHADO, R. Z.; BALDANI, C. D. Occurrence of anti-*Neosporacanim* and anti-*Toxoplasma gondii* IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 20, n. 4, p. 312-317, 2011.
- 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**, Oxford, v. 29, p. 1545 – 1556, 1999.
- OSHIRO, L. M.; BARROS, J.C.; GRECCO, B.; GONÇALVES, K. N.; ANDREOTTI, R. Avaliação sorológica para *Neospora caninum* em fêmeas de um rebanho ovino de cria em Campo Grande - Mato Grosso do Sul. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 15, 2008, Curitiba, PR. Anais... Curitiba: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2008. p. 422. Resumo.
- PARÉ, J.; THURMOND, M.; HIETALA, S. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfwood mortality. **Canadian Journal Veterinary Research**, Ottawa, v. 60, p. 133-139. 1996.
- PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F.; HADDAD, J.P.A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte – MG, v. 52, n. 5, p 534-543, 2000.

- PINTO, A. P.; BAHCA, F. B.; SANTOS, B. S.; DRIEMEIER, F.; ANTONIASSI, N. A. B.; RIBAS, N. L. K. S.; LEMOS, R. A. A. Sheep abortion associated with *Toxoplasma gondii* in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 32, p. 739-742, 2012.
- PIRES, P. P. **Aspectos imunoparasitológicos da infecção experimental por *Sarcocystis cruzi* (HASSEIMANN, 1926) (APICOMPIEXA:SARCOSCYSTIDAE) em bovinos.** 1987. 108 p. Tese (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 1987.
- PIVATTO, R. A. ***Neospora caninum*: Infecção experimental em ovelhas e avaliação da possibilidade de transmissão congênita.** 2017. 88 p. Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Lages, 2017.
- PORTO, W. J. N.; CERRILLO, J. R.; KIM, P. C. P.; BENAVIDES, J.; MOTA, R. A.; ORTEGA-MORA, L. M. Experimental caprine neosporosis: the influence of gestational stage on the outcome of infection. **Veterinary Research**, Berlin / Heidelberg, v. 47, p. 1-10, 2016.
- QUINN, H. E.; ELLIS, J. T.; SMITH, N. C. *Neospora caninum*: a cause of immune-mediated failure of pregnancy? **Trends in Parasitology**, v. 18, n.8, p. 391 – 394, 2002.
- RAGHUPATHY, R. Th1-type immunity is incompatible with successful pregnancy. **Immunology Today**, Cambridge, v. 18, n. 10, p. 478-482, 1997.
- RIZZO, H.; JESUS, T. K. S.; GAETA, N. C.; CARVALHO, J. S.; PINHEIRO JUNIOR, J. W.; GREGORY, L.; GENNARI, S. M.; VILLALOBOS, E. M. C. Pesquisa de anticorpos IgG para *Neosporacanimum* e avaliação dos fatores de risco em ovinos do Estado de Sergipe. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 37, p. 813-819, 2017.
- ROCHA, D. S.; GUIMARÃES, L. A.; BEZERRA, R. A.; MENDONÇA, C. E. D.; DÓREA, T. G.; MUNHOZ, A. D.; ALBUQUERQUE, G. R. Seroprevalence and factors associate dwith *Neospora caninum* infection in sheep from southeastern Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, n. 4, v. 36, p. 443-447, 2014.
- ROSSI, G. F.; CABRAL, D. D.; RIBEIRO, D. P.; PAJUABA, A.; CORRÊA, R. R.; MOREIRA, R. Q.; MINEO, T. W. P.; MINEO, J. R.; SILVA, D. A. O. Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil, by different serological methods. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.175, p. 252-259, 2011.
- SILVA, C. H. S. **Estudo da transmissão vertical de *Neospor caninum* em ovelhas deslanadas.** 2005. 55 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Viçosa, 2005.
- SOUZA NETO, O. L.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; SANTOS, A. S.; FERNANDES, E. F. T. S.; FARIA, E. B.; MORAES, E. P. B. X.; RABELO, S. S. A.; SILVA, L. G. S.; MOTA, R. A. Prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e fatores de risco associados à infecção em ovinos no município de Gravatá, Pernambuco, Brasil. In: Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 9, 2009, Recife. Anais... Recife: JEPEX, 2009. Resumo.

SYED-HUSSAIN, S. S.; HOWE, L.; POMROY, W. E.; WEST, D. M.; HARDCASTLE, M.; WILLIAMSON, N. B. Vertical transmission in experimentally infected sheep despite previous inoculation with *Neospora caninum* NcNZ1 isolate. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 208, p. 150–158, 2015.

TEMBUE, A. A.; RAMOS, R. A.; SOUSA, T. R.; ALBUQUERQUE, A. R.; COSTA, A. J.; MEUNIER, I. M.; FAUSTINO, M. A.; ALVES, L. C. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.20, p.246-248, 2011.

THRUSFIELD, M. V. **Epidemiologia Veterinária**. 2ª ed. Editora Roca, São Paulo, p. 556, 2004.

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection on *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 12, p. 558-561, 2005.

VALÊNCIO, B. A.; BEZERRA, R. A.; ALVARES, F. B. V.; SARMENTO, W. F.; ALVES, B. F.; FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R.; GENNARI, S. M. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em fêmeas ovinas no município de Sousa, Paraíba. In: I Congresso Paraibano de Medicina Veterinária, 5, 2019, Sousa, PB. Anais... Sousa: ICONPAV, 2019. Resumo expandido.

VASCONCELOS, V. R.; VIEIRA, L. S. A evolução da caprino-ovinocultura. **O Berro**, n 52, 2005. Disponível em: <<http://www.cnpc.embrapa.br>> Acesso em: 11 ago. 2019.

WEGMANN, T.G.; LIN, H.; GUILBERT, L.; MOSMANN, T. R. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a Th2 phenomenon? **Immunology Today**, Cambridge, v. 12, n. 7, p. 353-356, 1993.

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**, Oxford, v. 33, p. 1059-1065, 2003.

WILLIAMS, D. J. L.; HARTLEY, C. S.; BJÖRKMAN, C.; TREES, A. J. Endogenous and exogenous transplacental transmission of *Neospora caninum* - how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease. **Parasitology**, v. 136, n. 14, p. 1895-1900, 2009.