

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-  
*Neospora caninum* EM VACAS E FETOS  
PROVENIENTES DE MUNICÍPIOS DO SUL DE  
MINAS GERAIS**

**MARLON HENRIQUE PAIVA GUEDES**

**2006**

**MARLON HENRIQUE PAIVA GUEDES**

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM VACAS E FETOS PROVENIENTES DE MUNICÍPIOS DO SUL DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, para obtenção do título de “Mestre”.

**Orientador**

**Prof. Dr. Antônio Marcos Guimarães**

**LAVRAS  
MINAS GERAIS - BRASIL**

**2006**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca Central da UFLA**

Guedes, Marlon Henrique Paiva

Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos  
provenientes de municípios do Sul de Minas Gerais / Marlon Henrique Paiva  
Guedes. – Lavras: UFLA, 2006.

65 p. : il.

Orientador: Antônio Marcos Guimarães.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Vaca. 2. Anticorpos. 3. Neosporose. I. Universidade Federal de  
Lavras. II. Título.

CDD-636.2089696

**MARLON HENRIQUE PAIVA GUEDES**

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM  
VACAS E FETOS PROVENIENTES DE MUNICÍPIOS DO SUL DE  
MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal  
de Lavras como parte das exigências do Curso  
de Mestrado em Ciências Veterinárias, para  
obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 14 de dezembro de 2006

Profª. Dra. Christiane M. B. M. Rocha

UFLA

Prof. Dr. Christian Hirsch

UFLA

Prof. Dr. Múcio Flávio B. Ribeiro

UFMG

Prof. Dr. Antônio Marcos Guimarães

UFLA

(Orientador)

LAVRAS

MINAS GERAIS – BRASIL

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, antes de tudo, a Deus, pela minha existência, saúde, fé e por estar sempre comigo.

À minha esposa Bárbara Alice Carvalho Paiva, pelo companheirismo, compreensão, apoio e amor incondicional.

Aos meus pais, Anitor Guedes Henrique e Elza Maria Paiva Henrique, exemplos de caráter, que tanto já fizeram por mim, apoiando, incentivando em todos os momentos da minha vida.

À minha irmã Sabrina Paiva Guedes Henrique, pela amizade.

Ao Professor Antônio Marcos Guimarães, pela valiosíssima orientação, que muito acrescentou na minha formação e também pela amizade e confiança.

À Professora Christiane M. B. M. Rocha, pela grande ajuda nas análises estatísticas, bem como pelas sugestões e correções.

À Universidade Federal de Lavras com seu Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade.

À FAPEMIG, pela concessão da bolsa de estudos e financiamento do projeto de pesquisa.

Aos Professores Christian Hirsch e Múcio Flávio B. Ribeiro, pelas correções e sugestões que muito melhoraram o trabalho.

Aos amigos do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, pela amizade.

## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
ÍNDICE DE TABELAS.....	i
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iii
ÍNDICE DE QUADROS .....	iv
RESUMO.....	v
ABSTRACT .....	vi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	4
2.1 Objetivo geral .....	4
2.2 Objetivos específicos .....	4
3 REFERENCIAL TEÓRICO .....	5
3.1 <i>Neospora caninum</i> .....	5
3.2 Neosporose bovina.....	8
3.2.1 Epidemiologia.....	11
3.2.1.1 Soroprevalência .....	11
3.2.1.2 Fatores de risco .....	14
3.2.1.3 Transmissão congênita.....	17
4 MATERIAL E MÉTODOS .....	22
4.1 Amostras de soros bovinos dos rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande.....	22
4.1.1 Coleta das amostras de soro bovino na microrregião do Alto Rio Grande.....	25
4.1.2 Características da área e animais da microrregião do Alto Rio Grande.....	25
4.1.3 Caracterização do sistema de produção das propriedades .....	26
4.2 Coleta das amostras de soros de vacas e fetos em frigorífico .....	27
4.3 Sorologia.....	28
4.3.1 Descrição da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) .....	28
4.4 Análise estatística .....	29
5 RESULTADOS .....	30

5.1 Caracterização das fazendas da microrregião do Alto Rio Grande.....	30
5.2 Soroprevalência e fatores de risco para <i>Neospora caninum</i> em propriedades leiteiras da microrregião do Alto Rio Grande .....	33
5.2.1 Soroprevalência .....	33
5.2.2 Fatores de risco .....	35
5.3 Soroprevalência para <i>Neospora caninum</i> em vacas e fetos em frigorífico .....	37
6 DISCUSSÃO .....	40
6.1 Soroprevalência para <i>Neospora caninum</i> em propriedades leiteiras da microrregião do Alto Rio Grande .....	40
6.2 Fatores de risco .....	42
6.3 Soroprevalência e transmissão congênita em vacas e fetos de frigorífico .....	45
7 CONCLUSÕES .....	52
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

## ÍNDICE DE TABELAS

- TABELA 1 Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de diferentes países, detectados pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ELISA, e respectivos autores ..... 12
- TABELA 2 Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de diferentes estados brasileiros, detectados pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e respectivos autores..... 13
- TABELA 3 Municípios e número de amostras (absoluto e relativo) de soro coletadas em propriedades leiteiras da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004..... 25
- TABELA 4 Municípios e número (absoluto e relativo) de amostras de soros coletadas de vacas abatidas em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006 ..... 27
- TABELA 5 Parâmetros descritivos de fazendas do grupo A (<1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004 ..... 31
- TABELA 6 Parâmetros descritivos de fazendas do grupo B (>1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004 ..... 31
- TABELA 7 Caracterização das propriedades leiteiras dos grupos A (<1000 litros de leite/dia) e B (>1000 litros de leite/dia), da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004 ..... 32
- TABELA 8 Soroprevalência para *Neospora caninum* em propriedades leiteiras do grupo A (<1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004..... 33
- TABELA 9 Soroprevalência para *Neospora caninum* em propriedades leiteiras do grupo B (>1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004..... 34

TABELA 10 Município e frequência de vacas soropositivas para <i>Neospora caninum</i> em rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004 .....	35
TABELA 11 Fatores associados à soroprevalência de <i>Neospora caninum</i> em 18 rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas, 2004.....	36
TABELA 12 Municípios e frequência de vacas soropositivas para <i>Neospora caninum</i> abatidas em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006 .....	37
TABELA 13 Idade e frequência de fetos soropositivos para <i>Neospora caninum</i> coletados em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006 .....	38

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 Mapa com os sete municípios da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais .....	23
FIGURA 2 Frequência de títulos de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em 100 vacas soropositivas abatidas em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006 .....	38
FIGURA 3 Frequência de títulos de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em 64 fetos soropositivos coletados em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006.....	39

## ÍNDICE DE QUADROS

QUADRO 1 Sumário da soroprevalência de <i>Neospora caninum</i> em propriedades leiteiras do grupo A (<1000 litros de leite/dia) e grupo B (>1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.....	35
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

## RESUMO

GUEDES, Marlon Henrique Paiva. **Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do Sul de Minas Gerais.** 2006. 67 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)\* Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

A neosporose bovina constitui, atualmente, uma das principais causas de abortos em rebanhos de leite e corte. O objetivo deste estudo foi determinar a soroprevalência de *N. caninum* em vacas leiteiras na microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, bem como, estudar os fatores de risco de transmissão relacionados ao tipo de manejo adotado nas propriedades estudadas e determinar a soroprevalência e a frequência de transmissão congênita de *N. caninum* em vacas abatidas em frigorífico de Campo Belo, MG. Foram utilizadas 559 amostras de soros coletadas em 18 propriedades produtoras de leite tipo B ou C, distribuídas por sete municípios da região do Alto Rio Grande, Sul de MG. As propriedades selecionadas foram divididas em dois grupos, de acordo com a produção de leite: A) oito fazendas com menos de 1.000 litros/dia e B) dez fazendas com mais de 1.000 litros/dia. Amostras de soros de fêmeas bovinas e de fetos foram coletadas no frigorífico do município de Campo Belo, MG. Foram coletadas 503 amostras de soros fetais e 575 de soros de fêmeas bovinas de raças de leite, corte e mestiças provenientes da região Sul de Minas Gerais. As amostras de soros foram submetidas à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), utilizando como antígeno taquizoítos de *N. caninum*, e como ponto de corte o título de 1:25 para os soros fetais e 1:200 para as fêmeas. No grupo A, a soroprevalência foi de 94,6% e 88,2% no grupo B. A prevalência global média foi de 91,2% (510/559). Na análise para fatores de risco associados com soroprevalência de *N. caninum*, somente tamanho da propriedade (<100 ha) apresentou associação significativa no Teste Exato de Fisher ( $p < 0,05$ ). A soroprevalência foi de 97,2% para fêmeas abatidas em frigorífico e a transmissão congênita foi de 12,7%. A idade média global dos fetos foi de 188 dias. A frequência de títulos de anticorpos anti-*N. caninum* para os soros fetais foi de: 1:25 (20%), 1:50 (3%), 1:100 (6%), 1:200 (8%), 1:400 (8%) e 1:800 (55%). Em 100 amostras de vacas abatidas em frigorífico a frequência de títulos foi de: 1:200 (4%), 1:400 (62%), 1:800 (15%), 1:1600 (15%) e 1:3200 (4%). Estes resultados indicam que a infecção por *Neospora caninum* ocorre de forma endêmica em rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de MG. Nesta região a infecção congênita por *N. caninum* constitui uma importante forma de transmissão em rebanhos bovinos.

## ABSTRACT

GUEDES, Marlon Henrique Paiva. **Frequency of antibodies anti-*Neospora caninum* in cows and fetuses proceeding from cities of the South of Minas Gerais State.** 2006. 67 p. Dissertation (Master Program in Veterinary Sciences)\* Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Neosporosis, currently, is a major cause of abortion in dairy and beef cattle worldwide. The objective of this study was to determine the seroprevalence in dairy cows infected with *N. caninum*, in the region of the Alto Rio Grande, South of Minas Gerais State, Brazil, as well as, to study the risk factors of transmission related to the type of handling adopted in the studied properties and to determine the seroprevalence and the frequency of congenital transmission of *N. caninum* in slaughter house's cows of the South of Minas Gerais State. Had been used 559 samples of serum collected in 18 producing milk properties type B or C, distributed for seven cities of the region of the Alto Rio Grande. The selected properties had been divided in two groups, in accordance with the milk production: A) eight farms with less than 1.000 liters/day and B) ten farms with more than 1.000 liters/day. Samples of serum of bovine females and fetuses had been collected in the slaughter house of the city of Campo Belo, MG. Had been collected 503 samples of fetuses serum and 575 of serum of bovine females of dairy, beef and mixed races proceeding from the South region of Minas Gerais State. The samples of serum had been submitted to the indirect fluorescent antibody tests (IFAT), using as antigen taquizoites of *N. caninum*, and as cut-off values the serum dilution of 1:25 for the fetuses serum and 1:200 for the cows. In the group A, the seroprevalence was of 94,6%. The seroprevalence in group B was of 88,2%. The global prevalence was of 91,2% (510/559). In the analysis for risk factors associates with seroprevalence of *N. caninum*, only size of the property (<100 ha) presented significant association in the Fisher's exact test ( $p < 0,05$ ). The seroprevalence was of 97,2% for slaughter house's cows and the congenital transmission was of 12,7%. The average age of the fetuses was of 188 days. The frequency of titres of antibodies anti-*N. caninum* for the fetuses serum was of: 1:25 (20%), 1:50 (3%), 1:100 (6%), 1:200 (8%), 1:400 (8%) and 1:800 (55%). In 100 samples of slaughter house's cows frequency of titres was of: 1:200 (4%), 1:400 (62%), 1:800 (15%), 1:1600 (15%) and 1:3200 (4%). These results indicate that the infection for *Neospora caninum* occurs of endemic form in dairy cattle of region of the Alto Rio Grande, South of Minas Gerais State. In this region the uterine infection is important form of transmission in the bovines.

## 1 INTRODUÇÃO

A pecuária bovina, de corte e de leite, representa um dos principais setores do agronegócio brasileiro. Localizado na região intertropical e com grande extensão territorial, o Brasil apresenta condições favoráveis à pecuária extensiva, o que o torna altamente competitivo em relação a mercados exteriores. Assim sendo, é importante que os fatores limitantes à produção na bovinocultura sejam controlados para atingir o máximo de rentabilidade. Dentre esses fatores destacam-se as doenças da reprodução de origem infecciosa, causadas por diversos microrganismos como vírus, bactérias e protozoários.

A neosporose bovina é uma doença parasitária causada pelo protozoário do Filo Apicomplexa *Neospora caninum*, parasito coccídeo, formador de cistos, que foi descrito e caracterizado pela primeira vez em cães nos EUA (Dubey et al., 1988). Atualmente, essa enfermidade é considerada uma das principais causas de aborto em bovinos de todo o mundo, podendo também raramente causar distúrbios neurológicos em neonatos (Dubey & Lindsay, 1996; Anderson et al., 2000; Wouda, 2000; Dubey, 2003), sendo responsável por expressivos prejuízos econômicos a rebanhos de corte e, especialmente, a pecuária leiteira.

Efeitos negativos da neosporose bovina ocorrem principalmente pelo aborto, mas pode provocar também morte embrionária e reabsorção, redução na produção de leite, nascimento de bezerros com anormalidades congênitas e menor taxa de crescimento dos animais jovens (Barling et al., 2000). Provoca prejuízo econômico direto devido ao aborto e danos indiretos incluindo honorário profissional, gastos com estabelecimento de diagnóstico, reposição de vacas que abortaram e diminuição da produção de leite (Thurmond & Hietala, 1997).

Em rebanhos de corte, *N. caninum* tem sido associado com redução significativa no ganho de peso de bezerros após a desmama e na produção de

carcaças leves (Barling et al., 2000). Na Califórnia, EUA, estima-se que de todos os abortos que ocorrem em bovinos, anualmente, de 20% a 43% estão relacionados diretamente a esse protozoário (Anderson et al., 1991, 1995), com um prejuízo anual estimado em 35 milhões de dólares. Na Austrália, estima-se que, por ano, a neosporose cause um prejuízo de 85 milhões de dólares a indústria de leite e de 25 milhões de dólares a indústria de corte (Dubey, 1999).

*N. caninum* é a principal causa de aborto em bovinos leiteiros nos EUA, Nova Zelândia e Holanda (Dubey, 1999). A presença de rebanhos bovinos infectados com *N. caninum* tem sido relatada em países da América do Norte, Europa, Ásia, África e Oceania (Dubey, 1999). Na América do Sul, a criação de bovinos constitui uma das principais atividades econômicas. Rebanhos positivos para *N. caninum* foram notificados na Argentina, Paraguai, Peru, Chile, Uruguai e Venezuela (Moore, 2005).

*N. caninum* está amplamente distribuído no território brasileiro e a transmissão transplacentária (vertical) é considerada a principal via de infecção para bovinos (Kyaw et al., 2005), podendo acontecer com uma eficiência de até 95% (Davison et al., 1999 b). A transmissão horizontal é menos freqüente, sendo a maioria das infecções por *Neospora* em bovinos por meio da transmissão vertical (McCallister et al., 1998).

Para investigação inicial da presença de *N. caninum* em um rebanho bovino é necessário a realização de exames sorológicos a fim de verificar o grau de infecção dos animais. A ocorrência de abortos em gado de leite ou corte é um fato relativamente comum, no entanto, a etiologia de grande parte destes abortamentos não é definida. Além disso, a estrutura laboratorial completa para pesquisa de diferentes causas de abortos, não está disponível na maioria dos laboratórios de diagnósticos. Isto pode subestimar a real importância da neosporose bovina.

