

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**FATORES ASSOCIADOS À PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DE *Brucella ovis* E
Neospora caninum NO REBANHO OVINO DE SERGIPE**

CARLOS EDUARDO D'ALENCAR MENDONÇA

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO DE 2014



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA

**FATORES ASSOCIADOS À PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DE *Brucella ovis* E
Neospora caninum NO REBANHO OVINO DE SERGIPE**

CARLOS EDUARDO D'ALENCAR MENDONÇA

ORIENTADOR: PROF. DR. CRISTIANO BARROS DE MELO

CO-ORIENTADOR: PROF. DR. ALEXANDRE DIAS MUNHOZ

TESE DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS ANIMAIS

PUBLICAÇÃO: 123D / 2014

BRASÍLIA/DF
NOVEMBRO DE 2014

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

MENDONÇA, C. E. D. **Fatores associados à prevalência sorológica de *Brucella ovis* e *Neospora caninum* no rebanho ovino de Sergipe.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 105 p. Tese de Doutorado.

Documento formal, autorizando reprodução desta tese de doutorado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor e o seu orientador reservam para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta tese de doutorado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor ou e seu orientador. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

MENDONÇA, Carlos Eduardo D'Alencar. **Fatores associados à prevalência sorológica de *Brucella ovis* e *Neospora caninum* no rebanho ovino de Sergipe.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2014, 105 p. Tese (Doutorado em Ciências Animais) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Brasília, 2014.

1. Neosporose 2. Leptospirose 3. Ovino

4. Doenças 1. Melo, C.B. II. Fatores associados à prevalência sorológica de *Brucella ovis* e *Neospora caninum* no rebanho ovino de Sergipe.

**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE AGRONOMIA E MEDICINA VETERINÁRIA**

**FATORES ASSOCIADOS À PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DE *Brucella ovis* E
Neospora caninum NO REBANHO OVINO DE SERGIPE**

CARLOS EDUARDO D'ALENCAR MENDONÇA

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA
AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS ANIMAIS, COMO PARTE DOS
REQUISITOS NECESSÁRIOS À OBTENÇÃO DO
GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS ANIMAIS.

APROVADA POR:

CRISTIANO BARROS DE MELO, Doutor (Universidade de Brasília / UnB)
(ORIENTADOR)

GIANE REGINA PALUDO, Doutora (Universidade de Brasília / UnB)

CONCEPTA MARGARETH MCMANUS PIMENTEL, PhD (Universidade de Brasília /
UnB)

LUIZ FELIPE RAMOS CARVALHO, Doutor (Ministério da Agricultura, Pecuária e
Abastecimento - MAPA)

GEORGE REGO ALBUQUERQUE, Doutor (Universidade Estadual de Santa Cruz / UESC-
BA)

BRASÍLIA/DF, 14 de NOVEMBRO de 2014

AGRADECIMENTOS

A Deus, mestre do universo, por guiar meus passos e sempre me conduzir por benévolas sendas, me mostrando onde buscar forças para enfrentar os obstáculos.

Aos pesquisadores que me levaram a descoberta da academia e da ciência, em especial ao orientador, Dr. Cristiano Barros de Melo, e co-orientador, Dr. Alexandre Dias Munhoz, que abriram portas permitindo meu aprendizado.

Ao Dr. George Rêgo Albuquerque, que foi sempre presente e essencial durante a realização dos experimentos na Universidade Estadual de Santa Cruz, e ao Dr. Luis Fernando Pita Gondim, que permitiu treinamento em seu laboratório e cedeu material para a realização da pesquisa.

Aos meus pais, Josino Carlos Farias de Mendonça e Josemária D’Alencar Mendonça, pela dedicação e empenho constante para me proporcionar uma excelente educação, aos valores morais passados, ao carinho trocado, à compreensão e apoio nos recorrentes períodos onde me fiz ausente do seio familiar para alcançar meus objetivos profissionais.

Aos meus irmãos, Marcus Vinicius D’Alencar Mendonça e Marcus Aurélio D’Alencar Mendonça, por participarem veementemente da formação do meu caráter, entre momentos de diversão e de tensão, incentivando e respeitando minhas decisões, enfrentando situações difíceis quando muitas vezes não pude estar presente para auxiliá-los.

A todos meus familiares que me deram força, apoiando, conversando e, sempre que possível, me proporcionando momentos de alegria e descontração, amenizando as aflições e percalços do caminho.

A minha noiva, amiga e companheira, Fabiana Menezes Lobão, que esteve junto em toda a jornada do doutorado, me ajudando sempre que necessário, com muita dedicação e amor.

Aos professores que me guiaram desde o princípio desta estrada, sendo fundamentais para minha formação, cada um com uma contribuição essencial.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Animais da Universidade de Brasília (UnB) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), às instituições fomentadoras de pesquisa, principalmente à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoas de Nível Superior (CAPES), que concedeu a bolsa de pesquisa durante parte do doutorado.

Aos amigos, de longas ou curtas datas, que o tempo e a distância jamais destrua ou enfraqueça o que sempre podemos preservar, a amizade, levo um pequeno pedaço de cada um comigo, por isso fazem parte dessa conquista.

ÍNDICE

| | |
|---|-----|
| RESUMO | ix |
| ABSTRACT | x |
| LISTA DE ILUSTRAÇÕES | xi |
| LISTA DE TABELAS | xii |
| CAPÍTULO 1 – BRUCELOSE E NEOSPOROSE OVINA: REVISÃO DE LITERATURA | 01 |
| 1 INTRODUÇÃO | 02 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 05 |
| 2.1 Neosporose | 05 |
| 2.1.1 Taxonomia de <i>Neospora caninum</i> | 06 |
| 2.1.2 Morfologia e biologia | 06 |
| a) Taquizoítas | 06 |
| b) Bradizoítas | 07 |
| c) Oocistos | 08 |
| 2.1.3 Ciclo biológico de <i>Neospora caninum</i> | 08 |
| 2.1.4 Transmissão de <i>Neospora caninum</i> | 09 |
| 2.1.5 Neosporose ovina | 10 |
| 2.1.5.1 Prevalência | 11 |
| 2.1.5.2 Fatores associados à infecção | 13 |
| 2.1.5.3 Patogenia | 14 |
| 2.1.6 Diagnóstico | 15 |
| 2.1.7 Importância econômica | 17 |
| 2.1.8 Controle e profilaxia | 17 |
| 2.2 Brucelose Ovina | 18 |
| 2.2.1 História | 19 |
| 2.2.2 Etiologia | 20 |
| 2.2.3 Epidemiologia | 21 |
| 2.2.4 Fatores associados à infecção | 21 |
| 2.2.5 Transmissão | 22 |
| 2.2.6 Patogenia | 23 |
| 2.2.7 Sinais clínicos | 24 |
| 2.2.8 Achados patológicos | 26 |
| 2.2.9 Análise de sêmen | 27 |
| 2.2.10 Resposta imune | 28 |
| 2.2.11 Diagnóstico | 29 |
| 2.2.12 Importância econômica e social | 31 |
| 2.2.13 Tratamento, prevenção e controle | 32 |
| CAPÍTULO 2 – FATORES ASSOCIADOS À PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DE <i>Neospora caninum</i> NO REBANHO OVINO DE SERGIPE, BRASIL | 34 |
| 1 RESUMO E ABSTRACT | 35 |
| 2 INTRODUÇÃO | 36 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 38 |
| 3.1 Local De Estudo | 38 |
| 3.2 Descrição Da População | 38 |
| 3.3 Delineamento Amostral | 39 |
| 3.4 Coleta de amostras | 39 |
| 3.5 Sorologia | 41 |
| 3.6 Análise Estatística | 42 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 43 |

| | |
|---|-----|
| 5 CONCLUSÕES | 49 |
| 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 50 |
| CAPÍTULO 3 – PREVALÊNCIA SOROLÓGICA E FATORES ASSOCIADOS À BRUCELOSE OVINA (<i>Brucella ovis</i>) NO REBANHO OVINO DE SERGIPE, BRASIL | 55 |
| 1 RESUMO E ABSTRACT | 56 |
| 2 INTRODUÇÃO | 58 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 60 |
| 3.1 Local De Estudo | 60 |
| 3.2 Delineamento amostral | 60 |
| 3.3 Coleta de amostras | 61 |
| 3.4 Sorologia | 62 |
| 3.5 Análise Estatística | 63 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 64 |
| 5 CONCLUSÕES | 70 |
| 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 71 |
| CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS | 76 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 78 |
| ANEXOS | 102 |

RESUMO

Objetivou-se determinar a prevalência sorológica de *Neospora caninum* e *Brucella ovis*, além dos fatores de risco e proteção associados às suas infecções. Foram colhidas 932 amostras de soros de ovinos, oriundas de 54 propriedades de 19 municípios de Sergipe. Para pesquisa de anticorpos contra *N. caninum* foi utilizada reação de imunofluorescência indireta (IFI), com ponto de corte de 1:50, enquanto que para pesquisa de anticorpos contra *B. ovis* os soros foram examinados pela Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA). Observou-se que 12,45% (116/932) dos ovinos foram sororeagentes, e de acordo com a análise, obteve-se na regressão logística não condicional a presença de cães na propriedade (OR=0,36) e uso de aprisco como instalação (OR=0,53) como fatores associados à proteção e propriedades com área maior que 50 hectares como fator associado à infecção (OR=1,71). Analisando os resultados obtidos na IDGA, 46,30% (25/54) das propriedades apresentaram evidência sorológica de infecção por *B. ovis*, com uma prevalência de 4,40% (41/932). Como fator associado à infecção observou-se o contato com bovinos (OR=5,50) e ter tratador de ovinos (OR=2,68), enquanto uso de aprisco como instalação apresentou-se como fator de proteção (OR=0,40). Foi verificada disseminação dos dois agentes nas distintas mesorregiões do estado e salienta-se a importância de adoção de medidas sanitárias específicas nos rebanhos para reduzir o risco das infecções.

PALAVRAS-CHAVE: Ovelha, neosporose, brucelose, Sergipe

ABSTRACT

The aim of this study was determine the seroprevalence of *Neospora caninum* and *Brucella ovis* as well risk and protective factors associated with their infections. A total of 932 serum samples from sheep originating from 54 properties in 19 municipalities of the Sergipe State were analyzed. Indirect Immunofluorescence (IFA) was used to screen antibodies against *N. caninum* with a dilution of 1:50 as cutoff. For antibodies against *B. ovis*, sera were examined by Agar Gel Immunodiffusion (AGID) and 12.45% (116/932) of sheep were reactive. In analysis of associated factors, using unconditional logistic regression, the presence of dogs on the property (OR=0,36) and use of pen house (OR=0,53) was a factor associated with protection and properties with up to 50 hectares (OR=1,71) as a factor associated with infection of *N. caninum*. Analyzing the results obtained in AGID, 46.30% (25/54) of the farms had serologic evidence of infection for *B. ovis*, with a prevalence of 4.40% (41/932) of seropositive animals. Associated with infection, we observed the contact with bovines (OR=5,50) and to have ovine handler (2,68), while use of pen was a protective factor (OR=0.40). Both two agents were seen in the different regions of the state and this highlights the importance of adopting specific health measures in flocks to reduce the risk of infections.

KEY-WORDS: Sheep, neosporosis, brucellosis, Sergipe

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Capítulo 2

- 2.1 – Mapa de Sergipe dividido em mesorregiões: Sertão Sergipano, Leste Sergipano e Agreste Sergipano, com os municípios amostrados identificados. 40

Capítulo 3

- 3.1 – Mapa de Sergipe, dividido em mesorregiões: Sertão Sergipano, Leste Sergipano e Agreste Sergipano, com os municípios amostrados identificados. 62

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

- 1.1 – Prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos no Brasil. 12

Capítulo 2

- 2.1 – Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos de Sergipe, Brasil, e sua distribuição por titulação nos municípios analisados. 45
- 2.2 – Teste de qui-quadrado entre as variáveis e presença de anticorpos contra *Neospora caninum*. 46
- 2.3 – Modelo final da regressão logística não condicional dos fatores associados com infecção por *Neospora caninum* em ovinos em Sergipe, Nordeste do Brasil. 47

Capítulo 3

- 3.1 – Frequência sorológica de ovinos de Sergipe, Brasil, submetidos ao diagnóstico de brucelose para *Brucella ovis* pelo teste de IDGA, segundo município, mesorregião de localização da propriedade. 65
- 3.2 – Teste de qui-quadrado entre as variáveis e presença de anticorpos contra *Brucella ovis*. 66
- 3.3 – Modelo final da regressão logística não-condicional dos fatores associados com infecção por *Brucella ovis* em ovinos de Sergipe, Nordeste do Brasil. 67

CAPÍTULO 1

BRUCELOSE E NEOSPOROSE OVINA: REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

Os ovinos foram uma das primeiras espécies de animais domesticadas pelo homem. A sua criação possibilitava alimento, principalmente pelo consumo da carne e leite, e proteção, pelo uso da lã, fibra que servia como abrigo contra as intempéries do ambiente. A ovinocultura está presente em praticamente todos os continentes e a ampla difusão da espécie se deve principalmente a seu poder de adaptação a diferentes climas, relevos e vegetações (Viana, 2008).

A exploração de ovinos tem elevada importância social e econômica para a população rural e para a própria estrutura econômica das regiões onde é desenvolvida, sendo uma alternativa para diversificar a produção, principalmente para pequenos e médios produtores. O aproveitamento das pastagens naturais, a obtenção de animais para abate com menos de um ano e baixo valor dos investimentos necessários, são vantagens econômicas que a exploração de ovinos apresenta (Nogueira Filho & Kasprzykowsky, 2006).

É indispensável que seja definido um programa sanitário preventivo, com vacinações contra as principais doenças que grassam na região, controle dos parasitas internos e externos (Santiago et al., 2010), pois a ocorrência de doenças provoca acentuada queda na produção e na produtividade dos animais, além de mortalidade (Pinheiro et al., 2000), provocam perda de peso, redução no consumo de alimentos, retardamento no crescimento, queda na produção de leite e de carne, e redução da taxa de fertilidade (Vieira, 1999).

Para determinar as medidas profiláticas e de controle a serem adotadas é necessário conhecer quais os agentes etiológicos que os animais estão expostos. Para tal, estudos epidemiológicos são realizados a fim de identificar ocorrência ou prevalência desses patógenos,

assim como os fatores associados ao risco ou proteção da infecção dos animais. A partir do conhecimento do comportamento dos patógenos no ambiente e sua interação com os hospedeiros é que essas medidas são definidas (Asmare et al., 2012).

Os patógenos *Brucella ovis* e *Neospora caninum* são responsáveis por distúrbios reprodutivos em ovinos, ocasionando abortamento, natimortalidade, nascimento de crias fracas e redução da taxa de fertilidade no rebanho, adicionalmente, a brucelose gera distúrbios reprodutivos em machos, caracterizados por quadros de epididimites em carneiros e abortamentos em ovelhas (Robles, 1998; Dubey & Schares, 2011). Porém, a escassez de dados a respeito da prevalência, fatores de risco e proteção associados às suas infecções, ocasiona desconhecimento das medidas protetivas a serem adotadas.

Assim, a realização de um estudo que determine a prevalência sorológica de tais agentes infecciosos em Sergipe auxiliará no esclarecimento da condição sanitária do rebanho, permitirá maior entendimento da dinâmica da infecção e orientará os produtores quanto à adoção de medidas profiláticas.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Determinar os fatores associados à prevalência sorológica de *Brucella ovis* e *Neospora caninum* no rebanho ovino de Sergipe, Brasil.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar prevalência sorológica do rebanho ovino de Sergipe quanto à infecção por *N. caninum* e *B. ovis*.

- b) Identificar os fatores associados ao risco de infecção por *N. caninum* e *B. ovis* no rebanho ovino de Sergipe, Brasil.
- c) Identificar os fatores associados à proteção da infecção por *N. caninum* e *B. ovis* no rebanho ovino de Sergipe, Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Neospora caninum*

Neospora caninum foi confundido até o final da década de 80 com *Toxoplasma gondii* por apresentar estrutura e biologia semelhante, até que foi verificado que a infecção por *N. caninum* causava uma forma clínica mais severa do que *T. gondii* em bovinos, e constatadas diferenças estruturais e histopatológicas entre ambos (Dubey et al., 1988a). Pesquisas em cães, na Noruega, demonstraram presença de cistos no cérebro e tecido muscular, associados a quadro de paralisia, porém, estes animais não apresentavam anticorpos contra *T. gondii*, parasita que pode causar lesões similares (Bjerkas et al., 1984). Estudo retrospectivo de amostras tissulares armazenadas revelou que *N. caninum* já acometia cães com sinais neurológicos desde a década de 50 (Dubey et al., 1990b).

Os cães (McAllister et al., 1998), coiotes (Gondim et al., 2004a), dingos australianos (King et al., 2010) e lobos cinzentos (Dubey et al., 2011b) são considerados hospedeiros definitivos, e após se infectarem eliminam oocistos não esporulados nas fezes, enquanto bovinos (Dijkstra et al., 2001a), caprinos, ovinos (Riviriego et al., 2000) e galinhas (Costa et al., 2008), entre outras espécies são hospedeiros intermediários.

2.1.1. Taxonomia de *Neospora caninum*

Taxonomicamente este parasito foi classificado por Dubey et al. (1988), como parte do:

Reino: Protista

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoasida

Ordem: Eucoccidiorida

Família: Sarcocystidae

Gênero: *Neospora*

Espécie: *N. caninum*

2.1.2. Morfologia e biologia

Neospora caninum é um protozoário coccídio intracelular obrigatório que acomete diversos hospedeiros (Dubey, 1999a). É considerado um importante parasita de ovinos (Sasani et al., 2013), bovinos e canídeos (Dubey et al., 2007) e os três estágios evolutivos do parasito são infecciosos para seus hospedeiros: taquizoítas presentes nas células, bradizoítas em cistos teciduais e esporozoítas em oocistos esporulados (Dubey et al., 2007).

a) Taquizoítas:

Apresentam forma ovóide, semilunar ou globular e medem cerca de 6 por 2 μm , dependendo do estágio de divisão (Speer et al., 1999). São encontrados na fase aguda da infecção em quantidades variáveis nas diversas células do hospedeiro, como macrófagos, polimorfonucleares, neurônios, fibroblastos, endotélio vascular, miócitos, células tubulares renais e hepatócitos (Dubey, 1999a; Farias, 2002). Multiplicam-se rapidamente por endodiogenia e

podem provocar lesões severas ou até mesmo rompimento das células (Dubey & Lindsay, 1996). Taquizoítas se modificam em bradizoítas diante resposta imune do hospedeiro e permanecem latentes no interior de cistos, dividindo-se lentamente (Lindsay, 1999; Gay, 2006).

Dubey et al. (1988b) realizaram isolamento do protozoário em culturas de células, quando se observou a presença de vacúolo parasitóforo ao redor do parasito, que é a estrutura responsável por protegê-lo dos mecanismos de defesa do hospedeiro (Dubey et al., 1988a). Dubey et al. (2002) sugeriram que a membrana do vacúolo parasitóforo, por muitas vezes, é bastante fina e se torna imperceptível em algumas espécies, ou ainda que ela pode se desintegrar com a degeneração da célula hospedeira. Em fêmeas infectadas taquizoítas são capazes de atravessar a barreira placentária, podendo ser transmitidos verticalmente para suas crias (Dubey, 2007).

b) Bradizoítas:

Bradizoítas são originados a partir de sucessivas divisões de taquizoítas, após a resposta imune do hospedeiro e adquirem a forma alongada de cerca de 7 - 8 μ m por 2 μ m (Dubey et al., 2002) e estão contidos em cistos teciduais (Lindsay, 1999). Os cistos apresentam forma redonda ou oval, com aproximadamente 107 μ m de comprimento e parede de até 4 μ m de espessura, crescem intracelularmente e permanecem até o momento em que as defesas do hospedeiro diminuem (Innes et al., 2002). São encontrados na fase crônica da infecção e têm predileção pelo Sistema Nervoso Central (SNC) e musculatura. Infectam carnívoros quando os mesmo ingerem tecidos contendo em seu interior cistos com bradizoítas (Dubey et al., 2002). São resistentes aos ácidos gástricos e perdem seu potencial infectante em 24 horas a uma temperatura de -20°C (Lindsay & Dubey, 1990). Bradizoítas e cistos teciduais podem sobreviver por até duas semanas sob refrigeração de 4°C, mas são mortos pelo congelamento (Lindsay et al., 1992; Dubey et al., 2004).

c) Oocistos:

Morfologicamente os oocistos apresentam tamanho variável de 10,6 – 12,4 por 10,6 – 12,0 μm (Dubey et al., 2002), e em condições ideais de aeração e temperatura ambiental, esporulam e tornam-se infectantes dentro de 24 horas, sendo mais comum a esporulação em 48 – 72 horas (Lindsay et al., 1999). Cada oocisto esporulado contém dois esporocistos de aproximadamente 8,4 por 6,1 μm , cada um contendo quatro esporozoítas alongados com cerca de 6,5 por 2,0 μm (Dubey et al., 2002), e representa o estágio do parasita ambientalmente resistente (Neto et al., 2011).

A quantidade de oocistos eliminada nas fezes de cães é considerada baixa em relação a outros coccídios. Os cães começam a eliminar oocistos de *N. Caninum* sete dias após a infecção e estes são liberados durante 1-5 dias (Cavalcante et al., 2011). Ainda existe dificuldade na identificação morfológica, pois oocistos de *N. caninum* são semelhantes aos de outros coccídios, como *Hammondia* (Slapeta et al., 2002).

2.1.3. Ciclo biológico de *Neospora caninum*

O ciclo biológico de *N. caninum* foi descrito pela primeira vez por McAllister et al. (1998), após a descoberta do cão ser o hospedeiro definitivo. Possui ciclo de vida heteroxeno facultativo (Gondim et al., 2004b) composto por duas fases: a fase assexuada que ocorre nos hospedeiros intermediários e a fase sexuada (gametogonia) nos hospedeiros definitivos (Dubey et al., 2002).

Os cistos teciduais, contendo bradizoítas, são primariamente encontrados no sistema nervoso central de hospedeiros intermediários, mas esse estágio também pode ser encontrado no tecido muscular (Peters et al., 2001). Após ingerirem cistos em diversos tecidos, tais como fetos abortados, bezerros natimortos, placentas e membranas fetais (Dijkstra et al., 2002a; Reiterova et al., 2009), no intestino dos hospedeiros definitivos ocorre a fase sexuada (entero-epitelial) e em um período de aproximadamente 7 dias começam a eliminar oocistos não

esporulados nas suas fezes (Cavalcante et al., 2011). Os oocistos esporulam de acordo com as condições ambientais, e em condições ideais, podem tornar-se infectantes em apenas 24 horas (Lindsay et al., 1999), é desconhecido por quanto tempo o oocisto esporulado pode sobreviver no ambiente, ma provavelmente ele é bem resistente.

Devido ao hábito de canídeos domésticos e selvagens se alimentarem de restos de parição, podem ingerir e disseminar o agente (Reiterova et al., 2009). Cães liberam pouca quantidade de oocisto por um curto período, mas a liberação por períodos longos já foi observada, através da análise de fezes de um cão que eliminou oocistos por quatro meses (McGarry et al., 2003). Não é sabido se a liberação de oocistos pelo cão é contínua ou se este volta a liberar oocistos após nova infecção. A possibilidade de transmissão entre hospedeiros silvestres e domésticos foi verificada através da comprovação do ciclo silvestre (Gondim et al., 2004b).

Os hospedeiros intermediários ao ingerirem oocistos esporulados provenientes de alimentos ou água contaminados, degradam a parede do oocisto e permite a liberação de esporozoítas na luz do intestino delgado que se transformam em taquizoítas ao penetrarem nas células e se multiplicam rapidamente lesionando tecidos e provocando uma infecção (Dubey, 2003). A partir da resposta imune do hospedeiro, alguns taquizoítas se transformam em bradizoítas, se dividindo lentamente dentro de cistos teciduais (Dubey & Lindsay, 1996).

2.1.4. Transmissão de *Neospora caninum*

A ingestão de oocistos é a única forma de transmissão horizontal já demonstrada em ruminantes, e *N. caninum* é um dos mais eficientes microrganismos transmitidos pela via transplacentária em bovinos (Dubey et al., 2007). Uma vez infectados, os animais podem transmitir a infecção aos seus descendentes em diferentes gestações (Piergili-Fioretti et al., 2003). Essa forma de transmissão pode ocorrer tanto em fêmeas com sintomatologia abortiva, como naquelas que não abortaram (Dubey et al., 2007).

