

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

Samara dos Santos Silva

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA A INFECÇÃO POR *Neospora*
caninum EM CÃES DE ZONA RURAL DO MUNICÍPIO DE SOUSA, PARAÍBA

SOUSA-PB

2019

Samara dos Santos Silva

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA A INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM CÃES DE ZONA RURAL DO MUNICÍPIO DE SOUSA, 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.

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela

SOUSA-PB

2019

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

S586s Silva, Samara dos Santos.
Soroprevalência e fatores de risco para a infecção por *Neospora caninum* em cães de zona rural do município de Sousa, Paraíba / Samara dos Santos Silva. – Sousa, PB : A Autora, 2019.
28 p.
Orientador : Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela.

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

1 Caninos. 2 Neosporose. 3 Sorologia. Título.

Samara dos Santos Silva

SOROPREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA A INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM CÃES DE ZONA RURAL DO MUNICÍPIO DE SOUSA, PARAÍBA

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 19/02/2019 pela Comissão Examinadora:

Orientador(a):

Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa
Departamento de Medicina Veterinária

Avaliadores (a):

Prof^a. Dra. Ana Lucélia Araújo
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa
Departamento de Medicina Veterinária

Prof^a. Dra. Thais Ferreira Feitosa
Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa
Departamento de Medicina Veterinária

SOUSA-PB

2019

AGRADECIMENTOS

Sobretudo a Deus, por permitir que tudo isso acontecesse, por tudo que tem realizado em minha vida. A Ele toda honra e toda glória!

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Cilinha e Sebastião, por todo apoio durante minha trajetória até aqui. Sempre serão minha melhor referência, meu horizonte. Aos meus irmãos, Samuel e Matheus, por estarem sempre dispostos a me ajudar.

Aos colegas de turma e aos amigos que construí durante esses cinco anos, especialmente Laynaslan e Aline por sempre estarem do meu lado para tudo, por todos os momentos que compartilhamos, por toda ajuda quando necessitei.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela, por toda paciência, dedicação e ensinamentos durante esses anos. Obrigada por toda confiança depositada em mim.

A prof^ª. Dra. Thais Ferreira Feitosa, por tudo que me ensinou sobre RIFI, por ter me incentivado e acreditado em mim.

A toda equipe do Laboratório de Parasitologia Veterinária e do Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas do IFPB, Campus Sousa, que auxiliou durante as coletas, especialmente Leonardo Oliveira, Radabley Rith e Emerson Timóteo, vocês foram fundamentais para a realização deste trabalho. Ao Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota por conceder o ambiente do Laboratório de Bacterioses da UFRPE e todo material necessário para realização das análises deste estudo. A equipe do laboratório pela receptividade, em especial a Pollyanne por todo o auxílio na realização das RIFIs.

A todos os tutores que permitiram a coleta do material dos animais, e a todos os cães avaliados neste trabalho. A todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse momento acontecesse.

Obrigada!

RESUMO: *Neospora caninum* é um protozoário de ciclo heteroxeno, cujos hospedeiros definitivos são canídeos domésticos e silvestres, e hospedeiros intermediários são os herbívoros. A ocorrência de *N. caninum* em cães de zona rural merece importância devido o risco de transmissão para os animais de produção, principalmente bovinos. Objetivou-se determinar a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães de zona rural do município de Sousa, semiárido da Paraíba, compreendendo seis comunidades. Foram analisados soros sanguíneos de 98 cães de propriedades rurais. Após obtenção dos soros, as amostras foram mantidas a -20 °C até seu processamento. Para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* realizou-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). As análises foram realizadas no Laboratório de Bacterioses da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os animais foram considerados positivos quando ocorria a fluorescência periférica total dos taquizoítas na diluição $\geq 1:50$. A frequência de soropositividade encontrada foi de 9,18% (9/98). A titulação de anticorpos variou de 50 a 200, predominando o título 1:50. Dentre as localidades avaliadas, em 66,6% (4/6) havia pelo menos um cão soropositivo. A variável contato com bovinos foi considerada fator de risco (*Odds ratio* = 15,25) para a infecção pelo parasito, demonstrando maior risco de contato com tecidos contaminados. Conclui-se que os cães de zona rural do município de Sousa estão expostos ao *N. caninum*. Bem como sugere-se evitar o contato entre cães e bovinos como medida de controle para prevenir a infecção em cães.

Palavras-chave: Caninos. Neosporose. Sorologia.

ABSTRACT: *Neospora caninum* is a protozoan of heteroxene cycle, whose definitive hosts are domestic and wild canids, and intermediate hosts are herbivores. The occurrence of *N. caninum* in dogs of rural area deserves importance due to the risk of transmission to the animals of production, mainly cattle. The objective was to determine the prevalence of anti-*N. caninum* antibodies in dogs of rural area of the municipality of Sousa, semiarid of Paraíba, comprising six communities. Blood sera from 98 dogs from rural farms were analyzed. After obtaining the sera, the samples were kept at -20 ° C until processing. For detection of anti-*N. caninum* IgG antibodies, was performed the Indirect Immunofluorescence Reaction (IFR). The analyzes were carried out in the Laboratory of Bacterioses of the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). The animals were considered positive when the total peripheral fluorescence of the tachyzoites at the dilution $\geq 1: 50$ occurred. The frequency of seropositivity was 9,18% (9/98). Antibody titers ranged from 50 to 200, with the 1:50 titer predominating. Among the evaluated sites, 66,6% (4/6) had at least one seropositive dog. The variable contact with cattle was considered a risk factor (*Odds ratio* = 15.25) for infection by the parasite, demonstrating a higher risk of contact with contaminated tissues. It is concluded that dogs from rural areas of the municipality of Sousa are exposed to *N. caninum*. As well as it is suggested to avoid contact between dogs and cattle as a control measure to prevent infection in dogs.