A pecuária leiteira constitui um dos principais setores do agronegócio brasileiro, com uma produção de leite em 2000 na ordem de 19.767.206 litros, e um plantel de 17.885.019 vacas ordenhadas. Minas Gerais, no ano de 2000, foi responsável por aproximadamente 30% da produção nacional de leite (seis bilhões de litros), participando com 25% do rebanho nacional de vacas ordenhadas, ou seja, aproximadamente nove milhões de cabeças (IBGE, 2004).

A região Sul de Minas Gerais se destaca como uma das principais bacias leiteiras do país, abastecendo grandes centros como São Paulo, além de fornecer matéria prima para as indústrias de laticínios localizadas no estado de Minas Gerais.

Devido ao impacto econômico da neosporose bovina e associado à falta de estudos sobre esta enfermidade no Sul de Minas, é que se considera fundamental determinar a frequência da transmissão congênita e prevalência média de bovinos infectados com *N. caninum*.

Embora uma grande quantidade de informação sobre a neosporose bovina já esteja disponível, ainda existem dúvidas a serem esclarecidas na epidemiologia do *N. caninum*. Os resultados obtidos neste estudo irão contribuir para concretizar futuras medidas de controle, que permitam reduzir o impacto dessa doença sobre a produção e produtividade dos bovinos da região.

Com este estudo buscou-se determinar a soroprevalência de *N. caninum* em vacas leiteiras, na microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, bem como, estudar os fatores de risco associados à infecção e relacionados ao tipo de manejo adotado nas propriedades estudadas e determinar a soroprevalência e a frequência de transmissão congênita de *N. caninum* em vacas abatidas em frigorífico do Sul de Minas Gerais.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

O principal objetivo deste estudo foi determinar a soroprevalência, fatores de risco e transmissão congênita de *Neospora caninum* em bovinos provenientes de municípios do Sul de Minas Gerais.

### **2.2 Objetivos específicos**

Especificamente com este estudo pretendeu-se:

- Determinar a soroprevalência de anticorpos específicos anti-*N. caninum* em fêmeas bovinas leiteiras acima de 24 meses de idade;
- Determinar os fatores zootécnicos e sanitários associados com a soroprevalência de *N. caninum* em rebanhos leiteiros;
- Determinar a soroprevalência de anticorpos específicos anti-*N. caninum* em vacas abatidas em frigorífico de Campo Belo, oriundas do Sul de Minas Gerais;
- Determinar a soroprevalência de anticorpos específicos anti-*N. caninum* em fetos coletados em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 *Neospora caninum*

*Neospora caninum* é um protozoário intracelular obrigatório, morfológicamente semelhante ao *Toxoplasma gondii* e é atualmente considerado como a principal causa de aborto em bovinos em vários países (Collantes Fernandez et al., 2006; Hall et al., 2005; Dubey & Lindsay, 1996). A infecção congênita por meio da transmissão vertical é o principal modo de transmissão nos bovinos (Davison et al., 1999 ab). Estudos têm indicado, contudo, que a transmissão vertical sozinha não pode sustentar uma infecção dentro do rebanho, sendo necessário para isso uma transmissão horizontal ou pós-natal que acontece pela ingestão de oocistos a partir do hospedeiro definitivo (Hall et al., 2005; Mcallister et al., 1996).

Este protozoário pertence ao filo Apicomplexa, classe Sporozoasida, ordem Eucoccidiorida, família Sarcocystidae, gênero *Neospora* e espécie *Neospora caninum* (Dubey & Lindsay, 1996).

O *N. caninum* tem como hospedeiros definitivos o cão e o coioote (Gondim et al., 2004; Lindsay et al., 1999; Mcallister et al., 1998) que eliminam oocistos não-esporulados nas fezes, após a ingestão de tecidos ou órgãos dos hospedeiros intermediários como membranas placentárias de vacas contaminadas com cistos teciduais. Os oocistos podem esporular fora do hospedeiro em 24 h (Dijkstra et al., 2002a; Lindsay et al., 1999).

A forma esporulada, infectante, possui dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos. Os oocistos de *N. caninum* medem 10-11 µm de diâmetro e são morfológicamente semelhantes aos de *Hammondia heydorni* encontrados em fezes de cães e de *H. hammondi* em material fecal de gatos (Dubey, 1999).

O ciclo biológico apresenta três estádios infecciosos: bradizoítos, taquizoítos e esporozoítos. Os primeiros representam o estágio de proliferação lenta, no qual os parasitos formam cistos teciduais, principalmente no sistema nervoso central. Sob certas circunstâncias, como prenhez e imunodeficiência, os bradizoítos podem converter-se em taquizoítos, que proliferam assexuadamente, promovendo infecção fetal ou causando lesões nestes animais imunossuprimidos (Dubey & Lindsay, 1996).

Os taquizoítos e bradizoítos são os estádios intracelulares encontrados nos hospedeiros intermediários (Dubey, 2003). A ingestão oral de cisto que contém bradizoítos por hospedeiros definitivos promove a diferenciação sexual do parasito nos tecidos intestinais, com formação de oocistos imaturos que são excretados nas fezes. Após esporulação, os oocistos são oralmente infectantes para ambos, carnívoros e herbívoros, sendo de grande importância na epidemiologia da neosporose devido à contaminação ambiental (Dubey, 2003).

Os taquizoítos têm estrutura ovóide, em forma de lua crescente ou globular e medem entre 3  $\mu\text{m}$  a 7  $\mu\text{m}$  de comprimento por 1  $\mu\text{m}$  a 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, dependendo do estágio de divisão (Dubey et al., 2006; Dubey & Lindsay, 1996), podendo estar presente em várias células, dentre estas os macrófagos, células nervosas, fibroblastos, célula endotelial vascular, miócitos, células epiteliais tubulares renais e hepatócitos. Os taquizoítos penetram na célula hospedeira ativamente e podem se tornar intracelulares após cinco minutos de contato, localizando-se no interior de vacúolos parasitóforos no citoplasma celular (Dubey & Lindsay, 1996; Hemphill et al., 1996).

Os cistos teciduais têm em geral formato oval a arredondado, medem acima de 107  $\mu\text{m}$  de comprimento e são quase que exclusivamente observados em tecidos nervosos como cérebro, medula espinhal, nervos e retina (Dubey et al., 1990). A parede do cisto tecidual é lisa e mede de 1  $\mu\text{m}$  a 4  $\mu\text{m}$  de espessura. Os bradizoítos, presentes no interior dos cistos teciduais, medem de 6  $\mu\text{m}$  a 8

µm de comprimento por 1 µm a 1,8 µm de diâmetro e seu núcleo possui localização terminal a subterminal (Dubey et al., 2006; Dubey & Lindsay, 1996; Jardine, 1996).

*N. caninum* é transmitido verticalmente nos bovinos, durante algumas gerações, sendo esta a principal rota de infecção no rebanho (Moore, 2005; Moore et al., 2003). No entanto, a transmissão horizontal que ocorre por ingestão de oocistos eliminados nas fezes do cão, parece ser necessária para sustentar e introduzir novas infecções no rebanho (Schares et al., 1998). Além do mais, estudos epidemiológicos e observações a campo têm mostrado evidência cada vez maior da ocorrência de infecção horizontal nos bovinos (Dubey & Schares, 2006; Sager et al., 2005; Dijkstra et al., 2001a; Thurmond et al., 1997).

Segundo Gondim et al. (2005), cães podem eliminar oocistos de *N. caninum* mais de uma vez. Embora, até o momento, não se conheça a frequência de eliminação de oocistos pelos canídeos e a resistência no meio ambiente, é prudente proteger alimentos e água da contaminação por fezes caninas. Não se deve permitir que cães ingiram carcaça de fetos abortados, membranas fetais ou bezerros mortos (Dubey, 1999).

Recentemente, os termos transmissão transplacentária exógena e transmissão transplacentária endógena foram propostos para descrever mais precisamente a origem e rota da infecção dos fetos. Transmissão transplacentária exógena é definida como a infecção fetal que ocorre com o resultado da infecção primária, pela ingestão de oocistos, da vaca durante a gestação. Já a transmissão transplacentária endógena é definida como a infecção do feto de uma vaca persistentemente infectada (adquirida antes da prenhez e provavelmente congênita) depois de recrudescência ou reativação da infecção durante a gestação (Dubey et al., 2006; Trees & Williams, 2005).

A transmissão transplacentária endógena pode causar aborto, mas na maioria das vezes ocorre o nascimento de um bezerro saudável, congenitamente infectado. Transmissão vertical é considerada a via de infecção mais importante na neosporose bovina, contribuindo significativamente para a persistência do *N. caninum* em um rebanho pela propagação da infecção por sucessivas gerações e prenhez consecutivas (Dubey et al., 2006; Trees & Williams, 2005).

Em estudo realizado por Moskwa et al. (2006) foi detectado DNA de *N. caninum* no colostro de vacas soropositivas. Esse achado sugere a possibilidade de transmissão lactogênica (via colostro) de *N. caninum*, apesar de não ser considerada uma rota de infecção natural importante (Davison et al., 2001).

### **3.2 Neosporose bovina**

Neosporose bovina é atualmente a principal causa de falhas reprodutivas nos bovinos em vários países (Melo et al., 2004; Moore et al., 2002). Vacas infectadas com o parasito têm de três a sete vezes mais chances de abortar comparado com aquelas não infectadas, sendo que o maior risco de abortamento ocorre em novilhas de primeira cria (Innes et al., 2005; Garcia Vasquez et al., 2005).

Aborto devido ao *N. caninum* é o único sinal clínico observado em vacas adultas e pode ocorrer em qualquer estágio da gestação, mas frequentemente ocorre entre o 5<sup>o</sup> e 6<sup>o</sup> mês de prenhez. O feto pode morrer no útero, ser reabsorvido, mumificado, autolizado, morrer após o nascimento, desenvolver a doença após o nascimento ou então nascer clinicamente normal, porém cronicamente infectado (Collantes Fernandez et al., 2006; Hall et al., 2005; Dubey, 2003).

O estágio da gestação na qual ocorre a infecção pelo *N. caninum* é importante no resultado da doença. Infecções adquiridas no início da prenhez,

antes do feto bovino desenvolver o sistema imune, comumente causa morte fetal e reabsorção. Infecção no meio da gestação pode resultar em aborto ou no nascimento de um bezerro persistentemente infectado. Contudo, no período final da gestação, quando o feto é imunocompetente ocorre o parto normal, porém o bezerro pode ser congenitamente infectado (Collantes Fernandez et al., 2006).

Problemas de aborto associados à neosporose em rebanhos bovinos podem ser caracterizados como epidêmicos ou endêmicos. Geralmente abortos epidêmicos ocorrem pela infecção horizontal primária por meio da ingestão de oocistos presentes em alimentos ou água, enquanto abortos endêmicos ocorrem em animais persistentemente infectados (transmissão vertical) pela recrudescência da infecção durante a gestação (Dubey & Schares, 2006).

A partir do primeiro isolamento de *N. caninum*, testes sorológicos como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), teste de aglutinação de *Neospora* (TAN) e vários ELISAs, foram desenvolvidos para o diagnóstico em cães, bovinos e outros animais potencialmente hospedeiros (Atkinson et al., 2000). A RIFI foi o primeiro teste utilizado para demonstração de anticorpos anti-*N. caninum*, sendo considerado de referência (“gold standard”) quando outros ensaios são comparados (Dubey & Schares, 2006; Björkman & Uggla, 1999).

Na RIFI, como antígenos, são utilizados taquizoítos íntegros e o teste detecta anticorpos direcionados para antígenos presentes sobre a superfície do parasita. Nas espécies do filo Apicomplexa os antígenos de membrana são considerados mais específicos que os componentes intracelulares (Björkman et al., 1994). O valor do ponto de corte (“cut-off”) para RIFI, normalmente, difere de um laboratório para o outro, mas freqüentemente os títulos situam-se na faixa de 1:160-1:640, para ensaios com soros bovinos, e 1:50 em estudos com soros de cães (Björkman et al., 1994).

As técnicas histológicas são muito utilizadas no diagnóstico do aborto por *N. caninum* e devem ser realizadas no exame de fetos abortados. Este deve ser remetido ao laboratório, juntamente com a placenta e, se possível, com o soro sanguíneo da mãe. Os órgãos de eleição para o diagnóstico histopatológico são cérebro, coração e fígado (Silva, 2004; Peters et al., 2001).

A identificação do parasito utilizando técnicas de histopatologia é difícil, pois as lesões macroscópicas são pouco frequentes (Anderson et al., 2000; Dubey & Lindsay, 1996) e o número de protozoários também é escasso, tornando complicado a sua visualização em cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina. As lesões mais significativas são caracterizadas por encefalite não supurativa, miocardite e hepatite com necrose multifocal não supurativa (Dubey & Schares, 2006; Moore, 2005; Corbellini et al., 2002).

As técnicas de imunoistoquímica permitem localizar e identificar os parasitos nos cortes de tecido, utilizando soro policlonal ou anticorpo monoclonal anti-*Neospora* (Lindsay & Dubey, 1989). Atualmente, os tecidos fetais que apresentam lesões compatíveis com *Neospora* nos exames histopatológicos convencionais, são analisados por meio da imunoistoquímica, baseada no uso do complexo avidina-biotina-peroxidase, com a finalidade de confirmar a presença de restos de antígeno, taquizoítos ou cistos com bradizoítos (Dubey & Schares, 2006; Corbellini et al., 2002; Morales et al., 2001).

As técnicas de PCR (reação em cadeia da polimerase) também têm sido utilizadas para o diagnóstico da infecção por *N. caninum*, detectando DNA do parasito em tecidos corporais de fetos abortados (Dubey & Schares, 2006).

Em geral, fetos infectados no útero por *N. caninum* produzem anticorpos específicos contra o parasito. Sorologia pode ser usada para examinar um feto abortado, utilizando sangue fetal contendo anticorpos anti-*N. caninum*, constituindo um método de diagnóstico interessante, pois é a técnica mais rápida entre todas usadas para exame do feto bovino (Jenkins et al., 2002).

Contudo, há relatos indicando uma baixa sensibilidade quando a sorologia fetal é realizada utilizando RIFI ou ELISA (Sondgen et al., 2001; Barr et al., 1995). A baixa sensibilidade da sorologia fetal pode ser devida à falta de imunocompetência fetal, especialmente, em fetos bovinos menores de seis meses de idade, curto intervalo entre infecção e morte fetal; e também a autólise pode causar degradação de imunoglobulinas fetais, levando a baixos níveis de anticorpos específicos. Então a sorologia negativa não exclui a possibilidade de infecção por *N. caninum* em um feto bovino abortado (Dubey & Schares, 2006; Jenkins et al., 2002).

### **3.2.1 Epidemiologia**

#### **3.2.1.1 Soroprevalência**

Segundo Dubey & Schares (2006) a soroprevalência de *N. caninum* no gado leiteiro pode ser muito alta, chegando até a 100% em certos rebanhos.

Estudos sobre soroprevalência de anticorpos anti-*N. caninum* têm sido realizados em todos os continentes e em vários estados brasileiros; entretanto, é difícil a comparação dos resultados devido as diferentes técnicas de diagnóstico utilizadas e a falta de padronização do ponto de corte (*cut off*). Dessa forma, os resultados de prevalência/ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* no mundo e no Brasil têm apresentado valores bastante variados (Tabelas 1 e 2).