Os canídeos geralmente se infectam pela ingestão de cistos presentes em tecidos ou, mais raramente, através do leite contaminado por taquizoítas, o que pode levar a posterior eliminação de oocistos no ambiente (Bergeron et al., 2001). A transmissão horizontal geralmente ocorre por meio da infecção oral-fecal, onde o hospedeiro definitivo elimina oocistos no ambiente, contaminando água ou alimentos (Mcallister et al., 1998; Dubey, 1999a). A liberação de oocistos em cães naturalmente infectados é rara (Basso et al., 2001; Slapeta et al., 2002), experimentalmente Rodrigues et al. (2004) demonstraram que cães jovens, desafiados pela primeira vez, produzem oocistos, e em cães adultos, anteriormente desafiados, a produção de oocisto é limitada ou ausente.

Animais de vida selvagem podem servir como reservatórios para carnívoros silvestres influenciando na exposição do agente ao ambiente doméstico, visto que a transmissão entre animais silvestres e domésticos já foi comprovada (Gondim et al., 2004b).

Outros modos de transmissão são sugeridos, como o sêmen e leite. A transmissão venérea é considerada improvável, embora seja possível, pois em condições experimentais necessita de grande número de taquizoítas para infecção. A transmissão lactogênica foi demonstrada experimentalmente quando taquizoítas foram adicionados ao colostro oferecido a bezerros recém-nascidos, porém, não é considerada importante na epidemiologia da doença (Uggla et al., 1998; Davison et al., 2001). Dijkstra et al. (2001) constataram que cães alimentados com leite contaminado com taquizoítas não eliminaram oocistos.

2.1.5. Neosporose em ovinos

Dubey et al. (1990a), foram os primeiros a relatar *N. caninum* infectando naturalmente ovinos através da avaliação de um cordeiro recém-nascido que apresentava alterações neurológicas e veio a óbito com uma semana de vida. Utilizando a imuno-histoquímica e análise ultraestrutural dos cistos foi constatado que se tratava de uma infecção por *N. caninum* pela via transplacentária. Kobayashi et al. (2001) constataram o primeiro caso de infecção natural pelo *N. caninum* acometendo uma ovelha prenhe e seus dois fetos gêmeos.

Por ser um parasito intracelular, pode causar morte celular devido à resposta inflamatória contra o taquizoíto no momento de sua multiplicação e pela própria ação do parasita (Dubey, 1992). Weston et al., (2009) infectaram ovinos com taquizoítas de *N. caninum* e observaram alterações clínicas como febre, aborto, autólise fetal, nascimento prematuro e distocia.

Bishop et al. (2010) encontraram no cérebro de um ovino adulto da raça Merino, na Austrália, lesões como meningoencefalite não-supurativa grave, mielite não-supurativa leve a moderada, edema e necrose multifocal no mesencéfalo através da histopatologia, e DNA de *N. caninum* foi identificado por PCR. Granulomas, necrogranulomas, hemorragia, congestão e focos inflamatórios em tecido cerebral também podem ocorrer em ovinos (West et al., 2006; Weston et al., 2009).

Em inoculação experimental em ovelhas gestantes, *N. caninum* provoca patologia muito semelhante à observada em bovinos (Buxton et al., 1998). Embora a infecção persistente pareça se estabelecer em ovinos (Schares et al., 2002), a recrudescência da infecção materna é relatada como frequente experimentalmente (Buxton et al., 2001).

Ovinos têm sido utilizados como um excelente modelo experimental para testar a eficácia de testes de vacinas contra o aborto por neosporose em ruminantes (Dubey et al., 2011a), porém o seu papel epidemiológico na infecção ainda não está bem esclarecido (Mcallister et al., 1996; Buxton et al., 1997). Estudos afirmaram que as ovelhas podem abortar repetidamente após uma infecção inicial por neosporose, mas existe a possibilidade de haver um grau de imunidade contra novos abortamentos e transmissão placentária (Jolley et al., 1999; Buxton et al., 2001).

No Brasil, Pena et al. (2007) isolaram *N. caninum*, por meio de bioensaio em cão que ingeriu parte do cérebro de uma ovelha infectada. Os oocistos eliminados pelo cão foram inoculados em roedores, dos quais constataram a infecção pela recuperação de cistos e por PCR. Foram examinados ainda cérebro, cerebelo e medula espinhal através do PCR, seguido de seqüenciamento, o que confirmou a presença do parasito.

2.1.5.1. Prevalência

A neosporose é uma enfermidade de distribuição mundial. Em ovinos tem sido detectada em diversos países com positividade variando de 2,2% na Austrália (Bishop et al., 2010) a 63% na Jordânia (Abo-Shehada & Abu-Halaweh, 2010). Estudos sobre a prevalência de *N. caninum* infectando naturalmente ovinos são escassos quando comparados com os de bovinos.

No Brasil, foram encontradas prevalências de anticorpos contra *N. caninum* em ovinos que variam de 3% em Rondônia (Aguiar et al., 2004) a 64,2% em Pernambuco (Tembue et al., 2011). Os relatos de infecção por *N. caninum* começaram em 1996, em bovinos, com histórico de abortamentos (Brautigam et al., 1996). Vários estudos foram publicados a partir de 1999 de forma mais intensiva relatando infecções do parasito em cães e em outras espécies (Gondim et al., 1999; Andreotti et al., 2004).

O primeiro isolamento de taquizoítas de *N. caninum*, no Brasil, foi descrito na Bahia, em um cão da raça Collie, macho, de sete anos de idade, que apresentava incoordenação e paralisia dos membros posteriores (Gondim et al., 2001).

Vários aspectos podem influenciar a soroprevalência da neosporose ovina, como fatores epidemiológicos, regionais, idade, manejo, testes sorológicos e pontos de corte aplicados na sua determinação (Ueno et al., 2009; Soares et al., 2009). Na tabela 1.1 verificam-se estudos de prevalência de anticorpos contra *N. caninum* no Brasil.

Tabela 1.1 – Prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos no Brasil.

| Estado | Nº amostras | Técnica | Prevalência (%) | Fonte |
|-------------------|--------------------|----------------|------------------------|------------------------|
| Rio Grande do Sul | 305 | RIFI | 9,5 | Romanelli et al., 2007 |
| Rio Grande do Sul | 660 | ELISA | 4,24 | Helmick et al., 2002 |
| Rio Grande do Sul | 597 | RIFI | 9,2 | Figliuolo et al., 2004 |
| Rio Grande do Sul | 62 | ELISA | 3,2 | Vogel et al., 2006 |
| São Paulo | 150 | | 3 | Cardoso et al., 2008 |
| Rondônia | 141 | RIFI | 29 | Aguiar et al., 2004 |
| São Paulo | 382 | RIFI | 12,8 | Langoni et al., 2010 |
| Minas Gerais | 488 | RIFI | 13,1 | Andrade et al., 2012 |
| Pernambuco | 81 | RIFI | 64,2 | Tembue et al., 2011 |

2.1.5.2. Fatores associados à infecção

O conhecimento sobre os fatores associados à infecção de *N. caninum* em ovinos é importante para desenvolver e programar medidas de controle adequadas. Atualmente existem poucos estudos dos fatores associados à neosporose ovina. Baseado no fato da patogenia em ovelhas prenhes ser semelhante em vacas prenhes (Buxton et al., 1997), a espécie ovina é um excelente modelo experimental para bovinos (Dubey & Schares, 2011a), e, possivelmente, os fatores de risco avaliados sejam semelhantes entre ambas as espécies.

A idade pode ser um importante fator na transmissão horizontal, pois as chances de ingestão de oocistos presentes no ambiente aumentam a medida que o animal passa mais tempo exposto a pastagens e ambientes potencialmente contaminados, assim quanto mais velho o animal maior a chance de ter sido exposto ao protozoário. A idade do animal também pode estar relacionada com a taxa de reposição, influenciado pelo tempo em que o animal permanece no rebanho (Bartels et al., 2006).

O contato dos rebanhos com cães é considerado um fator de risco na infecção por *N. caninum* (Asmare et al., 2013; Santos et al., 2013) devido à possibilidade de contaminação dos hospedeiros intermediários com alimentos contendo oocistos de suas fezes (Dijkstra et al., 2002b), porém, Von Blumroder et al. (2006) sugeriram que o cão é um fator de proteção em propriedades de corte, possivelmente por restringir a presença de outros canídeos na propriedade, e demonstrando que nessas situações o contato com as excreções de cães de fazenda e os animais é limitado pela distância.

Em estudo com vacas leiteiras em Sergipe, para pesquisa de anticorpos contra *N. caninum* através de ELISA, foi verificado que propriedades mais tecnificadas apresentaram maior frequência de animais positivos (Melo et al., 2003a). Melo et al. (2004) verificaram que em bovinos, a co-infecção dos agentes *N. caninum*, Herpesvirus tipo 1 e Diarréia Viral Bovina ocorre amplamente, e o sinergismo entre os patógenos altera a epidemiologia da infecção em vacas.

O fornecimento de feno na alimentação dos animais pode ser questionado, pois a sua utilização diminui o tempo de pastejo e conseqüentemente evita a ingestão de oocistos nas pastagens (Dubey et al., 2007). No entanto, Barling et al. (2001) demonstraram que o mau

armazenamento do feno foi um fator de risco para a infecção pelo *N. caninum*, associação explicada através da observação de vacas que pariam, abortavam ou expeliam placenta próximo ao feno, e lá os cães também defecavam ao buscar os restos de partos.

A pressão produtiva é outro fator importante para bovinos, pois Melo et al. (2001) verificaram que o aumento do estresse imposto a vacas de produção leiteira pode implicar maior chance de recrudescência da infecção. A alta densidade de animais também constitui fator de risco, pois em propriedades onde o número de animais é maior, existe a possibilidade de suplementação, e esses alimentos geralmente ficam armazenados em locais que atraem roedores, presas para os hospedeiros definitivos de *N. caninum*, podendo contaminar os alimentos com fezes (Barling et al., 2000).

O pastejo em piquetes consorciados parece aumentar o risco da transmissão horizontal, o reaproveitamento de seringas foi identificado com fator de risco, apesar da transmissão iatrogênica não ser relatada (Santos et al., 2013). O tamanho do rebanho pode ser considerado um fator para infecção pelo *N. caninum*, já que em rebanhos maiores as medidas de controle para evitar o acesso dos cães às placentas ou outro material infectado são mais difíceis (Schaes et al., 2004).

2.1.5.3. Patogenia

O hospedeiro intermediário ingere oocistos esporulados, conseqüentemente havendo liberação de esporozoítas na luz intestinal, que ao penetrarem nas células do epitélio transformam-se em taquizoítas. Taquizoítas se dividem rapidamente, e podem penetrar em diversas células do hospedeiro (macrófagos, polimorfonucleares, neurônios, fibroblastos, endotélio vascular, miócitos, células tubulares renais, hepatócitos, placenta e líquido amniótico), causando severas lesões em distintos órgãos (Dubey & Lindsay, 2000; Farias, 2002). Como mecanismo de defesa do protozoário à resposta imune, alguns se transformam em bradizoítas, dentro de cistos de parede espessa, permanecendo latentes, em divisão lenta (Dubey & Lindsay, 1996).

Estudos sugerem que o resultado da infecção por *N. caninum* sobre o feto bovino depende da idade gestacional do mesmo e da sua competência imunológica no momento da infecção materna (Barr et al., 1994b). Outros relatos indicam que a capacidade de suscitar alguma resposta imune mediada por células em fetos bovinos pode existir a partir de 120 dias de gestação (Higgins et al., 1983; Hein et al., 1988, Jensen et al., 1988).

McAllister et al. (1996), utilizando isolados de cães, demonstraram que infecções experimentais, em bovinos, no início de gestação (65 dias), com $1,7 \times 10^5$ ou $1,7 \times 10^6$ taquizoítas, resultaram em abortamento em todos os casos, enquanto que infecções em gestações avançadas (120 dias) resultaram em animais clinicamente normais. Estes estudos provaram que o período de gestação é importante frente a uma infecção, indicando uma resposta imune por parte do feto no terço final da prenhez. Estudos imunoistoquímicos revelaram cistos do protozoário em cérebro de 38% dos fetos abortados. Semelhante ao que ocorre na infecção natural, os cistos não foram encontrados fora do SNC.

Buxton et al. (2001), experimentalmente, observaram que todas as fêmeas inoculadas durante a gestação apresentaram aborto enquanto ovelhas inoculadas antes da cobertura não apresentaram mortalidade de seus cordeiros, confirmando a importância do tempo de prenhez na infecção.

2.1.6 Diagnóstico

Para um diagnóstico preciso da infecção por *N. caninum* é necessário a combinação do histórico do rebanho, sinais clínicos e exames laboratoriais. Casos de abortos ou natimortos em ovinos adultos sugerem uma infecção, porém, casos assintomáticos ou com sinais inespecíficos de neosporose dificultam o diagnóstico clínico da doença, o que torna o exame laboratorial imprescindível (Munhoz, 2009). A análise histológica de tecidos como cérebro, coração, fígado, placenta, fluidos corporais e sangue fetal é importante para o diagnóstico definitivo de neosporose (Dubey, 2005).

Infecção com *N. caninum* pode ser demonstrada através da utilização de testes imunodiagnósticos, por técnicas histopatológicas, molecular e de isolamento (Dubey, 1999b; Dubey, 2003). Testes Imunodiagnósticos disponíveis são: reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ELISA, aglutinação direta, imuno-histoquímica (IHQ) e eletroforese combinado com imunodeteção (Western Immunoblot) (Dubey, 1999a; Dubey, 1999b). A Histopatologia e a Imuno-histoquímica realizadas em tecido fetal bovino são técnicas diagnóstico importantes em infecções por *N. caninum* (Dubey, 2005).

O diagnóstico de aborto consequente a neosporose pode ser realizado na presença de lesões como meningoencefalite necrosante multifocal (MENM), miocardite, miosite, nefrite, hepatite, pneumonia e adrenalite não-supurativa focal caracterizada pela presença de células mononucleares. A presença do parasito nessas lesões pode ser confirmada por IHQ realizada em tecidos fetais formalinizados. Embora a sua sensibilidade seja baixa, provavelmente devido à ausência de parasitas no tecido autolisados, é uma técnica válida de diagnóstico (Anderson et al., 2000).

A técnica de PCR é utilizada para detectar DNA de *N. caninum* em tecidos de animais infectados (Baszler et al., 1999). Contudo, devido à alta eficiência que *N. caninum* apresenta para transmissão vertical, independente da manifestação clínica, os resultados positivos por IHQ, histopatológicos ou PCR devem ser sempre associados a problemas reprodutivos e o uso de outras técnicas diagnóstico é necessário, não só para identificar os protozoários, mas também para excluir outras causas de aborto (Pereira-Bueno et al., 2003).

Exames sorológicos são ineficazes para o diagnóstico de abortos causados por *N. caninum* em ovinos (Reichel et al., 2008). A produção de anticorpos proporciona a detecção de animais positivos e indica que houve exposição ao agente, não necessariamente a infecção, e é importante nos estudos epidemiológicos (Hoffmann, 2007).

A Reação de Imunofluorescência Indireta é teste referência por apresentar boa sensibilidade e especificidade (Langoni et al., 2011), foi o primeiro teste imunodiagnóstico utilizado para detecção de *N. caninum* (Dubey et al., 1998) e sua utilização tem sido bastante difundida (Andreotti et al., 2002).

2.1.7. Importância econômica

A neosporose em ovinos tem impacto reprodutivo significativo, com perdas econômicas subseqüentes, porém, menos relevantes que em bovinos (Sasani et al., 2013). A neosporose pode causar doença durante a gestação que resulta em aborto, mortalidade neonatal, nascimento de filhotes congenitamente infectados e sinais clínicos em ovelhas adultas (Zhang et al., 2011). No entanto, em propriedades em que são criados juntamente com bovinos, os ovinos podem eventualmente participar da epidemiologia da infecção como fonte de tecido infectado para o hospedeiro definitivo que por sua vez transmite horizontalmente, via oocistos, para bovinos, e o protozoário se mantém no rebanho através da transmissão vertical (Romero & Frankena, 2003).

Consequentemente, esta infecção produz grandes perdas reprodutivas no rebanho bovino, incluindo retornos ao cio, com intervalos regulares ou irregulares, abortos, nascimento de bezerros fracos e inviáveis, com problemas neurológicos, ou persistentemente infectados (Dubey & Lindsay, 1996). Pesquisas revelaram que, no mundo, essas perdas variam de 35 a 85 milhões de dólares por ano (Dubey, 1999a).

2.1.8. Controle e profilaxia

As medidas de controle contra *N. caninum* ainda são limitadas e podem ser consideradas inviáveis ou pouco práticas (Munhoz et al., 2009). O controle e profilaxia são fundamentados nos aspectos epidemiológicos conhecidos, e devem ser realizados com o intuito de evitar a disseminação da doença uma vez que não existe tratamento ou vacina eficaz. A descoberta de novos hospedeiros, possibilidade de novas vias de transmissão e dificuldade no diagnóstico da infecção somam-se aos desafios (Costa et al., 2008).

A presença de cães soropositivos nas propriedades rurais foi correlacionada com a alta soroprevalência de *N. caninum* em bovinos (Wouda et al., 1999). Recomenda-se que cães,

únicos hospedeiros definitivos domésticos, até o momento, não devam ter acesso às instalações e à água ou comida de possíveis hospedeiros intermediários (bovinos, ovinos, caprinos e outros) para evitar uma possível contaminação com suas fezes (Dijkstra et al., 2002b; Reiterova et al., 2009). Assim como deve ser evitado o consumo de placentas, carcaças, descargas uterinas e alimentação com carne crua por parte dos cães (Trees & Williams, 2000).

Não há agentes quimioterápicos efetivos capazes de curar os animais infectados (Dubey, 2003). Animais positivos podem ser descartados como uma forma eficaz de controle da infecção em curto prazo, porém, do ponto de vista econômico, não é considerado viável (Almería et al., 2009).

Para controlar a infecção congênita, mediante descarte de animais infectados, deve-se repor com animais negativos que não sejam descendentes dos portadores de infecção (French et al., 1999; Jensen et al., 1999). A transferência de embriões para fêmeas negativas é recomendada como método de controle para prevenir a transmissão vertical (Baillargeon et al., 2001; Ferre et al., 2008).

Vacinas têm sido desenvolvidas como uma estratégia racional de prevenir a neosporose, porém, devido a baixa eficiência e ambiguidade dos resultados, a única vacina comercializada foi recentemente tirada do mercado (Monney & Hemphill, 2014)

2.2 Brucelose Ovina

A brucelose ovina é uma doença infecciosa crônica dos ovinos causada por bactérias do gênero *Brucella*, caracterizada por vários graus de epididimite e orquite em machos, placentite e abortamento em fêmeas, e elevada mortalidade de cordeiros (Niilo et al., 1986; Homse et al., 1995; Baigún et al., 2000).

2.2.1 História

A infecção clínica foi descrita inicialmente na Nova Zelândia, através de relatos de abortos e natimortos em ovinos, tendo sido identificada uma bactéria como causa, e sendo associada a casos naturais e experimentais de epididimite. Em seguida, na Austrália, foi isolado microrganismo, similar a bactéria do gênero *Brucella*, do epidídimo de carneiros (Simmons & Hall, 1953). Posteriormente, o isolado da Nova Zelândia foi caracterizado, com intuito de esclarecer a etiologia da doença reprodutiva em ovelhas e relatar a possível condição de infecção da membrana fetal em cordeiros, e, sugeriu-se que o organismo era uma forma mutante de *Brucella melitensis* (Buddle & Boyes 1953). Em 1956 esse agente recebeu a denominação de *Brucella ovis* (Buddle, 1956).

As espécies *B. melitensis* e *B. ovis* podem causar desordens em ovinos, e mais raramente a *B. abortus* (Narez et al., 1999; Ocholi et al., 2005). Porém, não há relatos da ocorrência de *B. melitensis* no Brasil (Poester et al., 2002).

Brucella ovis apresenta distribuição cosmopolita e seu primeiro relato foi realizado por Buddle e Boyes em 1953, na Nova Zelândia. No Brasil o primeiro diagnóstico clínico da doença foi relatado por Ramos et al. (1966), e o isolamento do agente em epidídimos de ovinos por Blobel et al. (1972), ambos no Rio Grande do Sul.

Inquéritos sorológicos pontuais para *B. ovis* em ovinos têm sido efetuados no Brasil e os percentuais de animais reagentes encontrados são variáveis: 34,0% e 11,3% no Rio Grande do Norte (Silva et al., 2003; Azevedo et al., 2004); 13,4% no Rio Grande do Sul (Magalhães Neto & Gil-Turnes, 2003), 17,5% em Pernambuco (Coletto et al., 2003), 12% em São Paulo (Nozaki et al., 2004), 5,6% e 7,5% na Paraíba (Clementino et al., 2007; Alves et al., 2010) e 3,3% da Bahia (Silva et al., 2009).

Como fatores associados à infecção por *B. ovis* têm-se: compartilhamento de pasto com outros ruminantes (Riviriego et al., 2000), tamanho do rebanho (rebanhos grandes), rebanhos sem acesso à água limpa, remoção de estrume insuficiente e/ou limpeza inadequada de instalações, introdução de animais de rebanhos não-livres de brucelose ou de rebanhos de status desconhecido (Coelho et al., 2007), adição de novos animais, empréstimo de ovinos durante estação reprodutiva, contato com outros rebanhos de ovinos (Al-Majali et al., 2007) e aptidão

produtiva (Coelho et al., 2008). Por outro lado, como fatores associados à proteção têm-se: higienização das instalações (Clementino et al., 2007), idade dos criadores (mais velhos) (Coelho et al., 2007) e vacinação com vacina Rev-1 no caso de *B. mellitensis* (Al-Majali et al., 2007).

2.2.2 Etiologia

As bactérias do gênero *Brucella* pertencem ao grupo alfa das Proteobactéria e família Rhizobiaceae, são cocobacilos pequenos, gram-negativos, medindo de 0,6-1,5 μm de comprimento e 0,5-0,7 μm de diâmetro (Maurin, 2005). São parasitas intracelulares facultativos, não encapsuladas, imóveis, não formadores de esporos (Gul & Khan, 2007), estritamente aeróbios, catalase positiva e oxidase geralmente positiva. O gênero *Brucella* inclui as espécies: *B. mellitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*, *B. microti*, *B. ceti*, *B. pinnipedialis* e *B. inopinata*, sendo que as três últimas cepas foram integradas ao gênero pelo *International Committee on Systematics of Prokaryotes, Subcommittee on the Taxonomia of Brucella* (ICSP, 2010). *Brucella* spp. que acometem os mamíferos terrestres são importantes zoonoses com exceção a *Brucella ovis* que não apresenta risco ao homem (Maurin, 2005).

As brucelas crescem em meios cujo pH é alcalino, enriquecidos com 7% de sangue ou soro, em uma atmosfera com 10 a 20% de dióxido de carbono em cultivo primário (Robles, 1998). Baseado no aspecto das colônias em cultivo primário, as diferentes espécies são classificadas em lisas, como *B. mellitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotomae*; ou rugosas como *B. canis* e *B. ovis* (Castro et al., 2005). Tal classificação baseia-se na composição bioquímica dos lipopolissacarídeos de membrana, que estão relacionados à virulência das espécies (Brasil, 2006).

A sobrevivência desses agentes, na ausência de parasitismo, depende das condições ambientais (Lage et al., 2008). Diante disso, *Brucella* spp. pode resistir no ambiente por longos períodos, principalmente quando as condições de umidade, pH e temperatura são favoráveis (Pessegueiro et al., 2003).

2.2.3 Epidemiologia

Brucella ovis possui distribuição mundial e acomete naturalmente ovinos, e mais raramente cervídeos (*Cervus elaphus*). Experimentalmente já foi observada infecção em animais de laboratórios e caprinos (Ridler, 2002). Não há relatos de infecção de humanos por esta espécie de *Brucella* (Narez et al., 1999).

A infecção por *B. ovis* tem sido registrada na maioria dos países onde a ovinocultura representa uma importante atividade econômica. Alguns países têm controlado e erradicado a enfermidade, e outros não possuem informações da real situação (Robles, 1998). *B. ovis* foi reportada na Austrália, América do Norte e do Sul, Nova Zelândia, África do Sul e em vários países da Europa (OIE, 2012). A brucelose em pequenos ruminantes causada por *B. abortus* foi relatada em alguns países, como Venezuela (Arias et al., 2007), Egito, Índia, Emirados Árabes Unidos, Sudão, Omã (Gul & Khan, 2007), Brasil (Peixoto et al., 2008) e México (Torres et al., 1997).