Keywords: Canines. Neosporosis. Serology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Ciclo biológico do <i>Neospora caninum</i> , com seus respectivos estágios evolutivos.....	13
Figura 02 – Mapa demonstrativo da zona rural do município de Sousa, Paraíba, destacando as localidades selecionadas para o estudo. 1 – São Gonçalo; 2 – Núcleo I; 3 – Massapê dos Dias; 4 – Núcleo II; 5 – Núcleo III; 6 – Assentamento Emiliano Zapata.....	15
Figura 03 – Coleta de sangue em cão através de venopunção cefálica	16
Figura 04 – (A)Lâminas em câmara úmida, com o soro já diluído; (B) Lâminas após distribuição do conjugado.....	17
Figura 05 –Reação positiva na RIFI, demonstrando fluorescência periférica total dos taquizoítas de <i>N. caninum</i> (Seta Vermelha). Aumento 400x.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequência do título de anticorpos IgG anti- <i>N. caninum</i> em cães de zona rural do município de Sousa, Paraíba	19
Tabela 2 – Frequência de cães positivos para anticorpos anti- <i>N. caninum</i> , de acordo com a localidade na zona rural do município de Sousa, Paraíba.....	19
Tabela 3 – Análise univariável para os fatores de risco associados com a soropositividade para anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em cães de zona rural do município de Sousa, Paraíba.....	20

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
PCR	Reação em Cadeia
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
LIDIC	Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas
PBS	Solução Salina Tamponada
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1 Etiopatogenia e histórico	12
2.2 Epidemiologia	13
2.3 Sinais clínicos	14
2.4 Diagnóstico	14
2.5 Controle e profilaxia	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	15
3.1 Caracterização da área de estudo	15
3.2 Animais utilizados	16
3.3 Coleta do material e questionário epidemiológico	16
3.4 Diagnóstico de <i>N. caninum</i>	17
3.5 Análise estatística	18
4. RESULTADOS	18
5. DISCUSSÃO	20
6. CONCLUSÃO	22
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	23
APÊNDICE – A.....	28

1. INTRODUÇÃO

Os cães têm assumido um papel importante nas famílias, seja referente a questão emocional, por ser um animal de companhia, ou a segurança, visto que alguns tutores se sentem mais seguros ao terem animais de guarda em suas residências. Quando em meio rural, estes animais também são comumente utilizados para atividades de caça, auxiliar no manejo e na proteção de rebanhos, tendo assim livre acesso a toda parte externa das propriedades. Entretanto, esses benefícios podem ser prejudicados se não houver uma preocupação com a saúde desses animais. O contato existente entre cães e animais de produção predispõe à transmissão de diversas enfermidades, tais como leptospirose, raiva, hidatidose, cenurose e neosporose.

A neosporose é causada pelo protozoário *Neospora caninum*, parasito intracelular obrigatório que tem como hospedeiro definitivo alguns canídeos silvestres e cães domésticos (MCALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004). A infecção dos hospedeiros definitivos se dá através da ingestão de tecidos contendo cistos de bradizoítos (MCALLISTER et al., 1998), sendo comum a alta prevalência de *N. caninum* em cães de zona rural, por apresentarem comportamento de carnivorismo mais evidente (WOUDA et al., 1999). Apresenta um ciclo de vida considerado heteroxeno, tendo como hospedeiros intermediários ruminantes, equinos e diversas espécies de animais silvestres (FORTES, 2004), sendo considerado o principal agente causador de abortos em rebanhos bovinos em todo o mundo (REICHEL et al., 2013). Os hospedeiros intermediários tornam-se infectados ao ingerirem alimento ou água contaminados com oocistos esporulados de *N. caninum*, eliminados pelos hospedeiros definitivos (MONTEIRO, 2017).

Devido à importância dos cães na transmissão da neosporose para os animais de produção, principalmente bovinos, e escassez de estudos sobre *N. caninum* em caninos de zona rural no Nordeste do Brasil, fez-se necessário um estudo que mostrasse a situação soropidemiológica da região de Sousa, Alto Sertão da Paraíba, esclarecendo os possíveis fatores de risco que favorecem à infecção destes animais.

Objetivou-se com esse trabalho realizar um inquérito soropidemiológico para infecção por *N. caninum* em cães da zona rural do município de Sousa, Sertão da Paraíba.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Etiopatogenia e histórico

N. caninum é um protozoário pertencente ao filo Apicomplexa, responsável por infectar diversas espécies de animais domésticos e silvestres. É um parasito intracelular obrigatório, formador de cistos nos hospedeiros intermediários, estes representados por várias espécies animais. Diferentes espécies de carnívoros atuam como hospedeiro definitivo, eliminando oocistos no ambiente (DUBEY et al., 2002).

Foi inicialmente descrito por Bjerkas et al. (1984) em um surto de encefalomielite com paralisia de membros em cães da raça Boxer, na Noruega. Posteriormente, o agente foi isolado em cultura celular e descrito como um novo gênero – *Neospora*; e classificado como uma nova espécie – *N. caninum*, diferenciando de *Toxoplasma gondii* por seu cisto apresentar uma parede mais espessa (DUBEY et al., 1988).

O primeiro hospedeiro definitivo identificado para *N. caninum* foi o cão (*Canis lupus familiaris*) (McALLISTER et al., 1998), mais tarde outros canídeos como o coiote (*Canis latrans*), o dingo (*Canis lupus dingo*) e o lobo-cinzento (*Canis lupus*) também foram incluídos como hospedeiros definitivos do parasito (GONDIM et al., 2004; KING et al., 2010; DUBEY et al., 2011).