Em rebanhos com suspeita de infecção por *N. caninum*, ou seja, com histórico de abortos esporádicos, endêmicos ou epidêmicos, amostras de sangue de todos os animais devem ser coletadas para determinar o “status” de anticorpos (Dijkstra et al., 2003).

TABELA 1 - Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de diferentes países, detectados pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ELISA, e respectivos autores.

País	Amostras examinadas	Ocorrência (%)	Técnica	Autor(es)
Chile	371	22,4	RIFI	Patitucci et al. (1999)
Peru	29	62,1	RIFI	Rivera et al. (2000)
EUA	2585	23	ELISA	Sanderson et al. (2000)
Argentina	750	43,1	RIFI	Moore et al. (2002)
Paraguai	297	36	ELISA	Osawa et al. (2002)
Costa Rica	3002	39,7	ELISA	Romero et al. (2002)
Espanha	2773	15,1	ELISA	Lopez G. et al. (2004)
México	813	42	ELISA	Garcia V. et al. (2005)
Canadá	5080	12	ELISA	Hobson et al. (2005)
Itália	864	30,8	ELISA	Rinaldi et al. (2005)
Austrália	266	10,2	ELISA	Hall et al. (2005)
Uruguai	4444	13,9	ELISA	Bañales et al. (2006)
Venezuela	459	11,3	ELISA	Lista A. et al. (2006)
Alemanha	4261	3,1	ELISA	Bartels et al. (2006)
Holanda	6910	9,9	ELISA	Bartels et al. (2006)
Suécia	4252	1,3	ELISA	Bartels et al. (2006)
Japão	2420	5,7	RIFI	Koiwai et al. (2006)
Iran	337	46	ELISA	Razmi et al. (2006)

TABELA 2 - Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de diferentes estados brasileiros, detectados pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e respectivos autores.

Estado	Amostras examinadas	Ocorrência (%)	Autor(es)
Bahia	447	14	Gondim et al. (1999a)
São Paulo	28	67,8	Belo et al. (1999)
São Paulo	521	16,3	Sartor et al. (1999)
Paraná	385	11,7	Ogawa et al. (1999)
São Paulo	777	15,5	Hasegawa (2000)
Minas Gerais	88	6,8	Costa et al. (2001)
Rio Grande do Sul	223	11,2	Corbellini et al. (2002)
Pernambuco	469	34,7	Silva et al. (2002)
Bahia	391	10,3	Jesus et al. (2002)
Minas Gerais	162	29	Ragozo et al. (2003)
Mato Grosso do Sul	110	28,2	Ragozo et al. (2003)
Paraná	90	22,2	Ragozo et al. (2003)
Rio de Janeiro	150	14,7	Ragozo et al. (2003)
Rio Grande do Sul	140	20	Ragozo et al. (2003)
São Paulo	150	23,6	Ragozo et al. (2003)
Paraná	623	14,3	Guimarães Jr. et al. (2004)
Rio Grande do Sul	1549	17,8	Corbellini et al. (2006a)
Paraná	385	12	Ogawa et al. (2005)
São Paulo	913	26,9	Sartor et al. (2005)
Rondônia	2109	10,4	Aguiar et al. (2006)
Goiás	930	30,4	Mello et al. (2006)
Rio de Janeiro	563	23,2	Munhoz et al. (2006)

Estudo comparando um único teste do rebanho com três ensaios seqüenciais, utilizando ELISA, observou que um único exame de todo o rebanho como “screening” para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum*, associado com a análise de distribuição da idade e dados sobre o número de partos, constitui-se em um método rápido e válido para interpretar o “status” sorológico individual dos animais e para o estudo soropidemiológico do modo de transmissão de *N. caninum* (Dijkstra et al., 2003).

### **3.2.1.2 Fatores de risco**

Diversos fatores de risco para infecção de *N. caninum* em bovinos têm sido pesquisados. Diferentes estudos, com gado de corte ou leite, têm procurado identificar esses fatores de risco ou predisponentes envolvidos na maior ou menor prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* nos rebanhos. Dentre esses se destacam, principalmente, as variáveis relacionadas ao manejo, idade, presença de cães, entre outros.

O fator racial em bovinos não parece estar associado com abortos em rebanhos infectados com *N. caninum*, embora, na Espanha, a soroprevalência tenha sido alta em gado de leite se comparada ao de corte (Quintanilla-Gozalo et al., 1999). No Norte do Paraná, a soroprevalência em vacas holandesas (15,1% de 558) foi bem maior em relação a fêmeas mestiças (7,7% de 65), conforme relatado por Guimarães Jr. et al. (2004). Esse fato pode estar relacionado aos diferentes sistemas de produção para bovinos leiteiros e de corte, não mantendo relação com as diferenças raciais (Hemphill & Gottstein, 2000). Estudos realizados na Bahia e Minas Gerais constataram maior prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* nos bovinos leiteiros quando comparados aos de corte (Jesus et al., 2002; Ragozo et al., 2003).

Em rebanhos de corte (Waldner et al., 1998) e de leite (Paré et al., 1997), estudos indicam que a soropositividade durante o período de gestação constitui fator de risco para a ocorrência de abortos. Entretanto, a soroconversão durante a prenhez não foi associada com aborto e vacas soropositivas nem sempre abortam (Waldner et al., 1998).

É consenso entre os pesquisadores que as vacas mantêm a infecção por *N. caninum* durante toda a vida. No entanto, não se conhece ainda os fatores que determinam a transmissão congênita ou não para o feto em fêmeas soropositivas durante o período de gestação (Stahl et al., 2006; Hemphill & Gottstein, 2000). Estudos demonstraram que há uma associação entre abortos e animais fortemente soropositivos, evidenciando que títulos altos de anticorpos anti-*N. caninum* constituem um bom indicador de possíveis problemas clínicos (Osawa et al., 2002).

Pesquisas indicam que vacas soropositivas são mais propensas a abortar em relação à aquelas soronegativas. Há um aumento nos títulos de anticorpos quatro a cinco meses antes do parto, sugerindo que ocorre reativação de uma infecção latente. Pouco se conhece sobre esse mecanismo de reativação, embora, especula-se que ocorra uma parasitemia durante a gestação, levando a infecção fetal (Dubey, 2003).

Alta densidade animal tem sido associada com maior soropositividade para *N. caninum* (Aguiar et al., 2006; Otranto et al., 2003; Anderson et al., 2000; Sanderson et al., 2000). No Sul do Brasil, Guimarães Jr. et al (2004) observaram que a infecção por *N. caninum* no gado aumentou com a idade, isto também foi observado na Costa Rica (Romero et al., 2002) e na Itália (Rinaldi et al., 2005). A soroprevalência maior entre os animais acima de 24 meses pode ser devido ao incremento no risco da infecção pela transmissão horizontal. Este fato sugere a presença de oocistos esporulados de *N. caninum* no ambiente, o qual caracteriza transmissão horizontal, como observado por Dijkstra et al. (2002a).

Sanderson et al. (2000) observaram que a compra de animais foi associada com aumento da soroprevalência de *N. caninum* em rebanhos. A aquisição, principalmente de novilhas, para promover a melhoria genética dos animais tem sido relacionada à entrada de novos agentes infecciosos nos rebanhos (Paré et al., 1998).

A presença e o número de cães nas fazendas têm sido considerados como importante fator de risco para aborto e infecção por *N. caninum* em diferentes países (Corbellini et al., 2006a; Hobson et al., 2005; Rinaldi et al., 2005; Guimarães Jr. et al., 2004; Otranto et al., 2003; Wouda et al., 1999; Bartels et al., 1999; Mainar Jaime et al., 1999; Paré et al., 1998). Esta associação se deve ao fato que cães liberam oocistos nas áreas de pastagem, levando ao aumento de animais infectados no rebanho (Schaes et al., 2003).

Embora ainda não totalmente esclarecido sobre o exato papel do cão na epidemiologia da neosporose bovina, estudos soropidemiológicos têm reforçado a associação entre presença de cães soropositivos na fazenda com alta prevalência da infecção em bovinos, indicando existir uma relação entre as infecções por *N. caninum* para ambas espécies (Wouda et al., 1999). Assim, a associação de canídeos com bovinos, sob essa ótica, tem sido considerada como fator de risco para infecção e aborto por *N. caninum* (Guimarães Jr. et al., 2004; Mcallister et al., 2000; Mainar-Jaime et al., 1999; Paré et al., 1998).

Ainda que seja evidente que os bovinos possam se infectar por ingestão de oocistos, não é possível afirmar que todos os abortos causados por *N. caninum* seja resultado de uma exposição recente a oocistos eliminados por cães de fazendas (Hemphill & Gottstein, 2000). Pesquisas indicam que cães criados em propriedades rurais apresentam maior soroprevalência para *N. caninum*, se comparados com os mantidos em áreas urbanas (Wouda et al., 1999; Sawada et al., 1998).

A influência do tipo de manejo sobre a taxa de bovinos soropositivos foi identificada em um estudo realizado nos EUA, onde rebanhos de corte mantidos a campo no período de verão apresentaram uma baixa soroprevalência em relação àqueles que não eram manejados sob esta condição. Em bovinos criados confinados em alta densidade no inverno observou-se uma alta prevalência de bovinos soropositivos (Sanderson et al., 2000). Em rebanhos especializados para produção de leite, o estresse a que são submetidas as vacas em produção no sistema A/B parece ser maior que no sistema de leite tipo C, acarretando maiores chances de recrudescimento da infecção devido ao rompimento de cistos do parasito nos animais positivos.

Em estudo realizado no Norte do Paraná, também com rebanhos leiteiros, não se observou associação significativa entre a sorologia do *N. caninum* e os fatores de risco relacionados às variáveis de manejo, produção de leite, problemas reprodutivos, alimentação, presenças de cães, gatos e roedores (Ogawa et al., 2005).

### **3.2.1.3 Transmissão congênita**

A transmissão congênita é de extrema relevância na neosporose bovina, de tal forma que em rebanhos infectados, 81% a 95% de vacas soropositivas podem transmitir a infecção para suas crias (Wouda et al., 1999; Davison et al., 1999b). Fêmeas infectadas congenitamente podem transmitir verticalmente a infecção para suas crias (Innes et al., 2005; Hobson et al., 2005). Ocorre um decréscimo na proporção de bezeros infectados congenitamente, em vacas com maior número de partos, que pode ser explicado pelo aumento da imunidade protetora contra a transmissão transplacentária, ou seja, a transmissão vertical é mais eficiente em fêmeas mais jovens (Dijkstra et al., 2003). O desenvolvimento de imunidade protetora contra novos abortos em vacas após a primo-infecção

com *N. caninum* tem sido indicada por outros pesquisadores (McAllister et al., 2000).

Na literatura taxas de infecção congênita detectadas apresentam valores bem diversos como 41% (Pan et al., 2004), 44% (Bergeron et al., 2000), 64% (Romero & Frankena, 2003), 73% (Dijkstra et al., 2003), 81% (Paré et al., 1996), 85% (Bjorkman et al., 2003), 93% (Schaes et al., 1998), e 95% (Davison et al., 1999a).

Na Costa Rica, estudo realizado em 20 rebanhos leiteiros demonstrou que bezerras nascidas de vacas com seis ou mais gestações apresentaram uma significativa redução na probabilidade de nascerem soropositivas se comparadas com filhas nascidas de vacas com uma ou duas parições (Romero et al., 2002). Outro estudo na Alemanha analisando 500 filhas-mães em 21 rebanhos leiteiros com histórico de neosporose revelou uma taxa de infecção congênita de 80% em novilhas, e 71%, 67% e 66%, em vacas de segunda, terceira e quarta crias, respectivamente (Dijkstra et al., 2003). Segundo esses autores a imunidade adquirida atenua a possibilidade de recrudescência da infecção e consequentemente a transmissão ao feto.

No Brasil, a transmissão congênita de *N. caninum* foi identificada pela primeira vez em um feto abortado de um rebanho leiteiro do estado da Bahia. Nesse estudo o exame imunoistoquímico confirmou os resultados da histopatologia e da sorologia fetal (Gondim et al., 1999b).

Diversos estudos sobre transmissão congênita foram realizados em fetos bovinos ou bezerros (Moore, 2005; Kashiwazaki et al., 2004; Locatelli – Ditrichi et al., 2003; Corbellini et al., 2002; Gondim et al., 1999ab; Campero et al., 1998). Transmissão transplacentária de *N. caninum* foi demonstrada pela presença de anticorpos específicos no soro de fetos bovinos (Moore et al., 2002; Venturini et al., 1999). Na Argentina, usando a RIFI, Venturini et al (1999) encontraram 20,2% de 104 fetos bovinos coletados em frigoríficos soropositivos

para *N. caninum*. Anticorpos específicos foram também detectados pela RIFI em 24,6% de 122 espécimes de fetos bovinos abortados espontaneamente (Moore et al., 2002). Esses estudos sugerem que transmissão vertical é um fato comum na América do Sul (Moore, 2005).

Por meio de ELISA foi observada infecção congênita em 118 bezerros (95,2%) filhos de 124 vacas soropositivas onde foi utilizada sorologia pré-colostral (Davison et al., 1999b). Em estudo realizado por Schares et al. (1998), 14 (93%) dos 15 bezerros descendentes de 10 vacas soropositivas apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* na RIFI. Em contrapartida, de quatro vacas prenhas soropositivas, somente um bezerro nasceu congenitamente infectado, apresentando título de 1:100 na sorologia pré-colostral (RIFI) (Kyaw et al., 2005). Transmissão congênita foi observada em cinco (62,5%) bezerros de oito estudados, todos filhos de vacas soropositivas (RIFI) (Bastos et al., 2005).

De fato, só uma pequena porcentagem de bezerros infectados congenitamente desenvolve neosporose clínica (Scharés et al., 1998). Achados patológicos em fetos bovinos foram descritos por Campero et al. (1998) que observaram uma anormalidade ocular congênita em um feto com infecção por *Neospora*. Locatelli-Ditrichi et al. (2003) relataram uma quase total ausência de hemisférios cerebrais em um bezerro cego no qual *N. caninum* foi isolado. Desidratação asséptica foi observada em um feto bovino infectado com *N. caninum* e abortado naturalmente (Moore et al., 2002).

Corbellini et al. (2002) realizaram estudo histopatológico em material de 46 fetos bovinos do Rio Grande do Sul, e observaram uma inflamação não supurativa, principalmente no cérebro e coração de 22 fetos. Desses fetos com encefalite, 18 (81,8%) foram positivos para *N. caninum* pela imunistoquímica. No mesmo estudo, 223 amostras de sangue foram obtidas de vacas com e sem histórico de abortamento. Os autores observaram que as vacas com histórico de

abortamento apresentaram soroprevalência de 23,3%, valor três vezes maior ( $p < 0,05$ ) que o obtido para os animais sem histórico de aborto (8,3%).

Num estudo de 211 fetos bovinos abortados de rebanhos leiteiros no México, 73 mostraram lesões microscópicas consistentes com neosporose. Exame imunistoquímico do cérebro, miocárdio e fígado de 53 dos 73 fetos comentados, antígenos de *N. caninum* foram demonstrados em 41 (77%) (Morales et al., 2001).