As prevalências sorológicas da infecção por *B. ovis* variam de acordo com diferentes fatores como região, raça, idade, sexo e outros. Quando a enfermidade é reportada pela primeira vez em um país ou região a incidência tende a ser alta, entre 20 a 60 % de carneiros infectados e entre 45 a 70% das matrizes. Em países onde a enfermidade é endêmica a incidência tende a ser menor (Robles, 1998).

2.2.4 Fatores associados à brucelose ovina

Coelho et al. (2007) estudaram os fatores de risco associados a rebanhos de pequenos ruminantes portugueses com presença de animais soropositivos e relataram as seguintes características com potencial de aumentarem a probabilidade de infecção: rebanhos com mais de 116 animais (OR = 2,99), com remoção inadequada de fezes e falta de higiene nas instalações (OR = 2,87), sem limpeza de bebedouros (OR = 3,05), com introdução de animais de rebanhos não livres de brucelose ou de estado sanitário desconhecido (OR = 12,11) demonstrando a

importância do manejo sanitário para controle da enfermidade. Foi observado também a diminuição da chance de ocorrência da infecção em propriedades onde os responsáveis tinham 55 anos ou mais (OR = 0,4).

Na Jordânia os fatores de risco observados para o contágio foram: adição de novos animais no rebanho (OR=2,8), contato entre rebanhos ovinos (OR=1,8), empréstimo de machos durante a estação reprodutiva (OR= 1,9) (Al-Majali et al., 2007) e pastejo em piquetes consorciados (Al-Talafhah et al., 2003) (OR = 22.60). Dados semelhantes foram obtidos por Reviriego et al. (2000) na Espanha, que descreveu pastoreio em pastagens consorciadas com outros ruminantes como fator de risco, assim como relatados por Islam et al. (2013).

A vacinação com vacina Rev-1 comportou-se como um fator de proteção à infecção (OR= 0.01) (Al-Talafhah et al., 2003; Al-Majali et al., 2007), assim como a frequência de práticas de desinfecção, mais de três vezes ao ano (OR = 0,02) (Reviriego et al., 2000), uso de desinfetantes, fornecimento de água encanada (Al-Talafhah et al., 2003) e a disponibilidade de serviço veterinário na propriedade (Mainar-Jaime & Vázquez-Bolande, 1999).

No Paraíba, a baixa frequência de higienização das instalações foi a característica associada ao aumento do risco de infecção pela *B. ovis* em carneiros, pois nas propriedades onde a higienização era realizada com frequência diária/semanal e/ou mensal não houve animais soropositivos, contra 7,2% (6/77) e 12,5% (18/126) das propriedades que não higienizavam e o faziam de forma semestral e anual, respectivamente (Clementino et al., 2007).

2.2.5 Transmissão

A transmissão da brucelose pode ocorrer por contato direto com tecidos de animais infectados e por via transplacentária; e por contágio indireto pela ingestão de alimentos e água contaminados (Castro et al., 2005), fômites e inseminação artificial (Brasil, 2006). Já a penetração das brucelas no organismo dos hospedeiros pode ocorrer pelas vias digestiva, respiratória e pelas mucosas conjuntival, prepucial e vaginal, além da pele lesionada (Brasil, 2006), sendo que para os ovinos, a principal porta de entrada para *B. ovis* é a mucosa genital; já para *B. abortus* é por via digestiva, durante a ingestão de alimentos e/ou água contaminados (Lira & Megid, 2009).

Quispe et al. (2002) observaram rápida disseminação da enfermidade durante 60 dias de estação de monta no Peru, durante esse período foram observados 27 casos novos de machos sororeagentes em rebanho de reprodutores e prevalência pré-estação de monta de 58,7% (101/172) de machos positivos a *B. ovis*.

A transmissão de *B. ovis* de machos artificialmente infectados para fêmeas não infectadas através do coito foi demonstrada por Brown et al. (1973). Essas mesmas fêmeas foram fontes de infecção para outros machos não infectados após acasalamento, confirmando a transmissão venérea do agente.

Devido à capacidade de aderência à zona pelúcida do óvulo, a *B. ovis* pode ser vastamente disseminada através da técnica de transferência de embriões, sendo que a técnica de lavagem do material a ser transferido com Penicilina e Estreptomicina, nem sempre é eficaz (Wolfe et al., 1988). Palhetas de sêmen podem ser outra fonte de disseminação da doença entre as fronteiras (Ridler, 2002), além da importação de reprodutores, como ocorreu com o México que teve seu primeiro relato da doença em 1979 em machos Suffolk importados do EUA (Luna-Martínez & Mejín-Teran, 2002).

2.2.6 Patogenia

As alterações clínicas causadas pela *Brucella* spp. são encontradas, especialmente, nos órgãos reprodutores e tecido retículo-endotelial. As lesões no trato reprodutor, na placenta e no feto de bovinos, ovinos, suínos e caprinos levam à infertilidade, associadas ou não ao abortamento (Ocholi et al., 2005). Tais lesões são decorrentes do processo patológico da doença, que é iniciado com a penetração do agente pelas mucosas. Em seguida, a bactéria é conduzida livremente ou no interior dos macrófagos por meio da corrente linfática, aos linfonodos regionais, onde se multiplica ativamente e permanece por dias a meses. A partir daí, atinge a circulação sanguínea, caracterizando um quadro agudo, favorecendo a disseminação da bactéria por todo organismo, especialmente nos órgãos ricos em células fagocitárias, como fígado, linfonodos, baço, bem como pulmões e rins, podendo ocasionar hiperplasia linfóide, granulomas difusos, esplenomegalia, hepatomegalia e endocardite (Paulin, 2003; Brasil, 2006; Lira & Megid, 2009).

Devido à preferência das brucelas por eritritol, álcool utilizado pelo microrganismo como fonte de energia para seu crescimento, a maioria das lesões se concentram nos órgãos genitais, onde há maior concentração desta substância (Brasil, 2006; Gul & Khan, 2007). A partir do segundo mês pós-infecção, *B. ovis* desaparece dos gânglios linfáticos e outros órgãos encontrando-se unicamente nos epidídimos, vesículas seminais, glândulas bulbouretrais, ampolas dos ductos deferentes e, por vezes, nos rins (Robles, 1998).

Estabelecida no epidídimo, *B. ovis* produz uma reação inflamatória caracterizada por edema perivascular e infiltração celular do tecido conectivo. Ocorre hiperplasia do epitélio dos túbulos epididimários e um processo de metaplasia leva a formação de vesículas intra-epiteliais. As mudanças epiteliais conduzem ao extravasamento de espermatozóides no interstício causando uma forte reação inflamatória e a formação de granulomas espermáticos. As vesículas seminais e as ampolas parecem ser o local mais comum da infecção por *B. ovis*, porém sem lesões palpáveis no aparelho reprodutor (Robles, 1998). Segundo Pessegueiro et al. (2003), agentes que causam doença crônica, como é o caso das brucelas que podem adentrar no interior dos macrófagos e do retículo endoplasmático rugoso de células inflamatórias, adquirem a capacidade de evitar ou suprimir a resposta imunológica, pois, impedem a formação do fagolisossoma (Gross et al., 2003) e degranulação de neutrófilos (Castro et al., 2005).

Brucella ovis tem sido isolada em carneiros a partir do epidídimo, testículo, túnica vaginal, vesículas seminais, ampolas dos ductos deferentes, glândulas bulbouretrais, fígado, rins, baço e gânglios linfáticos regionais. Contudo, o sêmen é a via de maior importância para excreção e transmissão do agente. As fêmeas se infectam e desenvolvem a enfermidade quando prenhes, e a resposta inflamatória gera, principalmente, placentite, porém são incapazes de manter a infecção de uma estação reprodutiva para outra (Robles, 1998).

2.2.7 Sinais clínicos

A brucelose em ovinos é uma enfermidade crônica causada especificamente por *B. ovis*, caracterizada por induzir lesões genitais, caracterizadas por epididimite e sêmen de

qualidade variável (Megid et al., 2010), podendo resultar em subfertilidade ou infertilidade nos machos (Carvalho Junior et al., 2010), abortamentos nas fêmeas e mortalidade de cordeiros (Xavier et al., 2009). *B. mellitensis* e, raramente, *B. abortus* podem causar a doença em ovinos, sendo que a ocorrência dessas bactérias nesses animais está associada à criação consorciada de caprinos, bovinos e ovinos (Ocholi et al., 2005). Ademais, *B. mellitensis* não foi diagnosticada no Brasil (Brasil, 2006).

As lesões causadas por *B. ovis* se restringem ao trato reprodutor de fêmeas e machos, concentrando-se no epidídimo, testículo e vesículas seminais (Paulin, 2003; Carvalho Junior et al., 2010), enquanto nas fêmeas *B. ovis* ocasiona cervicite e endometrite, podendo ou não estar associada a abortamentos (Carvalho Junior et al., 2010), e, ainda, mortalidade neonatal em cordeiros (Buddle, 1956).

Os sinais clínicos iniciais passam geralmente despercebidos, os animais apresentam um período de febre acompanhada de apatia, dispnéia e inflamação do escroto. A primeira lesão palpável no epidídimo aparece em torno de 45 dias após infecção, ocorrendo ainda dor local e acúmulo de líquido dentro da bolsa escrotal (Robles, 1998).

As fêmeas infectadas podem abortar. Os abortamentos ocorrem, com máxima frequência, na segunda metade da gestação e acarretam como sequela a endometrite. Também é observado o nascimento de crias mortas ou de cordeiros com debilidade vital na gestação a termo (Beer, 1999).

Após período agudo, as lesões palpáveis variam de leve aumento de tamanho a severas áreas de induração dos testículos, com deformações na cauda do epidídimo, bolsa escrotal espessa e com fibrosamento que restringe a mobilidade do testículo, há inclusive aderências fibrosas obstruindo a cavidade que separa as túnicas (Ridler, 2002; Robles, 2004). Os animais afetados apresentam libido normal e a qualidade do sêmen é variável, porém, usualmente, a concentração e a motilidade de espermatozóides está diminuída, surgindo defeitos de cauda e cabeça dos espermatozóides soltas com aumento variável da quantidade de neutrófilos (Robles, 1998), e o microrganismo pode ser excretado no sêmen ou os animais infectados apresentam apenas resposta sorológica (Burgess et al., 1982).

A má qualidade do sêmen se deve à presença das lesões palpáveis no epidídimo, principalmente quando ambos estão afetados, pois a epididimite pode ser uni ou bilateral, mas

comumente é unilateral, e as lesões testiculares são sempre secundárias à epididimite, ocorrendo principalmente atrofia testicular. Alterações nas vesículas seminais podem ser encontradas, incluindo edema (Carvalho Junior et al., 2010).

Experimentalmente os sinais clínicos se assemelham à infecção natural, ocorrendo degeneração, atrofia e mineralização testicular, aderências testiculares, deformações, aumento de volume, presença de massas caseosas e cistos purulentos nos epidídimos, sendo a maior incidência de granulomas espermáticos na cauda. Histologicamente foi detectado epididimite, vesiculite, ampolite crônica e aglomerado de neutrófilos e macrófagos fagocitando espermatozoides e células gigantes em contato direto com células mononucleares (Paolicchi et al., 2000).

2.2.8 Achados patológicos

As alterações patológicas em carneiros infectados estão praticamente restritas ao trato genital, envolvendo principalmente epidídimos, testículos e glândulas sexuais acessórias. As primeiras lesões aparecem na cauda do epidídimo. Os achados macroscópicos no estágio crônico da enfermidade consistem no aumento do tamanho do epidídimo afetado em até quatro ou cinco vezes de seu tamanho normal. A cauda do epidídimo afetada está firme à palpação e com contorno irregular (Robles, 1998).

Geralmente, em casos de orquite/epididimite por *Brucella ovis*, ao corte dos órgãos reprodutivos, observa-se extravasamento de exsudato amarelado de consistência cremosa e histologicamente presença de granulomas nas três porções do epidídimo, cistos epiteliais, infiltrado de células mononucleares e esclerose de vasos (Narez et al., 1999).

Podem ser observadas aderências entre o epidídimo, testículo e túnica vaginal. Em algumas ocasiões o epidídimo está totalmente afetado, mas é importante salientar que a afecção da cabeça e corpo do epidídimo é sempre precedida pela afecção da cauda do mesmo órgão. As alterações nos testículos são sempre secundárias àquelas dos epidídimos. A atrofia testicular é o achado mais comum e é mais severo em casos onde há grande quantidade de aderências. A presença de calcificação também tem sido reportada (Robles, 1998).

Fêmeas artificialmente infectadas no segundo mês de gestação apresentaram morte neonatal e nascimento de cordeiros saudáveis, sendo possível o isolamento em placentas e detecção de títulos para a bactéria no colostro (Ris, 1970). Ocholi et al., (2004) isolaram o agente em leite e swab vaginal de ovelhas que haviam abortado. As lesões são caracterizadas por degeneração e inflamação do endométrio com infiltração linfóide local ou difusa, com desenvolvimento de endometrite necrótica purulenta em casos mais graves (Burgess, 1982).

Al-Talafhah et al. (2003) estudando oito propriedades da Jordânia, observaram 20% de média de abortamentos no rebanho, e relataram que 13% desses eram causados por *Brucella melitensis*.

Os achados mais consistentes observados em ovelhas prenhes são na placenta fetal, caracterizada por lesões na área intercotiledonária formada de numerosas placas cinza-amareladas. Em muitos casos as placas coalescem formando manchas, a membrana coreoalantóide está aderida ao âmnio ou está espessada por um edema viscoso e gelatinoso. Alguns cotilédones apresentam áreas difusas amarelo-acinzentadas de descoloração e são mais firmes e consistentes que o normal. Mudanças histopatológicas na área intercotiledonária incluem necrose de trofoblastos contendo organismos e são circundados de numerosos neutrófilos e macrófagos. Lesões vasculares são comuns, ocorrendo trombozes com o inchamento das células endoteliais e alterações proliferativas no endotélio e íntima. Infiltrado de neutrófilos e de células mononucleares ocorrem na adventícia e camada média de vários vasos. Nos cotilédones há necrose de vilos com acúmulo de neutrófilos (Burgess, 1892).

2.2.9 Análise de sêmen

A presença de leucócitos no sêmen de carneiros pode ser um indicativo de infecção clínica causada por *B. ovis*, podendo ser utilizado como técnica de triagem (Kimberling et al., 1986). De 887 reprodutores ovinos examinados, 80 apresentaram leucócitos no ejaculado, destes, 67,5% (54) foram positivos para cultura de *B. ovis*. Em amostras fracamente positivas para *Brucella ovis*, os ejaculados estavam aquosos, sêmen pouco denso, acompanhado de coágulos

mucosos e presença de células inflamatórias. Nos casos em que havia muitas células inflamatórias foram encontradas bactérias fagocitadas no interior dos neutrófilos (Wiemer & Ruttle, 1987).

Uma das causas da queda da fertilidade causada pela presença de *B. ovis* ocorre devido à presença de leucócitos no ejaculado que produz citocinas, fator de necrose tumoral- α (TNF- α), radicais livres e reduzem a motilidade e o potencial de fertilidade dos espermatozóides, além do sistema imune produzir resposta anti-espermática de longa duração nas células infectadas (Paolicchi et al., 2000).

A infecção por *B. ovis* causa perda na qualidade seminal devido à queda da concentração e motilidade, aumento de espermatozóides sem cabeça e com defeitos de cauda (Cameron & Lauerman Junior, 1976). Kott et al. (1988) compararam ejaculados de carneiros naturalmente infectados com de machos livres da infecção e descreveram o sêmen de animais positivos com menor motilidade, aumento do número de células espermáticas anormais e com defeitos de cabeça, menor porcentagem de espermatozoides vivos e alta concentração de células brancas no ejaculado e no sangue desses animais.

Em 14 animais experimentalmente infectados Paolicchi et al. (2000), observaram oligospermia, presença de células inflamatórias, aumento de células de progênie espermática, esfregaço seminal contendo a bactéria rodeada por fagócitos, no entanto o isolamento seminal e nos órgãos genitais ocorreu em 57% e 36% dos animais, respectivamente.

2.2.10 Resposta imune

A resposta imunitária do animal é variada e pode estar dirigida contra antígenos presentes nos espermatozóides, fluido seminal, a própria *Brucella* ou uma combinação destes (Robles, 1998).

A imunidade mediada por células tem função de reduzir o número inicial de bactérias. Os macrófagos, neutrófilos e as células natural killer (NK) desempenham um papel fundamental na fase da resposta à invasão contra a *Brucella* sp. (Golding et al., 2001). As células NK formam a primeira linha de defesa contra *Brucella* sp., pois são ativadas diretamente pelas

bactérias. Após ativadas eliminam as células infectadas através da secreção de interferon- γ (IFN- γ), citocina que estimula tanto a atividade de fagocitose bacteriana de macrófagos quanto a atividade citotóxica de linfócitos T CD8 + (Golding et al., 2001).

Os macrófagos têm a função de reconhecer produtos microbianos por ligação direta a eles, e induzem sinais intracelulares que ativam fatores de transcrição (tal como o NF- κ B) que liberam a produção de citocinas tais como TNF- α , IL-1 e IL-6, e processam antígenos em seus compartimentos intracelulares promovendo uma resposta imune adaptativa (Forestier et al., 2000).

Os neutrófilos são responsáveis pela fagocitose e subsequente destruição da *Brucella* sp., e embora sejam as primeiras células relacionadas com a eliminação de agentes patogênicos, são considerados de baixa eficiência na eliminação da *Brucella* sp., pois, podem se disseminar nos órgãos, tornando a infecção constante (Rivers et al., 2006). As bactérias ingeridas podem sobreviver pelo mecanismo destrutivo dos fagócitos graças às moléculas de baixo peso molecular que inibem o sistema antibacteriano mieloperoxidase peróxido de hidrogênio-haleto (Canning et al., 1985).

A ativação do complemento constitui um fator essencial para a resposta inata, ocorrendo após a entrada da *Brucella* sp. no organismo, e tem a função de proteger as células e tecidos normais, evitando a liberação de produtos de degradação e conseqüentemente possíveis lesões teciduais. A lise de bactérias é mediada, principalmente, pela via clássica do complemento, que é dependente de anticorpos (Sarafana et al., 2007).

2.2.11 Diagnóstico

O diagnóstico de maior confiabilidade é obtido por meio do isolamento e identificação do micro-organismo em animais suspeitos (Pinheiro Junior et al., 2008), a partir de amostras de sêmen, leite, secreções vaginais, anexos placentários, fígado, pulmão, linfonodos, testículos, epidídimo e vesículas seminais (Brasil, 2006). Entretanto, essa técnica possui sensibilidade limitada, alto custo e execução demorada. Diante disso, os métodos indiretos

baseados em testes sorológicos são amplamente utilizados em programas de controle e erradicação da doença (Jardim et al., 2006).

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) recomendou para uso nas técnicas sorológicas de diagnóstico para *B. ovis* o extrato salino obtido por aquecimento a partir da cepa REO 198 (OIE, 2011). Este antígeno é rico em lipopolissacarídeo rugoso (LPS-R) e outras proteínas externas de membrana (Estein, 1999). A sensibilidade e especificidade da imunodifusão em gel de ágar (IDGA) têm sido avaliadas por vários pesquisadores, sendo que a sensibilidade varia de 91,7% a 100% e a especificidade situa-se em torno de 100% (Worthigton et al., 1984, Robles, 1998, Ficapal et al., 1998).

Os testes Antígeno Acidificado Tamponado (AAT), 2-Mercaptoetanol e Fixação de Complemento (FC) são as principais provas laboratoriais para detectar anticorpos contra *B. abortus* e contra *B. melitensis* (Ferreira et al., 2003). O teste de Polarização Fluorescente (TPF) foi aprovado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) como teste confirmatório para cepas lisas (Brasil, 2010).

A Fixação de complemento é a prova mais utilizada para o diagnóstico serológico da infecção por *B. ovis*. Tem sido usada com êxito junto com outros procedimentos em programas de controle para eliminar a brucelose bovina em nível de estabelecimento (West & Bruere, 1979).

O AAT é uma técnica de triagem, que consiste numa prova de aglutinação antígeno-anticorpo, usada no diagnóstico de *B. abortus*, sendo que os resultados positivos nesta técnica devem ser confirmados por outros testes, como o 2-ME ou FC (Pessegueiro et al., 2003). O 2-ME tem como função inibir as reações inespecíficas decorrentes de IgM (Nozaki et al, 2004), enquanto a FC é utilizada para identificar anticorpos da classe IgG, de alta especificidade. Tais provas, associadas aos testes de triagem, aumentam a especificidade do diagnóstico (Pessegueiro et al., 2003).

Em contraste com *B. abortus*, *B. melitensis* e *B. suis*, que são *Brucellas* lisas, *B. ovis* é de tipo rugoso. Esta característica é importante para o tipo de teste que será utilizado, já que *B. ovis* não tem a habilidade de formar suspensões estáveis e, portanto, os testes baseados em aglutinações não são utilizados (Robles, 1998). Para o diagnóstico de *B. ovis* o MAPA recomenda

a Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA) como teste padrão de triagem, sendo que os animais reagentes a esse teste devem ser confirmados por meio da FC (Brasil, 2004).

Desde que foi reportada por Myers e Siniuk (1970), a IDGA tem sido amplamente utilizada, sendo adotados diferentes procedimentos, e apresenta grande variação dos resultados, porém, quando há padronização com adequada concentração de cloreto de sódio no gel e é utilizado um antígeno apropriado, a difusão em gel é tão sensível quanto à fixação de complemento. Os géis podem ser preparados com diferentes ágaros, agaroses e tampões, mas os géis hipertônicos (10% de NaCl) são altamente recomendáveis. O antígeno obtido através de uma extração salina aquecida e uma concentração entre 2-10mg/ml rende os melhores resultados. A imunodifusão em gel de ágar apresenta baixo custo, é de fácil realização e interpretação, e não requer equipamentos ou instalações especiais. As maiores desvantagens são que os antígenos não têm sido padronizados e os resultados são lidos após 72 horas, sendo apenas qualitativos (Robles, 1998).

Outros testes podem ser utilizados para o diagnóstico de brucelose ovina, como Ensaio Imunoenzimático (ELISA) indireto e competitivo, e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Para ELISA indireto são utilizados diversos kits comerciais contendo lipopolissacarídeos da parede celular das brucelas, sendo considerado de alta sensibilidade e especificidade semelhante aos testes de triagem (Brasil, 2006). Segundo Nozaki et al. (2004), a utilização das técnicas de ELISA e IDGA para o diagnóstico de *B. ovis* é mais confiável, uma vez que, juntos, proporcionam maior sensibilidade.

Como diagnóstico complementar para diagnóstico de brucelose a partir de material abortado, a PCR pode ser utilizada, através da análise de secreções do trato genital e excreções corporais, que detecta um segmento de DNA específico de *Brucella* spp., sendo considerada de alta sensibilidade e especificidade (Elisei et al., 2010).

2.2.12 Importância econômica e social

A infecção por *B. ovis* compromete sobremaneira a produtividade do rebanho em decorrência do comprometimento da fecundidade nos machos, abortamento em fêmeas e

crescente mortalidade perinatal. A bactéria não acomete o homem e, portanto não se trata de uma zoonose (Homse et al., 1995).

2.2.13 Tratamento, prevenção e controle

A brucelose em animais de produção não possui um tratamento específico, pois a bactéria é intracelular facultativa, requerendo o uso de antibióticos com boa penetração durante períodos prolongados, além da utilização combinada de classes desses medicamentos, tornando o tratamento inviável devido aos custos e muitas vezes os sinais clínicos não desaparecem, reduzindo apenas o surgimento de complicações (Estein, 1999).

Apesar do tratamento ser incapaz de resolver a epididimite clínica e as lesões microscópicas características da enfermidade, já foi reportado o uso de aureomicina combinada com estreptomicina e oxitetraciclina, com sucesso, para deter a eliminação de *B. ovis* pelo sêmen (Robles, 1998).

As medidas de prevenção e controle para brucelose em bovinos e bubalinos se apóiam em dois pilares: vacinação e diagnóstico, que permitem reduzir ou evitar a exposição dos animais ao agente e aumentar a resistência do rebanho às brucelas (Jardim et al., 2006). Com isso, o Plano Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT) determina a vacinação obrigatória de fêmeas entre três e oito meses e de animais adultos que não foram vacinados quando jovens, além de abate sanitário dos sororreagentes ao AAT e confirmados no 2-ME ou FC, controle do trânsito de animais, feito somente com certificado de teste negativo, interdição de propriedades com focos de brucelose e certificação de propriedades livres e monitoradas (Brasil, 2006).