O bovino é o hospedeiro intermediário mais frequentemente acometido pela neosporose, no entanto, infecções pelo parasito já foram relatadas em espécies como caprinos, ovinos, equinos, cervídeos e outras espécies de animais silvestres. Nessas espécies, o parasito é responsável por causar desordens reprodutivas como abortos, natimortos, mumificação ou autólise fetal, além de animais que nascem doentes, apresentando distúrbios neurológicos, incoordenação motora ou baixo peso, levando a um impacto econômico, especialmente na bovinocultura (MONTEIRO, 2017).

Durante seu ciclo de vida, o parasito apresenta três estágios infecciosos: oocistos, taquizoítas e cistos teciduais. Os cães são responsáveis pela eliminação de oocistos não esporulados no ambiente, enquanto os taquizoítas e cistos teciduais são encontrados em hospedeiros intermediários, principalmente no cérebro desses animais (GONDIM, 2006). Os hospedeiros definitivos se infectam através da ingestão de cistos contendo bradizoítos, presente nos tecidos dos hospedeiros intermediários (McALLISTER et al., 1998). Os cães eliminam oocistos não esporulados pelas fezes por cinco ou mais dias após a infecção. No ambiente, ocorre a esporulação dos oocistos, com formação de dois esporocistos contendo quatro esporozoítos cada (DUBEY et al., 2002). Hospedeiros intermediários, ao ingerirem

água ou alimento contaminados com oocistos esporulados de *N. caninum* tornam-se infectados, levando a transformação dos oocistos em taquizoítas e posteriormente ocorre a formação de cistos teciduais contendo bradizoítas (Figura 1) (MONTEIRO, 2017).

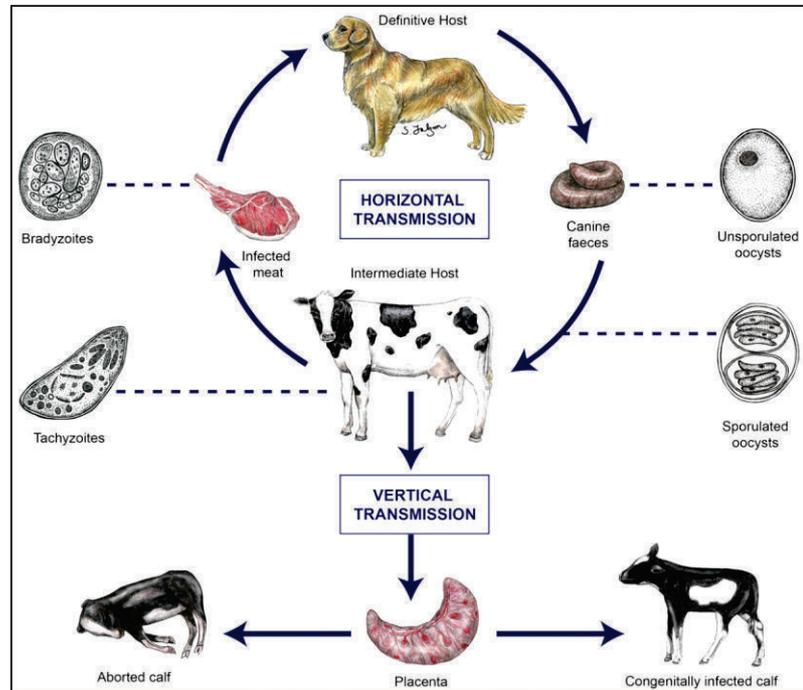


Figura 01 – Ciclo biológico do *Neospora caninum*, com seus respectivos estágios evolutivos.

Fonte: GOODSWEN et al., 2013

Após a infecção pelo parasito ocorre a replicação dos taquizoítas nos tecidos, produzindo lesões necróticas em poucos dias, e conseqüentemente morte celular, justificando sua patogenicidade (MAYHEW et al., 1991).

2.2 Epidemiologia

A neosporose é uma infecção parasitária de distribuição cosmopolita, sendo descrita uma ampla variação na prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães de zona urbana. Utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) como meio de diagnóstico, foi possível observar uma variação desde 0,5% de animais reagentes na Suécia até 30,7 na Nova Zelândia (BJÖRKMAN et al., 1994; ANTONY & WILLIAMSON, 2003).

No Brasil, a soropositividade em cães do meio urbano é variável sendo descrito prevalências desde 1,6% em João Pessoa-PB (BRASIL et al., 2018), 5,5% no Rio Grande do Sul (CUNHA FILHO, 2008), 6,5% em Natal-RN (DANTAS et al., 2013) e 7,7% na Paraíba (FERNANDES et al., 2018).

Ao avaliar a soropositividade de animais de zona rural da Suécia, Björkman et al. (1994) detectaram presença de anticorpos anti-*N. caninum* em 74,5% dos cães de fazendas leiteiras e 96,8% em cães de fazendas de bovinos de corte. Robbe et al. (2016) descreveram uma prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em 46% dos cães de zona rural que viviam em contato com bovinos na Itália, em contrapartida, animais do meio rural que não tinham contato com bovinos apresentaram 18% de positividade.

No Brasil é descrita uma prevalência de 16,5% em cães do Rio Grande do Sul (CUNHA FILHO, 2008), enquanto no Agreste paraibano é relatado soropositividade em 25% dos cães que habitavam em fazendas (MELO et al., 2017). Cunha Filho et al. (2008) descreveu a idade como um fator de risco, pois animais acima de três anos de idade apresentaram maior soropositividade, reforçando a hipótese de que a infecção nesses animais ocorre pela via horizontal. O contato com bovinos também é considerado um fator relacionado à presença de anticorpos anti-*N. caninum* (ROBBE et al., 2016).