Diagnóstico confirmatório do aborto por *N. caninum* depende de utilização da técnica de imunistoquímica em cortes histológicos de tecidos fetais corados, usando anticorpos específicos contra o parasito (Jenkins et al., 2002; Peters et al., 2001; Morales et al., 2001; Lindsay & Dubey, 1989). Em um estudo realizado em 240 fetos abortados pertencentes a 130 fazendas, *N. caninum* foi identificado por imunistoquímica em 67,4% dos 43 espécimes com lesões histopatológicas compatíveis com neosporose (Moore et al., 2002).

Dos 161 fetos bovinos abortados no Sul do Brasil, examinados pela técnica de imunistoquímica, 23% estavam infectados com *N. caninum* (Corbellini et al., 2006b). Em estudo realizado por Medina et al. (2006), em 44 fetos bovinos abortados no México utilizando nested-PCR, 35 (80%) foram positivos para *N. caninum*. Utilizando a mesma técnica, na Espanha, em 220 fetos bovinos abortados a presença do parasito foi detectada em 72 (32,7%) das amostras (Collantes Fernandez et al., 2006).

Problemas reprodutivos em bovinos têm causas multifatoriais infecciosas e não infecciosas, por isso, é grande a dificuldade de se concluir o diagnóstico do aborto. Na neosporose é importante o acompanhamento sorológico dos animais em reprodução, associado às ocorrências de falhas reprodutivas para se chegar ao possível diagnóstico (Dubey & Schares, 2006; Moen et al., 1998).

Ainda não existe um método efetivo de controle da neosporose bovina. Minimizar a contaminação de oocisto na água e alimentos, retirar fetos abortados, membranas fetais, placentas e bezerros mortos e impedir a entrada de animais positivos no rebanho são algumas práticas de manejo que visam reduzir a infecção de *N. caninum* no rebanho. A vacina comercial contra neosporose bovina tem sua eficácia questionada por pesquisadores (Innes et al., 2002).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Amostras de soros bovinos dos rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande

As amostras de soros deste estudo foram selecionadas de um banco de soro bovino do Setor de Medicina Veterinária Preventiva do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (DMV/UFLA).

Este banco continha amostras de soros coletadas em 18 propriedades produtoras de leite tipo B ou C, distribuídas por sete municípios situados na microrregião fisiográfica denominada Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais (Figura 1). Cada propriedade foi visitada uma única vez no período de janeiro a março de 2004.

No total foram coletadas 1.489 amostras de soros de bovinos leiteiros divididos em duas categorias: 1<sup>a</sup>) bezerros com dois meses de vida até novilhas com 23 meses de idade (n= 710) e 2<sup>a</sup>) novilhas e vacas com 24 ou mais meses de vida (n= 779).

Inicialmente, foi adotado como critério primário para seleção das propriedades que participariam deste estudo, aquelas com uma produção diária mínima de 250 litros de leite, além de observar a distribuição proporcional nos municípios envolvidos.

Posteriormente, as propriedades selecionadas foram divididas em dois grupos: A) oito (8) fazendas com uma produção de leite abaixo de 1000 litros/dia e B) dez (10) fazendas com uma produção de leite acima de 1000 litros/dia.

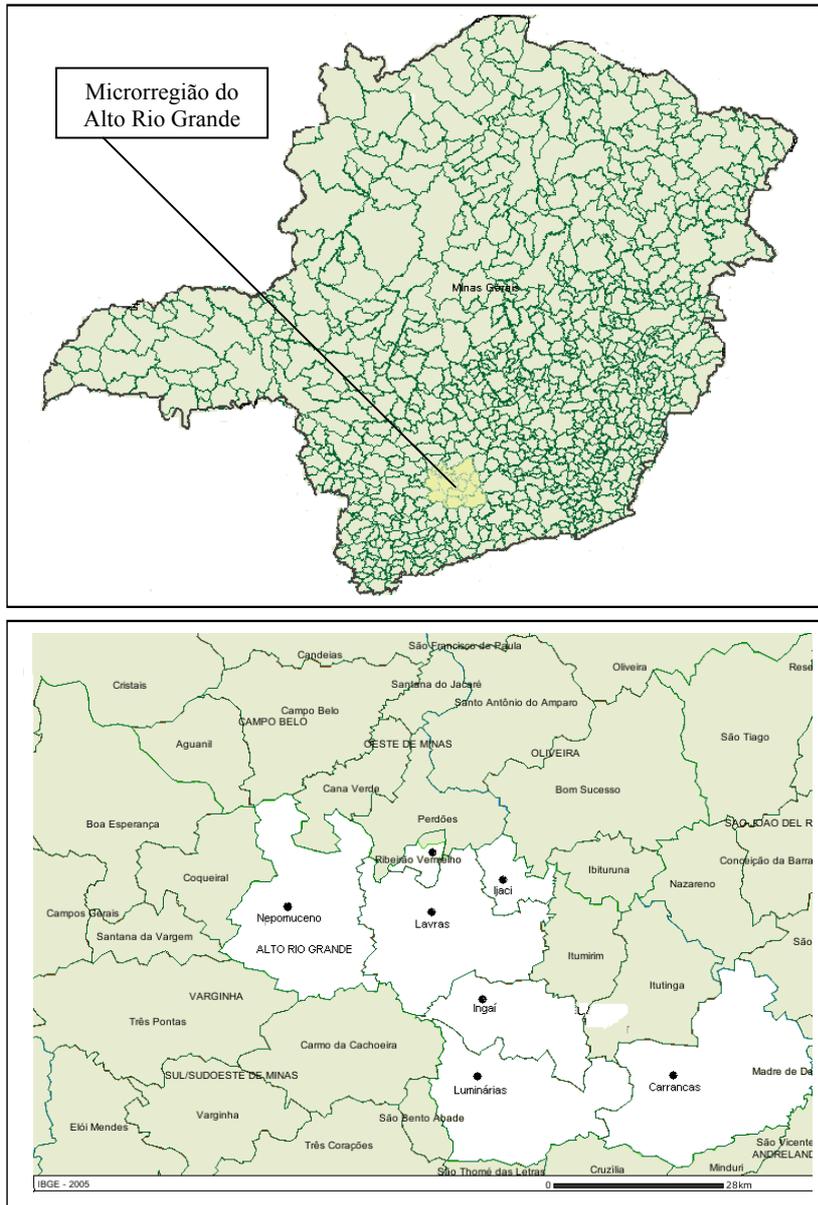


FIGURA 1 - Mapa com os sete municípios da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais.

Para calcular o número de amostras que representasse as populações de vacas da microrregião do Alto Rio Grande, fêmeas abatidas em frigorífico e fetos, a fim de se inferir sobre a soroprevalência nestas populações, utilizou-se a seguinte fórmula (Centro Panamericano de Zoonozes, 1973):

$$n = \frac{p(100 - p)z^2}{(d \cdot p / 100)^2}$$

onde,

n = número de indivíduos a estudar (nº de amostras)  
p = prevalência esperada  
d = erro esperado  
z = grau de confiança a 95%

Considerando uma soroprevalência esperada (p) de 50%, resultante de um teste piloto (RIFI) em 100 amostras de vacas e igual número de fetos, um erro esperado (d) de 10% e um grau de confiança a 95% (z) de 1,96; deveriam ser coletadas no mínimo 384 amostras de cada uma das três populações estudadas (vacas em propriedades, fêmeas de frigorífico e fetos).

Para este estudo foram selecionadas 559 amostras de soros de fêmeas bovinas com 24 ou mais meses de idade, perfazendo 1,1% do total de bovinos desta categoria existentes na região analisada, que foram submetidas à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), no Laboratório de Protozoologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (DMV/UFLA), conforme metodologia descrita adiante.

Municípios, propriedades envolvidas e número de amostras de soro coletadas constam na Tabela 3.

TABELA 3 - Municípios e número de amostras (absoluto e relativo) de soros coletadas em propriedades leiteiras da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Município	Nº de propriedades	Nº de amostras	Frequência (%)
Ingaí	6	191	34,2
Nepomuceno	3	98	17,5
Lavras	3	82	14,7
Luminárias	2	67	12,0
Carrancas	2	57	10,2
Ijaci	1	32	5,7
Ribeirão Vermelho	1	32	5,7
Total	18	559	100

#### **4.1.1 Coleta das amostras de soros bovinos na microrregião do Alto Rio Grande**

Por meio de punção da veia jugular de cada bovino foi coletado 10 ml de sangue, utilizando tubos a vácuo sem anticoagulante. As coletas foram realizadas uma única vez em cada animal. No laboratório, o material era centrifugado a 1400 g por 5 min. Os soros coletados, após serem transferidos para criotubos de 2 mL, foram identificados individualmente e armazenados sob refrigeração a -20°C, até o momento da realização da RIFI no Laboratório de Protozooses do DMV/UFLA.

#### **4.1.2 Características da área e animais da microrregião do Alto Rio Grande**

A microrregião do Alto Rio Grande possui clima do tipo Cwa, temperado de altitude, segundo a classificação de KOPPEN, com duas estações bem definidas durante o ano (Antunes, 1986).

A estação chuvosa, geralmente começa em outubro e se estende até março, com os meses de janeiro e julho apresentando as maiores e menores médias de precipitação pluvial (290,5mm e 16,1mm, respectivamente) em comparação com os demais, de acordo com a análise de dados no período de 1961 a 2003.

As temperaturas médias mínima e máxima nesse período variaram entre 16,5° C e 22,6° C, respectivamente (Medeiros et al., 2005a e 2005b).

Segundo informação disponibilizada pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (2006), nos sete municípios deste estudo existem um total de 50.471 fêmeas bovinas acima de 24 meses de idade, e o número de vacas esta distribuído da seguinte maneira: Lavras - 13.445, Nepomuceno - 10.335, Carrancas - 8.585, Luminárias - 6.719, Ingaí - 6.511, Ijaci - 3.390 e Ribeirão Vermelho - 1.486.

A microrregião do Alto Rio Grande se caracteriza como importante pólo de produção leiteira no Sul de Minas Gerais, com um total de 45.000 vacas ordenhadas e uma produção média de 112.366.000 litros de leite por ano (IBGE, 2004).

#### **4.1.3 Caracterização do sistema de produção das propriedades**

Foi feita entrevista com os produtores selecionados para fazer parte deste trabalho por meio de questionário contemplando os principais aspectos zootécnicos e sanitários das propriedades. De modo a caracterizar as propriedades foram levantadas as seguintes características, que serviram de variáveis independentes para este estudo: intervalo entre partos; frequência de abortos; tamanho do rebanho; tamanho da propriedade; total de vacas em lactação; produção leiteira média diária; padrão racial; presença de outros animais; tipo de leite (B ou C); sistema de criação (semi-intensivo ou intensivo);

tipo de nutrição; sistema de ordenha; forma de reposição de animais no rebanho; frequência de introdução de novos bovinos e ocorrência de abortos.

#### 4.2 Coleta das amostras de soros de vacas e fetos em frigorífico

Foram coletadas 575 amostras de soros de vacas oriundas de oito (8) municípios da região Sul de Minas Gerais, durante abates em um frigorífico com Serviço de Inspeção Federal, localizado no município de Campo Belo, MG, no período janeiro a maio de 2006 (Tabela 4). Nesse período foram abatidas 7.832 vacas, sendo amostradas 7,3% desse total.

As amostras de sangue (5 ml) foram obtidas na linha de abate, durante a sangria de vacas mestiças de holandês com zebu, provenientes de propriedades cujo manejo, em sua maioria, era de cria e recria para a produção de leite e, em menor proporção, de carne.

TABELA 4 - Municípios e número (absoluto e relativo) de amostras de soros coletadas de vacas abatidas em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006.

Município	Nº de amostras coletadas	Frequência (%)
Campo Belo	136	23,7
Três Corações	103	17,9
Carvalhos	100	17,4
Cordislândia	98	17,0
Nepomuceno	41	7,1
Boa Esperança	38	6,6
Ilicinia	30	5,2
Campos Gerais	29	5,0
Total	575	100,0

Foram coletadas 503 amostras de soros fetais de vacas prenhas abatidas no mesmo frigorífico, durante o período de janeiro a maio de 2006. As amostras

foram coletadas de forma aleatória na linha de abate, sem a preocupação de registrar a identificação e o município de origem das vacas prenhes.

Durante a evisceração e após a abertura da placenta era coletado o sangue do cordão umbilical e mensurado o comprimento da coluna vertebral desses fetos, a partir da articulação atlanto-occipital até o final do sacro, para determinação de suas idades, conforme recomendado por Roberts (1984).

Após centrifugação, conforme descrito anteriormente, as amostras de soros de vacas e de fetos foram acondicionadas em criotubos de 2 mL previamente identificados e mantidos a -20°C até serem submetidas a RIFI no Laboratório de Protozooses do DMV/UFLA.

### **4.3 Sorologia**

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi utilizada para pesquisa de anticorpos IgG circulantes, específicos para antígenos de *N. caninum*. Optou-se por esta técnica devido a sua alta sensibilidade e especificidade, além da facilidade de execução.

Como antígeno *N. caninum* foram utilizadas lâminas adquiridas do Laboratório Imunodot (Jaboticabal, SP).

#### **4.3.1 Descrição da reação de imunofluorescência indireta (RIFI)**

A prova sorológica foi realizada conforme técnica descrita por Madruga et al. (2001), utilizando lâminas apropriadas para RIFI, contendo taquizoítos de *N. caninum*.

Os soros foram descongelados em temperatura ambiente e, em seguida, diluídos 1:200 (vacas) e 1:25 (fetos) em PBS pH 7,2. Os soros diluídos eram incubados com antígeno a 37°C por 30 min. em câmara úmida. Após a

incubação, as lâminas foram lavadas em PBS por duas vezes e, mais duas vezes em água destilada, e secas à temperatura ambiente.

Após a secagem das lâminas, era aplicada uma imunoglobulina marcada, o conjugado fluoresceína-anti-IgG bovino (conjugado Sigma Chemical), diluído 1:300 em PBS-Tween 20. As lâminas foram incubadas a 37°C por 30 min.

Em seguida, as lâminas eram submetidas ao mesmo processo de lavagem, secas e cobertas com glicerina tamponada a 10% e examinadas por meio do microscópio de luz ultravioleta. Em cada lâmina foram colocados os soros controles positivo e negativo.

Foi considerado positivo o soro que apresentou título na diluição 1:200 para vacas e 1:25 para os fetos (*cut off*) e com completa fluorescência da superfície de taquizoítos de *N. caninum*. Utilizando fator dois de diluição, foi realizado titulação de anticorpos em todas as amostras de soros fetais positivas até 1:800 e em 100 amostras de vacas soropositivas abatidas em frigorífico de Campo Belo/MG até a diluição de 1:3200.

#### **4.4 Análise estatística**

Para a análise do questionário e resultados da sorologia foi feito um banco de dados no programa EPIDATA 3.1. As análises descritivas de todas as variáveis do estudo foi realizada no programa SPSS 12.0 for Windows.

Em seguida buscou-se a associação entre rebanhos com soroprevalência  $\leq 95\%$  e  $>95\%$  (devido à alta prevalência de animais infectados com *N. caninum* na região estudada) com as variáveis coletadas pelo questionário, por meio do Teste Exato de Fisher e cálculo da Odds Ratio (OR) e Risco relativo pelo programa EPIINFO 6.04.