Tais medidas pretendem ser adotadas pelo Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina (PNVCEO), ainda não implantado, com exceção da vacinação, que não existe para ovinos no país. Assim, o programa recomenda o diagnóstico precoce da enfermidade, causada por *B. ovis*, fazendo-se o uso da IDGA como prova de triagem em laboratórios credenciados e da FC como confirmatório, realizado somente por laboratórios

oficiais. Assim, animais positivos pelo teste de IDGA e confirmados pela FC devem ser destinados ao abate sanitário, seguido de visita e interdição do estabelecimento onde ocorreu o caso (Brasil, 2004). Além disso, o trânsito e a participação de animais machos não castrados, acima de seis meses, em feiras e exposições, se faz mediante a apresentação da guia de trânsito (GTA) acompanhado de testes negativos, sendo o IDGA conclusivo para o trânsito e válido durante o período do evento.

Ainda como medida de controle, o programa prevê a certificação de propriedades livres de epididimite, obtido mediante três testes de IDGA negativos consecutivos e com intervalos semestrais, em todos os ovinos machos não castrados, com idade acima de seis meses, e eutanásia dos animais positivos. A certificação tem validade de 24 meses, durante os quais são realizados testes sorológicos semestralmente. Terminado os 24 meses, a certificação poderá ser renovada, mediante a realização de testes sorológicos na categoria animal descrita acima (Brasil, 2004). Ademais, o controle da infecção por *B. ovis*, deve se basear na eliminação dos machos com diagnóstico bacteriológico e/ou sorológico positivo (Estein, 1999).

CAPÍTULO 2

FATORES ASSOCIADOS À PREVALÊNCIA SOROLÓGICA DE *Neospora caninum* NO REBANHO OVINO DE SERGIPE, BRASIL

1. RESUMO E ABSTRACT

Objetivou-se determinar a prevalência e os fatores associados à infecção por *Neospora caninum* em ovinos de Sergipe, Nordeste brasileiro. Foram colhidas 932 amostras de soros de ovinos, oriundas de 54 propriedades de 19 municípios do Estado e analisadas pela reação de imunofluorescência indireta (IFI) para pesquisa de anticorpos contra *N. caninum*, com ponto de corte de 1:50. Observou-se que 12,45% (116/932) dos ovinos foram sororeagentes. Na regressão logística não condicional a presença de cães na propriedade (OR=0,36) e uso de aprisco (OR=0,53) foram fatores associados à proteção; enquanto que propriedades maiores que 50 hectares como fator associado à infecção (OR=1,71). A prevalência encontrada indica que a região é endêmica, e, portanto, cabe a adoção de medidas preventivas e de controle.

Palavras-chaves: epidemiologia, imunofluorescencia, neosporose.

The aim of this study was to determine the prevalence of *Neospora caninum* infection and associated factors in sheep from Sergipe State, Northeastern Brazil. A total of 932 sheep serum samples from 54 properties in 19 municipalities of the State were collected and assayed using indirect fluorescent antibody test. A cutoff point of 1:50 was adopted and 12.45% (116/932) of sheep were serum-reactive. In a logistic regression, presence of dogs in property (OR=0,36) and use of pen house (OR=0,53) was associated with protection and properties bigger than 50 hectares (OR=1,71) was associated with infection. The prevalence found indicates that the disease is endemic in the region, and so, adoption of preventive and control measures is necessary.

Keywords: epidemiology, imunofluorescence, neosporosis.

2. INTRODUÇÃO

Neospora caninum é o protozoário causador da neosporose. Os cães (McAllister et al., 1998), coiotes (Gondim et al., 2004), dingos australianos (King et al., 2010) e lobos cinzentos (Dubey et al., 2011) são considerados hospedeiros definitivos e por isso desempenham um papel fundamental na manutenção e disseminação desse agente.

Este parasito possui um ciclo de vida heteroxeno facultativo e pode infectar diversos animais, tais como ovinos (Dubey et al., 1990), caprinos (Dubey et al., 1992), bovinos (Dijkstra et al., 2001) e galinhas (Costa et al., 2008). Apesar de ter sido observada a presença de anticorpos contra *N. caninum* em humanos (Lobato et al., 2006), seu potencial zoonótico ainda não foi confirmado (Dubey et al., 2007). As vias de transmissão mais comuns são: a transplacentária (Paré et al., 1996), a ingestão de cistos presentes em tecidos pelos carnívoros (Bergeron et al., 2001) e a ingestão de oocistos em água ou alimentos contaminados (McAllister et al., 1998).

A ovinocultura é uma atividade econômica explorada mundialmente, presente em diferentes áreas sob as mais diversas características bioclimatológicas (Leite, 2004). O efetivo rebanho ovino brasileiro é de 16.789.492 de animais, sendo 55,55% encontrados na região Nordeste (Brasil, 2012), que tem apresentado capacidade para a exploração de ruminantes domésticos, principalmente ovinos, pela disponibilidade de vegetação natural (Alvares, 2005; Leite & Simplício, 2005).

A neosporose é importante para a espécie ovina, por causar distúrbios relacionados à reprodução, e conseqüentemente perdas econômicas devido a abortamentos, mortalidade

neonatal e nascimento de cordeiros fracos (Anderlini et al., 2011; Pinto et al., 2012). A prevalência da infecção em rebanhos ovinos no Brasil varia de 3,0% em São Paulo (Cardoso et al., 2008) a 64,2% em Pernambuco (Tembue et al., 2011). A variação da soroprevalência também pode ser observada em outros países (Dubey & Schares, 2011).

Ovinos têm sido utilizados como modelo experimental para bovinos (Weston et al., 2009). Fatores de risco nessa espécie ainda são pouco conhecidos, porém, alguns estudos realizados identificaram uma relação entre a frequência e tamanho da propriedade, ingestão de água represada, abate de animais na propriedade, cães com acesso às vísceras (Munhoz et al., 2009; Anderlini et al., 2011; Machado et al., 2011). Considerando a importância da enfermidade e a escassez de informação epidemiológica em Sergipe, objetivou-se identificar os principais fatores relacionados à frequência de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos ovinos no estado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local De Estudo

Este estudo foi realizado no Nordeste do Brasil, Sergipe (Latitude entre 9°30'49" e 11°34'05" e Longitude 36°23'40" e 38°15'00"), que tem um rebanho de ovinos de 247.703 animais, e é dividido em três mesorregiões : o "Sertão Sergipano" que apresenta 41,19 % desta população, o "Agreste Sergipano" possui 44,12%, e o "Leste Sergipano" contém 14,69% do rebanho (Governo De Sergipe , 2007).

3.2 Descrição Da População

O efetivo ovino de Sergipe é de 247.703 animais, distribuídos nas três mesorregiões do Estado da seguinte forma: o Sertão Sergipano possui 41,19% dessa população, o Agreste Sergipano 44,12%, e o Leste Sergipano, 14,69% (Governo de Sergipe, 2007). O rebanho é composto basicamente por animais da raça Santa Inês, animais sem raça definida (SRD) e outros. O sistema de exploração de ovinos predominante caracteriza-se pelo pastoreio extensivo durante o dia e alguma proteção do ambiente natural durante a noite.

3.3 Delineamento Amostral

Amostragem não probabilística foi utilizada para selecionar os produtores. Este foi o método de eleição porque não existe uma listagem representativa dos produtores de ovinos no Estado, o que torna impossível uma amostragem ao acaso, sendo adotada amostragem por conveniência. Para seleção das propriedades, utilizou lista da Associação Brasileira de Criadores Ovinos (ASCCO, banco de dados Empresa de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe (EMDAGRO/SE) e indicação de veterinários atuantes em cada região.

Para determinação do universo amostral foram selecionados os municípios com maiores rebanhos ovinos de cada região do Estado, totalizando 19 municípios, sendo seis deles da mesorregião do Sertão Sergipano (83.728 animais), seis do Agreste Sergipano (89.688 animais) e sete do Leste Sergipano (20.373), perfazendo 193.789 animais, que representam 78,23 % da população ovina do Estado (247.703).

O número mínimo de amostras a serem testadas (383) foi calculado pelo programa estatístico EPI-INFO versão 3.5.1, considerando uma prevalência esperada de 50%, uma vez que não há estudos de prevalência anteriores na região, e os estudos em estados vizinhos apresentam resultados discrepantes, adotou-se, ainda, erro amostral de 5% e grau de confiança de 95%, para uma população de 193.789 animais. O número de propriedades a serem visitadas foi estimado de acordo com o número mínimo de amostras a serem colhidas por município, o que foi determinado por proporcionalidade ao rebanho municipal, sendo estabelecida uma média de 15 amostras por propriedade.

3.4 Coleta de Amostras

A coleta das amostras foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UESC-39/2009). As amostras de sangue, dos animais selecionados, foram colhidas

mediante punção da veia jugular externa, entre março e maio de 2008. Estas foram centrifugadas a 1600g por 10 minutos, sendo os soros separados, acondicionados em microtubos e congelados a -20°C. Na visita foi aplicada uma entrevista semi-estruturada abordando dados do animal, do criador, da propriedade, do sistema de produção, manejo sanitário e alimentar.

Foram colhidas 932 amostras oriundas de 54 propriedades, distribuídas nos 19 municípios, dos 75 que compõem o estado, sendo 38,20% (356/932) no Sertão de Sergipe, 44,85% (418/932) no Agreste de Sergipe e 16,95% (158/932) no Leste de Sergipe.

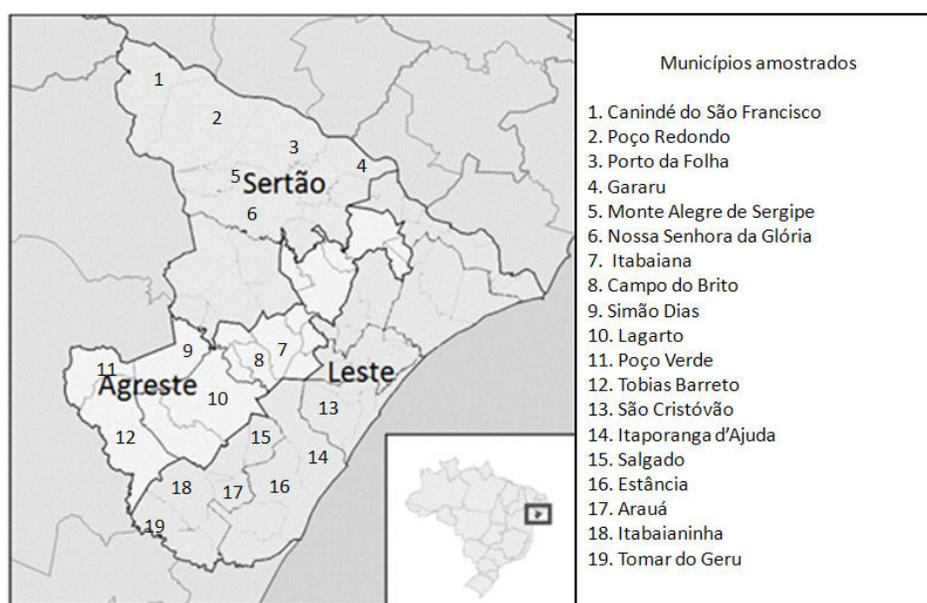


Figura 2.1 – Mapa de Sergipe, dividido em mesorregiões: Sertão Sergipano, Leste Sergipano e Agreste Sergipano, com os municípios amostrados identificados.

Dos animais amostrados, 192 (20,60%) eram machos, dos quais 90 eram reprodutores, e 740 (79,40%) fêmeas, sendo 545 matrizes. Quando considerada a estratificação por idade, 298 ovinos eram jovens (31,97%), com idade entre seis meses e um ano e 634 (68,03%) tinham idade estimada superior a um ano.

Os sistemas de produção das propriedades foram classificados em extensivas (38/54) e com algum grau de tecnificação (16/54) segundo os critérios a seguir, possuir tratador de ovinos, aprisco, terem assistência técnica regular, realizar monta controlada e fazer suplementação alimentar.

3.5 Sorologia

As análises para pesquisa de anticorpos contra *N. caninum* foram realizadas no laboratório da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), foi empregada a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI). Nela, foram utilizadas lâminas apropriadas para IFI, contendo antígenos da cepa NcBA de *N. caninum*, soros controles positivo – obtido através da inoculação de *N. caninum* (1×10^6) em um cordeiro de 06 meses de idade –, e negativo para *N. caninum*, obtido através de testes consecutivos. A diluição inicial foi de 1:50 (Figliuolo et al., 2004), e os positivos foram submetidos à diluições sequenciais na base dois até a negatificação.

Para preparo das lâminas adicionou-se 10 microlitros de solução, contendo uma concentração de 500 a 1000 taquizoítas por microlitro, em cada poço da lâmina, em seguida a lâmina foi levada a estufa à 37°C por aproximadamente 30 minutos, foi realizada fixação em metanol por 5 minutos e as lâminas foram acondicionadas em lenço de papel individualmente e protegidas da luz com papel alumínio, sendo armazenadas a -20°C até o momento da utilização.

Para execução da técnica, lavaram-se as lâminas previamente preparadas em solução tampão por 5 minutos, incubou-as a 37°C até secagem, e adicionou-se 10 microlitros de amostra sorológica a ser testada, já diluída, uma em cada poço, totalizando 10 amostras por lâmina, e 10 microlitros do controle positivo e negativo nos dois poços restantes. As lâminas foram mais uma vez incubadas a 37°C por 30 minutos, em câmara úmida, em seguida foram lavadas em PBS por cinco minutos por duas vezes, e ficaram em temperatura ambiente até secagem. Com as lâminas secas, colocou-se 10 microlitros do anticorpo anti-ovino conjugado com Isotiocianato de Fluoresceína (F-7634, Sigma-Chemical, EUA) diluído em PBS-Azul de Evans (0,5%) em todos os poços, protegeu-se as lâminas da luz e em sequência elas foram novamente incubadas a 37°C por 30 minutos, protegidas da luz. Após incubação as lâminas foram lavadas em PBS por cinco minutos, e em seguida ficaram em temperatura ambiente até secagem, sempre abrigadas da luz. Por fim, adicionou-se uma gota de glicerina entre os poços, cobriu-se a lâmina com lamínulas e levou-se para leitura em microscópio Binocular BX 51 (OlympusTM) com sistema de fluorescência.

Foram considerados os campos com soros positivos os que mais de 50% dos taquizoítas apresentaram fluorescência periférica total.

3.6 Análise Estatística

Para identificar fatores de risco associados à infecção por *N. caninum*, foi conduzida uma análise univariada usando o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher com nível de significância a 5%, utilizando o programa estatístico EPI-INFO versão 3.5.1. Todas as variáveis com plausibilidade biológica e $p \leq 0,2$ na análise bivariada foram submetidas a uma análise de colinearidade determinada pelo Teste de Spearman, no programa BioEstat 5.0, e, posteriormente uma análise de regressão logística multivariada não condicional (stepwise) foi executada no programa EPIINFO versão 3.5.1.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de amostras analisadas foi maior que os demais estudos conduzidos no Nordeste, que é a região do país com maior número de ovinos (55,55%) (Brasil, 2012). Anticorpos contra *N. caninum* foram encontrados em 116/932 (12,45%) animais, com títulos variando entre 1:50 (18/932; 1,93%), 1:100 (38/932; 4,08%), 1:200 (13/932; 1,40%), 1:400 (22/932; 2,36%), 1:800 (10/932; 1,07%), 1:1600 (08/392; 0,86%) e 1:3200 (06/932; 0,64%). Considerando cada mesorregião, 57 (16,01%) dos animais no Sertão Sergipano, 47 (11,24%) no Agreste Sergipano e 12 (7,59%) no Leste Sergipano foram positivos. Exposição à *N. caninum* foi observada em 78,94% (15/19) dos municípios analisados, e das propriedades estudadas 75,93% (41/54) apresentavam ao menos um animal positivo, com soropositividade variando de 4,76 a 58,33%. Dentre os municípios analisados, Gararú, localizado no sertão, apresentou a maior frequência de animais positivos (25,81%) e os municípios de Salgado, Itaporanga D'ajuda e Arauá, no Leste de Sergipe, e Monte Alegre, no Sertão de Sergipe, não apresentaram animais positivos (Tabela 2.1).

Comparando apenas com estudos feitos na região Nordeste, que tem clima semelhante, esse resultado bem inferior ao de Tembue et al. (2011), em Pernambuco, com 64,3% de reagentes. Faria et al. (2010), em pesquisa realizada em Alagoas, com caprinos, observou 9,6% de positividade, e verificou que propriedades com área inferior a 30 hectares (OR= 7,23) e a origem da água oferecidas aos animais (OR=4,76) estavam relacionados com o aumento de chance de ocorrer a infecção. As variações observadas podem estar relacionadas a diferenças

regionais, climáticas, idade dos animais, tamanhos amostrais (Dubey et al., 2011) e sinergismo de patógenos (Melo et al., 2004). Pesquisa sorológica do mesmo agente em Sergipe, através do teste de ELISA, em vacas leiteiras, apresentou positividade semelhante (13,5%) (Melo et al., 2003a).

Foi verificada diferença estatística significativa de soropositividade da mesorregião Sertão ($p=0,0127$) para as demais, Leste ($p=0,0581$) e Agreste ($p=0,3665$). Analisando as características das propriedades amostradas com o intuito de qualificar o grau de tecnificação das propriedades entre as regiões, foram considerados os seguintes itens: número de funcionários contratados, funcionários exclusivos para manejo de ovinos, área da propriedade superior a 50 hectares, uso de aprisco, realizar suplementação alimentar, apresentar depósito nas instalações, realizar acompanhamento técnico, possuir o melhoramento genético como objetivo da criação e ter mais de 50 animais no rebanho. Verificou-se que as criações do Leste eram mais estruturadas, onde metade das propriedades possuía área inferior a 50 hectares, sendo que todas realizavam acompanhamento técnico especializado.

O Agreste apresentou grau de tecnificação intermediário em relação às outras regiões, com praticamente metade das propriedades tendo mão-de-obra exclusiva para o manejo de ovinos, composta por maioria das propriedades com área superior a 50 hectares, e apresentando bons resultados para os demais indicadores de tecnificação selecionados. O Sertão apresentou menor grau de tecnificação dentre as regiões, com grande parte das criações com pouco número de animais, sem acompanhamento técnico especializado, sem aprisco, ou seja, maior parte de criações com finalidade de subsistência. Foi possível verificar que as criações da região mais distante da capital, apresentavam menor grau de tecnificação, enquanto a região a qual a capital está inserida apresentou maior grau, demonstrando uma possível relação com a maior facilidade de acesso a tecnologia, informação e insumos em criatórios próximos ao centro urbano. Portanto, observou-se que a região menos tecnificada apresentou maior prevalência de anticorpos contra *N. caninum*, indicando que em criações extensivas há maior possibilidade de infecção pelo agente, possivelmente pelo do trânsito de animais em ambientes onde o hospedeiro definitivo está presente, através da transmissão horizontal do oocisto.

Tabela 2.1 – Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos de Sergipe, Brasil, e sua distribuição por titulação nos municípios analisados.

| Município | Diluição | | | | | | | Total | Positivos (%) | P-valor |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|------------|---------------|---------------|
| | 1:50 | 1:100 | 1:200 | 1:400 | 1:800 | 1:1600 | 1:3200 | | | |
| Leste Sergipano | 3 | 4 | 0 | 1 | 3 | 0 | 1 | 158 | 7,59 | 0,0581 |
| Salgado | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 0,00 | |
| Itaporanga D'ajuda | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 25 | 0,00 | |
| Itabaianinha | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 26 | 15,38 | |
| Tomar do Geru | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 4,76 | |
| Araúá | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0,00 | |
| Estância | 2 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 37 | 13,51 | |
| São Cristovão | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 16 | 12,50 | |
| Agreste Sergipano | 8 | 17 | 5 | 10 | 4 | 2 | 1 | 418 | 11,24 | 0,3665 |
| Tobias Barreto | 3 | 4 | 2 | 6 | 2 | 0 | 1 | 111 | 16,22 | |
| Itabaiana | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 38 | 7,89 | |
| Poço Verde | 1 | 3 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 64 | 9,38 | |
| Simão Dias | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 30 | 13,33 | |
| Campo do Brito | 0 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 24 | 12,50 | |
| Lagarto | 3 | 6 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 | 151 | 8,61 | |
| Sertão Sergipano | 8 | 17 | 10 | 10 | 2 | 6 | 4 | 356 | 16,01 | 0,0127 |
| Nossa Senhora da Glória | 4 | 13 | 5 | 7 | 1 | 1 | 2 | 142 | 23,24 | |
| Monte Alegre | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 32 | 0,00 | |
| Canindé do São Francisco | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 49 | 14,29 | |
| Poço Redondo | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 49 | 10,20 | |
| Porto da Folha | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 53 | 7,55 | |
| Gararu | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 3 | 0 | 31 | 25,81 | |
| TOTAL | 19 | 38 | 15 | 21 | 9 | 8 | 6 | 932 | 12,45 | |

A partir da entrevista estruturada (ver formulário em anexos) aplicada em cada propriedade, foi possível tabular os dados por variável. Sendo realizado teste qui-quadrado entre a variável de exposição e a presença de anticorpos contra *N. caninum* (Tabela 2.2). As variáveis com plausibilidade biológica e p-valor menor que 20%, foram submetidas ao teste de colinearidade, e então inseridas no modelo inicial da regreção logística.

O modelo final da regressão logística mostrou que as variáveis “possuir contato com cães” e “uso de aprisco” se comportaram como um fator de proteção, enquanto a variável “área maior que 50 ha” se comportou como fator de risco para infecção por *N. caninum* (Tabela 2.3).