2.3 Sinais clínicos

Os aspectos clínicos da neosporose canina são semelhantes aos da toxoplasmose, entretanto, os déficits neuromusculares são predominantes na primeira. Geralmente, os casos mais graves da infecção ocorrem em filhotes congenitamente infectados, os quais desenvolvem paralisia de membros posteriores, que evolui de forma progressiva (MELO & LEITE, 2005).

Em cães adultos, são descritas incoordenação e paresia de membros posteriores com hiperextensão rígida, associada a miosite. Não há evidências de comprometimento neurológico central grave e os animais se mantêm alertas (GONDIM et al., 2001; MELO & LEITE, 2005).

Casos de neosporose cutânea tem sido relatada em cães imunossuprimidos por doenças concomitantes, a exemplo da leishmaniose (TARANTINO et al., 2001; CRINGOLI et al., 2002) ou por terapia medicamentosa por imunossopressores (LA PERLE et al., 2001).

2.4 Diagnóstico

O diagnóstico da neosporose pode ser realizado através de métodos diretos tais como histopatologia, imunohistoquímica, isolamento, exame parasitológico de fezes de cães e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que visam a detecção do agente em amostras biológicas. E métodos indiretos, que se baseiam na detecção de anticorpos contra o parasito, sendo representados por técnicas como aglutinação direta, Ensaio Imunoenzimático (ELISA)

e RIFI (MONTEIRO, 2017). Sendo essa última considerada padrão ouro, por detectar antígenos de superfície específicos, razão pela qual reações cruzadas são pouco frequentes (TREES et al., 1993).

2.5 Controle e profilaxia

O controle da neosporose baseia-se em evitar o contato entre cães e hospedeiros intermediários, assim como impedir o acesso dos cães a fontes de alimento e água dos animais, realizar o descarte correto de placentas e fetos abortados, para que não sejam consumidos por cães. O manejo alimentar dos cães deve ser realizado com utilização de ração ou carne cozida. Associado a essas medidas, as vacas sorologicamente infectadas devem ser eliminadas do rebanho, visando impedir a transmissão vertical, diminuindo também a chance de aborto (CARDOSO, 2010).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Caracterização da área de estudo

A pesquisa foi realizada na área rural do município de Sousa, Paraíba ($06^{\circ}45'39''$ S; $38^{\circ}13'51''$ W), compreendendo os distritos de São Gonçalo, Núcleo I, Núcleo II, Núcleo III, Massapê dos dias e Assentamento Emiliano Zapata (Figura 02). Este município possui área territorial de 738,547Km² e 69,161 habitantes (IBGE, 2018). A região apresenta um clima semiárido, com temperatura média anual de 26,6°C (INMET, 2010).



Figura 02 – Mapa demonstrativo da zona rural do município de Sousa, Paraíba, destacando as localidades selecionadas para o estudo. 1 – São Gonçalo; 2 – Núcleo I; 3 – Massapê dos Dias; 4 – Núcleo II; 5 – Núcleo III; 6 – Assentamento Emiliano Zapata.

Fonte: GOOGLE EARTH - MAPAS , 2019

3.2 Animais utilizados

Foram coletadas 98 amostras de cães da área rural do município de Sousa PB, independente da raça e sexo, com no mínimo quatro meses de idade. O número de animais utilizados foi calculado levando em consideração uma prevalência esperada de 50% para infecção por *N. caninum*, uma vez que não há estudos dessa enfermidade em cães no município de Sousa, Semiárido da Paraíba. Considerou-se uma confiança mínima de 95%, assumindo um erro estatístico de 10% (THRUSFIELD, 2007). O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba (CEUA - IFPB), Campus Sousa sob o número 01250.012779/2017-83.

3.3 Coleta do material e questionário epidemiológico

Durante as visitas foram coletados 3mL de sangue por venopunção cefálica ou jugular externa (Figura 03). Este material era acondicionado em tubos de ensaio sem anticoagulante, previamente identificados, acondicionados em isopor com gelo para transporte e enviadas ao Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas (LIDIC) do Hospital Veterinário, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (IFPB) - Campus Sousa, as amostras então eram centrifugadas a 2000 RPM durante cinco minutos para obtenção do soro, que era aliquotado em microtubos eppendorfs e mantidos a -20 °C até realização do exame sorológico.

Paralelamente às coletas, eram aplicados questionários investigativos (Apêndice A) contemplando questões objetivas e subjetivas afim de obter informações a respeito do manejo sanitário, alimentar e contato com outras espécies animais.



Figura 03 – Coleta de sangue em cão através de venopunção cefálica.

3.4 Diagnóstico de *N. caninum*

Para o diagnóstico foi utilizada a RIFI para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*N. caninum*, utilizando amostra Nc-1 de taquizoítas de *N. caninum* fixados em lâmina (DUBEY et al., 1988). Utilizando como ponto de corte 1:50 (AZEVEDO et al., 2005). As análises foram realizadas no Laboratório de Bacterioses da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Foi realizada a diluição dos soros em microplaca de 96 poços, utilizando 4µL do soro a ser testado e 196µL de Solução Salina Tamponada (PBS), pH 7,2. Após a diluição foram colocadas 10µL sobre a lâmina previamente fixada com taquizoítas e incubadas em câmara úmida em estufa a 37°C durante 30 minutos. Posteriormente, as lâminas foram submetidas a três lavagens por imersão em PBS, durante cinco minutos cada lavagem. Em seguida, com a lâmina seca, eram acrescentados 10µL de conjugado anti-IgG canino (molécula inteira, SIGMA, St. Louis, MO, EUA) (Figura 04). O material era incubado novamente em estufa a 37°C durante 30 minutos. O procedimento de lavagem repetido, e com a lâmina seca, o material era avaliado por microscopia com emissão de luz ultravioleta. Sendo considerados positivas as amostras que apresentaram fluorescência periférica total dos taquizoítas (Figura 05) na diluição $\geq 1:50$. As amostras positivas foram diluídas em base dois a fim de determinar seu título máximo de anticorpos



Figura 04 – (A) Lâminas em câmara úmida, com o soro já diluído; (B) Lâminas após distribuição do conjugado.