Para testar a diferença de médias foi utilizado o Teste T Student inclusive com o teste de igualdade de variâncias.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Caracterização das fazendas da microrregião do Alto Rio Grande

As tabelas 5, 6 e 7 apresentam as características das fazendas dos grupos A (<1000 litros de leite/dia) e B (>1000 litros de leite/dia). Observa-se que os valores de intervalo médio entre partos foram muito próximos nas fazendas dos grupos A e B e não apresentaram diferença estatística significativa no Teste T ( $p>0,05$ ).

As características como área da fazenda, número médio de vacas em lactação e produção total média de leite por fazenda por dia, apresentaram diferença estatística significativa ( $p<0,05$ ), mostrando valores quatro vezes maiores nas fazendas do grupo B em comparação com as propriedades do grupo A.

A característica “introdução de novos animais no rebanho” também apresenta valores semelhantes nos dois grupos.

Embora as propriedades do grupo B apresentem uma área (ha) maior que a do grupo A, em relação à média de produção de litros de leite por vaca/dia, não foi observado diferença estatística significativa no Teste T ( $p>0,05$ ) entre os dois grupos.

Na Tabela 7 observa-se que, independente de pertencer ao grupo A ou B, as características zootécnicas e de manejo das propriedades apresentam uma pequena variação. Merece destacar que as propriedades do grupo A (<1000 l leite/dia), pelo fato de possuírem uma menor área, otimizam o uso da terra criando bovinos com maior aptidão leiteira, retratada aqui pela presença de uma maior proporção de animais puros se comparada com as fazendas do grupo B (>1000 l leite/dia).

Nas propriedades do grupo B, predomina a produção de leite tipo B com 100% dos animais sendo ordenhados mecanicamente. A maior frequência de histórico de aborto nos rebanhos do grupo B (90%), deve-se, provavelmente, a um maior controle zootécnico e/ou sanitário dos animais destas propriedades, bem como, ao maior acesso aos métodos de diagnóstico se comparado às pequenas fazendas do grupo A.

TABELA 5 - Parâmetros descritivos das fazendas do grupo A (<1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Característica	Média±dp	Min-Máx
Área da fazenda (ha)	108,8±85,5	21-300
Número médio de vacas em lactação	32,8±12,3	20-62
Produção total média leite fazenda/dia	557,8±212,8	250-850
Produção média por vaca/dia	16,7±4,8	8-23
Intervalo médio entre partos (meses)	13,2±1,5	12-16

TABELA 6 - Parâmetros descritivos das fazendas do grupo B (>1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Característica	Média±dp	Min-Máx
Área da fazenda (ha)	490,4±530,1	110-1500
Número médio de vacas em lactação	128,5±45,1	50-205
Produção total média de leite fazenda/dia	1988,2±721,0	1250-3800
Produção média de leite por vaca/dia	17,6±4,9	9-26
Intervalo médio entre partos (meses)	14,0±1,4	12-17

TABELA 7 - Caracterização das propriedades leiteiras dos grupos A (<1000 litros de leite/dia) e B (>1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Característica	Frequência (%)	
	Grupo A	Grupo B
<b>Tipo de leite produzido</b>		
Tipo B	62,5	90,0
Tipo C	37,5	10,0
<b>Tipo de ordenha</b>		
Manual	12,5	0,0
Mecânica	87,5	100,0
<b>Composição racial do rebanho</b>		
Puro	77,8	54,5
Mestiço	22,2	18,2
Ambos	0,0	27,3
<b>Tipo de criação</b>		
Semi-intensivo	75,0	70,0
Intensivo	25,0	30,0
<b>Tipo de alimentação dos animais</b>		
...Pasto + concentrado	77,8	54,5
...Conf. (conc. + volumoso no cocho)	22,2	45,5
<b>Introdução de novos animais no rebanho</b>		
Nunca	33,3	45,5
Raramente	55,6	54,5
Com frequência	11,1	0,0
<b>Modo de reposição dos animais de descarte</b>		
Com animais da própria propriedade	88,9	90,9
Compra de novos animais	11,1	9,1
<b>Histórico de aborto no rebanho</b>		
sim	75,0	90,0
não	25,0	10,0
<b>Intervalo entre partos</b>		
Até 14 meses	75,0	80,0
Acima de 14 meses	25,0	20,0

## 5.2 Soroprevalência e fatores de risco para *Neospora caninum* em propriedades leiteiras da microrregião do Alto Rio Grande

### 5.2.1 Soroprevalência

A soroprevalência nas propriedades dos grupos A e B consta nas Tabelas 8 e 9 respectivamente, e não apresentaram diferença significativa ( $p>0,05$ ). A soroprevalência média global determinada em bovinos da microrregião do Alto Rio Grande foi de 91,2% (510/559), sendo que 100% (18) das propriedades leiteiras que participaram deste estudo apresentaram animais soropositivos. Esses resultados indicam que os animais em algum período de suas vidas, infectaram-se pelo *N. caninum* e produziram anticorpos específicos.

TABELA 8 - Soroprevalência para *Neospora caninum* em propriedades leiteiras do grupo A (<1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Propriedades	Nº de animais testados	Nº de positivos	Frequência (%)
1	32	32	100,0
2	34	33	97,0
3	32	31	96,9
4	32	31	96,9
5	31	30	96,8
6	32	30	93,7
7	35	31	88,6
8	34	30	88,2
Total	262	248	94,6

O Quadro 1 apresenta um sumário dos resultados de prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em animais dos grupos A e B.

Na Tabela 10 se observa a relação dos municípios que participaram deste estudo com os respectivos valores de soroprevalência para *N. caninum*. Dentre os municípios, Lavras apresentou a maior (98,8%) e Nepomuceno a menor (73,5%) porcentagem de bovinos soropositivos. Com exceção de Nepomuceno, todos os municípios apresentaram valores de soroprevalência acima de 90%, com pouca variação entre os resultados e uma alta taxa de animais infectados. Deve-se ressaltar a dificuldade de se comparar às taxas de frequência de animais soropositivos para *N. caninum*, entre os municípios, em função do pequeno número de amostras de soros (máx.= 191; mín.= 32 e média= 80), além das características peculiares inerentes a cada cidade.

TABELA 9 - Soroprevalência para *Neospora caninum* em propriedades leiteiras do grupo B (>1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Propriedades	Nº de animais testados	Nº de positivos	Frequência (%)
9	32	32	100,0
10	32	32	100,0
11	29	29	100,0
12	33	32	97,0
13	32	30	93,7
14	18	17	94,4
15	31	29	93,5
16	25	22	88,0
17	34	27	79,4
18	31	12	38,7
Total	297	262	88,2

QUADRO 1 - Sumário da soroprevalência de *Neospora caninum* em propriedades leiteiras dos grupos A (<1000 litros de leite/dia) e B (>1000 litros de leite/dia) da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Grupo	Animais		Prevalência nos animais (%)	Propriedades		Prevalência nas propriedades (%)	
	Nº	Positivos		Nº	Positivas	Máxima	Mínima
A	262	248	94,6	8	8	100	88,2
B	297	262	88,2	10	10	100	38,7

TABELA 10 - Município e freqüência de vacas soropositivas para *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Municípios	Nº de animais testados	Nº de positivos	Freqüência (%)
Lavras	82	81	98,8
Ribeirão Vermelho	32	31	96,9
Carrancas	57	54	94,7
Ingaí	191	180	94,2
Ijaci	32	30	93,7
Luminárias	67	62	92,5
Nepomuceno	98	72	73,5
Total	559	510	91,2

### 5.2.2 Fatores de risco

Os resultados dos testes de associação dos fatores levantados com a soroprevalência de *N. caninum* nos rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande constam na Tabela 11. Somente o fator de risco “tamanho da propriedade (ha)” apresentou associação significativa ( $p < 0,05$ ) com a soroprevalência de *N. caninum*. De tal forma que os animais das propriedades com menos de 100 ha tiveram um risco relativo (RR) de 3,25 vezes a chance de apresentar uma freqüência maior que 95% de soropositividade quando comparados com os animais das propriedades com mais de 100 ha.

TABELA 11 – Fatores associados à soroprevalência de *Neospora caninum* em 18 rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, 2004.

Fatores	Categorias	Nº de rebanhos com soroprevalência		OR	IC (95%)	Valor P <sup>1</sup>
		≤95%	>95%			
Intervalo entre partos (dias)	≤410 <sup>2</sup>	2	7	12,25	0,95-191,11	<b>0,057</b>
	≥411	7	2			
Frequência de aborto (%)	≤2 <sup>2</sup>	2	5	4,38	0,41-61,7	0,335
	>2	7	4			
Total de animais	≤150 <sup>2</sup>	4	6	2,50	0,27-25,5	0,637
	>150	5	3			
Tamanho da propriedade (ha)	≤100	0	5	3,25**	1,4-7,3**	<b>0,029*</b>
	>100 <sup>2</sup>	9	4			
Número de vacas em lactação	≤50 <sup>2</sup>	3	5	2,50	0,27-25,5	0,637
	>50	6	4			
Produção de leite (l)	≤1000	3	5	2,50	0,27-25,5	0,637
	>1000 <sup>2</sup>	6	4			
Padrão racial	Mestiço <sup>2</sup>	2	2	0,83	0,05-15,7	1,000
	Puro	5	6			
Outros animais na propriedade	Não <sup>2</sup>	6	4	0,40	0,04-3,77	0,637
	Sim	3	5			
Tipo de leite produzido	Leite B <sup>2</sup>	7	7	1,00	0,06-17,5	1,000
	Leite C	2	2			
Tipo de criação	Semintensiva <sup>2</sup>	7	6	0,86	0,05-15,4	1,000
	Intensiva	2	2			
Frequência de aquisição de novos animais	Nunca	4	3	0,75	0,07-7,55	1,000
	Raramente <sup>2</sup>	5	5			
Ocorrência de aborto	Não <sup>2</sup>	1	2	2,29	0,09-151	1,000
	Sim	8	7			

<sup>1</sup>Teste Exato de Fisher; <sup>2</sup>categoria de referência; \*diferença significativa; \*\*Valor do Risco relativo - OR indefinida

### 5.3 Soroprevalência para *Neospora caninum* em vacas e fetos em frigorífico

A frequência média global de vacas soropositivas para *N. caninum* abatidas em frigorífico foi de 97,2% (559/575). O município de Boa Esperança apresentou a menor frequência de vacas soropositivas abatidas em frigorífico, sendo de 76,3% (29/38); os demais apresentaram porcentagens de animais positivos acima de 90% (Tabela 12). Deve-se ressaltar a dificuldade de se comparar às taxas de frequência de animais soropositivos para *N. caninum*, entre os municípios, visto o pequeno número de amostras de soros coletas em vacas abatidas em frigorífico (máx.= 136; mín.= 29 e média= 72), além das características peculiares inerentes a cada cidade.

Com o intuito de verificar qual a frequência de títulos de anticorpos anti-*N. caninum* em vacas soropositivas abatidas em frigorífico, 18% das amostras (100/559) foram tituladas a partir de 1:200 (em base dois) em diluições sequenciais até 1:3200. Observou-se que a maioria (66%) apresentou títulos  $\leq$ 1:400 e só 4% com título 1:3200 (Figura 2).

TABELA 12 – Municípios e frequência de vacas soropositivas para *Neospora caninum* abatidas em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006.

Municípios	Nº de animais testados	Nº de positivos	Frequência (%)
Carvalhos	100	100	100,0
Campo Belo	136	136	100,0
Campos Gerais	29	29	100,0
Ilicínia	30	30	100,0
Três Corações	103	103	100,0
Cordislândia	98	96	97,9
Nepomuceno	41	40	97,6
Boa Esperança	38	29	76,3
Total	575	559	97,2

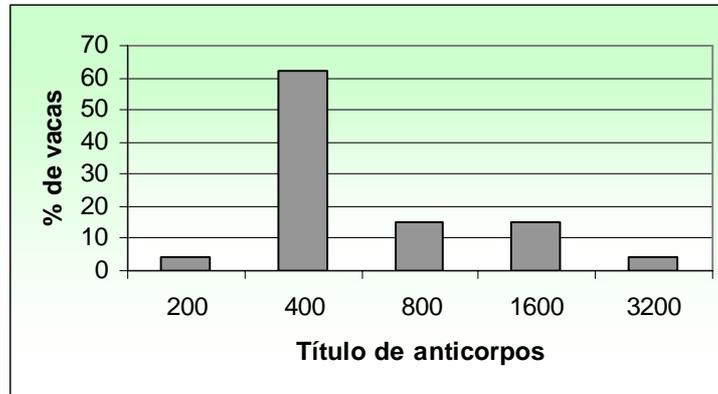


FIGURA 2 – Frequência de títulos de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 100 vacas soropositivas abatidas em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006.

A frequência de transmissão congênita foi de 12,7%, ou seja, 64 dos 503 fetos testados apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* na RIFI.

Os resultados demonstraram que 90,6% dos fetos positivos (58/64) possuíam entre cinco a sete meses de idade (Tabela 13).

TABELA 13 - Idade e frequência de fetos soropositivos para *Neospora caninum* coletados em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006.

Idade (meses)	Nº de fetos testados	Nº de positivos	Frequência (%)
2	2	0	0
3	9	2	22,2
4	28	4	14,3
5	152	14	9,2
6	172	29	16,9
7	136	15	11,0
8	4	0	0
Total	503	64	12,7

A idade média de todos os fetos foi de seis meses (188 dias) e não houve diferença significativa ( $p>0,05$ ) entre a média de idade dos fetos soropositivos e dos soronegativos no Teste T. E no Teste de Qui-quadrado não houve associação significativa ( $p>0,05$ ) entre idade fetal e soropositividade para *N. caninum*.

Objetivando verificar qual a frequência de títulos de anticorpos anti-*N. caninum*, as 64 amostras de soros fetais positivas foram tituladas a partir de 1:25 (em base dois) em diluições seqüenciais até 1:800. Observa-se que a maioria (55%) dos fetos apresentou título alto (1:800) e só 20% com título 1:25 (Figura 3).

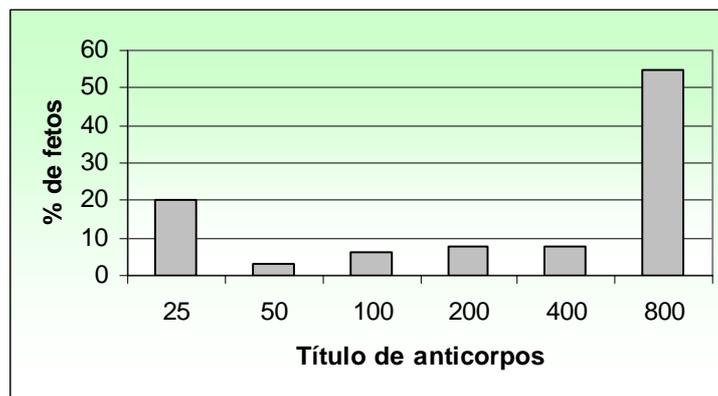


FIGURA 3 - Frequência de títulos de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 64 fetos soropositivos coletados em frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais, 2006.