Tabela 2.2 – Teste de qui-quadrado entre a variável e presença de anticorpos contra *Neospora caninum*.

| Variáveis | Ovinos Positivos | | Ovinos Negativos | | Odds Ratio (IC 95%) | P-valor |
|-----------------------------|------------------|------|------------------|------|------------------------|---------|
| | n | % | n | % | | |
| Idade | | | | | | |
| Até 1 ano | 44 | 14,8 | 254 | 85,2 | 1 | |
| Mais de 1 ano | 72 | 11,4 | 562 | 88,6 | 1,35 (0,90-2,02) | 0,1726 |
| Água de poço profundo | | | | | | |
| Sim | 8 | 10,3 | 70 | 89,7 | 1 | |
| Não | 108 | 12,6 | 746 | 87,4 | 0,79 (0,37-1,69) | 0,6650 |
| Cria caprinos | | | | | | |
| Sim | 18 | 14,5 | 106 | 85,5 | 1 | |
| Não | 98 | 12,1 | 710 | 87,9 | 1,23 (0,71-2,12) | 0,5459 |
| Bovinos na propriedade | | | | | | |
| Sim | 102 | 13,5 | 652 | 86,5 | 1 | |
| Não | 14 | 7,9 | 164 | 92,1 | 1,83 (1,02-3,29) | 0,0533 |
| Área maior que 50 hectrares | | | | | | |
| Sim | 57 | 15,9 | 302 | 84,1 | 1,64 (1,11-2,43) | |
| Não | 59 | 10,3 | 514 | 89,7 | 1 | 0,0160 |
| Reprodutor trocado/empresta | | | | | | |
| Sim | 32 | 20,4 | 125 | 79,6 | 1 | |
| Não | 84 | 10,8 | 691 | 89,2 | 2,11 (1,34-3,30) | 0,0015 |
| Vermifuga freqüentemente | | | | | | |
| Sim | 72 | 11,2 | 570 | 88,8 | 1 | |
| Não | 44 | 15,2 | 246 | 84,8 | 0,721 (0,47-1,06) | 0,1125 |
| Ovinos tem contato com cães | | | | | | |
| Sim | 84 | 10,4 | 723 | 89,6 | 1 | |
| Não | 32 | 25,6 | 93 | 74,4 | 0,34 (0,21-0,53) | 0,0000 |
| Uso de aprisco | | | | | | |
| Sim | 45 | 17,9 | 609 | 89,6 | 1 | |
| Não | 71 | 10,4 | 207 | 82,1 | 0,53 (0,35-0,80) | 0,0033 |
| Água de cisterna | | | | | | |
| Sim | 7 | 16,7 | 35 | 83,3 | 1 | |
| Não | 109 | 12,2 | 781 | 87,8 | 1,43 (0,62-3,31) | 0,5427 |
| Sexo | | | | | | |
| Macho | 22 | 11,5 | 170 | 88,5 | 1 | |
| Fêmea | 94 | 12,7 | 646 | 87,3 | 0,89 (0,54-1,46) | 0,7318 |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|----|------|-----|------|------------------|--------|
| Bebem água direto da fonte | | | | | | |
| Sim | 65 | 16,1 | 339 | 83,9 | 1 | |
| Não | 51 | 9,7 | 477 | 90,3 | 1,79 (1,21-2,65) | 0,0044 |
| Presença de águas limpas | | | | | | |
| Sim | 92 | 12,2 | 662 | 87,8 | 1 | |
| Não | 24 | 13,5 | 154 | 86,5 | 0,89 (0,55-1,44) | 0,7341 |
| Suplementação mineral | | | | | | |
| Sim | 93 | 12,2 | 669 | 87,8 | 1 | |
| Não | 23 | 13,5 | 147 | 86,5 | 0,88 (0,55-1,45) | 0,7303 |
| Cria a mais de 10 anos | | | | | | |
| Sim | 53 | 14,3 | 317 | 85,7 | 1 | |
| Não | 63 | 11,2 | 499 | 88,8 | 1,32 (0,89-1,95) | 0,1909 |
| Tipo de monta | | | | | | |
| Controlada | 90 | 12,7 | 619 | 87,3 | 1 | |
| Natural | 26 | 11,7 | 197 | 88,3 | 1,10 (0,69-1,75) | 0,7704 |
| Tem tratador de ovinos | | | | | | |
| Sim | 38 | 10,4 | 327 | 89,6 | 1 | |
| Não | 78 | 13,8 | 489 | 86,2 | 0,73 (0,48-1,10) | 0,1589 |
| Mais de 100 animais | | | | | | |
| Sim | 51 | 12,1 | 371 | 87,9 | 1 | |
| Não | 65 | 12,7 | 445 | 87,3 | 0,94 (0,64-1,40) | 0,8383 |
| Sistema de produção | | | | | | |
| Extensivo | 81 | 12,9 | 546 | 87,1 | 1 | |
| Algum grau de tecnificação | 35 | 11,5 | 270 | 88,5 | 0,87 (0,57-1,33) | 0,6026 |

Tabela 2.3 – Modelo final da regressão logística não-condicional dos fatores associados com infecção por *Neospora caninum* em ovinos de Sergipe, Nordeste do Brasil.

| Variáveis | Odds Ratio | I.C. (95%) | | P-Valor |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|--------|----------------|
| Ovinos tem contato com cães | 0,3620 | 0,2267 | 0,5781 | 0 |
| Uso de aprisco | 0,5281 | 0,3478 | 0,8017 | 0,0027 |
| Área maior que 50 hectares | 1,7189 | 1,1503 | 2,5687 | 0,0082 |

p<0,0001, likelihood= 667,1463

A presença de cães nas propriedades foi um fator significativo (p<0,001), sendo que quando estes estavam presentes a positividade foi menor, podendo o cão ser considerado um fator de proteção nesse estudo. Melo et al. (2003b) observaram prevalência sorológica de anticorpos contra *N. caninum*, através da mesma técnica, de 68,37% em cães da região

metropolitana de Aracaju, Sergipe. É sabido da função do hospedeiro definitivo na epidemiologia da infecção por *N. caninum*, porém a presença de cães das propriedades pode restringir o trânsito de cães vadios e/ou selvagens, diminuindo a contaminação do ambiente com oocistos (Barling et al., 2001), além disso, cães não são bons produtores de oocistos, produzindo em pequena quantidade por pouco tempo (Cavalcante et al., 2011). Assim, é reforçada a idéia de transmissão congênita deste parasito, pois não foi verificada influência da idade com a presença da infecção por *N. caninum*, e sabe-se da adaptação deste para perpetuar no ambiente via transmissão vertical, sendo comprovada a infecção de bezerros pelo agente antes mesmo de ingerirem colostro (Magalhães et al., 2014).

O uso de aprisco nas propriedades se comportou como fator de proteção, possivelmente por facilitar a higienização dos ambientes, uma vez que boa parte dos criadores utilizava as fezes recolhidas do aprisco como adubo, para uso próprio ou para venda a terceiros. Adicionalmente, estudos prévios indicam que a higienização regular e freqüente reduz a chance de infecção por *N. caninum* (Reviriego et al., 2000; Al-Talafhah et al., 2003).

Observou-se que a área da propriedade, quando superior a 50 hectares, foi um fator associado à infecção, isso é provável, pois, com uma maior área para pastejo dos ovinos, aumenta a possibilidade destes transitarem em ambientes contaminados com oocistos liberados pelos hospedeiros definitivos, uma vez que quanto maior a área, mais difícil o controle de trânsito de outros animais, facilitando a presença de hospedeiros definitivos e intermediário. Bartley et al. (2013), verificaram que vários mamíferos carnívoros são hospedeiros intermediários capazes de atuar como reservatórios na infecção para outras espécies.

5. CONCLUSÕES

Foi verificado que o protozoário *N. caninum* está presente na área estudada, sendo observada uma prevalência de 12,45%.

O uso do aprisco se comportou como um fator de proteção da infecção, podendo inferir que a instalação reduz o risco de infecção, possivelmente pela higienização da mesma, reduzindo a carga do parasito no ambiente.

Cães podem afugentar outros hospedeiros definitivos e, por não serem bons produtores de oocistos, a presença dos mesmos nas propriedades reduziu as chances da infecção, demonstrando que atuam como aliados no combate a infecção pelo protozoário.

Propriedades maiores possuíram maior chance de infecção, podendo estar associado ao acesso dos ovinos a uma área maior, e conseqüentemente, maior chance de se infectar horizontalmente através do contato com pastagem e água, contaminadas com oocistos liberados por hospedeiros definitivos de *N. caninum*.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARES, Caio Tacito Gomes. **Efeito de dois protocolos de sincronização de Estro na eficiência reprodutiva de ovelhas deslanadas criadas sob o clima tropical úmido.** Itapetinga: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2005. 66p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), 2005.
- BARLING, K.S.; MCNEILL, J.W.; PASCHAL, J.C. et al. Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, n. 1, p. 53–61, 2001.
- BARTLEY, P.M.; WRIGHT, S.E.; ZIMMER, I.A. et al. Detection of *Neospora caninum* in wild carnivorans in Great Britain. **Veterinary Parasitology**, v. 192, p. 279-283, 2013.
- BERGERON, N.; FECTEAU, G.; VILLENEUVE, A. et al. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 2, p. 145–152, 2001.
- BRASIL [2012]. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contagem Populacional. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp?t=2&z=t&o=24&u1=1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1&u2=26> Acesso em: 12/09/2012.

- COSTA, K. DE S.; SANTOS, S.L.; UZÊDA, R.S. et al. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 2, p. 157-159, 2008.
- DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H.W.; EYSKER, M. et al. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 2, p. 209-215, 2001.
- DUBEY J.P. & BEATTIE .C.P. **Toxoplasmosis of Animals and Man**. CRC Press, Boca Raton, 1988, 220 p.
- DUBEY, J.P., SCHARES, G. & ORTEGA-MORA L. M.. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007.
- DUBEY, J.P.; HARTLEY, W.J.; LINDSAY, D.S. et al. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. **The Journal of Parasitology**, v. 76, n. 1, p. 127-130, 1990.
- DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; RAJENDRAN, C. et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2-4, p. 382– 387, 2011.
- DUBEY, J.P. & SCHARES, G. Neosporosis in animals — the last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n.1, p. 90– 108, 2011.
- DUBEY, J.P; ACLAND, H.M. & HAMIR, A.N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. **The Journal of Parasitology**, v. 78, n. 3, p. 532-534, 1992.
- FARIA, E.B.; CAVALCANTI, E.F.T.S.F.; MEDEIROS, E.S. et al. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in sheep from the State of Alagoas, in the northeast region of Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 96, n. 1, p. 197–199, 2010.

- FIGLIUOLO, L.P.C.; KASAI, N.; RAGOZO, A.M.A. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3-4, p. 161–166, 2004.
- GONDIM, L.F.P.; MCALLISTER, M.M.; PITT, W.C. et al. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 2, p. 159–161, 2004.
- GOVERNO DE SERGIPE [2007]. Secretaria Estadual de Desenvolvimento Agropecuário de Sergipe. Empresa de Desenvolvimento Agropecuário do Estado de Sergipe – EMDAGRO/SE. **Sistema de Defesa Agropecuária - SISDAGRO**, 2007.
- KING, J.S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D.J. et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 8, p. 945–950, 2010.
- LEITE, E.R. [2004]. **Ovinocaprinocultura no Nordeste: organização e crescimento**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/artigos/2000/artigo.2004-12-07.2538681592>>. Acesso em: 22/05/2013.
- LEITE, E.R. & SIMPLÍCIO, A.A. [2005]. **Importância Econômica da Produção de Caprinos e Ovinos no Nordeste Brasileiro**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/CaprinoseOvinosdeCorte/CaprinoseOvinosCorteNEBrasil/index.htm>>. Acesso em: 22/05/2013
- LOBATO, J.; SILVA, D.A.O.; MINEO, T.W.P. et al. Detection of immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. **Clinical and Vaccine Immunology**, v. 13, n. 1, p. 84–89, 2006.
- LOPES, W.D.Z., DA COSTA, A.J., SANTANA L.F. et al. Aspects of *Toxoplasma* infection on the reproductive system of experimentally infected rams (*Ovis aries*). **Journal of Parasitology Research**, v. 2009, p 1-6, 2009.

- MACHADO, G.P.; KIKUTI, M.; LANGONI, H. et al. Seroprevalence and risk factors associated with neosporosis in sheep and dogs from farms. **Veterinary Parasitology**, v. 182, n. 2-4, p. 356-358, 2011.
- MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 17, n. 9, p. 1473-1479, 1998.
- MELO, C.B.; LEITE, R.C.; LOBATO, Z.I.P. et al. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 97-105, 2004.
- MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N. et al. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.
- MELO, C.B.; PAZ, G.F; OLIVEIRA, A.A. et al. Infecção por *Neospora caninum* em bovinos de Sergipe. In: Congresso Latinoamericano de Buiatria, 11, 2003, Salvador. **Resumo...** Salvador, 2003a.
- MELO, C.B.; PINHEIRO, A.M.; OLIVEIRA, A.A. et AL. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães em Aracaju, Sergipe. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 30, 2003, Manaus. **Resumo...** Manaus, 2003b.
- MONTALVÁN, Zoila Catalina Rabanal de. **Estimativas de parâmetros genéticos de características reprodutivas de ovinos Santa Inês utilizando inferência Bayesiana**. São Cristóvão: Universidade Federal de Sergipe, 2013, 39p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), 2013.
- MORAES, E.P.B.X.; FARIA, E.B.; BATISTA, A.M. et al. Detecção de *Toxoplasma gondii* no sêmen de ovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 11, p. 915-917, 2010.

- MUNHÓZ, K.F.; NETO, M. DE L.; SANTOS, S.M.A. et al. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from farms located in northern Parana, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 1031-1040, 2010.
- PARÉ, J.; THURMOND, M.C. & HIETALA, S.K. Congenital *Neospora caninum* Infection in Dairy Cattle and Associated CalfhooD Mortality. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1996.
- PINTO, A.P.; BACHA, F.B.; SANTOS, B.S. et al. Sheep abortion associated with *Neospora caninum* in Mato Grosso do Sul, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 8, p. 739-742, 2012.
- ROSSI, G.F.; CABRAL, D.D.; RIBEIRO, D.P. et al. Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlandia, Minas Gerais State Brazil, by different serological methods. **Veterinary Parasitology**, v. 175, n. 3-4, p. 252–259, 2011.
- SALABERRY, S.R.S.; OKUDA, L.H.; NASSAR, A.F.C. et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in sheep flocks of Uberlandia county, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 3, p. 148–151, 2010.
- SOARES, H.S., AHID, S.M.M., BEZERRA, A.C.D.S. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 160, n. 3-4, p. 211–214, 2009.
- TEMBUE, A.A.S.M.; RAMOS, R.A.N.; SOUSA, T.R. de et al. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 246-248, 2011.
- UENO, T.E.H.; GONÇALVES, V.S.P.; HEINEMANN, M.B. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, n. 4, p. 547–552, 2009.

CAPÍTULO 3

PREVALÊNCIA SOROLÓGICA E FATORES ASSOCIADOS À BRUCELOSE (*Brucella ovis*) NO REBANHO OVINO DE SERGIPE, BRASIL

1. RESUMO E ABSTRACT

Foi realizado um levantamento soro-epidemiológico da brucelose em ovinos de Sergipe com o objetivo de determinar a prevalência, distribuição da infecção em propriedades rurais e analisar os possíveis fatores de risco associados à mesma. Foram analisadas 54 propriedades criadoras de ovinos, das quais foram colhidas 932 amostras de soro sanguíneo de animais com idade superior a seis meses, nas mesorregiões do Leste, Agreste e Sertão de Sergipe. Todos os soros foram examinados pela Imunodifusão em Gel de Ágar (IDGA). De acordo com as análises, 46,30% (25/54) das propriedades apresentaram evidência sorológica de infecção por *Brucella ovis*, com uma prevalência de 4,40% (41/932) de animais sororreagentes. Como fator associado à infecção por *B. ovis*, observou-se contato com bovinos (OR=5,50) e ter tratador de ovinos (OR=2,68), enquanto uso de aprisco como fator de proteção (OR=0,40). Assim, verificou-se a presença de anticorpos contra *B. ovis* em Sergipe e salienta-se a importância de adoção de medidas sanitárias específicas nos rebanhos para preveni-los desta doença.

Palavras-chave: brucelose, doença do sistema reprodutivo, epididimite ovina.

Seroepidemiological study of brucellosis in sheep of Sergipe was realized in order to determine the prevalence and distribution of infection in rural properties and possible factors associated with *Brucella ovis* infection were analyzed. A total of 54 properties of sheep were studied and 932 blood serum samples from animals older than six months were collected in the

regions of the East, Mid and Hinterland of Sergipe. All sera were examined by agar gel immunodiffusion (AGID). According to the serological tests, 46.30% (25/54) of the properties had serologic evidence of infection by *B.ovis*, with a prevalence of 4.40% (41/932) of positive animals. Factor associated with infection by *B.ovis* included contact with bovine (OR=5.50) and to have a ovine handler (OR=2,68), where as the use of pen house presented as a protective factor (OR=0.40). Thus, there is presence of antibodies against *B. ovis* in Sergipe and highlights the importance of adopt specific health measures in herds to prevent this disease.

Keywords: brucellosis, reproductive system, epididymitis in sheep.

2. INTRODUÇÃO

A brucelose ovina é uma doença bacteriana infecciosa crônica causada por *Brucella ovis* e caracterizada por distúrbios reprodutivos, tais como diferentes graus de epididimite e orquite em machos, placentite e aborto em fêmeas e elevada mortalidade de cordeiros (Niilo et al., 1986, Homse et al., 1995, Baigún et al., 2000). Essa bactéria apresenta distribuição cosmopolita e seu primeiro relato foi realizado por Buddle & Boyes em 1953, na Nova Zelândia. No Brasil o primeiro diagnóstico clínico da doença causada por *B. ovis* foi relatado por Ramos et al. (1966), e o isolamento do agente em epidídimos de ovinos por Blobel et al. (1972), ambos no Rio Grande do Sul.

A Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) recomendou para uso nas técnicas sorológicas de diagnóstico para *B. ovis* o extrato salino obtido por aquecimento a partir da cepa REO 198 (OIE, 2011). Este antígeno é rico em lipopolissacarídeo rugoso (LPS-R) e outras proteínas externas de membrana (Estein, 1999). A sensibilidade e especificidade da imunodifusão em gel de ágar (IDGA) tem sido avaliadas por vários pesquisadores, sendo que a sensibilidade varia de 91,7% a 100% e a especificidade situa-se em torno de 100% (Worthigton et al., 1984; Robles, 1998; Ficapal et al., 1998).

Inquéritos sorológicos para *B. ovis* em ovinos têm sido efetuados no Brasil e os percentuais de reagentes encontrados são variáveis: 34,0% e 11,3% no Rio Grande do Norte (Silva et al., 2003, Azevedo et al., 2004), 17,5% em Pernambuco (Coletto et al., 2003), 13,4% no Rio Grande do Sul (Magalhães Neto & Gil-Turnes, 2003), 12% em São Paulo (Nozaki et al.,

2004), 5,6% e 7,5% na Paraíba (Clementino et al., 2007; Alves et al., 2010) e 3,3% no Estado da Bahia (Silva et al., 2009).

Como fatores associados à infecção por *B. ovis* têm-se: tamanho do rebanho (rebanhos grandes), rebanhos sem lugares com água limpa, remoção de estrume insuficiente e limpeza inadequada de instalações, introdução de animais de rebanhos não-livres de bruceloses ou de rebanhos de status desconhecido (Coelho et al., 2007), aptidão produtiva (Coelho et al. 2008), compartilhar pastos com outros ruminantes (Riviriego et al., 2000), adição de novos animais, empréstimo de ovinos durante estação reprodutiva e contato com outros rebanhos de ovinos (Al-Majali et al., 2007). Por outro lado, como fatores associados à proteção têm-se: higiene das instalações (Clementino et al., 2007), idade dos criadores (mais velhos) (Coelho et al., 2007).

O rebanho ovino de Sergipe é composto basicamente por animais da raça Santa Inês e animais sem raça definida (SRD) (Governo De Sergipe, 2011). Considerando a importância econômica da pecuária ovina no Estado, e a ausência de informações sobre a infecção destes animais pela *B. ovis*, a realização do presente estudo tem por objetivo determinar a prevalência sorológica da infecção por *B. ovis* em ovinos de Sergipe, Brasil, e detectar fatores associados à infecção.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Estudo

O estudo foi realizado na região Nordeste do Brasil, em Sergipe, que apresenta um rebanho ovino de 247.703 animais, distribuídos em três mesorregiões: o Sertão Sergipano, que possui 41,19% dessa população, o Agreste Sergipano, com 44,12%, e o Leste Sergipano, com 14,69% (Governo De Sergipe, 2007).

3.2 Delineamento Amostral

Para determinação do universo amostral foram selecionados os municípios com maiores rebanhos ovinos de cada região do Estado, totalizando 19 municípios, sendo seis deles da mesorregião do Sertão Sergipano (83.728 animais), seis do Agreste Sergipano (89.688 animais) e sete do Leste Sergipano (20.373), perfazendo 193.789 animais, que representam 78,23 % da população ovina do Estado (247.703).

O número mínimo de amostras a serem testadas (383) foi calculado pelo programa estatístico EPI-INFO versão 3.5.1, considerando uma prevalência esperada de 50%, uma vez que

não há estudos de prevalência anteriores na região, e os estudos em estados vizinhos apresentam resultados discrepantes, adotou-se, ainda, erro amostral de 5% e grau de confiança de 95%, para uma população de 193.789 animais. O número de propriedades a serem visitadas foi estimado de acordo com o número mínimo de amostras a serem colhidas por município, o que foi determinado por proporcionalidade ao rebanho municipal, sendo estabelecida uma média de 15 amostras por propriedade.

Amostragem não probabilística foi utilizada para selecionar os produtores. Este foi o método de eleição por não existir uma listagem representativa dos produtores de ovinos no estado, o que tornou impossível um delineamento ao acaso.

3.3 Coleta de Amostras

A coleta das amostras foi aprovada pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UESC-39/2009). As amostras de sangue, dos animais selecionados, foram colhidas mediante punção da veia jugular externa. Estas foram centrifugadas a 1600g por 10 minutos, sendo os soros separados, acondicionados em microtubos e congelados a -20°C. Na visita foi aplicada uma entrevista semi-estruturada abordando dados do animal, do criador, da propriedade, do sistema de produção, manejo sanitário e alimentar.

Foram colhidas 932 amostras oriundas de 54 propriedades, distribuídas nos 19 municípios, sendo 38,20% (356/932) no Sertão de Sergipe, 44,85% (418/932) no Agreste de Sergipe e 16,95% (158/932) no Leste de Sergipe. Dos animais amostrados, 192 (20,60%) eram machos, dos quais 90 eram reprodutores, e 740 (79,40%) fêmeas, sendo 545 matrizes. Quando considerada a estratificação por idade, 298 ovinos eram jovens (31,97%), com idade entre seis meses e um ano, 303 (32,51%) eram jovens adultos, entre um e três anos, e 331 (35,51%) tinham idade estimada superior a três anos.

Os sistemas de produção das propriedades foram classificados baseados no grau de tecnificação da criação e no regime alimentar em: extensivo (19/54), semi-intensivo (33/54) e intensivo (02/54).

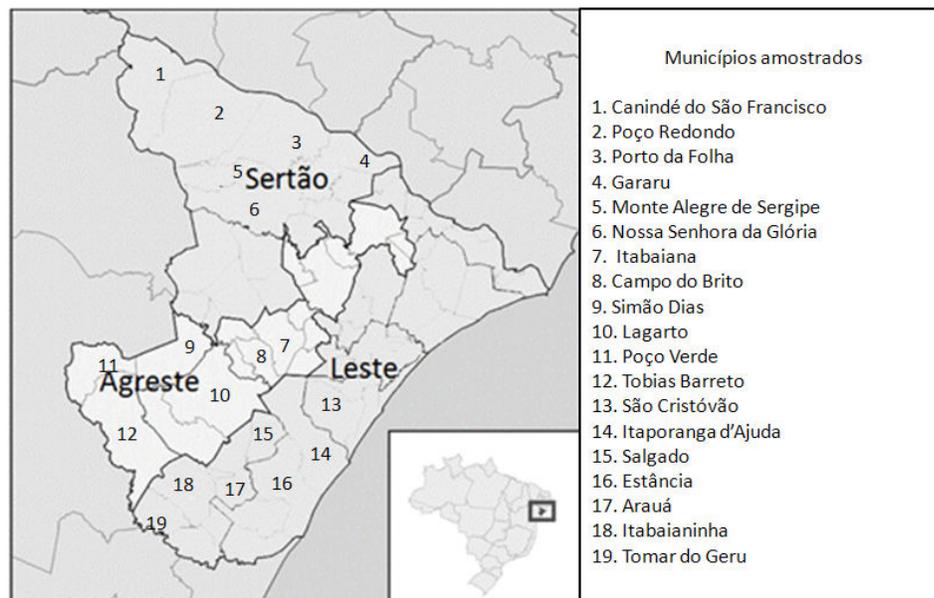


Figura 3.1 – Mapa de Sergipe, dividido em mesorregiões: Sertão Sergipano, Leste Sergipano e Agreste Sergipano, com os municípios amostrados identificados.

3.4 Sorologia

Para pesquisa de anticorpos contra *B. ovis* foi utilizada a técnica de imunodifusão em gel de ágar (IDGA) (Cavalcanti et al., 2006), empregando-se *kits* comerciais produzidos pelo Instituto de Tecnologia do Paraná (TECPAR), sendo a técnica executada de acordo com as instruções do fabricante, utilizando-se antígeno de lipopolissacarídeos e proteínas de *B. ovis*, amostra Reo 198.

A leitura foi realizada após 48 e 72 horas, com luz indireta sobre fundo escuro, sendo considerada definitiva a última leitura. Considerou-se como reação positiva a presença de uma linha de precipitação esbranquiçada e uniforme entre o poço teste e o antígeno, apresentando identidade com a linha formada pelo soro padrão; e como reação negativa a ausência de uma linha de precipitação ou sem linha de identidade (Azevedo et al., 2004). As amostras de soro que tiveram resultados inconclusivos foram retestadas por mais duas vezes.

3.5 Análise Estatística

Os dados, obtidos da entrevista estruturada, foram tabulados no pacote estatístico EPI INFO 3.5.1 (Dean & Arner, 2009). As chances de ocorrer (OR) da análise univariada foram calculadas com medidas de associação e intervalo de confiança de 95%. As variáveis com valor de p igual ou inferior a 20% e com plausibilidade biológica foram selecionadas e submetidas à correlação de Spearman para determinação da multicolinearidade ($p > 0,8$), utilizando o programa BIOESTAT 5.0. Por fim, foi realizada uma análise multivariada de regressão logística não-condicional, sendo modelo final construído através da entrada e saída das variáveis (sistema *backward*).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo se verificou que o agente encontra-se disseminado entre os rebanhos, porém com baixa prevalência de animais positivos. Este resultado, do ponto de vista epidemiológico, sugere que a infecção seja endêmica, pois, segundo Robles (1998), regiões onde a enfermidade é recente há altas prevalências (20% a 60%), enquanto regiões endêmicas tendem a apresentar prevalências menores.