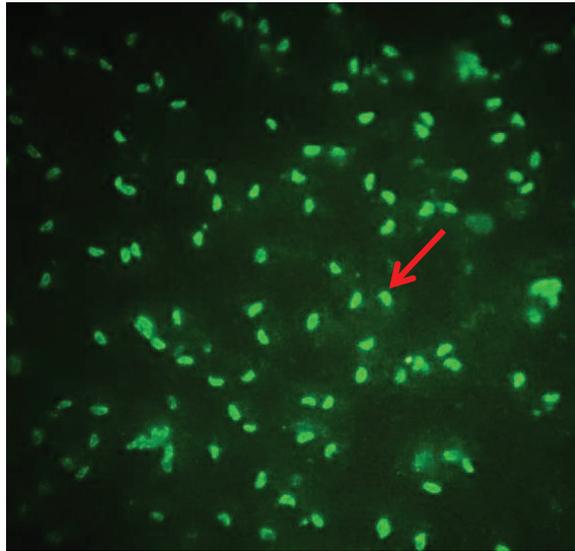


Figura 05 – Reação positiva na RIFI, demonstrando fluorescência periférica total dos taquizoítas de *N. caninum* (Seta vermelha). Aumento 400x.

3.5 Análise estatística

Os dados obtidos com os questionários epidemiológicos foram submetidos a análise dos fatores de risco, e foi efetuada em duas etapas: análise univariável e análise multivariável. Inicialmente foi realizada a análise univariável, neste momento foram formados dois grupos de animais – soropositivos e soronegativos, os quais foram comparados frente às variáveis analisadas. As variáveis que apresentaram valor de $P \leq 0,2$ pelo teste de qui-quadrado ou teste exato de Fisher (ZAR, 1999) foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se regressão logística múltipla (HOSMER & LEMESHOW, 2000). O nível de significância adotado na análise multivariável foi de 5%, e todas as análises foram realizadas com o programa SPSS 20.0 for Windows.

4. RESULTADOS

Dos 98 cães analisados, 9,18% (9/98) foram soropositivos para *N. caninum*. Os títulos de anticorpos variaram de 1:50 a 1:200, sendo que sete (77,8%) amostras apresentaram títulos de 1:50 (Tabela 1).

Tabela 1 – Frequência do título de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em cães de zona rural do município de Sousa, Paraíba.

Títulos	Positivos	Frequência (%)
50	7	77,8
100	1	11,1
200	1	11,1
Total	9	100

Observou-se ampla distribuição da soropositividade dos animais, pois, dentre as seis localidades avaliadas, em quatro (66,7%) havia ao menos um animal positivo (Tabela 2).

Tabela 2 – Frequência de cães positivos para anticorpos anti-*N. caninum*, de acordo com a localidade na zona rural do município de Sousa, Paraíba.

Localização	Nº de animais positivos	Frequência (%)
Assentamento Emiliano Zapata	-	-
Massapê dos Dias	-	-
Núcleo I	1	11,1
Núcleo II	1	11,1
Núcleo III	4	44,5
São Gonçalo	3	33,3
Total	9	100

Os resultados da análise univariável para os fatores de risco para *N. caninum* estão apresentados na Tabela 3. As variáveis idade, contato com bovinos, tipo de alimentação e vacinação apresentaram valor de $P \leq 0,2$ pelo teste de qui-quadrado e foram selecionadas para a análise multivariável, utilizando-se regressão logística múltipla.

Apenas a variável contato com bovino (*Odds ratio* = 15,25; IC95% = 2,74 – 84,8) foi identificada como fator de risco pela regressão logística. Em relação a esta variável, 6/9 animais soropositivos conviviam com bovinos. O modelo final apresentou bom ajuste (Teste de Hosmer e Lemeshow: Qui-quadrado = 0,000; grau de liberdade = 2; $p = 1$).

Tabela 3 – Análise univariável para os fatores de risco associados com a soropositividade para anticorpos anti-*N. caninum* em cães de zona rural do município de Sousa, Paraíba ($P \leq 0,2$).

Variável / Categoria	Nº total de animais	Nº de positivos (%)	<i>P</i>
Idade			
Até 1 ano	24	0 (0)	0.192
1 e 3 anos	30	4 (13.3)	
Mais de 3 anos	44	5 (11.4)	
Contato com bovinos			
Não	77	3 (3.9)	0.003
Sim	21	6 (28.6)	
Alimentação			
Ração	1	1 (100)	0.003
Comida caseira (Resto de comida + carne crua)	81	8 (9.9)	
Ambos	16	0 (0)	
Vacinação Antirrábica			
Não	51	1 (2)	0.013
Sim	47	8 (17)	

5. DISCUSSÃO

Os cães de zona rural têm maiores chances de se infectarem por *N. caninum*, visto que a infecção nesses animais pode ocorrer mais facilmente através da ingestão de carne crua, incluindo fetos abortados e restos de placenta contendo cistos do protozoário. Este é um importante fator para a manutenção do ciclo do parasito, ao disseminar oocistos no ambiente, facilitando a transmissão para hospedeiros intermediários (KING et al., 2012; MCALLISTER, 2016).