## 6 DISCUSSÃO

### 6.1 Soroprevalência para *Neospora caninum* em propriedades leiteiras da microrregião do Alto Rio Grande

Nas propriedades estudadas na microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais, não houve diferença estatística significativa entre a soroprevalência para *N. caninum* em fêmeas bovinas do grupo B (>1.000 litros de leite/dia) e do grupo A (<1.000 litros de leite/dia). Ogawa et al. (2005) e Pará et al. (1998) também não observaram diferença significativa entre a sorologia do *N. caninum* e produção de leite. Isso sugere que o protozoário *N. caninum* encontra condições favoráveis para sua disseminação tanto em pequenas quanto em grandes propriedades produtoras de leite.

A soroprevalência média global de 91,2% nos bovinos e de 100% nas propriedades indica que a infecção por *N. caninum* ocorre de forma endêmica em rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais. Este resultado está bem acima dos valores observados em outras regiões do estado de Minas Gerais e do Brasil, conforme se observa na Tabela 2.

Especificamente, em relação a dois estudos realizados em rebanhos bovinos do estado de Minas Gerais, os autores observaram ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* variando de 6,8% (Costa et al., 2001) a 29,0% (Ragozo et al., 2003), valores estes bem abaixo do observado na microrregião do Alto Rio Grande, cujas soroprevalências foram de 94,6% e 88,2%, respectivamente, para propriedades dos grupos A (<1000 l de leite/dia) e B (>1000 l leite/dia).

Entretanto, a comparação de dados de prevalência para *N. caninum* entre diversos estudos deve ser realizada com uma certa cautela, visto que a ampla variação nos resultados pode ser explicada, em parte, devido as diferentes

técnica sorológicas adotadas, falta de padronização nos valores de ponto de corte (*cut off*), variação no número de amostras analisadas, forma de escolha dos animais e do rebanho, tipo de aptidão (corte, leite ou misto), além das características próprias de manejo, específicas de cada região.

Na literatura se observa que a soroprevalência para *N. caninum* pode variar amplamente dependendo da localização e da região geográfica. Dubey & Schares (2006) comentam em sua revisão que a soroprevalência para *N. caninum* no gado leiteiro pode ser muito alta, chegando até a 100% em certos rebanhos.

Amostras de soros provenientes de animais que sofreram abortamento ou de rebanhos onde este distúrbio é marcante, certamente podem superestimar a taxa de anticorpos, se comparada à amostragem oriunda de levantamentos epidemiológicos cujos animais ou propriedades são selecionadas de forma aleatória (Sartor et al., 2005; Munhoz et al., 2006).

Não houve diferença significativa na prevalência para *N. caninum* entre os rebanhos leiteiros dos grupos A ou B da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais. Esse resultado pode ser explicado, em parte, pelas condições similares de ambiente e de práticas de manejo comuns aos rebanhos leiteiros dessa microrregião. Em ambos os grupos A e B observa-se que a frequência de reposição de animais de descarte com bovinos da própria propriedade foram praticamente iguais, com valores de 89,0% e 91,0%, respectivamente.

A reposição de animais de descarte com bovinos da própria fazenda é uma prática relativamente comum em rebanhos especializados para produção de leite e fator facilitador para transmissão do *N. caninum*, uma vez que a infecção se transmite, principalmente, por via transplacentária (McAllister et al., 1998; Kyaw et al., 2005). A eficiência da transmissão vertical em vacas infectadas pode chegar a 95,2% (Davison et al., 1999b), indicando que a infecção congênita constitui a principal rota de manutenção do *N. caninum* dentro do rebanho, pela

sua propagação para sucessivas gerações (Schaes et al., 1998; Wouda et al., 2000).

As elevadas taxas de soroprevalências em animais e rebanhos leiteiros deste estudo, sugerem que a infecção por *N. caninum* está amplamente disseminada na microrregião do Alto Rio Grande. O risco de aborto é duas a três vezes maior em vacas leiteiras soropositivas e com histórico de aborto, se comparado com animais soronegativos (Paré et al., 1997; Thurmond & Hietala, 1997; Moen et al., 1998; Davison et al., 1999a).

Embora sem condições de definir quais são os fatores responsáveis por essas taxas tão elevadas determinadas no presente estudo, provavelmente, envolve uma série de variáveis como manejo de bovinos leiteiros, resposta imunológica, patogenia do *N. caninum*, peculiaridades da microrregião do Alto Rio Grande, entre outras. Todos esses dados reforçam ainda mais a complexidade que envolve a epidemiologia da neosporose bovina, com vários pontos ainda desconhecidos ou compreendidos parcialmente (Haddad et al., 2005; Gay, 2006). Sendo assim, são necessários novos estudos para determinar qual o papel da infecção por *N. caninum* em casos de infertilidade e abortamentos em bovinos, e o impacto econômico da neosporose em rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande. Esse conhecimento é fundamental para desenvolvimento de programas de controle do *N. caninum* em rebanhos leiteiros do Sul de Minas Gerais.

## **6.2 Fatores de risco**

Na análise dos fatores de risco associados com soroprevalência para *N. caninum* observou-se que o “tamanho da propriedade (ha)” apresentou associação significativa ( $p < 0,05$ ) com soropositividade para *N. caninum*, onde as propriedades com menos de 100 ha possuem risco maior de apresentar animais

soropositivos para *N. caninum* se comparadas com aquelas com mais de 100 ha. Este fato pode ser explicado, em parte, pela maior densidade de animais em fazendas menores que 100 ha, contribuindo para transmissão horizontal dentro do rebanho; embora seja reconhecida como uma rota secundária de infecção (Davison et al., 1999b). No entanto, não foi observada associação significativa ( $p>0,05$ ) para variáveis como “total de animais” e “número de vacas em lactação”.

Resultado semelhante ao do presente estudo foi verificado por Corbellini et al. (2006a), que em estudo com 1549 animais de 60 fazendas leiteiras do Rio Grande do Sul, observaram que os bovinos de fazendas pequenas (menor área) apresentaram maior probabilidade de serem soropositivos se comparados com animais de propriedades maiores ( $p<0,05$ ). Provavelmente, isso se deve ao fato que em propriedades menores é maior a chance dos bovinos se infectarem com a ingestão de oocistos eliminados quando cães defecam nas pastagens. Também porque canídeos podem ter maior contato com o gado ou percorrer toda a área da fazenda em propriedades menores, tendo maior acesso a carcaças de bovinos, fetos abortados, placentas e descargas uterinas (Corbellini et al., 2006a).

Cães que se alimentam com placenta naturalmente infectada podem eliminar oocistos de *N. caninum* (Dijkstra et al., 2001b), e a hipótese que cães criados em fazenda podem tornar-se infectados pela ingestão de fluidos fetais ou placenta de gado infectado tem sido sustentada por Dijkstra et al. (2002b).

Otranto et al. (2003) e Aguiar et al. (2006) também encontraram associação significativa ( $p<0,05$ ) entre tamanho da propriedade e soroprevalência para *N. caninum*, no entanto, nestes dois estudos foi considerado como fator de risco as fazendas com maiores extensões de terra. Ao contrário, trabalho realizado no Paraná não observou associação significativa ( $p>0,05$ ) entre tamanho da propriedade e soroprevalência para *N. caninum* em bovinos leiteiros (Guimarães Jr. et al., 2004).

As altas taxas de prevalência para anticorpos anti-*N. caninum* observadas nos rebanhos leiteiros dos grupos A e B da microrregião do Alto Rio Grande, não permitiram identificar associação estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) para as demais variáveis analisadas (intervalo entre partos, frequência de abortos, número de vacas em lactação, produção de leite, padrão racial, entre outros), com a soropositividade para *N. caninum*. Esses achados concordam com Chi et al. (2002), Ogawa et al. (2005) e Bañales et al. (2006), que analisando os fatores de risco para *N. caninum* no Canadá, Paraná e Uruguai, respectivamente, não encontraram nenhuma associação significativa entre a soropositividade para *N. caninum* e as variáveis relacionadas ao manejo, tamanho do rebanho, produção de leite, problemas reprodutivos, alimentação, presença de cães e outros animais.

Entretanto, vários trabalhos relataram que a presença e o número de cães nas fazendas foram considerados como fatores de risco, apresentando associação significativa com soropositividade para *N. caninum* (Corbellini et al., 2006a; Guimarães Jr. et al., 2004; Otranto et al., 2003 e Bartels et al., 1999).

Variáveis como tamanho do rebanho (>25 vacas/propriedade) e padrão racial (gado holandês x mestiço) foram consideradas como fatores de risco, demonstrando associação significativa com a soroprevalência para *N. caninum*, em estudos realizados nos estados do Paraná (Guimarães Jr. et al., 2004) e Roraima (Aguiar et al., 2006), respectivamente.

Associação significativa entre soropositividade para *N. caninum* e ocorrência de abortos foi relatada por diversos autores (Corbellini et al., 2006b; Garcia-Vasquez et al., 2005; Hobson et al., 2005; Kashiwazaki et al., 2004 e Corbellini et al., 2002). Estudos têm demonstrado a associação significativa entre a prevalência de rebanhos soropositivos para *N. caninum* e a ocorrência de abortos epidêmicos ou endêmicos (Dubey, 2003). Abortos endêmicos podem ocorrer em bovinos com infecção persistente por *N. caninum* (rebanho com

alguma imunidade), devido à ação de parasitos encistados (bradizoítos) que estavam em latência e foram reativados durante a gestação (Mcallister et al., 2000).

Rebanhos imunes (infecção crônica) podem reduzir a invasão do parasito e o número de taquizoítos capazes de infectar o feto. Provavelmente, essa é a situação que predomina na microrregião do Alto Rio Grande, com a ocorrência de abortos endêmicos ou esporádicos, visto que a ampla maioria dos rebanhos leiteiros desta região apresenta uma elevada prevalência de bovinos infectados por *N. caninum*.

### **6.3 Soroprevalência e transmissão congênita em vacas e fetos de frigorífico**

A prevalência média global de vacas soropositivas para *N. caninum* abatidas no frigorífico de Campo Belo, sugere que este protozoário está amplamente distribuído na região Sul de Minas Gerais, tendo em vista que estes animais são oriundos de oito municípios desta região do Estado.

Na literatura, não foram localizados estudos sobre soroprevalência de *N. caninum* em vacas abatidas em frigorífico, utilizando população amostral similar ao do presente estudo. No entanto, o alto número de animais soropositivos neste estudo já era esperado, pois a maioria das vacas abatidas era composta de animais com idade avançada, sendo portanto, o grupo dentro do rebanho com maiores riscos de apresentar anticorpos anti- *N. caninum*, em função da maior oportunidade de transmissão horizontal, pela ingestão de oocistos liberados pelo hospedeiro definitivo (Dubey, 2003).

Nos EUA, foi relatado aumento de bovinos soropositivos com o aumento da idade (Dyer et al., 2000; Sanderson et al., 2000). Resultado semelhante foi verificado em estudo realizado no Brasil em fêmeas bovinas acima de 24 meses de idade, que apresentaram maior prevalência para *N. caninum*, assinalando a

idade como um importante fator de risco para a infecção (Guimarães Jr. et al., 2004). No entanto, estudos na Inglaterra e França não observaram nenhuma evidência no aumento da soroprevalência de acordo com a idade dos bovinos analisados (Hemphill & Gottstein, 2000; Pitel et al., 2001).

Outro fator a ser levado em consideração se refere às vacas com diferentes problemas reprodutivos, como a ocorrência ou histórico de abortos e infertilidade, que normalmente são descartadas e enviadas para abate, podendo superestimar a taxa de animais infectados por *N. caninum* abatidos no frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais.

Neste ensaio, a taxa média global de anticorpos anti-*N. caninum* em vacas abatidas no frigorífico de Campo Belo (97,2%), ficou próxima do valor médio global observado em rebanhos leiteiros do Alto Rio Grande (91,2%). Esse resultado demonstra uma consistência entre os dois estudos, pois parte das vacas leiteiras abatidas no frigorífico de Campo Belo (considerado “fim de linha”) são oriundas de municípios que integram a microrregião do Alto Rio Grande.

Títulos de anticorpos em 100 amostras de soros de vacas positivas para *N. caninum* abatidas no frigorífico de Campo Belo variaram entre 200 a 3200, sugerindo o abate de animais com variados estágios de infecção, fato anteriormente observado por Gondim et al. (1999a), analisando 319 amostras de soros de vacas em 12 fazendas do estado da Bahia.

A maioria (66%) das vacas abatidas que foram tituladas apresentou títulos  $\leq 400$ , indicando que como a região é endêmica ocorre uma infecção crônica no rebanho, levando a títulos baixos e, provavelmente, a ocorrência de abortos esporádicos. Este resultado é semelhante ao obtido por Ogawa et al. (2005), que na titulação de anticorpos anti- *N. caninum* em 45 vacas positivas no Paraná, encontraram 64% com títulos  $\leq 400$ . No entanto, Ragozo et al. (2003) relataram que das 189 amostras de soros de bovinos positivos para *N. caninum* coletadas em seis estados brasileiros, 84% apresentaram título  $\leq 1:400$ .

Observou-se que 34% das vacas abatidas em frigorífico apresentaram títulos  $\geq 800$ , sugestivo de infecção patente; embora o título da RIFI que deve ser considerado no diagnóstico para infecção ativa em bovinos seja desconhecido (Dubey & Lindsay, 1996; Dubey, 1999). Estudos preliminares sugerem que títulos  $\geq 640$  em vacas que abortaram seja indicativo de infecção por *N. caninum* (Dubey & Lindsay, 1996; Dubey, 1999). Entretanto, observou-se que vacas que nunca abortaram apresentaram títulos altos para *N. caninum* e que fêmeas bovinas no final do período de gestação podem apresentar elevados níveis de anticorpos para este protozoário (Stenlund et al., 1999).

Vacas com diferentes problemas reprodutivos e que abortaram uma vez ou mais, normalmente são enviadas para abate, fato que, explicaria, em parte, a frequência de títulos  $\geq 800$ , sugestivos de infecção ativa por *N. caninum* observada em fêmeas abatidas no frigorífico de Campo Belo, Sul de Minas Gerais. No Norte do Paraná, em 12% (45/385) das vacas soropositivas a frequência de anticorpos anti-*N. caninum* foi de 42,2% , 22,2%, 15,5% e 20,0%, respectivamente, para títulos de 200, 400, 800 e 1600 (Ogawa et al., 2005). No entanto, de acordo com Jenkins et al. (2002), vacas velhas (infecção crônica) tendem a obter níveis de anticorpos mais estáveis devido à prolongada estimulação antigênica depois de repetidas recrudescências da infecção. Títulos altos de anticorpos para *N. caninum* persistiram por dois anos em um grupo de vacas infectadas naturalmente (Stenlund et al., 1999).

A taxa de transmissão congênita de *N. caninum* nos fetos coletados no frigorífico de Campo Belo foi de 12,7%, estando bem abaixo dos valores de transmissão vertical observado em condições naturais em alguns rebanhos endemicamente infectados. Na literatura taxas de infecção congênita detectadas apresentam valores bem diversos como 41% (Pan et al., 2004), 44% (Bergeron et al., 2000), 64% (Romero & Frankena, 2003), 73% (Dijkstra et al., 2003), 81%

(Paré et al., 1996), 85% (Bjorkman et al., 2003), 93% (Schaes et al., 1998), e 95% (Davison et al., 1999a).

O resultado encontrado no presente estudo está abaixo do relatado por Venturini et al. (1999), que na Argentina observaram 20,2% (21/104) dos fetos bovinos coletados em frigorífico soropositivos para *N. caninum* na RIFI. Entretanto, Davison et al. (1999b) utilizando sorologia pré-colostral (ELISA), verificaram uma taxa de transmissão congênita para *N. caninum* de 95,2% (118) em 124 bezerros recém-nascidos.