Dos 932 soros examinados pelo teste de IDGA, 41 (4,40%) foram positivos. Em relação aos municípios 73,68% (14/19) possuíam animais sororreagentes (Tabela 3.1) e 46,30% (25/54) das propriedades apresentaram pelo menos um animal positivo. Dos 41 animais positivos, apenas três eram machos reprodutores, pertencentes a propriedades diferentes e únicos animais positivos do total amostrado em cada rebanho, porém, esses animais apresentam grande importância epidemiológica, uma vez que a transmissão venérea é de extrema importância (Lira & Megid, 2009). Estas propriedades apresentaram histórico de abortamento, apesar de não terem sido observadas fêmeas positivas.

A cadeia epidemiológica da *B. ovis* e *B. abortus* é similar a das demais espécies do gênero *Brucella*, desta forma, a fonte de infecção é o animal infectado, na condição de reservatório ou animal doente, que contamina o pasto, água e alimentos através das secreções e excreções corporais, como secreções do trato reprodutivo, anexos fetais, leite e urina, que constituem as vias de eliminação do agente (Brasil, 2006; Lira & Megid, 2009).

Diferente do que foi relatado por Rahman et al (2011), não foi observada associação entre idade e presença de anticorpos contra *B. ovis*, o que sugere que a principal forma de transmissão da bactéria no rebanho é vertical, uma vez que na transmissão horizontal verificaríamos maior percentual de adultos infectados em relação aos jovens. Também não houve diferença significativa entre a infecção e a região do estado.

Após a realização da análise bivariada (Tabela 3.2), as variáveis com plausibilidade biológica e *p-valor* inferior a 20%, foram inseridas no modelo inicial da regressão logística não-condicional, obtendo-se, no modelo final, como fatores de risco associados à

prevalência de *B. ovis* no rebanho ovino de Sergipe, uso de aprisco, área da propriedade maior que 50 hectares e ter tratadores de ovinos (Tabela 3.3).

Tabela 3.1 – Frequência sorológica de ovinos de Sergipe, Brasil, submetidos ao diagnóstico de brucelose para *Brucella ovis* pelo teste de IDGA, segundo município, mesorregião de localização da propriedade.

| Município | Total | Positivos | | P-valor |
|--------------------------|------------|---------------------|-------------------------|---------|
| | | Frequência absoluta | Frequência relativa (%) | |
| Leste Sergipano | 158 | 9 | 5,70 | 0,5095 |
| Salgado | 18 | 0 | 0,00 | |
| Itaporanga D' Ajuda | 25 | 1 | 4,00 | |
| Itabaianinha | 26 | 2 | 7,69 | |
| Tomar do Geru | 21 | 4 | 19,05 | |
| Araúá | 15 | 1 | 6,67 | |
| Estância | 37 | 0 | 0,00 | |
| São Cristovão | 16 | 1 | 6,25 | |
| Agreste Sergipano | 418 | 14 | 3,35 | |
| Tobias Barreto | 111 | 1 | 0,90 | |
| Itabaiana | 38 | 1 | 2,63 | |
| Poço Verde | 64 | 3 | 4,69 | |
| Simão Dias | 30 | 0 | 0,00 | |
| Campo do Brito | 24 | 0 | 0,00 | |
| Lagarto | 151 | 9 | 5,96 | |
| Sertão Sergipano | 356 | 18 | 5,06 | 0,5455 |
| Nossa Senhora da Glória | 142 | 5 | 3,52 | |
| Monte Alegre de Sergipe | 32 | 0 | 0,00 | |
| Canindé do São Francisco | 49 | 1 | 2,04 | |
| Poço Redondo | 49 | 2 | 4,08 | |
| Porto da Folha | 53 | 5 | 9,43 | |
| Gararu | 31 | 5 | 16,13 | |
| TOTAL | 932 | 41 | 4,40 | |

Tabela 3.2 – Teste de qui-quadrado entre as variáveis e presença de anticorpos contra *Brucella ovis*.

| Fatores | Ovinos | | Ovinos | | Odds Ratio (IC 95%) | P-valor |
|-----------------------|-----------|-----|-----------|------|------------------------|---------------------|
| | Positivos | | Negativos | | | |
| | n | % | n | % | | |
| Idade | | | | | | |
| Até um ano | 13 | 4,4 | 285 | 95,6 | 1 | 0,8936 |
| Mais de um ano | 28 | 4,4 | 606 | 95,6 | 0,98 (0,50-1,93) | |
| Água de poço profundo | | | | | | |
| Sim | 3 | 3,8 | 75 | 96,2 | 1 | 0,5456 ^F |
| Não | 38 | 4,4 | 816 | 95,6 | 0,85 (0,26-2,85) | |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|----|-----|-----|-------|------------------|---------------------|
| Produz caprinos | | | | | | |
| Sim | 3 | 2,4 | 121 | 97,5 | 1 | |
| Não | 38 | 4,7 | 770 | 95,3 | 0,50 (0,15-1,65) | 0,3579 |
| Empréstimo de reprodutores | | | | | | |
| Sim | 8 | 5,1 | 149 | 94,9 | 1 | |
| Não | 33 | 4,3 | 742 | 95,7 | 1,21 (0,55-2,67) | 0,8000 |
| Vacina contra raiva | | | | | | |
| Sim | 12 | 5,0 | 230 | 95,0 | 1 | |
| Não | 29 | 4,2 | 661 | 95,8 | 1,19 (0,60-2,37) | 0,7557 |
| Vermifuga regularmente | | | | | | |
| Sim | 29 | 4,5 | 613 | 95,5 | 1 | |
| Não | 12 | 4,1 | 278 | 95,9 | 1,10 (0,55-2,18) | 0,9292 |
| Consumem água de cisterna | | | | | | |
| Sim | 0 | 0 | 42 | 57,1 | 1 | |
| Não | 41 | 100 | 849 | 72,4 | 0 (0,00-1,59) | 0,1447 ^F |
| Plantas tóxicas no pasto | | | | | | |
| Sim | 19 | 5,6 | 322 | 94,4 | 1 | |
| Não | 22 | 3,7 | 569 | 96,3 | 1,53 (0,81-2,86) | 0,2459 |
| Sexo | | | | | | |
| Macho | 8 | 4,2 | 184 | 95,8 | 1 | |
| Fêmea | 33 | 4,5 | 707 | 95,5 | 0,93 (0,42-2,05) | 0,9830 |
| Ocorrência de mastites | | | | | | |
| Sim | 37 | 4,4 | 796 | 95,6 | 1 | |
| Não | 4 | 4,0 | 95 | 96,0 | 1,10 (0,38-3,16) | 0,5549 |
| Realiza exame de brucelose | | | | | | |
| Sim | 7 | 8,1 | 79 | 91,9, | 1 | |
| Não | 34 | 4,0 | 812 | 96,0 | 2,11 (0,91-4,93) | 0,0747 ^F |

| | | | | | | |
|----------------------------|----|-----|-----|------|-------------------|--------|
| Suplementação mineral | | | | | | |
| Sim | 34 | 4,5 | 728 | 95,5 | 1 | |
| Não | 7 | 4,1 | 163 | 95,9 | 1,09 (0,47-2,50) | 0,9929 |
| Uso de aprisco | | | | | | |
| Sim | 24 | 3,7 | 655 | 96,3 | 1 | |
| Não | 16 | 6,3 | 236 | 93,7 | 0,56(0,29-1,07) | 0,1124 |
| Realiza castração | | | | | | |
| Sim | 12 | 3 | 392 | 97,0 | 1 | |
| Não | 29 | 5,5 | 499 | 94,5 | 0,53 (0,26-1,05) | 0,0892 |
| Cria a mais de 10 anos | | | | | | |
| Sim | 18 | 4,9 | 352 | 95,1 | 1 | |
| Não | 23 | 4,1 | 539 | 95,9 | 1,20 (0,64-2,25) | 0,6897 |
| Tipo de monta | | | | | | |
| Monta natural | 26 | 4,3 | 577 | 95,4 | 1 | |
| Monta controlada | 15 | 4,6 | 314 | 95,7 | 0,94 (0,49-1,81) | 0,6295 |
| Possui tratador de ovinos | | | | | | |
| Sim | 22 | 6,0 | 343 | 94,0 | 1 | |
| Não | 19 | 3,4 | 548 | 96,6 | 1,85 (0,99-3,47) | 0,0759 |
| Contato com bovinos | | | | | | |
| Sim | 39 | 5,3 | 699 | 94,7 | 1 | |
| Não | 2 | 1,0 | 192 | 99,0 | 5,36 (1,28-22,38) | 0,0176 |
| Mais de 100 animais | | | | | | |
| Sim | 21 | 5,0 | 401 | 95,0 | 1 | |
| Não | 20 | 3,9 | 490 | 96,1 | 1,28 (0,69-2,40) | 0,5345 |
| Sistema de produção | | | | | | |
| Extensivo | 24 | 3,8 | 603 | 96,2 | 1 | |
| Algum grau de tecnificação | 17 | 5,6 | 288 | 94,4 | 1,48 (0,78-2,80) | 0,2940 |

^F= Teste exato de Fischer

Tabela 3.3 – Modelo final da regressão logística não-condicional dos fatores associados com infecção por *Brucella ovis* em ovinos de Sergipe, Nordeste do Brasil.

| Variável | Odds Ratio | I.C. (95%) | P-Valor |
|-------------------------------|------------|------------------|---------|
| Contato com bovinos | 5,4974 | 1,3123 – 23,0302 | 0,0197 |
| Uso de aprisco | 0,4004 | 0,1973 – 0,8126 | 0,0113 |
| Tem tratador de ovinos | 2,6792 | 1,3466 – 5,3305 | 0,0050 |

$p= 0,0005$, likelihood=316,7925

Quando se analisou as características das propriedades positivas através do questionário aplicado em entrevista estruturada no momento da visita (ver modelo em anexos), foram observadas condições higiênicas inadequadas nas instalações, além da presença de outros animais como bovinos, aves, animais silvestres, gatos e cães. O sistema de produção predominante nas propriedades positivas era extensivo, os ovinos não eram a atividade primária, sendo normalmente a bovinocultura. Além disso, era realizada monta controlada, o que pode favorecer a disseminação do agente quando não se realiza medidas preventivas adequadas e a condição sanitária do reprodutor é desconhecida, adicionalmente, todas as propriedades com animais reagentes relataram histórico de abortamento. Apesar da doença ser natural apenas em ovinos (Estein, 1999), Clementino et al. (2007) relataram que outros animais podem participar como vetores mecânicos ao ingerir restos abortados, contribuindo para a disseminação do agente.

A variável idade não apresentou diferença estatística significativa. Diferente de Rahman et al. (2011), que ao analisaram sexo e idade como fatores associados a infecção por *B. ovis*, verificaram que animais com idade igual ou superior a dois anos apresentavam noventa vezes mais chances de possuírem anticorpos contra o patógeno, porém, assim como o presente estudo, não houve diferença estatística entre a presença de anticorpos contra o agente e sexo.

Corroborando com estudos anteriores que indicam que o contato ou consórcio de pastagens com outros ruminantes é fator de risco para a infecção (Riviriego et al., 2000; Al-Majali et al., 2005; Islam et al., 2013), foi verificado que “contato com bovinos” se comportou como fator associado à presença de anticorpos contra *B. ovis*.

A variável “tem tratador de ovinos” se comportou como fator de risco. É possível que o homem atue como vetor mecânico da bactéria, aumentando as chances de infecção (Clementino et al., 2007), ou ainda que o manejo mais intensivo dos ovinos, na presença de tratador, favoreça a aglomeração de animais nas instalações, aumentando o contato entre os mesmos, e a chance de infecção, especialmente quando não é realizado exame de brucelose nos animais, e o perfil do rebanho quanto à exposição à *B. ovis* é desconhecido, não sendo realizado manejo preventivo ou descarte dos animais positivos (Coelho et al., 2007).

O uso de aprisco nas propriedades se comportou como fator de proteção, possivelmente por facilitar a higienização do ambiente, uma vez que boa parte dos criadores utilizava as fezes recolhidas do aprisco como adubo, para uso próprio ou para venda a terceiros, recolhendo

regularmente. Os resultados estão de acordo com Coelho et al. (2007) e Pinheiro Junior et al. (2009), que observaram que higiene inadequada e irregular aumenta as chances de infecção por *B. ovis*.

A falta de assistência técnica e o desconhecimento dos produtores sobre a existência do agente como causador de doença em ovinos favorecem a permanência do agente nos rebanhos (Martins et al., 2013). Apesar da brucelose ovina causada por *B. ovis* não ser considerada como zoonose, é importante que seja realizado o controle desta infecção, uma vez que esta gera grandes perdas produtivas (Ficapal et al., 1998), ainda que os animais não apresentem sinais clínicos (Carvalho Junior et al., 2012), interferindo severamente no status sanitário do rebanho, especialmente por apresentar morbidade significativa, sendo listada pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE, 2011).

5 CONCLUSÕES

Foi constatada a presença de ovinos positivos sorologicamente para *Brucella ovis* em rebanhos em Sergipe, e observada prevalência de 4,4%. A baixa prevalência indica condição endêmica de *B. ovis* no estado.

O uso do aprisco se comportou como um fator de proteção da infecção, podendo inferir que a instalação reduz o risco de infecção, possivelmente pela higienização frequente da mesma, devido à comercialização do esterco ovino realizada pela maioria dos produtores, reduzindo a carga da bactéria no ambiente.

Ter mão de obra exclusiva para o manejo de ovinos, “tratador de ovinos”, aumentou as chances de ocorrer a infecção por *B. ovis*, possivelmente devido a medidas de manejo adotadas de forma inadequada, ou ainda, deve-se considerar a possibilidade do homem atuar como vetor mecânico da bactéria.

O contato com bovinos também aumentou as chances de infecção, assim como verificado em outros estudos, acredita-se que isso ocorra em decorrência da inferior condição sanitária encontrada em criações consorciadas, que favorece o aumento da viabilidade do agente no ambiente.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-MAJALI, A.M.; MAJOK, A.A.; AMARIN, N.M. et al. Prevalence of, and risk factors for, brucellosis in Awassi sheep in Southern Jordan. **Small Ruminant Research**, v. 73, n. 1-3, p. 300-303, 2007.
- AL-MALAJI A.M. Seroepidemiology of caprine Brucellosis in Jordan. **Small Ruminant Research**, v. 58, n. 1, p. 13-18, 2005.
- AL-TALAFHAH A.H., LAFI S.Q. & AL-TARAZI Y. Epidemiology of ovine brucellosis in Awassi sheep in Northern Jordan. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 60, n. 4, p. 297-306, 2003.
- ALVES, C.J.; FIGUEIREDO, S.M.; AZEVEDO S.S. et al. Detection of *Brucella ovis* in ovine from Paraíba state, in the northeast region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 365-367, 2010.
- AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; BATISTA C.S.A. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, v. 25, n. 2, p. 45-50, 2004.
- BAIGÚN, R.; CONIGLIARO, A.S. & LUNA F. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitis ovina. **Veterinaria Argentina**, v. 17, p. 103-107, 2000.

- BLASCO, J.M. & BARBARAN, M. Epidemiologia, patogenia e quadro clínico da epididimite ovina. **Tratado de Patología y Producción Ovina**, v. 8, p. 551-553, 1990.
- BLOBEL, H.; FERNANDES, J.C.T.; MIES FILHO, A. et al. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 7, p. 1-4, 1972.
- BUDDLE, M.B. & BOYES, B.W.A *Brucella* mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. **Australian Veterinary Journal**, v. 29, n. 6, p. 145-153, 1953.
- BURGESS, G.W. Ovine Contagious Epididymitis: A review. **Veterinary Microbiology**, v. 7, n. 6, p. 551-575, 1982.
- CARVALHO JUNIOR, C.A.; MOUSTACAS, V.S.; XAVIER, M.N. et al. Andrological, pathologic, morphometric, and ultrasonographic findings in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. **Small Ruminant Research**, v. 102, n. 2, p. 213-222, 2012.
- CAVALCANTI, L.A.; DASSO, M.G.; OLIVEIRA, F.C.S. et al. Pesquisa de anticorpos anti-*Brucella canis* em cães provenientes da região metropolitana de Salvador. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 7, n. 2, p. 176-180, 2006.
- CLEMENTINO, I.J.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S. et al. Inquérito soropidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 4, p. 137-143, 2007.
- COELHO, A.M.; COELHO, A.C.; GÓIS, J. et al. Multifactorial correspondence analysis of risk factors for sheep and goat brucellosis seroprevalence. **Small Ruminant Research**, v. 78, p. 181-185, 2008.
- COELHO, A.M.; COELHO, A.C.; ROBOREDO, M. et al. A case-control study of risk factors for brucellosis seropositivity in Portuguese small ruminants herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 82, n. 3-4, p. 291-301, 2007.

- COLETO, Z.F.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOTA, R.A. et al. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, n. 3, p. 551-553, 2003.
- DEAN A.G. & ARNER T. [2009]. **Epi Info: Epidemiology of program office**. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>> Acesso em: 10/10/2009.
- ESTEIN, S.M. Aspectos imunológicos en el diagnóstico y control de La epididimitis contagiosa del carnero por *Brucella ovis*. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 31, n. 1, p. 5-17, 1999.
- FICAPAL, A.; JORDANA, J.; BLASCO, J.M. et al. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Ruminant Research**, v. 29, n.1, p. 13-19, 1998.
- GOVERNO SE SERGIPE [2011]. Secretaria do Estado da Agricultura e do Desenvolvimento Agrário. Aracaju. **Clima e tempo**. Disponível em: <<http://www.sagri.se.gov.br/modules/tinyd0/index.php?id=49>>. Acesso em: 13/01/2011.
- HARTLEY, W.J.; JEBSON, J.L. & MCFARLANE, D. Some observations on natural transmission of ovine brucellosis. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 3, n. 1, p. 5-10, 1995.
- HOMSE, A.C.; CASARO, A.P. & CAMPERO, C.M. Infertilidad em ovelhas por *Brucella ovis*. **Veterinaria Argentina**, v. 12, p. 243-249, 1995.
- KABAGAMBE, E.K.; ELZER, P.H.; GEAGHAN, J.P. et al. Risk Factors for *Brucella* seropositivity in goat herds in eastern and western Uganda. **Preventive Veterinary Research**, v. 52, n. 2, p. 91-108, 2001.
- MAGALHÃES NETO, A. & GIL-TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 16, n. 2-3, p. 75-79, 1996.
- NILO, L.; MACDONALD, D.W.; GODKIN, G.F. et al. Ovine brucellosis in Alberta. **Canadian Veterinary Journal**, v. 27, n. 6, p. 245-249, 1986.

- NOZAKI, C.N.; MEGID, K.C.; SILVA JUNIOR, F.F. et al. Comparação das técnicas de imunodifusão em gel de ágar e ELISA no diagnóstico de brucelose ovina em cabanhas da região Centro-Oeste do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 1, p. 1-5, 2004.
- OIE. [2011]. **Organização Mundial de Sanidade Animal**. Disponível em: <http://www.oie.int/wahis/public/country_population>. Acesso em: 23/07/2011
- RAHMAN, S.; HAHSIN, F.A.; AHASAN, S. et al. Brucellosis in sheep and goat of Bogra and Mymensingh districts of Bangladesh. **Korean Journal of Veterinary Research**, v. 51, p. 277-280, 2011.
- RAMOS, A.A.; MIES FILHOS, A.; SCHENCK, J.A.P. et al.. Epididimite ovina, levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.1, p. 211-213, 1966.
- RIVIRIEGO, F.J.; MORENO, M.A. & DOMÍNGUEZ, L. Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. **Preventive Veterinary Research**, v. 44, n. 3-4, p.167-173, 2000.
- ROBLES C.A. Epididimitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 79, n. 1, p. 67-71, 1998.
- SILVA, J.B.A.; FEIJÓ, F.M.C.; TEIXEIRA, M.F.S. et al. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal**, v. 13, n. 1, p. 51-54, 2003.
- SILVA, N.S.; BARROS, I.N.; DASSO, M.G. et al. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, n. 4, p. 852-859, 2009.
- TAMAYO, R.; VALENTIN, H. & SCHOEBITZ, R. Determinación de anticuerpos a *Brucella ovis* en ovinos de la X Región de Chile. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 21, n. 1, p. 22-28, 1989.

WORTHINGTON, R.W.; WEDDELL, W. & PENROSE, M.E. A comparison of three serological tests for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 32, n. 4, p. 58-60, 1984.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos realizados demonstraram que ambos agentes, tanto *Neospora caninum* quanto *Brucella ovis*, estão presentes em Sergipe.

Acredita-se que o desconhecimento das enfermidades que grassam na região, assim como a não contratação de assistência técnica especializada favoreça ao aumento dos índices de infecção dos animais, uma vez que medidas de controle e prevenção, muitas vezes, são desconhecidas pelos criadores, e, portanto, um inadequado manejo sanitário é adotado.

Ovinos criados em propriedades maiores tiveram mais chances de se infectarem por *N. caninum*, acredita-se que isso ocorra por aumentar a probabilidade destes animais compartilharem o mesmo ambiente de hospedeiros intermediários e definitivos, facilitando a exposição à oocistos esporulados no ambiente, e infecção horizontal. Portanto, recomenda-se a adoção de bom manejo de pastagens para que os animais tenham oferta de alimento satisfatória numa párea reduzida.

A presença de cães na propriedade se comportou como fator de proteção para infecção de ovinos por *N. caninum*, supõe-se que cães, apesar de hospedeiros definitivos, apresentam liberação de oocistos limitada, e devido ao instinto territorialista, afungentem e restringem o trânsito de outros hospedeiros definitivos na propriedade, reduzindo as chances de transmissão horizontal.

A construção, higiene adequada e regular, de aprisco indica ser uma importante medida para reduzir a exposição dos animais a agentes patogênicos, se comportando como fator de proteção para ambos patógenos estudados.

Evitar contato de ovinos com outros ruminantes parece ser um cuidado importante para a redução da infecção por *B. ovis*, portanto, recomenda-se não utilizar pastagens consorciadas entre ovinos e bovinos.

A presença de tratador de ovinos se portou como um fator de risco para a infecção por *B. ovis* em ovinos, hipotetiza-se a adoção de manejo inadequado favorecendo o contágio dos animais, ou a atuação do homem como vetor mecânico, porém recomenda-se a realização de mais estudos para esclarecer qual real influência do tratador de ovinos na epidemiologia desta bactéria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, D.M.; CHIEBAO, D.P.; RODRIGUES, A.A.R. et al.. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos do município de Monte Negro, RO, Amazônia Ocidental Brasileira. In: 17 Reunião Anual do Instituto Biológico e II Congresso de Iniciação Científica em Ciências Agrárias, Biológicas e Ambientais, 2004, São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, p. 277-279, 2004.
- AL-MAJALI, A M.; JAWASREH, K.I.; TALAFHA, H.A. et al. Neosporosis in sheep and different breeds of goats from southern jordan: prevalence and risk factors analysis. **American Journal of Animal and Veterinary Sciences**, USA, v. 3, p. 47-52, 2008.
- AL-MAJALI, A.M.; MAJOK, A.A.; AMARIN, N.M. et al. Prevalence of, and risk factors for, brucellosis in Awassi sheep in Southern Jordan. **Small Ruminant Research**, v.73. p. 300-303, 2007.
- ALMERÍA, S.; NOGAREDA, C.; SANTOLARIA, P. et al. Specific anti-*Neospora caninum* IgG1 and IgG2 antibody responses during gestation in naturally infected cattle and their relationship with gamma interferon production. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 130, p. 35–42, 2009.
- AL-TALAFHAH, A.H.; LAFIS, Q. & AL-TARAZI, Y. Epidemiology of ovine brucellosis in Awassi sheep in Northern Jordan. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 60, n 4, p. 297-306, 2009.