A presença de cães soropositivos em propriedades rurais tem correlação positiva com a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos (WOUDA et al., 1999; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004). Essa correlação evidencia a importância desse estudo para a área avaliada, haja visto que a microrregião de Sousa detém uma bacia leiteira, que concentra a

maior produção de leite da Paraíba, representando 13,6% de toda produção estadual (SOUZA et al., 2015).

A frequência de 9,18% de cães soropositivos encontrados é semelhante a estudos realizados em outros estados brasileiros com cães de zona rural. Em Minas Gerais, Nogueira et al. (2013), demonstraram soropositividade em 11,4% dos animais analisados. No Espírito Santo foi descrito 11,76% de animais soropositivos à *N. caninum* (ACOSTA et al., 2016). No estado do Paraná, Snak et al. (2018) observaram soropositividade em 11,66% dos cães. Outros trabalhos demonstraram percentuais mais elevados, no Maranhão, Teixeira (2008) detectaram soropositividade em 62,37% dos cães de propriedades produtoras de leite; no Mato Grosso, Benetti et al. (2009) relataram positividade em 66,7% dos cães que também habitavam fazendas de bovinos de leite. Diferente dos resultados encontrados neste estudo, Brasil et al. (2018) encontraram uma frequência de 1,6% para anticorpos IgG anti-*N. caninum* em cães de área urbana na cidade de João Pessoa, Paraíba. Quando comparado a frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães de zona urbana, há a indicação de que maiores prevalências de anticorpos em cães estão relacionadas com a vida em área rural.

Em relação aos títulos de anticorpos, os resultados são semelhantes aos descritos no Espírito Santo, predominando a titulação 1:50 (NOGUEIRA et al., 2013). Animais com infecção subclínica geralmente apresentam baixos títulos de anticorpos anti-*N. caninum* (<800), enquanto animais com infecção clínica apresentam titulação acima de 800 (BARBER & TREES, 1998). Nesse estudo, o maior título encontrado foi 200, não sendo observados sinais clínicos, nem desordens neurológicas nos cães avaliados, caracterizando a ocorrência de infecção subclínica.

Observou-se, ainda, maior prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em animais com idade entre um a três anos, representando 13,3% (4/30). Em contrapartida, não foi observada reação positiva em animais com idade inferior a um ano. Diferente deste resultado, Cunha Filho et al. (2008) observaram diferença estatística significativa ($P=0,0004$) para a infecção por *N. caninum* em animais a partir de três anos de vida. Apesar dos resultados divergirem quanto a faixa etária de maior prevalência de anticorpos, a não ocorrência em animais com menos de um ano de idade sugere exposição mais tardia ao agente, justificada pelo hábito de caça, marcação de território em busca de fêmeas, no caso de machos inteiros e acesso irrestrito a parte externa da propriedade. Além disso, quando mais jovens, há uma restrição de todas essas atividades pelos tutores.

Em alguns estudos, a dieta dos cães foi considerada um fator de risco à infecção, sendo demonstrada maior prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães que ingeriam

alimentação mista (comida caseira + ração) e animais com dieta a base de comida caseira (TEXEIRA et al., 2012; IGARASHI et al., 2015). Apesar da diferença estatística, com maior prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* deste estudo ter sido demonstrada em animais que eram alimentados exclusivamente com ração esse resultado não é confiável, pois a quantidade amostral de animais pertencentes a essa categoria foi insuficiente. Embora o hábito de vacinar reflita em um maior cuidado dos tutores com os animais, neste estudo, os cães com algum histórico de vacinação apresentaram maior prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* quando comparados aos animais não vacinados ($P = 0.013$). Tal resultado difere do encontrado por Melo et al. (2017), identificando o hábito de não vacinar os cães como um fator de risco para a presença de anticorpos anti-*N. caninum*, com 9,33 vezes mais chances de serem soropositivos para esse protozoário. O resultado desta variável pode ser atribuído a uma associação espúria entre vacinação e infecção por *N. caninum*, visto que outros fatores como o acesso dos animais a toda a propriedade e contato com bovinos podem ter interferido na soropositividade dos cães.

Embora outros estudos demonstrem maiores índices de soropositividade em cães que têm contato com bovinos, quando comparado aos que não tem, essa condição não foi identificada como fator de risco para a infecção por *N. caninum* (MARTINS et al., 2012; FERNANDES et al., 2018). Neste estudo, notou-se que cães que tinham contato com bovinos apresentavam 15,25 vezes mais chances de apresentarem anticorpos anti-*N. caninum*. Bruhn et al. (2012) demonstraram que o convívio de cães com bovinos está associada à positividade pelo protozoário ($P = 0,053$; OR = 4,3). O resultado deste trabalho pode ser atribuído a criação dos cães ao ar livre, aumentando as chances de contato com tecidos infectados com o protozoário ou até mesmo com hospedeiros intermediários do parasito, tais como aves e animais silvestres. A coabitação de cães com bovinos predispõe ao contato e ingestão amostras biológicas de fetos abortados e restos de placenta pelos cães, assim como amplia o risco potencial de transmissão horizontal para bovinos, tornando isso um fator importante para a manutenção do ciclo do *N. caninum*.

6. CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo confirmam que a população rural canina do município de Sousa, semiárido da Paraíba, está exposta ao *N. caninum*, e o contato com bovinos é um fator de risco à infecção. Sugere-se a adoção de medidas de controle para prevenir a ocorrência da infecção, como evitar o contato entre em cães e bovinos. Mais estudos devem ser realizados,

afim de incluir a neosporose como diagnóstico diferencial de distúrbios neurológicos em cães da região de Sousa.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA, I. C. L.; CENTODUCATEE, L. D.; SOARES, H. S.; MARCILI, A.; GONDIM, M. F. N.; ROSSI JÚNIOR, J. L.; GENNARI, S. M. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs from rural properties surrounding a biological reserve, Espírito Santo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 25, n. 4, p. 536-539, 2016.