A comparação de taxas de transmissão vertical entre os diversos estudos deve ser avaliada com uma certa precaução, já que a variação destes resultados se deve, em parte, a diversos fatores como a soroprevalência do rebanho, histórico de aborto ou casos de abortamentos, tamanho e tipo de amostra (antes ou após a ingestão de colostro), diferentes técnicas sorológicas utilizadas, valores do ponto de corte, entre outros.

Outro ponto que merece ser destacado é que grande parte dos estudos soroepidemiológicos revisados na literatura foram realizados em propriedades leiteiras com histórico de aborto ou casos de abortamentos, fato que pode ter superestimado a taxa de transmissão congênita nestes rebanhos. No presente estudo, a coleta de amostras de soros de vacas e de fetos foi efetuada de forma aleatória, desconhecendo-se o histórico de problemas reprodutivos dos animais.

A baixa taxa de transmissão congênita para *N. caninum* observada neste estudo pode ser explicada, em parte, pelo fato da maioria dos fetos serem oriundos de vacas com idade avançada, que são enviadas para abate, na maioria das vezes, pela baixa produção de leite ou problemas reprodutivos, entre outros agravos. Embora não tenha sido estimada a idade das vacas que foram abatidas no frigorífico de Campo Belo, foi possível verificar que a maioria dos lotes era constituída de animais com idade avançada e baixo escore corporal. Estes animais leiteiros de descarte certamente foram expostos ao *N. caninum* durante

toda a sua vida, adquirindo assim imunidade contra este parasito, por isso é bastante improvável que esses animais abortassem. Assim, a imunidade adquirida, diminuiu a taxa de transmissão congênita nesses animais, porém, em 13% destes, a imunidade não foi capaz de impedir a transmissão vertical. Estudos na Costa Rica (Romero et al., 2002) e na Alemanha (Dijkstra et al., 2003), demonstraram que a taxa de infecção congênita por *N. caninum* diminuiu com o aumento do número de gestações e conseqüentemente, com a idade das vacas. Segundo esses autores a imunidade adquirida atenua a possibilidade de recrudescência da infecção, reduzindo a taxa de transmissão vertical do *N. caninum*.

Embora a taxa de infecção congênita determinada no presente estudo esteja abaixo de outros trabalhos, ainda assim deve ser levada em consideração, e indica que a transmissão transplacentária endógena ocorre com relativa freqüência em vacas abatidas em frigorífico do Sul de Minas, fato confirmado pela detecção de anticorpos específicos anti-*N. caninum* em soros fetais. A presença de anticorpos anti-*N. caninum* no soro fetal ou pré-colostral de bezerros indica infecção congênita, porque em ruminantes não ocorre transferência de anticorpos maternos (Wouda et al., 1997). A infecção por *N. caninum* é comumente diagnosticada como causa de morte entre fetos abortados em rebanhos leiteiros na região Sul do Brasil (Corbellini et al., 2002).

Não houve associação significativa entre idade fetal e soropositividade para *N. caninum*, mesmo assim, é importante salientar que a maioria dos fetos positivos (90,6%) tinha idade entre cinco a sete meses, coincidindo com o período mais provável para este protozoário induzir aborto em bovinos (Williams & Trees, 2006). É importante ressaltar, que o feto bovino torna-se imunocompetente a partir do terceiro mês de gestação (Jenkins et al., 2002). Segundo Dubey (1999) o aborto por *N. caninum* ocorre freqüentemente entre o quinto e o sexto mês de gestação.

Outro aspecto importante que justifica a maior frequência de fetos soropositivos a partir do quinto mês de gestação, conforme observado no presente estudo, é que segundo Dubey (2003), há um aumento nos títulos de anticorpos quatro a cinco meses antes do parto, provavelmente, devido à reativação de uma infecção latente, e que ocorre uma parasitemia durante a gestação, levando a infecção fetal.

O estágio da gestação na qual ocorre a infecção pelo *N. caninum* é importante no resultado da doença. Infecções adquiridas no início da prenhez, antes do feto bovino desenvolver o sistema imune, comumente causa morte fetal e reabsorção. Infecção no meio da gestação pode resultar em aborto ou no nascimento de um bezerro persistentemente infectado. Contudo, no período final da gestação, quando o feto é imunocompetente ocorre o parto normal, porém o bezerro pode ser congenitamente infectado (Collantes - Fernandez et al., 2006).

Na titulação de anticorpos anti-*N. caninum* nos soros fetais positivos foi observado que a maioria (55%) apresentou título alto (800), sugerindo infecção ativa, o que poderia estar causando alterações patológicas nestes fetos. Isto é justificado, tendo em vista que esses animais estavam experimentando o primeiro contato com *N. caninum* e ainda não tinham o sistema imune completamente desenvolvido. Bastos et al. (2005), encontraram título de 800 em uma bezerra de três positivas na sorologia pré-colostral (RIFI).

Bezerros com infecção congênita correm menor risco de apresentarem resultados falso-negativos devido aos altos títulos de anticorpos observados, se comparados aos bovinos adultos (Innes et al., 2002).

A determinação de 13% de fetos soropositivos para *N. caninum* no presente estudo, sugere que a neosporose bovina pode ser uma importante causa de abortamentos em rebanhos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais.

A elevada soroprevalência para *N. caninum* em vacas e a ocorrência de fetos infectados congenitamente, indica que exames confirmatórios para *N. caninum* devem ser incluídos no protocolo de diagnóstico em casos de abortamentos no Sul de Minas Gerais.

Novos estudos são necessários para determinar qual a participação do *N. caninum* nos casos de aborto e infertilidade em bovinos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais.

## 7 CONCLUSÕES

1. A infecção por *Neospora caninum* ocorre de forma endêmica em bovinos leiteiros da microrregião do Alto Rio Grande, Sul de Minas Gerais.
2. A alta frequência de vacas soropositivas para *N. caninum* abatidas em frigorífico reforça a tese de endemicidade nesta microrregião e indica que este protozoário está amplamente distribuído no Sul de Minas Gerais.
3. O tamanho da fazenda (<100ha) constitui um fator de risco para infecção com *N. caninum* em rebanhos de propriedades estudadas.
4. A ocorrência de infecção congênita observada neste estudo indica que infecção intra-uterina constitui uma importante rota de transmissão de *N. caninum* na região estudada.
5. A soroprevalência acima de 90% em animais adultos e a transmissão congênita de 13%, indica que a transmissão horizontal, por meio da ingestão de oocistos a partir do hospedeiro definitivo (cão), tem importância na epidemiologia da infecção por *N. caninum* na região Sul de Minas Gerais.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; RODRIGUES, A. A. R.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 142, n. 1/2, p. 71-77, Nov. 2006.

ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 60, p. 417-431, July 2000. Special.

ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; BARR, B. C.; DUBEY, P. J.; HOFFMAN, R. L.; CONRAD, P. A. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 198, n. 2, p. 241-244, Jan. 1991.

ANDERSON, M. L.; PALMER, C. W.; THURMOND, M. C.; PICANSO, J. P.; BLANCHARD, P. C.; BREITMEYER, R. E.; LAYTON, A. W.; McALLISTER, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A.; BARR, B. C. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 207, n. 9, p. 1206-1210, Nov. 1995.

ANTUNES, F. Caracterização climática do Estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 12, n. 138, p. 9-13, jun. 1986.

ATKINSON, R.; HARPER, P. A. W.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T. Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 110-114, Mar. 2000.

BAÑALES, P.; FERNANDEZ, L.; REPISO, M. V.; GIL, A.; DARGATZ, D. A.; OSAWA, T. A nationwide survey on seroprevalence of *Neospora caninum* infection in beef cattle in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 139, n. 1/3, p. 15-20, June 2006.

BARLING, K. S.; McNEILL, J. W.; THOMPSON, J. A.; PASCHAL, J. C.; McCOLLUM, F. T.; CRAIG, T. M.; ADAMS, L. G. 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, Nov. 2000.

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; SVERLOW, K. W.; CONRAD, P. A. Diagnosis of bovine foetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. **Veterinary Record**, London, v. 137, n. 24, p. 611-613, Dec. 1995.

BARTELS, C. J. M.; ARNAIZ-SECO, J. I.; RUIZ-SANTA-QUITERA, A.; BJORKMAN, C.; FROSSLING, J.; VON BLUMRODER, D.; CONRATHS, F. J.; SCHARES, G.; VAN MAANEN, C.; WOUDA, W.; ORTEGA-MORA, L. M. Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 137, n. 1/2, p. 17-27, Apr. 2006.

BARTELS, C. J. M.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology**, New York, v. 52, n. 2, p. 247-257, July 1999.

BASTOS, S. A.; MELO, D. P. G.; BOAVENTURA, C. M.; SILVA, A. C. Transmissão vertical de *Neospora caninum* em bovinos da microrregião de Goiânia, Goiás. In: FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*. 1., 2005, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005. p. 40-41.

BELO, M. A. A.; REZENDE, L. M.; COSTA, A. J. Presença de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos com histórico de abortos não diagnosticados etiologicamente. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11., 1999, Salvador. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 229.

BERGERON, N.; FECTEAU, G.; PARÉ, J.; MARTINEAU, R.; VILLENEUVE, A. Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Québec. **Canadian Veterinary Journal**, Ontario, v. 41, n. 6, p. 464-467, June 2000.

BJORKMAN, C.; LUNDEN, A.; HOLMDAHL, J.; BARBER, J.; TREES, A. J.; UGGLA, A. *Neospora caninum* in dogs: detection of antibodies by ELISA using an iscom antigen. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 16, n. 12, p. 643-648, Dec. 1994.

BJORKMAN, C.; MCALLISTER, M. M.; FROSSLING, J.; NASLUND, K.; LEUNG, F.; UGGLA, A. Application of the *Neospora caninum* IgG avidity ELISA in assessment of chronic reproductive losses after an outbreak of neosporosis in a herd of beef cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Turlock, v. 15, n. 1, p. 3-7, Jan. 2003.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 10, p. 1497-1507, Oct. 1999.

CAMPERO, C. M.; ANDERSON, M. L.; CONOSCIUTO, G.; ODRIOZOLO, H. *Neospora caninum* – associated abortion in a dairy herd in Argentina. **Veterinary Record**, London, v. 143, n. 8, p. 228-229, Sept. 1998.

CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSIS. **Procedimientos para estudios de prevalencia de enfermedades crónicas en el Ganado**. Ramos Mejia, Buenos Aires, 1973. 35 p. (Nota Técnica, 18).

CHI, J.; VANLEEUEWEN, J. A.; WEERSINK, A.; KEEFE, G. P. Management factors related to seroprevalences to bovine viral-diarrhoea virus, bovine-leukosis virus, *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in dairy herds in the Canadian Maritimes. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 55, n. 1, p. 57-68, Sept. 2002.

COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; RODRIGUEZ-BERTOS, A.; ARNAIZ-SECO, I.; MORENO, B.; ADURIZ, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Influence of the stage of pregnancy on *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions in aborted bovine foetuses. **Theriogenology**, New York, v. 65, n. 3, p. 629-641, Feb. 2006.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. F. E.; GONDIM, L. F. P.; WALD, V. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 103, n. 3, p. 195-202, Jan. 2002.

CORBELLINI, L. G.; PESCADOR, C. A.; FRANTZ, F.; WUNDER, E.; STEFFEN, D. J.; SMITH, D. R.; DRIEMEIER, D. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: Importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. **The Veterinary Journal**, London, v. 172, n. 1, p. 114-120, July 2006a.

CORBELLINI, L. G.; SMITH, D. R.; PESCADOR, C. A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D. J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 74, n. 2/3, p. 130-141, May 2006b.

COSTA, G. H. N.; CABRAL, D. D.; VARANDAS, N. P.; SOBRAL, E. A.; BORGES, F. A.; CASTAGNOLLI, K. L. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais. **Semina**, Londrina, v. 22, n. 1, p. 57-62, jan./jun. 2001.

DAVISON, H. C.; FRENCH, N. P.; TREES, A. J. Herd-specific seroprevalence of *Neospora caninum* in 14 British dairy herds. **Veterinary Record**, London, v. 144, n. 20, p. 547-550, May 1999a.

DAVISON, H. C.; GUY, C. S.; McGARRY, J. W.; GUY, F.; WILLIAMS, D. J. L.; KELLY, D. F.; TREES, A. J. Experimental studies on the transmission of *Neospora caninum* between cattle. **Research in Veterinary Science**, London, v. 70, n. 2, p. 163-168, Apr. 2001.

DAVISON, H. C.; OTTER, O.; TREES, A. J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *N. caninum* in dairy cattle. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 10, p. 1683-1689, Oct. 1999b.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; WOUDA, W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 31, n. 2, p. 209-215, Feb. 2001a.

DIJKSTRA, T.; BARKEMA, H. W.; HESSELINK, J. W.; WOUDA, W. 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**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 89-98, Apr. 2002b.

DIJKSTRA, T.; EYSKER, M.; SCHARLES, G.; CONRATHS, F. J.; WOUDA, W.; BARKEMA, H. W. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 31, n. 8, p. 747-752, June 2001b.

DIJKSTRA, T. H.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; BEIBOER, M. L.; WOUDA, W. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for

*Neospora caninum* antibodies. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 110, n. 3/4, p. 161-169, Jan. 2003.

DIJKSTRA, T. H.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; HESSELINK, J. W.; WOUDA, W. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 105, n. 2, p. 99-104, Apr. 2002a.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 214, n. 8, p. 1160-1163, Apr. 1999.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean Journal of Parasitology**, Seoul, v. 41, p. 1-16, 2003.

DUBEY, J. P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of bovine neosporosis. **Journal of Comparative Pathology**, London, v. 134, n. 4, p. 267-289, May 2006.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 193, n. 9, p. 1269-1283, May 1988.

DUBEY, J. P.; HARTLEY, W. J.; LINDSAY, D. S. Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 197, n. 8, p. 1043-1044, Aug. 1990.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 67, n. 1/2, p. 1-59, Dec. 1996.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 140, n. 1/2, p. 1-34, Aug. 2006.

DYER, R. M.; JENKINS, M. C.; KWOK, O. C. H.; DOUGLAS, L. W.; DUBEY, J. P. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 90, n. 3, p. 171-181, June 2000.

GARCIA-VAZQUEZ, Z.; ROSARIO-CRUZ, R.; RAMOS-ARAGON, A.; CRUZ-VAZQUEZ, C.; MAPES-SANCHEZ, G. *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in México. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 134, n. 1/2, p. 61-65, Nov. 2005.

GAY, J. M. Neosporosis in dairy cattle: An update from an epidemiological perspective. **Theriogenology**, New York, v. 66, n. 3, p. 629-632, Aug. 2006.

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

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

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M.; YAMANE, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 86, n. 1, p. 71-75, Sept. 1999a.

GONDIM, L. F. P.; SARTOR, I. F.; MONTEIRO JR. L. A.; HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine foetus in Brazil. **New Zealand Veterinary Journal**, Wellington, v. 47, n. 1, p. 35, Feb. 1999b.

GUIMARÃES Jr., J. S.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 124, n. 1/2, p. 1-8, Sept. 2004.

HADDAD, J. P.; DOHOO, I. R.; VANLEEWEN, J. A. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle – a Canadian perspective. **Canadian Veterinary Journal**, Ontario, v. 46, n. 3, p. 230-243, Mar. 2005.