- ALVES, C.J.; DE FIGUEIREDO, S.M.; DE AZEVEDO, S.S. et al. Detection of *Brucella ovis* in ovine from Paraíba state, in the northeast region of Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 2, p. 365-367, 2010.
- ANDERLINI, G.A.; FARIA, E.B.; SILVA, E.M. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caprinos no estado de Alagoas, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 18, p. 583-590, 2011.
- ANDERSON, M.L.; ANDRIANARIVO, A.G. & CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417-431, 2000.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.; GOMES, A. et al. Sorologia anti-*Neospora caninum* em gado de corte e em cães no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil Central. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. 1 CD-ROM.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.D.; PIRES, P.P. et al. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, center-western region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 3, p. 129-131, 2004.
- ANDRIANARIVO, A.G.; CHOROMANSKI, L.; MCDONOUGH, S.P. et al. Immunogenicity of a killed whole *Neospora caninum* tachyzoite preparation formulated with different adjuvants. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1613–1625, 1999.
- ARIAS, Y. ACURERO, F.; PALACIOS, E. et al. Soroprevalencia de brucelosis em ovinos del Guanarito, Portuguesa, **Revista Unellez de Ciencia y Tecnologia**, v. 25, p. 44-48, 2007.
- ASMARE, K.; REGASSA, F.; ROBERTSON, L.J. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. **Veterinary Parasitology**, v. 193, p. 85-94, 2013.
- AZEVEDO, S.S.; ALVES C.J.; ALVES, F.A.L et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos procedentes de quatro municípios do estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Agropecuária Técnica**, v. 25, n. 2, p. 45-50, 2004.

- BAIGÚN, R.; CONIGLIARO, A.S & LUNA, F. Aislamiento de *Brucella ovis* y control de reaccionantes serológicos en epididimitis ovina. **Veterinaria Argentina**, v. 17, p. 103-107, 2000.
- BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARÉ, J. et al. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 218, p. 1803-1806, 2001.
- BARLING, K.S.; MCNEILL, J.W.; PASCHAL, J.C. et al. Ranch-management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 52, n. 1, p. 53–61, 2001.
- BARLING, K.S.; McNEILL, J.W.; THOMPSON, J.A. et al. Association of serologic status for *Neospora caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 217, n. 9, p. 1356-1360, 2000.
- BARR, B.C.; CONRAD, P.A.; SVERLOW, K. et al. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. **Laboratory Investigation**, v. 71, p. 236-242. 1994a.
- BARR, B.C.; ROWE, J.D.; SVERLOW, K.W. et al. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora* infection and death with a bovine *Neospora* isolate. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, p. 207-215, 1994b.
- BARTELS, C.J.M.; VAN SCHAİK, G.; VELDHUISEN, J.P. et al. Effect of *Neospora caninum* serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 77, p. 186-198, 2006.
- BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M.C. et al. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal Parasitology**, v. 87, p. 612–618, 2001.

- BASZLER, T.V.; GAY, L.J.C.; LONG, M.T. et al. Detection byPCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortions. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, p. 4059–4064, 1999.
- BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. São Paulo: Roca, 1999.
- BENKIRANE, A. Ovine and caprine brucellosis: World distribution and control/eradication strategies in West Asia/North Africa region. **Small Ruminant Research**, v. 62, p. 19–25, 2006.
- BERGERON, N.; FECTEAU, G.; VILLENEUVE, A. et al. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 97, n. 2, p. 145–152, 2001.
- BISHOP, S.; KING, J.; WINDSOR, P. et al. The first report of ovine cerebral neosporosis and evaluation of *Neospora caninum* prevalence in sheep in New South Wales. **Veterinary Parasitology**, v. 170, p. 137–142, 2010.
- BJERKAS, L.; MOHN, S. F. & PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, p. 271-274, 1984.
- BJÖRKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STENLUND, S. et al. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, n.9, p. 1441-1444, 1996.
- BOBLEL, H.; FERNANDES, J.C.T.; MIES FILHO, A. et al. Estudos sobre a etiologia da epididimite ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 7, p. 1-4, 1972.
- BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 27 de 20 de outubro de 2010. Aprova o teste de polarização fluorescente (TPF) para utilização pelo PNCEBT no diagnóstico da brucelose bovina e bubalina. **Diário Oficial da União, Brasília**,

22 de outubro de 2010. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/legislacao>. Acesso: 02/01/2012.

BRASIL, Portaria nº 102 de 17 de dezembro de 2004. Dispõe sobre o Plano Nacional de Vigilância e Controle da Epididimite Ovina - *Brucella ovis*. **Diário Oficial da União, Brasília**, 17 de dezembro 2004. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/legislacao>. Acesso: 02/01/2012.

BRASIL, Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose - PNCEBT. **Manual Técnico**. Brasília, 2006.

BRAUTIGAN, F.E.; HIETALA, S.K. & GLASS, R. Resultados de levantamentos sorológicos para a espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande, MS. **Anais...** Campo Grande: Associação Panamericana de Ciências Veterinárias, p. 284, 1996.

BROWN, G.M.; PIETZ, D.E. & PRICE, D. A. Studies on the transmission of *Brucella ovis* infection in rams. **The Cornell Veterinarian**, v. 63, n. 1, p. 29-40, 1973.

BUDDLE, M. B. Studies on *Brucella ovis* (n.sp.), a cause of genital disease of sheep in New Zealand and Australia. **Journal of Hygienic**, v. 54, n. 3, p. 351-364, 1956.

BUDDLE, M.B. & BOYES, B.W.A. *Brucella* mutant causing genital disease of sheep in New Zealand. **Australian Veterinary Journal**, v. 29, p. 145-153, 1953.

BURGESS, G.W. Ovine Contagious Epididymitis: A review. **Veterinary Microbiology**, v. 7, n. 6, p. 551-575, 1982.

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

BUXTON, D.; WRIGHT, S.; MALEY, S.W. et al. Immunity to experimental neosporosis in pregnant sheep. **Parasite Immunology**, v. 23, p. 85-91, 2001.

- BUXTON, D.; MALEY, S.W.; WRIGHT, S. et al. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v. 118, p. 267–279, 1998.
- CAMERON, R.D.A. & LAUERMAN JUNIOR, L.H. Characteristics of semen changes during *Brucella ovis* infection in rams. **The Veterinary Record**, v. 99, n. 12, p. 231-233, 1976.
- CANNING, P.; ROTH, J.A.; TABATABAI, L.B. et al. Isolation of components of *Brucella abortus* responsible for inhibition of function in bovine neutrophils. **Journal of Infectious Diseases**, v. 152, n. 5, p. 913-921, 1985.
- CARDOSO, M.V.; LARA, M.C.C.S.H.; CHIEBAO, D. et al. Determinação da condição sanitária de rebanhos caprinos e ovinos na região sudoeste do estado de São Paulo, Brasil. In: Feira Internacional de Caprinos e Ovinos, 5, 2008, São Paulo. **Anais...** São Paulo, 2008.
- CARVALHO JUNIOR, C.A.; XAVIER, M.N.; COSTA, L.F. et al. Agentes infecciosos que podem promover infertilidade em machos da espécie ovina. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 34, n. 3, p. 160-167, 2010.
- CARVALHO, M.S.; BARROSO, M.R.; PINHAL, F. et al. Brucelose, alguns aspectos epidemiológicos. **Medicina Interna**, v. 2, n. 4, p. 259-261, 1995.
- CASTRO, H.A.; GONSALEZ, S.R. & PRAT, M.I. Brucellosis: una revisión práctica. **Acta bioquímica clínica latinoamericana**, v. 39, n. 2, p. 203-216, 2005.
- CAVALCANTE, G.T.; MONTEIRO, R.M.; SOARES, R.M. et al. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed differ from naturally infected cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 179, p. 220-223, 2011.
- CLEMENTINO, I.J.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S. et al. A. Inquérito soropidemiológico e fatores de risco associados à infecção por *Brucella ovis* em carneiros deslanados do semi-árido da Paraíba. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, p. 137-143, 2007.

- COELHO, A. M.; COELHO, A. C.; ROBOREDO, et al. A case-control study of risk factors for brucellosis seropositivity in Portuguese small ruminants herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 82, p. 291-301, 2007.
- COELHO, A.M.; COELHO, A. C.; GÓIS, J. et al. Multifactorial correspondence analysis of risk factors for sheep and goat brucellosis seroprevalence. **Small Ruminant Research**, v. 78, p. 181-185, 2008.
- COLETO, Z.F.; PINHEIRO JÚNIOR, J.W.; MOTA, R.A. et al. Ocorrência de infecção por *Brucella ovis* em ovinos do Estado de Pernambuco e sua participação em distúrbios reprodutivos nesta espécie. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 27, p. 551-553, 2003.
- CONRAD, P.A.; SVERLOW, K.; ANDERSON, M. et al. Detection of serumantibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 5, p. 572–578, 1993.
- COSTA, K. DE S.; SANTOS, S.L.; UZÊDA, R.S. et al. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 2, p. 157-159, 2008.
- COX, F. Systematics of parasitic protozoa. In: KRIER JP. **Parasitic Protozoa**. 2nd ed. Local: Academic Press; v. 1, p. 55-67, 1991.
- DAVIES, C. J.; ELDRIDGE, J.A.; FISHER, P.J. et al. Evidence for expression of both classical and non-classical major histocompatibility complex class I genes in bovine trophoblast cells. **American Journal of Reproductive Immunology**, v. 55, n. 3, p. 188–200, 2006.
- DAVIS, S. W. & DUBEY, J. P. Mediation of immunity to *Toxoplasma gondii* oocyst shedding in cats. **The Journal of Parasitology**, v. 81, n. 6, p. 882 - 886, 1995.
- DAVISON, H.C.; GUY, C.S.; MCGARRY, J.W. et al. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. **Research in Veterinary Science**, v. 70, p. 163–168, 2001.

- DE MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J.P. et al. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. **International Journal of Parasitology**, v. 29, p. 1647–1657, 1999.
- DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. W.; HESSELINK, J. W. et al. Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. **Veterinary Parasitology**, v. 105, n. 2, p. 89-98, 2002b.
- DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H.W.; EYSKER, M. et al. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal of Parasitology**, v. 31, p. 209-212, 2001a.
- DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H.W.; EYSKER, M. et al. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 105, p. 99–104, 2002a.
- DIJKSTRA, T.; EYSKER, M.; SCHARES, G. et al. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal of Parasitology**, v. 31, p. 747–752, 2001b.
- DUBEY, D.J.; SREEKUMAR, C.; KNICKMAN, E. et al. Biologic, morphologic, and molecular characterization of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. **International Journal of Parasitology**, v.34, n.10, p.1157–1167, 2004.
- DUBEY, J. P. & LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.
- DUBEY, J. P. & LINDSAY, D. S. Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. **Parasitology Research**, v.86, n.2, p.165-168, 2000.
- DUBEY, J.P. & LINDSAY, D.S. A review of *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 1-59, 1996.

- DUBEY, J.P. & SCHARES, G. Neosporosis in animals - The last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, p. 90-108, 2011.
- DUBEY, J.P. Neosporosis in cattle. **Journal of Parasitology**, p. 42-56, 2003.
- DUBEY, J.P. Neosporosis in cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 21, p. 473-483, 2005.
- DUBEY, J.P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, p. 1160-1163, 1999a.
- DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.84, p. 349-367, 1999b.
- DUBEY, J.P.; BARR, B.C.; BARTA, J.R. et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal of Parasitology**, v. 32, p. 929–946, 2002.
- DUBEY, J.P.; CARPENTER, J.L.; SPEER, C.A. et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 9, p. 1269–1285, 1988a.
- DUBEY, J.P.; DOROUGH, K.R.; JENKINS, M.C. et al. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. **International Journal of Parasitology**, v. 28, p. 1293–1304, 1998.
- DUBEY, J.P.; HARTLEY, W.J.; LINDSAY, D.S. et al. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. **Journal Parasitology**, v. 76, n. 1, p. 127-130, 1990a.
- DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; RAJENDRAN, C. et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2-4, p. 382-387, 2011.

- DUBEY, J.P.; KOESTNER, A. & PIPER, R.C. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 197, n. 7, p. 857-860, 1990b.
- DUBEY, J.P.; SCHARES, G. & ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323–367, 2007.
- DUBEY, J.P; ACLAND, H.M. & HAMIR, A.N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a Stillborn goat. **The Journal of Parasitology**, v. 78, n. 3, p. 532-534, 1992.
- DUBEY, J.P; HATTEL, A.L.; LINDSAY, D.S. et al. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, p. 1259–1263, 1988b.
- ELISEI, C.; PELLEGRIN, A; TOMAS, W. M. et al. Evidência molecular de *Brucella* sp. em *Ozotoceros bezoarticus* (veado campeiro) do Pantanal Sul-Mato-Grossense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 6, p. 503-509, 2010.
- ELLIS, J.; LUTON, K.; BAVERSTOCK, P. R. et al. The phylogeny of *Neospora caninum*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 64, p. 303-311, 1994.
- ESTEIN, S. M. Immunological aspects in the diagnosis and control of contagious epididymitis of rams by *Brucella ovis*. **Archivos de Medicina Veterinária**, v. 31, n. 1, p. 1- 18, 1999.
- FARIAS, N.A.R. Neosporose – Uma enfermidade a ser estudada. **Ciência e Tecnologia Veterinária**, v. 01, p. 05-14, 2002.
- FERRE, I.; SERRANO-MARTÍNEZ, E.; MARTÍNEZ, A. et al. Effects of re-infection with *Neospora caninum* in bulls on parasite detection in semen and blood and immunological responses. **Theriogenology**, v. 69, n. 7, p. 905-11, 2008.

- FERREIRA, A.C.; CARDOSO, R.; TRAVASSOS DIAS, I. et al. Evaluation of a modified Rose Bengal test and an indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the diagnosis of *Brucella mellitensis* infection in sheep. **Veterinary Research**, v. 34, n. 3, p. 297-305, 2003.
- FICAPAL, A.; JORDANA, J.; BLASCO, J.M. et al. Diagnosis and epidemiology of *Brucella ovis* infection in rams. **Small Ruminant Research**, v. 29, p.13-19, 1998.
- FIGLIUOLO, L.P.C.; KASAI, N.; RAGOZO, A.M.A. et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3-4, p. 161–166, 2004.
- FORESTIER, C.; DELEUIL, F.; LAPAQUE, N. et al. *Brucella abortus* lipopolysaccharide in murine peritoneal macrophages acts as a down-regulator of T cell activation. **Journal of Immunology**, v. 165, p. 5202-5210, 2000.
- FRENCH, N.P.; CLANCY, D.; DAVISON, H.C. et al. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: transmission and options for control. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1691-1704, 1999.
- GAY, J. Neosporosis in dairy cattle: An update from an epidemiological perspective. **Theriogenology**, v. 66, p. 629–632, 2006.
- GAZZINELLI, R.T.; DENKERS, E.Y. & SHER, A. Host resistance to *Toxoplasma gondii*: model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracellular parasites. **Infectious Agents and Diseases**, v. 2, p. 139–149, 1993.
- GOLDING, B.; SCOTT, D.E.; SCHARF, O. et al. Immunity and protection against *Brucella abortus*. **Microbes and Infection**, v. 3, n. 1, p. 43-48, 2001.
- GONDIM, L F.P.; McALLISTER, M.M.; PITT, W.C. et al. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 159-161, 2004a.

- GONDIM, L.F.; SARTOR, I.F. & HASEGAWA, M. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 86, p. 71-75, 1999.
- GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; MATEUS-PINILLA, N.E. et al. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. **Journal of Parasitology**, v. 90, n. 6, p. 1361-1365, 2004b.
- GONDIM, L.F.P.; PINHEIRO, A.M.; SANTOS, P.O.M. et al. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. **Veterinary Parasitology**, v. 101, p. 1-7, 2001.
- GOVERNO SE SERGIPE, Secretaria do Estado da Agricultura e do Desenvolvimento Agrário. Aracaju. Disponível em: <<http://www.sagri.se.gov.br/modules/tinyd0/index.php?id=49>>. Acesso em: jan. 2011.
- GROSS, A.; BOUABOULA, M.; CASELLAS, P. et al. Subversion and utilization of the host cell cyclic adenosine 5-Monophosphate/Protein Kinase A pathway by *Brucella* during macrophage infection. **The Journal Immunology**, v. 170, n. 11, p. 5607-5614, 2003.
- GUL, S.T. & KHAN, A. Epidemiology and epizootology of brucellosis: a review. **Pakistan Veterinary Journal**, v. 27, n. 3, p. 145-151, 2007.
- HEIN, W.R.; SHELTON, J.N.; SIMPSON-MORGAN, M.W. et al. Traffic and proliferative responses of recirculating lymphocytes in fetal calves. **Immunology**, v. 64, p. 621-626, 1988.
- HELMICK, B.; OTTER, A.; McGARRY, J. et al. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. **Research in Veterinary Science**, v. 73, p. 187-189, 2002.
- HIGGINS, D.A.; STACK, M.J. & RICHARDSON, C. Lymphocyte markers in the bovine foetus. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 7, p. 369-377, 1983.

- HOFFMANN, D.C.S. **Cinética, avaliação da transmissão vertical e monitoramento da transferência passiva de anticorpos anti- Neospora sp. em equinos.** Paraná Universidade Federal do Paraná, 2007. 91p. Dissertação de Mestrado em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2007.
- HOMSE, A.C.; CASARO, A.P. & CAMPERO, C.M. Infertilidad em ovelhas por *Brucella ovis*. **Veterinária Argentina**, v. 12, p. 243-249, 1995.
- ICSP, *International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the Taxonomia of Brucella*. [atualizado em julho de 2010]. Disponível em: www.the-icsp.org/subcoms/Brucella.htm. Acesso em: 02/01/2012.
- INNES, E.A.; ANDRIANARIVO, A.G.; BJÖRKMAN, C. et al. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **Trends Parasitology**, v. 18, p. 497–504, 2002.
- JARDIM, G.C.; PIRES, P.P.; MATHIAS, L.A. et al. Diagnóstico sorológico da brucelose bovina em animais adultos vacinados com dose reduzida da cepa 19 de *Brucella abortus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 177-182, 2006.
- JENSEN, A.M.; BJORKMAN, C.; KJELDSSEN, A.M. et al. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, p. 151-163, 1999.
- JENSEN, J.; RUBINO, M.; YANG, W.C. et al. Ontogeny of mitogen responsive lymphocytes in the bovine foetus. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 12, p. 685–692, 1988.
- JOLLEY, M.R.; MCALLISTER, M.M.; MCGUIRE, A.M. et al. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 251–257, 1999.
- KHAN, I.A.; SCHWARTZMAN, J.D.; FONSEKA, S. et al. *Neospora caninum*: role for immune cytokines in host immunity. **Experimental Parasitology**, v. 85, p. 24–34, 1997.
- KIMBERLING, C.V.; ARNOLD, K.S.; SCHWEITZER, D.J. et al. Correlation of the presence of seminal white blood cells and the prevalence of separated spermatozoal heads with subclinical

- Brucella ovis* infection in rams. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 189, n. 1, p. 73-76, 1986.
- KING, J.S.; SLAPETA, J.; JENKINS, D.J. et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, n. 8, p. 945–950, 2010.
- KOBAYASHI, Y.; YAMADA, M.; OMATA, Y. et al. Naturally-occurring *Neospora caninum* infection in an adult sheep and her twin fetuses. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 434–436, 2001.
- KOTT, R.W.; HALVER, G.C.; FIREHAMMER, B. et al. Relationships between *Brucella ovis* semen culture and various semen and serology parameters. **Theriogenology**, v. 29, n. 4, p. 961-970, 1988.
- LAGE, A.P.; POESTER, F.P.; PAIXÃO, T.A. et al. Brucelose bovina: uma atualização. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 32, n. 3, p. 202-212, 2008.
- LANGONI, H.; GRECA JÚNIOR, H.; GUIMARÃES, F.F. et al. Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 50-54, 2011.
- LEON, F.C. Influencia de los elementos y factores geográficos em la epidemiología de la brucelosis del ganado ovino y caprino. **Papeles de Geografía**, v. 20, p. 189-209, 1994.
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L. & DUBEY, J.P. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. **Journal Parasitology**, v. 78, p. 70-72, 1992.
- LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. & DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327-333, 1999.
- LINDSAY, D.S. & DUBEY, J.P. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa Apicomplexa). **Journal of Parasitology**, v. 76, n. 3, p. 410-413, 1990.

- LIRA, N.S.C. & MEGID, J. Patogenia da Brucelose ovina. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 2, p. 280-289, 2009.
- LUNA-MARTÍNEZ, J.E. & MEJÍA-TERÁN, C. Brucellosis in Mexico: current status and trends. **Veterinary Microbiology**, v. 90, p. 19–30, 2002.
- LUNDEN, A.; MARKS, J.; MALEY, S.W. et al. Cellular immune responses in cattle experimentally infected with *Neospora caninum*. **Parasite Immunology**, v. 20, p. 519–526, 1998.
- MAGALHÃES NETO, A & GIL-TURNES, C. Brucelose ovina no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 16, p. 75-79, 1996.
- MAGALHÃES, V.C.S.; OLIVEIRA, U.V.; COSTA, S.C.L. et al. Transmission paths of *Neospora caninum* cattle in the northeast of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 202, p. 257-264, 2014.
- MAINAR-JAIME; R.C. & VÁZQUEZ-BOLANDE, J.A. Associations of veterinary services and farmer characteristics with the prevalences of brucellosis and border disease in small ruminants in Spain. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, p. 193-205, 1999.
- MARKS, J.; LUNDEN, A.; HARKINS, D. et al. Identification of *Neospora* antigens recognized by CD4+ T cells and immune sera from experimentally infected cattle. **Parasite Immunology**, v. 20, p. 303–309, 1998.
- MAURIN, M. La brucellose à l'aube du 21^e siècle. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v. 35, p. 6–16, 2005.
- McALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 17, n. 9, p. 1473-1479, 1998.
- McALLISTER, M.M.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R. et al. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 6, p. 647-655, 1996.

- McGARRY, J.W.; STOCKTON, C.M.; WILLIAMS, D.J. Protracted shedding of oocysts of *Neospora caninum* by a naturally infected foxhound. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 628-630, 2003.
- MEGID, J.; MATHIAS, L.A. & ROBLES, C.A. Clinical manifestations of brucellosis in domestic animals and humans. **The Open Veterinary Science Journal**, v. 4, p. 119- 126, 2010.
- MELO, C.B.; LEITE, R.C.; LOBATO, Z.I.P. et al. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 97-105, 2004
- MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N. et al. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.
- MELO; C.B.; PAZ, G.F; OLIVEIRA, A.A. et al. Infecção por *Neospora caninum* em bovinos de Sergipe. In: Congresso Latinoamericano de Buiatria, 11, 2003, Salvador. **Resumo...** Salvador, 2003a.
- MELO, C.B.; PINHEIRO, A.M.; OLIVEIRA, A.A. et AL. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães em Aracaju, Sergipe. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 30, 2003, Manaus. **Resumo...** Manaus, 2003b.
- MICHELON, T.; DA SILVEIRA, J.G.; GRAUDENZ, M. et al. Imunologia da Gestação. **Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul**, v. 50, p. 145-151, 2006.
- MONNEY, T. & HEMPHILL, A. Vaccines against neosporosis: What can we learn from the past studies? **Experimental Parasitology**, v. 140, p. 52-70, 2014.
- MUGRIDGE, N.B., MORRISON, D.A., HECKEROTH, A.R. et al. Phylogenetic analysis based on full-length large subunit ribosomal RNA gene sequence comparison reveals that *Neospora*

- caninum* is more close related to *Hammondia heydorni* than to *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1545-1556, 1999.
- MUNHOZ, A.D.; PEREIRA, M.J.S.; FLAUSINO, W. et al. *Neospora caninum* seropositivity in cattle breeds in the South Fluminense Paraíba Valley, state of Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, p. 29–32, 2009.
- NAREZ, G.M.; APARICIO, E.D.; MORALES ALVAREZ, J.F. et al. Ovine epididymitis: bacteriological and serological studies. **Veterinaria-Mexico**, v. 30, p. 329-336, 1999.
- NETO, A.F.A.; BANDINI, L.A.; NISHI, S.M. et al. Viability of sporulated oocysts of *Neospora caninum* after exposure to different physical and chemical treatments. **Journal Parasitology**, v. 97, p. 135–139, 2011.
- NICOLETTI, P. A short history of brucellosis. **Veterinary Microbiology**, v. 90, p. 5-9, 2002.
- NILO, L.; MACDONALD, D.W.; GODKIN, G. F. et al. Ovine brucellosis in Alberta. **Canadian Veterinary Journal**, v. 27, p. 245-249, 1986.
- NOGUEIRA FILHO, T. & KASPRZYKOWSKY, J.W.A. O agronegócio da caprino-ovinocultura no nordeste brasileiro. **Documentos do Escritório Técnico de Estudos Econômicos do Nordeste**, v. 09, p. 1-54, 2006.
- NOZAKI, C.N.; MEGID, K.C.; SILVA JUNIOR, F.F. et al. Comparação das técnicas de Imunodifusão em Gel de Agar e Elisa no diagnóstico de brucelose ovina em cabanhas da região Centro- Oeste do Estado de São Paulo. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 71, n. 1, p. 1-5, 2004.
- OCHOLI, R.A.; KWAGA, J.K.; AJOGI, I. et al. Phenotypic characterization of *Brucella* strains isolated from livestock in Nigeria. **Veterinary Microbiology**, v. 103, n. 1-2, p. 47–53, 2004.
- OCHOLI, R.A.; KWAGA, J.K.P.; AJOGI, I. et al. Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Nigéria. **Review Scientific Technical Office International Epizooties**, v. 24, n. 3, p. 973-979, 2005.

- OIE, Brucellosis. Animal disease information, 2012. Disponível em: <http://www.oie.int/animal-health-in-the-world/disease-information-summaries>. Acesso: 02/01/2012.
- OIE, Organização Mundial de Saúde Animal, 2011. (Capturado em: <
http://www.oie.int/wahis/public/country_population >).
- PAOLICCHI, F.A.; CASARO, P.A.; GIMENO, E.J. et al. Antisperm response in rams experimentally infected with *Brucella ovis*. **Small Ruminant Research**, v. 36, p. 7-15, 2000.
- PARÉ, J.; THURMOND, M.C. & HIETALA, S.K. Congenital *Neospora caninum* Infection in Dairy Cattle and Associated Calfhooood Mortality. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 60, n. 2, p. 133-139, 1996.
- PASQUALI, P.; MANDARA, M.T.; ADAMO, F. et al. Neosporosis in a dog in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 77, p. 297-299, 1998.
- PAULIN, L. M. Brucelose. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, n. 2, p. 239-249, 2003.
- PEIXOTO, R.M.; VESCHI, J.L.A.; NOGUEIRA, D.M. et al. Inquérito soroepidemiológico anti-*Brucella abortus* em rebanhos caprinos na região semi-árida do submédio São Francisco, PE. In: 5 CONGRESSO NORDESTINO DE PRODUÇÃO ANIMAL, 2008, Aracaju. **Resumo...** Aracaju, 2008.
- PELTIER, M. R. Immunology of term and labor. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 1, p. 122, 2003.
- PENA, H.F.J.; SOARES, R.M.; RAGOZO, A.M. et al. Isolation and molecular detection of *Neospora caninum* from naturally infected sheep from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 1-2, p. 61-66, 2007.
- PEREIRA-BUENO, J.; QUINTANILLA-GOZALO, A.; PÉREZ-PÉREZ, V. et al. Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 111, p. 143-152, 2003.

- PESSEGUEIRO, P.; BARATA, C. & CORREIA, J. Brucelose: uma revisão sistematizada. **Medicina Interna**, v. 10, n. 2, p. 91-100, 2003.
- PETERS, M.; LUTKEFELS, E.; HECKEROTH, A.R. et al. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal of Parasitology**, v.31, p. 1144-1148, 2001.
- PIERGILI-FIORETTI, D.; PASQUALI, P.; DIAFERIA, M. et al. *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. **Journal of Veterinary Medicine B. Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v. 50, p. 399-404, 2003.
- PINHEIRO JUNIOR, J.W.; SOUZA, M.M.A.; GUERRA, N.R. et al. Frequência de aglutininas anti- *Brucella ovis* em caprinos e ovinos do Sertão do Estado de Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1096-1101, 2008.
- PINHEIRO, R.R.; GOUVEIA, A.M.G.; ALVES, F.S.F. et al. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura Cearense. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, 2000.
- POESTER, F.P.; GONÇALVES, V.S.P. & LAGE, A. P. Brucellosis in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 90, p. 55-62, 2002.
- POLI, A.; MANCIANTI, F.; CARLI, M.A. et al. *Neospora caninum* infection in a Bernese cattle dog from Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 78, p. 79–85, 1998.
- QUISPE, C.H.R.; RIVERA, G.H. & ROSADIO, A.R. Cinética de la infección por *Brucella ovis* en carneros durante una época de empadre. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú**, v. 13, n. 1, p. 61-66, 2002.
- RAMOS, A.A.; MIES FILHOS, A.; SCHENCK, J A P. et al. Epididimite ovina, levantamento clínico no Rio Grande do Sul. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 1, p. 211-213, 1966.

- REICHEL, M.P.; ROSS, G.P. & MCALLISTER, M.M. Evaluation of an enzymelinkedimmunosorbent assay for the serological diagnosis of *Neospora caninum* infection in sheep and determination of the apparent prevalence of infection in New Zealand. **Veterinary Parasitology**, v. 151, p. 323–326, 2008.
- REITEROVÁ, K.; ŠPILOVSKÁ, S.; ANTOLOVÁ, D. et al. *Neospora caninum*, potential cause of abortions in dairy cows: The current serological follow-up in Slovakia. **Veterinary Parasitology**, v. 159, n. 1, p. 1- 6, 2009.
- REVIRIEGO, F.J.; MORENO, M.A. & DOMÍNGUEZ, L. Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. **Preventive Veterinary Research**, v. 44, p. 167-173, 2000.
- RIDLER, A. L. An overview of *Brucella ovis* infection in New Zealand. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 50, n. 3, p. 96-98, 2002.
- RIS, D. R. The bacteriology and serology of ewes inoculated with viable *Brucella ovis* organisms. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 18, p. 2-7, 1970.
- RIVERS, R.; ANDREWS, E.; GONZÁLEZ-SMITH, A. et al. *Brucella abortus*: inmunidad, vacunas y estrategias de prevención basadas en ácidos nucleicos. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v. 38, n. 1, p. 7-18, 2006.
- RIVIRIEGO, F.J.; MORENO, M.A. & DOMÍNGUEZ, L. Risk factors for brucellosis seroprevalence of sheep and goat flocks in Spain. **Preventive Veterinary Research**, v. 44, p. 167-173, 2000.
- ROBLES, C.A. Epididimitis contagiosa de los carneros por *Brucella ovis*. **Revista de Medicina Veterinária**, v. 79, n. 1, p. 1-13, 1998.
- ROBLES, C.A. Brucelosis de Los Carneros. **Revista IDIA, XXI**, v. 7, p. 83-86, 2004.

- RODRIGUES, A.A.R.; GENNARI, S.M.; AGUIAR, D.M. et al. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 139-150, 2004.
- ROMANELLI, P.R.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O. et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 82, p. 202-207, 2007.
- ROMERO, J.J. & FRANKENA, K. The effect of the dam-calf relationship on serostatus to *Neospora caninum* on 20 Costa Rica dairy farms. **Veterinary Parasitology**, v. 114, p. 159-171, 2003.
- SANTIAGO, L.B.; PINHEIRO, R.R.; ALVES, F.S.F. et al. Caracterização Sanitária da caprino-ovinocultura no estado do Ceará: dados preliminares. In: Congresso Nordestino de Produção Animal, 6., 2010, Mossoró. **Resumo...** Mossoró, 2010.
- SANTOS, C.S.A.B.; AZEVEDO, S.S.; SOARES, H.S. et al. Flock-level risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in dairy goats in a semiarid region of Northeastern Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 112, p. 239-242, 2013.
- SARAFANA, S.; COELHO, R.; NEVES, A. et al. Aspectos da Imunologia da Gravidez. **Acta Médica Portuguesa**, v. 20, p. 355-358, 2007.
- SASANI, F.; JAVANBAKHT, J.; SEIFORI, P. et al. *Neospora caninum* as causative agent of ovine encephalitis in Iran. **Pathology Discovery**, doi: 10.7243/2052-7896-1-5, 2013.
- SCHARES, G.; BARWALD, A.; STAUBACH, C. et al. Potencial risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers. **Parasitology**, v. 129, p. 301-309, 2004.
- SCHARES, G.; HEYDORN, A. O.; CUPPERS, A. et al. In contrast to dogs, red foxes (*Vulpes vulpes*) did not shed *Neospora caninum* upon feeding of intermediate host tissues. **Parasitology Research**, v. 88, p. 44-52, 2002.

- SILVA, J.B.A.; FEIJÓ, F.M.C.; TEIXEIRA, M.F.S. et al. Prevalência de brucelose ovina causada por *Brucella ovis* em rebanhos do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Animal**, v. 13, p. 51-54, 2003.
- SILVA, N. DOS S.; BARROS, I. N.; DASSO, M. G. et al. Detecção de anticorpos anti-*Brucella ovis* em ovinos do estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 10, p. 852-859, 2009.
- SLAPETA, J.R.; KOUDELA, B.; VOTYPKA, J. et al. Coprodiagnosis of *Hammondia heydorni* in dogs by PCR based amplification of ITS 1 rRNA: differentiation from morphologically indistinguishable oocysts of *Neospora caninum*. **Veterinary Journal**, v. 163, p. 147–154, 2002.
- SOARES, R.M.; LOPES, E.G.; KEID, L.B. et al. Identification of *Hammondia heydorni* oocysts by a hemingnested-PCR (hnPCRAP 10) based on the *Hammondia heydorni* RAPD fragment AP 10. **Veterinary Parasitology**, v. 175, p. 168172, 2011.
- SPEER, C.A.; DUBEY, J.P.; MCALLISTER, M.M. et al. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Internation Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1509–19, 1999.
- SYED-HUSSAIN, S.S.; HOWE, L.; POMROY, W.E. et al. Detection of *Neospora caninum* in semen of experimental infected rams with no evidence of horizontal transmission in ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 197, p. 534-542, 2013.
- TEMBUE, A.A.S.M.; RAMOS, R.A.N.; SOUSA, T.R. et al. Serological survey of *Neospora caninum* in small ruminants from Pernambuco State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 246-248, 2011.
- TORRES, E.D.N.; APARICIO, E.D.; QUEZADA, F.V. et al. Presencia de anticuerpos contra diferentes espécies de *Brucella* en sementales ovinos jóvenes. **Veterinaria México**, v. 28, n. 3, p. 241-245, 1997.

- TREES, A.J. & WILLIAMS, D.J.L. Neosporosis in United Kingdom. In: A European Perspective on *Neospora caninum*. Eds: Hemphill, A.; Gottstein, B. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 891-893, 2000.
- UENO, T.E.H.; GONÇALVES, V.S.P.; HEINEMANN, M.B. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, n. 4, p. 547–552, 2009.
- UGGLA, A.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O. J. M. et al. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1467-1472, 1998.
- VIANA, J.G.A. Panorama Geral da ovinocultura no mundo e no Brasil. **Revista Ovinos**, v. 4, n. 12, 2008.
- VIEIRA, L.S. Epidemiologia e controle da nematodiose gastrintestinal dos caprinos. In: Congresso Pernambucano de Medicina Veterinária, 1999, Recife. **Anais...** Recife: Sociedade Pernambucana de Medicina Veterinária. 1999. P. 123-128.
- VOGEL, F.S.F.; ARENHART, S.; BAUERMANN, F.V.; Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1948-1951, 2006.
- VON BLUMRÖDER, D.; STAMBUSCH, R.; LABOHM, R. et al. Potentielle Risikofaktoren für den serologischen Nachweis von *Neospora caninum*-Infektionen in Rinderherden in Rheinland-Pfalz. **Tierärztliche Praxis**, v. 34, p. 141-147, 2006.
- WEST, D. M. & BRUERE, A. N. Accreditation for freedom from ovine brucellosis. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 27, p. 263-265, 1979.
- WEST, D.M.; POMROY, W.E.; COLLETT, M.G. et al. A possible role for *Neospora caninum* in ovine abortion in New Zealand. **Small Ruminant Research**, v. 62, p. 135–138, 2006.

- WESTON, J.F.; HOWE, L.; COLLETT, M.G. et al. Dose-titration challenge of young pregnant sheep with *Neospora caninum* tachyzoites. **Veterinary Parasitology**, v. 164, p. 183–191, 2009.
- WIEMER, K. E. & RUTTLE, J. L. Semen characteristics, scrotal circumference and bacterial isolates of fine wool range rams. **Theriogenology**, v. 28, n. 5, p. 625-37, 1987.
- WILLIAMS, D.J.L.; GUY, C.S.; SMITH, R.F.; E et al. Immunization of cattle with live tachyzoites of *Neospora caninum* confers protection against fetal death. **Infection and Immunity**, v. 75, p. 1343–1348, 2007.
- WOLFE, D.F.; STRINGFELLOW, L.D.A.; RIDDELL, M.G. et al. Adherence of *Brucella ovis* to preimplantation ovine ova. **Theriogenology**, v. 30, n. 2, p. 387 -393, 1988.
- WORTHINGTON, R.W.; WEDDELL, W. & PENROSE, M.E. A comparison of three serological tests for the diagnosis of *Brucella ovis* infection in rams. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 32, p. 58-60, 1984.
- WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.H.; KRAMER, A.M.H. et al. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v. 29, p. 1677-1682, 1999.
- XAVIER, M.N.; COSTA, E.A.; PAIXÃO, T.A. et al. The genus *Brucella* and clinical manifestations of brucellosis. **Ciência Rural**, v. 39, n. 7, p. 2252-2260, 2009.
- ZHANG, H.; LEE, E.G.; YU, L. et al. Identification of the cross-reactive and species-specific antigens between *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites by a proteomics approach. **Parasitology Research**, v. 109, n. 3, p. 899-911, 2011.

ANEXO A - Questionário

IDENTIFICAÇÃO DO PRODUTOR

Nome: _____

Faixa etária: () 20 a 30 anos () 31 a 40 anos () 41 a 50 anos () 51 a 60 anos () Acima de 61 anos

Endereço completo do proprietário (para correspondência): Rua _____

Cidade: _____ UF: _____ CEP: _____ DDD/Tel.: _____

Endereço eletrônico (e-mail): _____

Reside na propriedade? () Sim () Não Grau de instrução: () Sem instrução () 1º grau () 2º grau () Universitário

Profissão: _____ Município da propriedade: _____ UF: MG

Filiado a Associações de Criadores? () Não () Sim: Qual(is)? _____

Preferência para receber informações através de: () Contatos interpessoais (visita à propriedade)

() Reuniões – Dia e horário: _____

() Palestras – Dia e horário: _____

() Dia de Campo – Dia e horário: _____

() Rádio – Emissora e horário: _____

() Jornal – Qual? _____

() TV – Canal e horário: _____

() Outra. Qual? _____

Principal fonte de renda: () Caprinocultura () Ovinocultura () Agricultura () Outra. Qual? _____

Quantas pessoas da família: Residem na propriedade? _____ pessoas. Trabalham na propriedade? _____ pessoas.

Número de funcionários da propriedade (exceto os familiares): _____ pessoas.

Trabalhando exclusivamente com caprinos e ovinos? _____ pessoas.

Trabalhando com caprinos, ovinos e outras atividades da propriedade? _____ pessoas.

PROPRIEDADE (Observação direta / Visitar as instalações)

ÁREA: Total (ha): _____ De solta (ha): _____ De pastagens (ha): _____

Para produção de alimentação animal (capineira, silo, feno, banco de proteína) (ha): _____

Possui aprisco? () Não () Sim. Tipo de piso: () Chão batido () Ripado () Cimentado () Outro: _____

Faz divisão de pastagens? () Sim () Não

Características da propriedade: () Presença de áreas alagadas com muita matéria orgânica () Presença de áreas com florestas

() Presença de vegetação nativa () Presença de águas limpas salobras ou alcalinas () Outros

Quais espécies cria na propriedade para fins de produção?

() Caprinos () Ovinos () Caprinos e Ovinos () Equinos () Suínos () Aves () Bovinos

Presença de bovinos: () Na propriedade () Em propriedades vizinhas () Não há bovinos na propriedade ou áreas próximas a ela.

ALIMENTAÇÃO(Preencher os parênteses deste item com as letras "A" se for usada no período das águas, com "S" se usada no período seco, e com "AS" se usada nos dois períodos):

- () Pastagem Tipo: () Buffel () Braquiária () Colonião () Andropogon () Outras: _____
- Tipo de pastejo: () Rotacionado () Contínuo () Outro: _____
- () Suplementação: () Silagem. Tipo de forragem: _____
- () Feno. Tipo de forragem: _____
- () Cana. Com uréia? _____
- () Capineira. Tipo de capim: _____
- () Banco de proteína. Tipo(s) de leguminosa: _____
- () Concentrado. Tipo: () Comercial () Feito na propriedade () Outro: _____
- () Sal mineral. Tipo: () Sal comum () Sal mineralizado

Na propriedade existe alguma instalação utilizada para estocar alimentos destinados à suplementação de caprinos e/ou ovinos?

- () Não () Sim. E gatos (domésticos ou selvagens) têm acesso a estas instalações? () Não () Sim () Às vezes

Plantas tóxicas e abortivas existentes na região: _____

A água oferecida aos caprinos/ovinos é proveniente de:

- () Cacimba () Açude () Lagoa () Poço profundo () Cisterna () Poço artesiano

A água é oferecida aos caprinos/ovinos em:

- () Vasilhames dentro das instalações () Vasilhames fora das instalações () Os animais bebem direto na fonte (açude, barragem, etc.)

Acompanhamento técnico? () Não () Sim. Frequência: () Semanal () Mensal () Quinzenal () Semestral () Quando precisa

- () Médico Veterinário () Zootecnista () Agrônomo () Técnico Agrícola

() Particular () Empresa: _____

Quando tem algum animal doente na propriedade, a quem recorre? () Medica por conta própria () Veterinário de cooperativas

- () Veterinário autônomo () Veterinário do IMA () Veterinário da EMATER () Vizinho () Outro. Qual? _____

MANEJO DAS CRIAS (CAPRINOS E/OU OVINOS)

Identificação individual dos animais: () Não faz () Brinco () Tatuagem () Medalha () Outro: _____

Corte e cura do umbigo: () Não faz () Com iodo () Com creolina () Outro: _____

Tipo de colostro dado aos filhotes: () Colostro de vaca () Colostro artificial () Colostro de ovelha

- () Colostro de cabra *in natura* () Colostro de cabra tratado termicamente (65°C durante 60 min.)

() Outro. Qual? _____

Possui banco de colostro congelado? () Sim () Não

Aleitamento: () Natural () Artificial: () Leite de cabra () Leite de ovelha () Leite de vaca () Leite em pó de vaca

- () Em pó de soja () Outro: _____

Castração: () Não faz () Cirúrgica () Burdizzo () Elastrador () Outra: _____

Idade de castração: () 10 a 30 dias () 31 a 60 dias () 61 a 90 dias () Mais de 90 dias

Idade da desmama (apartação): () 1 mês () 2 meses () 3 meses () 4 meses () 5 meses ou mais

REBANHO OVINO

Tipo de exploração (**Observação direta**): () Carne () Lã () Carne, pele e lã
 () Intensiva () Semi-intensiva () Extensiva

Ano de início da criação: _____

Origem do rebanho ovino base: () Importado. País(es): _____
 () Nacional. Estado(s): _____

Tem animais importados em seu rebanho? () Não () Sim. País(es) de origem: _____

Atualmente não tem ovinos importados no rebanho, mas já teve ovinos importados?

() Não () Sim. País(es): _____ Ano de importação: _____

Reprodutores: () Comprados () Trocados () Empréstados Tempo de permanência do reprodutor na propriedade: _____

Participa com ovinos em leilões e exposições agropecuárias? () Não () Sim. Onde? _____

Exige documento sanitário para compra de ovinos? () Não () Sim. Qual(is)? _____

| QUANTIDADE TOTAL DE OVINOS POR RAÇA OU TIPO RACIAL (ordem alfabética) | | | | | |
|---|------|-----------|------|--------------|------|
| RAÇA/TIPO | QTDE | RAÇA/TIPO | QTDE | RAÇA/TIPO | QTDE |
| Bergamácia | | Somalis | | SRD | |
| Crioula | | Suffolk | | Outra: _____ | |
| Hampshire Down | | Texel | | Outra: _____ | |
| Morada Nova | | Dorper | | Outra: _____ | |
| Santa Inês | | Mestiça | | Outra: _____ | |

MANEJO SANITÁRIO DOSOVINOS

Alterações observadas no rebanho OVINO (**marque** com um "X" as observadas e **adicionalmente, sublinhe** as mais freqüentes):

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Aborto | <input type="checkbox"/> Diarréias freqüentes |
| <input type="checkbox"/> Nascimento de cordeiros fracos ou com anomalias | <input type="checkbox"/> Estrose |
| <input type="checkbox"/> Artrites | <input type="checkbox"/> Perda de pêlo ou lã |
| <input type="checkbox"/> Bicheira (Miíase) | <input type="checkbox"/> Linfadenite caseosa (mal do caroço) |
| <input type="checkbox"/> Ceratoconjuntivite | <input type="checkbox"/> Mamites |
| <input type="checkbox"/> Língua inchada para fora da boca | <input type="checkbox"/> Pneumonias |
| <input type="checkbox"/> Língua, lábios ou focinho vermelhos ou cianóticos (roxo-azulados) | <input type="checkbox"/> Pododermatite – inflamação dos cascos e manqueira |
| <input type="checkbox"/> Cheiro ruim na boca | <input type="checkbox"/> Sintomas nervosos |
| <input type="checkbox"/> Edema de face – inchaços no lábio, língua ou mandíbula | <input type="checkbox"/> Carrapatos |
| <input type="checkbox"/> Ectima contagioso (Boqueira) | <input type="checkbox"/> Piolhos |
| <input type="checkbox"/> Vesículas (bolhas ou aftas) na boca e lábios | <input type="checkbox"/> Bernes |
| <input type="checkbox"/> Corrimento nasal com aparecimento de crostas (cascas) | <input type="checkbox"/> Nenhum |

Vermifugação: Não Sim. O mesmo dos caprinos

Diferente dos caprinos. Freqüência: _____ Produto: _____

Alternância de produtos: Não Sim. Periodicidade: _____

| Exames periódicos realizados nos ovinos | Não | Sim | Observação | Periodicidade |
|---|-----|-----|------------------------------------|---------------|
| Brucelose | | | | |
| Leptospirose | | | | |
| Língua Azul | | | | |
| Maedi-Visna | | | | |
| Tuberculose | | | Em caso afirmativo, com que teste? | |
| Outro: | | | - | |

| VACINAS UTILIZADAS NOS OVINOS | | | |
|-------------------------------|------------|--------|------------|
| Doença | Freqüência | Doença | Freqüência |
| | | | |
| | | | |

Corte de cascos: Não Sim. Freqüência: _____

Reprodução: Monta Natural Monta Controlada Inseminação Artificial

Estação de monta? Não Sim. Época e duração: _____

Entrada para reprodução (peso e idade): Machos: _____ Fêmeas: _____

Existem gatos domésticos na propriedade? Não Sim. Os gatos têm acesso às baias de ovinos? Sim Não

Os gatos têm acesso à água oferecida aos ovinos? Às vezes Não Sim

Na área onde está localizada a propriedade, é comum a presença de gatos selvagens?

Não Sim. Em caso positivo, tem acesso às baias de ovinos? Às vezes Não Sim

Os ovinos têm contato direto com: Cães Gatos Animais silvestres. Especificar: _____

Bovinos Caprinos Equinos Suínos

PRODUÇÃO DE CARNE E PELE DE OVINOS

Vende os ovinos: () No próprio município () Para outras cidades () Para outros Estados

Vende os ovinos: () Em pé () Abatidos Preço médio obtido por Kg: R\$ _____

Destino dos ovinos comercializados para abate: () Frigorífico () Intermediário () Mercado local (ao consumidor)

Época de maior procura de ovinos para abate: () Início do ano () Meio do ano () Final do ano

O abate é feito em que idade? () Com menos de 6 meses () Entre 6 e 12 meses () Mais de 12 meses

Peso médio dos ovinos ao abate: Jovens: _____ Kg Adultos: _____ Kg

Beneficia a pele na propriedade? () Não () Sim. Tipo: () Salga () Secagem ao sol () Curtimento químico

Destino da pele: () Não aproveitada () Curtume () Intermediário () Mercado local (ao consumidor)

Utiliza carne ovina para consumo familiar? () Não () Sim. Peso médio dos animais consumidos: _____ Kg

Dificuldades encontradas na comercialização: () Preço () Falta de frigoríficos na região () Longa distância dos frigoríficos
() Falta de comprador () Falta de curtumes na região () Outras: _____

Compra ovinos para: () Recria () Para terminação em confinamento

O rebanho ovino está estabelecido? () Sim () Não. Quantas matrizes pretende manter ao estabilizar o rebanho? _____

Taxa de reposição anual do rebanho ovino: _____ % ao ano.

12. RESPONSÁVEL PELO PREENCHIMENTO:

Nome: _____ Empresa: _____ Data: ___/___/___

DDD/ Tel. para contato: _____ Endereço eletrônico (e-mail): _____

Assinatura: _____