ANTONY, A.; WILLIAMSON, N. B. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs of rural or urban origin in central New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, Palmerston North, v. 51, n. 5, p. 232-237, 2003.

AZEVEDO, S. S.; BATISTA, C. S.; VASCONCELLOS, S. A.; AGUIAR, D. M.; RAGOZO, A. M.; RODRIGUES, A. A.; ALVES, C. J.; GENNARI, S. M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the State of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 79, n.1, p. 51- 56, 2005.

BARBER, J.S.; TREES, A.J. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. **International Journal Parasitology**, v.28, n. 1, p. 57–64, 1998.

BENETTI, A. H.; SCHEIN, F. B.; SANTOS, T. R.; TONIOLLO, G. H.; COSTA, A. J.; MINEO, J. R.; LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; GENNARI, S. M. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 18, n. 1, p. 29-33, 2009.

BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fur Parasitenkunde**, v.70, p.271-274, 1984.

BJÖRKMAN, C.; LAUDEN, A.; UGGLA, A. Prevalence to antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in Swedish dogs. **Acta Veterinaria Scandinavica**, London, v. 35, n. 4, p. 445-447, 1994.

BRASIL, A. W. L.; PARENTONI, R.N.; SILVA, J. G.; SANTOS, C. S. A. B.; MOTA, R. A.; AZEVEDO, S. S. Risk factors and anti-*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibody occurrence in dogs in João Pessoa, Paraíba state, Northeastern Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 27, n. 2, p. 242-247, 2018.

BRUHN, F. R. P.; FIGUEIREDO, V. C.; ANDRADE, G. S.; COSTA-JÚNIOR, L. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in rural areas in Minas Gerais, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Jaboticabal, v. 21, n. 2, p. 161-164, 2012.

CARDOSO, J. M. S. **Aspectos epidemiológicos da infecção por *Neospora caninum* em bovinos leiteiros da região do vale do Paraíba Paulista**. Tese (Doutorado em Medicina

Veterinária) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Medicina veterinária Preventiva e Saúde Animal. São Paulo, p. 136. 2010.

CRINGOLI, G.; RINALDI, L.; CAPUANO, F.; BALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 106, p. 307-313, 2002.

CUNHA FILHO, N. A.; LUCAS, A. S.; PAPPEN, F. G.; RAGOZO, A. M. A.; GENNARI, S. M.; LUCIA JÚNIOR, T.; FARIAS, N. A. Fatores de risco e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 301-306, 2008.

DANTAS, S. B. A.; FERNANDES, A. R.F.; NETO, O. L. S.; MOTA, R. A.; ALVES, C. J.; AZEVEDO, S. S. Ocorrência e fatores de risco associados às infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães no município de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil. **Ciência Rural**, v. 43, n. 11, p. 2042-2048. Santa Maria, 2013.

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

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKAS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B. L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; MCALLISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SSIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 32, n. 8, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C.; RAJENDRAN, C.; MISKA, K.; FERREIRA, L. R.; MARTINS, J.; KWOK, O. C. H.; CHOUDHARY, S. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 181, p. 382-387, 2011.

FERNANDES, A. R. F.; COSTA, D. F.; ANDRADE, M. R.; BEZERRA, C. S.; MOTA, R. A.; ALVES, C. J.; LANGONI, H.; AZEVEDO, S. S. Soropositividade e fatores de risco para leptospirose, toxoplasmose e neosporose na população canina do Estado da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 957-966, 2018.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. Editora Ícone, 4. ed., p. 127-131, 2004.
GONDIM, L. F. F.; 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.

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.

GOOGLE EARTH-MAPAS, 2019. Disponível em: <<https://earth.google.com/web/>>. Acesso em: 30 de janeiro de 2019.

- GONDIM, L. F. P.; PINHEIRO, A. M.; SANTOS, P. O.; JESUS, E. E.; RIBEIRO, M. B.; FERNANDES, H. S.; ALMEIDA, M. A.; 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**, Amsterdam, v. 101, p. 1-7, 2001.
- 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. *Neospora caninum* in wildlife. **Trends in Parasitology**, v. 22, p. 247-252, 2006.
- GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state. Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 1-8, 2004.
- HOSMER, D. W.; LEMESHOW, S. **Applied Logistic Regression**, 2ªEd, New York: Wiley, 2000. 375p.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática – SIDRA [online]. Rio de Janeiro: IBGE, 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/6579#resultado>>. Acesso em: 10 de novembro de 2018.
- IGARASHI, M.; SANTOS, L. A.; AMUDE, A. M.; MURARO, L. S.; AGUIAR, D. M.; MELO, A. L. T.; PACHECO, T. A.; NEGREIROS, R. L.; SILVA, R. R. Ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* e estudo dos fatores de risco em cães de Cuiabá e Várzea Grande-MT, atendidos em hospital veterinário. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 4, p. 619-624, 2015.
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. Normais climatológicas do Brasil 1981-2010 [online]. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisClimatologicas>>. Acesso em: 27 de novembro de 2018.
- KING, J. S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; AL-QASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, P. A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 40, n. 8, p. 945-950, 2010.
- KING, J. S.; BROWN, G. K.; JENKINS, D. J.; ELLIS, J. T.; FLEMING, P. J.; WINDSON, P. A.; SLAPETA, J. Oocysts and high seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs living in remote Aboriginal communities and wild dogs in Australia. **Veterinary Parasitology**, v. 187, p. 85-92, 2012.
- LA PERLE, K. M. D.; DEL PIERO, F.; CARR, R. F.; HARRIS, P. C.; STROMBERG, C. Cutaneous neosporosis in two adult dogs on chronic immunosuppressive therapy. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 13, p. 252-255, 2001.