HALL, C. A.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 128, n. 3/4, p. 231-241, Mar. 2005.

HASEGAWA, M. Y. **Soroprevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos de corte e em cães rurais da região de Avaré, SP.** 2000. 50 p. Dissertação (Mestrado) –Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B. An European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30, n. 8, p. 877-924, July 2000.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. **Parasitology**, New York, v. 112, n. 2, p. 183-197, Feb. 1996.

HOBSON, J. C.; DUFFIELD, T. F.; KELTON, D.; LISSEMORE, K.; HIETALA, S. K.; LESLIE, K. E.; MCEWEN, B.; PEREGRINE, A. S. Risk factors associated with *Neospora caninum* abortion in Ontario Holstein dairy herds. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 127, n. 3/4, p. 177-188, Feb. 2005.

INNES, E. A.; ANDRIANARIVO, A. G.; BJORKMAN, C.; WILLIAMS, D. J. L.; CONRAD, P. A. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. **Trends in Parasitology**, Oxford, v. 18, n. 11, p. 497-504, Nov. 2002.

INNES, E. A.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; MALEY, S.; MACALDOWIE, C.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 108, n. 1/2, p. 29-36, Oct. 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. 2004. **Produção da Pecuária Municipal**. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao\\_Pecuaria/Producao da Pecuaria Municipal %5Banual%5D/2004/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Producao_da_Pecuaria_Municipal%5Banual%5D/2004/)>. Acesso em: 20 nov. 2006.

INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA – IMA. Divisão de defesa sanitária animal. **Comunicação pessoal**. 2006.

JARDINE, J. E. The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 62, n. 3/4, p. 231-240, Apr. 1996.

JENKINS, M.; BASZLER, T.; BJORKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum* – associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 32, n. 5, p. 631-636, May 2002.

JESUS, E. E. V.; BARROS, S. L. B.; SIMÃO, C. B.; PINHEIRO, A. M.; GONDIM, L. F. P.; GUIMARÃES, J. E.; ALMEIDA, M. A. O. Inquérito sorológico do *Neospora caninum* em bovinos dos municípios de Euclides da Cunha e Uauá do semi-árido baiano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 28., 2002, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2002. p. 189.

KASHIWAZAKI, Y.; GIANNEECHINI, R. E.; LUST, M.; GIL, J. Seroepidemiology of Neosporosis in dairy cattle in Uruguai. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 120, n. 1/2, p. 139-144, Feb. 2004.

KYAW, T.; SUWIMONTEERABUTR, J.; VIRAKUL, P.; LOHACHIT, C.; KALPRAVIDH, W. Soronegative conversion in four *Neospora caninum*-infected cows, with a low rate of transplacental transmission. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 131, n. 1/2, p. 145-150, July 2005.

KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; ZENIYA, Y.; ETO, M.; YOKOYAMA, R.; TSUTSUI, T.; KIMURA, K.; YAMANE, I. Nationwide seroprevalence of *Neospora caninum* among dairy cattle in Japan. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 135, n. 2, p. 175-179, Jan. 2006.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 50, n. 11, p. 1981-1983, Nov. 1989.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 82, n. 4, p. 327-333, May 1999.

LISTA - ALVES, D.; PALOMARES – NAVEDA, R.; GARCIA, F.; OBANDO, C.; ARRIETA, D.; HOET, A. E. Serological evidence of *Neospora caninum* in dual-purpose cattle herds in Venezuela. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 136, n. 3/4, p. 347-349, Mar. 2006.

LOCATELLI-DITTRICH, R. R.; RICHARTZ, R. R. T. B.; JOINEAU, M. E. G. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Paraná Southern Brazil. **Veterinary Record**, London, v. 153, n. 12, p. 366-367, Sept. 2003.

LÓPEZ - GATIUS, F.; PABÓN, M.; ALMERÍA, S. *Neospora caninum* infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. **Theriogenology**, New York, v. 62, n. 3/4, p. 606-613, Aug. 2004.

MADRUGA, C. R.; ARAÚJO, F. R.; SOARES, C. O. **Imunodiagnóstico em Medicina Veterinária**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2001. 360 p.

McALLISTER, M. M.; BJÖRKMAN, C.; ANDERSON-SPRECHER, R.; ROGERS, D. G. Evidence of point-source exposure to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 217, n. 6, p. 881-887, Sept. 2000.

McALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; JOLLEY, W. R.; WILLS, R. A. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, Sept. 1998.

McALLISTER, M. M.; HUFFMAN, E. M.; HIETALA, S. K.; CONRAD, P. A.; ANDERSON, M. L.; SALMAN, M. D. Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, Turlock, v. 8, n. 3, p. 355-357, July 1996.

MAINAR-JAIME, R. C.; THURMOND, M. C.; BERZAL-HERRANZ, B.; HIETALA, S. K. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. **Veterinary Record**, London, v. 145, n. 3, p. 72-75, July 1999.

MEDEIROS, J. F.; CARVALHO, L. G.; DANTAS, A. A. A.; CASTRO NETO, P. Análise da precipitação pluvial mensal e anual no período de 1961 a 2003 em duas localidades do estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 14., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, 2005a.

MEDEIROS, J. F.; CARVALHO, L. G.; DANTAS, A. A. A.; CASTRO NETO, P. Análise do comportamento das temperaturas máxima, mínima e média do ar durante o período de 1961 a 2003 em duas localidades do estado de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROMETEOROLOGIA, 14., 2005, Campinas. **Anais...** Campinas, 2005b.

MEDINA, L.; CRUZ-VAZQUEZ, C.; QUEZADA, T.; MORALES, E.; GARCIA-VAZQUEZ, Z. Survey of *Neospora caninum* infection by nested PCR in aborted fetuses from dairy farms in Aguascalientes, Mexico. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 136, n. 3/4, p. 187-191, Mar. 2006.

MELO, C. B.; LEITE, R. C.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral

diarrhea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 119, n. 2/3, p. 97-105, Jan. 2004.

MELO, D. P. G.; SILVA, A. C.; ORTEGA-MORA, L. M.; BOAVENTURA, C. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 105-109, 2006.

MOEN, A. R.; WOUDE, W.; MUL, M. F.; GRAAT, E. A. M.; VAN WERVEN, T. Increased risk of abortion following *Neospora caninum* abortion outbreaks: a retrospective and prospective cohort study in four dairy herds. **Theriogenology**, New York, v. 49, n. 7, p. 1301-1309, May 1998.

MOORE, D. P. Neosporosis in South America. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 127, n. 2, p. 87-97, Jan. 2005.

MOORE, D. P.; CAMPERO, C. M.; ODEON, A. C.; POSSO, M. A.; CANO, D.; LEUNDA, M. R.; BASSO, W.; VENTURINI, M. C.; SPÁTH, E. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 107, n. 4, p. 303-316, Aug. 2002.

MOORE, D. P.; DRAGHI, M. G.; CAMPERO, C. M.; CETRÁ, B.; ODEÓN, A. C.; ALCARAZ, E. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in beef bulls in six counties of the Corrientes province, Argentina. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 114, n. 4, p. 247-252, June 2003.

MORALES, E.; TRIGO, F. J.; IBARRA, F.; PUENTE, E.; SANTACRUZ, M. Neosporosis in mexican dairy herds: lesions and immunohistochemical detection of *Neospora caninum* in fetuses. **Journal of comparative pathology**, London, v. 125, n. 1, p. 58-63, July 2001.

MOSKWA, B.; PASTUSIAK, K.; BIEN, J.; CABAJ, W. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. **Parasitology Research**, Berlin, v. 100, n. 3, p. 633-636, 2006.

MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T. DA; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 101-104, jul./set. 2006.

OGAWA, L.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L. F. P.; NAVARRO, I. T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, n. 3, p. 312-316, June 2005.

OGAWA, L.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; GONDIM, L. F. P.; MARANA, E. R. M.; SILVA, E. H.; SEDEMAKA, T. M.; DAMAS, A. C.; MATTOS, M. R.; PREDENCIO, L. B.; TSUITSUI, V. S.; SANTOS, A. P. M. Avaliação sorológica do *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos de leite da região norte do Paraná. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11., 1999, Salvador. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 225.

OSAWA, T.; WASTLING, J.; ACOSTA, L.; ORTELLADO, C.; IBARRA, J.; INNES, E. A. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 110, n. 1/2, p. 17-23, Dec. 2002.

OTRANTO, D.; LLAZARI, A.; TESTINI, G.; TRAVERSA, D.; DI REGALBONO, A. F.; BADAN, M.; CAPELLI, G. Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 118, n. 1/2, p. 7-18, Dec. 2003.

PAN, Y.; JANSEN, G. B.; DUFFIELD, T. F.; HIETALA, S.; KELTON, D.; LIN, C. Y.; PEREGRINE, A. S. Genetic susceptibility to *Neospora caninum* infection in Holstein cattle in Ontario. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 11, p. 3967-3975, Nov. 2004.

PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 213, n. 11, p. 1595-1598, Dec. 1998.

PARÉ, J.; THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. **Canadian Journal of Veterinary Research**, Ontario, v. 60, n. 2, p. 133-139, Apr. 1996.

PARÉ, J. P.; THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortion. **Journal Parasitology**, Lawrence, v. 83, n. 1, p. 82-87, Feb. 1997.

PATITUCCI, A. N.; PÉRES, M. J.; LUDERS, C. F.; RATTO, M. H.; DUMONT, A. G. Serological evidence of *Neospora* infection in dairy cattle in Chile. **Archivo Medicina Veterinaria**, Valdivia, v. 31, n. 2, p. 215-218, 1999.

PETERS, M.; LUTKEFELS, E.; HECKEROTH, A. R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 31, n. 10, p. 1144-1148, Aug. 2001.

PITEL, P. H.; PRONOST, S.; CHATAGNON, G.; TAINUNIER, D.; FORTIER, G.; BALLEST, J. J. Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA of aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 102, n. 4, p. 269-277, Dec. 2001.

QUINTANILLA-GOZALO, A.; PEREIRA-BUENO, J.; TABARES, E.; INNES, E. A.; GONZALEZ-PANIELLO, R.; ORTEGA-MORA, L. M. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 8, p. 1201-1208, Aug. 1999.

RAGOZO, A. M. A.; PAULA, V. S.O.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003.

RAZMI, G. R.; MOHAMMADI, G. R.; GARROSI, T.; FARZANEH, N.; FALLAH, A. H.; MALEKI, M. Seroepidemiology of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Mashhad area, Iran. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 135, n. 2, p. 187-189, Jan. 2006.

RINALDI, L.; FUSCO, G.; MUSELLA, V.; VENEZIANO, V.; GUARINO, A.; TADDEI, R.; CRINGOLI, G. *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 128, n. 3/4, p. 219-230, Mar. 2005.

RIVERA, G. H.; NELSON, D.; TABACCHI, L. N. *Neospora caninum* y otros agentes en fetos abortados de bovinos lecheros del valle de Lima. **Revista Investigacion Veterinaria del Peru**, Lima, v. 11, n. 1, p. 1-7, 2000.

ROBERTS, J. S. **Obstetricia Veterinaria y Patologia de la Reproducion**. Buenos Aires: Argentina. Ed. Hemisfério Sur, 1984. 1021 p.

ROMERO, J. J.; FRANKENA, K. The effect of the dam-calf relationship on serostatus to *Neospora caninum* on 20 Costa Rican dairy farms. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 114, n. 3, p. 159-171, June 2003.

ROMERO, J. J.; PEREZ, E.; DOLZ, G.; FRANKENA, K. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 53, n. 4, p. 263-273, Apr. 2002.

SAGER, H.; HUSSY, D.; KUFFER, A.; SCHREVE, F.; GOTTSTEIN, B. Mise en evidence d'un de "abortion strom" (transmission transplacentaire exogene de *Neospora caninum*) dans une exploitation de vaches laitieres: une premiere en Suisse. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde**, Bern, v. 147, n. 9, p. 113-120, Sept. 2005.

SANDERSON, M. W.; GAY, J. M.; BASZLER, T. V. *N. caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 90, p. 15-24, 2000.

SARTOR, I. F.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA, L. C.; PITUCO, E. M.; DAL PAI, V.; SARTOR, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. **Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo**, São Paulo, v. 72, n. 4, p. 413-418, out./dez. 2005.

SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M. Y.; GONDIM, L. F. P.; PIAGENTINI, M.; VIEIRA, A.; MEGID, J.; CANAVESSI, A. M.; Prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros do município de Avaré, SP – resultados preliminares. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11., 1999, Salvador. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 225.

SAWADA, M.; PARK, C. H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I.; UMEMURA, T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. **Journal Veterinary Medical Science**, Schaumburg, v. 60, n. 7, p. 853-854, July 1998.

SCHARES, G.; BARWALD, A.; STAUBACH, C.; ZILLER, M.; KLOSS, D.; WURM, R.; RAUSER, M.; LABOHN, R.; DRAGER, K.; FASEN, W.; HESS,

R. G.; CONRATHS, F. J. Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by logistic regression. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 33, n. 14, p. 1631-1640, Dec. 2003.

SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F. J. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analyzed by serological techniques. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 80, n. 2, p. 87-90, Dec. 1998.

SILVA, A. C. Diagnóstico da Neosporose bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E I SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE RICKETTISIOSES, 13., 2004, Ouro Preto-MG. **Anais...** Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004. p. 29-33.

SILVA, M. I. S.; ALVES, L. C. A.; FAUSTINO, M. A. G.; ALMEIDA, M. A.; PINHEIRO, M. A.; JESUS, E. E. V.; CUNHA, A. P.; NASCIMENTO, E. S.; LIMA, M. M. Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros do município de Gravatá, Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. CD-ROM.

SONDGEN, P.; PETERS, M.; BARWALD, A.; WURM, R. Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 102, n. 4, p. 279-290, Dec. 2001.

STAHL, K.; BJORKMAN, C.; EMANUELSON, U.; RIVERA, H.; ZELADA, A.; MORENO-LOPEZ, J. A prospective study of the effect of *Neospora caninum* and BVDV infections on bovine abortions in a dairy herd in Arequipa, Peru. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v. 75, n. 3/4, p. 177-188, Aug. 2006.

STENLUND, S.; KINDAHL, H.; MAGNUSSON, U.; UGGLA, A.; BJORKMAN, C. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 85, n. 4, p. 227-234, Sept. 1999.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in

dairy cattle. **American Journal Veterinary Research**, Schaumburg, v. 58, n. 12, p. 1381-1385, Dec. 1997.

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

VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L.; BACIGALUPE, D.; MACHUCA, M. *Neospora caninum* – infections in bovine foetuses and dairy cows with abortions in Argentina. **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 29, n. 10, p. 1705-1708, Oct. 1999.

WALDNER, C. L.; JANZEN, E. D.; RIBBLE, C. S. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 213, n. 5, p. 685-690, Sept. 1998.

WILLIAMS, D. J. L.; TREES, A. J. Protecting babies: vaccine strategies to prevent foetopathy in *Neospora caninum*-infected cattle. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 28, n. 3, p. 61-67, Mar. 2006.

WOUDA, W. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. **Veterinary Quarterly**, Utrecht, v. 22, n. 2, p. 71-74, Apr. 2000.

WOUDA, W.; DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. **Journal Parasitology**, Lawrence, v. 83, n. 3, p. 545-547, June 1997.

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