MARTINS, A. A.; ZAMPROGNA, T. O.; LUCAS, T. M.; CUNHA, I. A. L.; GARCIA, J. L.; SILVA, A. V. Frequency and risk factors for infection by *Neospora caninum* in dairy farms of Umuarama. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia UNOPAR**, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 137-142, 2012.

MAYHEW, I. G.; SMITHT, K. C.; DUBEY, J. P.; GATWARD, L. K.; MCGLENNON, N. J. Treatment of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. **Journal Small Animal Practice**, v.32, n. 12, p. 609-612, 1991.

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. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 32, n. 2, p. 443-463, 2016.

MELO, C. B. & LEITE, R. C. Infecção por *Neospora caninum* em cães e outros carnívoros. **Revista CFMV**, Brasília, v. 11, n. 35, p. 32-43, 2005.

MELO, L. R. B.; FEITOSA, T. F.; VILELA, V. L. R.; ATHAYDE, A. C. R.; AZEVEDO, S. S.; PENA, H. F. J. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle and dogs from the Agreste region of the State of Paraíba. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 11, n. 1, p. 57-62, 2017.

MONTEIRO, S. G. **Parasitologia na medicina veterinária**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Roca, 2017. 370p.

NOGUEIRA, C. I.; MESQUITA, L. P.; ABREU, C. C.; NAKAGAKI, K. Y. R.; SEIXAS, J. N.; BEZERRA JÚNIOR, P. S.; ROCHA, M. B. M.; GUIMARÃES, A. M.; PECONICK, A. P.; VARASCHIN, M. S. Risk factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dogs from urban and rural areas of milk and coffee production in Minas Gerais state, Brazil. **Epidemiology and Infection**, v. 141, p. 2286-2293, 2013.

REICHEL, M. P.; AYANEGUI-ALCÉRRECA, M.A.; GONDIM, L. F. F.; ELLIS, J.T. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle the billion dollar question? **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133-142, 2013.

ROBBE, D.; PASSARELLI, A.; GLORIA, A.; CESARE, A.; CAPELLI, G. IORIO, R.; TRAVERSA, D. *Neospora caninum* seropositivity and reproductive risk factors in dogs. **Experimental Parasitology**, v. 164, p. 31-35, 2016.

SNAK, A.; GARCIA, F. G., LARA, A. A.; PENA, H. F. J.; OSAKI, S. C. *Neospora caninum* em properties in the west region of Paraná, Brazil: Prevalence and risk factors. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 27, n. 1, p. 51-59, 2018.

SOUZA, E. G.; GOMES, F. S. L.; BARREIRO JÚNIOR, S. I.; NEVES, P. V. S.; AZEVEDO, R. D. **A importância do agronegócio do leite no segmento de agricultura familiar: um estudo de caso em municípios da região semiárida paraibana**. Fortaleza: Banco do Nordeste do Brasil, Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas, Cooperativa Agropecuária do Cariri, 165p. 2015.

TARANTINO, C.; ROSSI, G.; KRAMER, L. H.; PERRUCCI, S.; CRINGOLI, L.; MACCHIONI, L. *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* simultaneous skin infection in a young dog in Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 102, p. 77-83, 2001.

TEIXEIRA, M. A.; ARAUJO, F. A. P.; SILVA, R. G.; STOBBE, N. S. Seroepidemiologia de *Neospora caninum* em cães de área urbana no município de Porto Alegre-RS. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 154-157, 2012.

TEIXEIRA, W. A. **Prevalência de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e caninos das mesorregiões norte e centro maranhense, Maranhão, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Medicina Veterinária. Recife, p. 120, 2008.

THRUSFIELD, M. **Veterinary Epidemiology**. 3^a ed., Oxford: Blackwell Science, 610p. 2007.

TREES A. J.; GUY, F.; TENNANT, B. J.; BALFOUR, A. H.; DUBEY, J. P. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in population of urban dogs in England. **Veterinary Record**, v. 132, p.125-126, 1993.

WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A. M.; MAANEN, C. V.; BRINKHOF, J. M. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, Elmsford, v. 29, n. 10, p. 1677-1682, 1999.

ZAR, J. H. **Biostatistical Analysis**. 4^aEd. New Jersey: Prentice Hall, 1999, 663p.

APÊNDICE – A

INSTITUTO FEDERAL DA PARAÍBA - IFPB
 Campus Sousa-PB/ Hospital Veterinário
 Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas - LIDIC
 Questionário epidemiológico – *Neospora caninum* em cães de zona rural de Sousa-PB

1.DADOS DO TUTOR	Data:	Amostra N°:
Nome:	Telefone:	
Endereço:		
2.DADOS DO ANIMAL		
Idade:	Sexo:	Raça:
Tem contato com outros animais? Sim () Não ()	Espécie (s):	
3. MANEJO		
Alimentação:	Ração ()	Comida caseira ()
		Ração + Comida caseira ()
Criação:	Casa()	Casa com acesso a rua ()
		Criado solto ()
4.VACINAÇÃO/VERMIFUGAÇÃO		
Vacinados? Sim () Não ()		
Vermifugado ? Sim() Não ()		
Qual vacina? Frequencia:		
Já teve alguma doença? Sim () Não () Qual?		
Foi tratado? Sim () Não ()		
5.INFORMAÇÕES SOBRE O LUGAR AONDE VIVE		
Costuma caçar? Sim () Não ()		

OBSERVAÇÕES: