

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA
NEOSPOROSE BOVINA EM REBANHOS
LEITEIROS DE MINAS GERAIS**

RAQUEL RIBEIRO DIAS SANTOS

2008

RAQUEL RIBEIRO DIAS SANTOS

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA
NEOSPOROSE BOVINA EM REBANHOS
LEITEIROS DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação “*Stricto Sensu*” em Ciências Veterinárias, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Antônio Marcos Guimarães

LAVRAS
MINAS GERAIS-BRASIL
2008

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

Santos, Raquel Ribeiro Dias.

Aspectos epidemiológicos da neosporose bovina em rebanhos leiteiros
de Minas Gerais / Raquel Ribeiro Dias Santos. – Lavras : UFLA, 2008.
82 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.
Orientador: Antônio Marcos Guimarães.
Bibliografia.

1. Bovino. 2. Epidemiologia. 3. *Neospora*. 4. Transmissão. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.2089696

RAQUEL RIBEIRO DIAS SANTOS

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA
NEOSPOROSE BOVINA EM REBANHOS
LEITEIROS DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação “Stricto Sensu” em Ciências Veterinárias, para obtenção do título de “Mestre”.

Aprovada em 05 de março de 2008.

Dr^a Christiane M. B. M. Rocha
Dr. Christian Hirsch
Dr. Múcio Flávio Barbosa Ribeiro

UFLA
UFLA
UFMG

Orientador. Prof. Dr. Antônio Marcos Guimarães

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

Dedico este trabalho ao meu avô Gonzaga, pelo amor e carinho dedicado a nossa família, pelo exemplo de honestidade, alegria e humildade.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força, saúde e perseverança.

Ao André, que esteve sempre ao meu lado, pelo amor, companheirismo, paciência e tolerância.

Ao papai pelo apoio, incentivo e confiança e pelo exemplo de caráter, trabalho e honestidade.

À mamãe pelo incentivo, carinho e dedicação e compreensão mesmo de longe.

A Sarah pelo amor, amizade e carinho.

A minha família e amigos. Em especial a vovó Eny, vovó America e ao vovô Júlio.

A Raquelzinha pela amizade e carinho.

Ao Prof. Antônio Marcos pela orientação, pelos conselhos, pela amizade e atenção.

À Prof.^a Christiane pela amizade, pelas sugestões e pela grande ajuda nas análises estatísticas.

Ao Prof. Christian pelo treinamento no laboratório de Cultivo Celular e pelas sugestões e orientações.

Ao Prof. Tarcísio de Moraes Gonçalves pela ajuda com as análises estatísticas.

Ao Prof. João Chrysostomo pela atenção, orientação e por ter ajudado com os dados da Fazenda Pinheiros.

À Prof.^a Dr.^a Solange Maria Gennari (FMVZ/USP) por ter cedido os taquizoítos de *N. caninum*.

A Gleí, amiga de todas as horas, por escutar as minhas dúvidas e lamentações, pelo carinho.

Ao Antonio pelo carinho e pelo exemplo de dignidade e perseverança.

A Cris, Marquinhos, Letícia pela companhia sempre agradável no Laboratório de Parasitologia, DMV/UFLA.

A Dirceia pela ajuda na manipulação dos equipamentos de laboratório.

Ao Médico Veterinário Carlos Gleison pela ajuda na escolha da Fazenda Ponte Alta.

Ao Sr. Hugo Andrade, proprietário da Fazenda Ponte Alta pela utilização dos animais e a todos os funcionários pela ajuda nos dias de coleta, principalmente, ao Sr. Chico.

Ao Sr. Wilson proprietário da Fazenda Pinheiros pela utilização dos animais.

A Hilda J. Pena pelo treinamento em cultivo celular no Laboratório de Doenças Parasitárias na FMVZ/ USP.

A minha amiga Silvana pela acolhida durante estada em São Paulo.

À Universidade Federal de Lavras pela oportunidade.

À CAPES pela bolsa de estudos.

À FAPEMIG pelo financiamento do projeto de pesquisa.

Aos amigos do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias.

SÚMARIO

	Página
ÍNDICE DE TABELAS	i
ÍNDICE DE FIGURAS	ii
RESUMO	iv
ABSTRACT	v
1 INTRODUÇÃO	01
2 OBJETIVOS	04
2.1 Objetivo Geral.....	04
2.2 Objetivos Específicos.....	04
3 REFERENCIAL TEÓRICO	05
3.1 <i>Neospora caninum</i>	05
3.2 Transmissão.....	07
3.3 Sinais Clínicos.....	10
3.4 Freqüência de bovinos infectados por <i>N. caninum</i> no Brasil e no mundo.....	11
3.4.1 Fatores de risco.....	17
3.5 Diagnóstico Sorológico e Histológico.....	22
3.6 Controle da neosporose bovina.....	24
4 MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1 Delineamento epidemiológico.....	26
4.2 Caracterização das regiões estudadas.....	27
4.3 Estudo 1 - Freqüência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, MG.....	29
4.3.1 Características da área da microrregião de Lavras	29
4.3.2 Amostras de soros bovinos.....	30
4.3.3 Coleta das amostras de soros bovinos na microrregião de Lavras...	31
4.3.4 Coleta de soros de cães da zona rural dos municípios de Carrancas e Lavras, microrregião de Lavras.....	32
4.3.5 Cultivo de células	32
4.3.6 Reação de imunofluorescência indireta	33
4.3.7 Análise Estatística do Estudo I.....	34
4.4 Estudo 2 - Freqüência de infecção congênita e investigação da transmissão horizontal e, efeitos do <i>N. caninum</i> sobre a produção leiteira e alterações reprodutivas.....	35
4.4.1 Coleta de amostras de soros de bovinos leiteiros da fazenda Ponte Alta, localizada no município de Bom Sucesso, microrregião de Oliveira.....	35
4.4.1.1 Características do município de Bom Sucesso.....	35
4.4.1.2 Características do sistema de produção da Fazenda Ponte Alta....	36
4.4.2 Coleta de amostras de soros de bovinos leiteiros na Fazenda	

Pinheiros, no município de São João Del Rei, microrregião de São João Del Rei.....	37
4.4.2.1 Características da microrregião de São João Del Rei.....	37
4.4.2.2 Características do sistema de produção leiteira da Fazenda Pinheiros.....	38
4.4.3 Frequência de infecção congênita nas fazendas Ponte Alta e Pinheiros	39
4.4.4 Análise estatística do Estudo II.....	40
5 RESULTADOS	41
5.1 Estudo 1 - Frequência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, MG.....	41
5.1.1 Caracterização das 18 propriedades leiteiras na microrregião de Lavras.....	41
5.1.2 Frequência de bovinos soropositivos e fatores de risco.....	44
5.1.3 Frequência de cães soropositivos da zona rural dos municípios de Lavras e Carrancas, microrregião de Lavras.....	45
5.2 Estudo 2 - Frequência de infecção congênita e investigação da transmissão horizontal e efeitos do <i>N. caninum</i> sobre a produção leiteira e parâmetros na reprodução.....	47
5.2.1 Frequência de infecção congênita e transmissão horizontal em bovinos das fazendas Ponte Alta e Pinheiros.....	47
5.2.2 Efeito da soropositividade sobre a produção leiteira e os parâmetros reprodutivos em bovinos das fazendas Ponte Alta e Pinheiros	49
6 DISCUSSÃO	53
6.1 Estudo 1 - Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, MG.....	53
6.1.1 Frequência de bovinos soropositivos e fatores de risco.....	53
6.2 Estudo 2 - Frequência de infecção congênita e investigação da transmissão horizontal e efeitos do <i>N. caninum</i> sobre a produção leiteira e parâmetros na reprodução.....	58
6.2.1 Infecção congênita e transmissão horizontal de <i>N. caninum</i> em bovinos das Fazendas Ponte Alta e Pinheiros.....	58
6.2.2 Efeitos da soropositividade sobre a produção leiteira e os parâmetros reprodutivos em bovinos das Fazendas Ponte Alta e Pinheiros.....	62
7 CONCLUSÕES	66
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67

INDICE DE TABELAS

	Página	
TABELA 1	Valores de ocorrência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em bovinos de diferentes estados brasileiros, respectivas técnicas e autores.....	14
TABELA 2	Levantamento soroepidemiológico de <i>N. caninum</i> em bovinos no mundo, segundo o país, frequência de soropositivos, técnica utilizada, autor e ano.....	16
TABELA 3	Levantamento soroepidemiológico de <i>N. caninum</i> em cães no Brasil, pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI), frequência de soropositivos, autor e ano.....	21
TABELA 4	Levantamento soroepidemiológico de <i>N. caninum</i> em cães de área rural, no Mundo, frequência de soropositivos, técnica, autor e ano.....	22
TABELA 5	Municípios e número de amostras (absoluto e relativo) de soros coletados em propriedades leiteiras da microrregião de Lavras, Sul de Minas Gerais.....	31
TABELA 6	Parâmetros descritivos de 18 propriedades leiteiras da microrregião de Lavras - MG por grupo de produção, 2004.....	42
TABELA 7	Caracterização das 18 propriedades leiteiras dos Grupos A (<1.000 litros de leite/dia) e B (>1.000 litros de leite/dia) da microrregião de Lavras, MG, 2004.....	43
TABELA 8	Frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em fêmeas bovinas menores de 24 meses de idade de propriedades leiteiras dos grupos A (< 1.000 litros de leite/dia) e B (> 1.000 litros de leite/dia) da microrregião de Lavras, MG, 2004.....	45
TABELA 9	Municípios e frequência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em fêmeas bovinas menores de 24 meses de idade de propriedades leiteiras da microrregião de Lavras, MG.....	46
TABELA 10	Frequência (%) dos parâmetros reprodutivos analisados nas fazendas Ponte Alta e Pinheiros em função da soropositividade dos bovinos para <i>N. caninum</i> , março a junho 2007.....	50
TABELA 11	Características descritivas das propriedades leiteiras Ponte Alta e Pinheiros, março a junho 2007.....	51
TABELA 12	Valores de P para as variáveis independentes testadas pelo teste de qui-quadrado.	52

INDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1 Mapa com as 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais.....	28
FIGURA 2 Árvores genealógicas dos rebanhos das Fazendas Ponte Alta e Pinheiros em que foi verificada a transmissão horizontal para <i>N. caninum</i> , 2007.....	48

RESUMO

SANTOS, Raquel Ribeiro Dias. **Aspectos epidemiológicos da neosporose bovina em rebanhos leiteiros de Minas Gerais**. 2008. 97 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

A neosporose bovina é uma doença parasitária causada pelo protozoário *Neospora caninum*, atualmente uma das principais causas de aborto em bovinos leiteiros e de corte em todo o mundo. O objetivo principal deste estudo foi determinar a frequência de infecção por *N. caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras e relacionar os fatores de risco ao status sorológico dos animais. Para tanto foram realizados dois estudos, o primeiro teve como objetivo determinar a frequência de anticorpos anti-*N. caninum* e os fatores de risco associados a soropositividade, em 18 rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras, sul de Minas Gerais. Para isso, 534 amostras de soros, coletadas de bezerras (maiores de três meses idade) e novilhas (até 24 meses de idade), foram divididas em dois grupos de acordo com a produção de leite da fazenda: Grupo A (<1.000 litros de leite/dia) e B (>1.000 litros de leite/dia). A sorologia foi realizada por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e como ponto de corte o título de 1:200. A frequência nos rebanhos foi de 100% (18/18). A frequência média global de animais infectados por *N. caninum* foi de 46,25% (247/534) e, 43,66% (93/213) para fazendas do grupo A, e de 47,97% (154/321) para o grupo B; e não foi observada diferença significativa ($p>0,05$) entre os dois grupos. Não foi verificada associação significativa ($p>0,05$) entre os fatores de risco e a soropositividade para *N. caninum* em ambos estudos. O segundo estudo foi realizado em dois rebanhos leiteiros e cujo objetivo foi relacionar a infecção por *N. caninum* com os parâmetros reprodutivos e produtivos e quantificar as taxa de transmissão vertical e investigar a ocorrência de transmissão horizontal. A frequência de animais por *N. caninum* nos rebanhos foi de 39,4% (93/236) para o rebanho da fazenda Ponte Alta e de 28,6% (32/102) para a fazenda Pinheiros. A frequência média global dos dois rebanhos foi de 36,68% (124/338). A transmissão vertical foi de 29% no rebanho da Fazenda Ponte Alta e de 9% no rebanho na Fazenda Pinheiros. A taxa global de transmissão vertical foi de 23,72%. Em relação aos efeitos do *N. caninum* sobre a produção e reprodução nos dois rebanhos, não houve diferença significativa entre a produção leiteira, o intervalo de partos, a ocorrência de abortos e outros problemas reprodutivos. Os resultados deste estudo demonstram que a infecção por *N. caninum* está amplamente distribuída entre bezerras e novilhas da microrregião de Lavras, sul de Minas Gerais; e confirmam a importância da transmissão vertical na epidemiologia da neosporose bovina e sua contribuição para manutenção da infecção no rebanho. Embora não seja a rota principal de infecção, a transmissão horizontal foi identificada nas duas fazendas e deve ser levada em consideração para a realização da prevenção e controle da doença nesses rebanhos.

* Comitê Orientador: Dr. Antônio Marcos Guimarães - UFLA - (Orientador); Dr^a Christiane M. B. M. Rocha - UFLA - (Co-orientadora); Dr. Christian Hirsch - UFLA - (Co-orientador).

ABSTRACT

SANTOS, Raquel Ribeiro Dias. **Epidemiology of bovine neosporosis in dairy herds of the Minas Gerais state** 2008. 97 p. Dissertation (Master in Veterinary Sciences) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

Neosporosis is a major cause of abortion in dairy and cattle worldwide. The global objective of this study was determined the frequency of infection in calves and heifers from dairy herds of Lavras, MG. For than two studies were carried, the first one was to establish the frequency of infection and to analysis risk factors to *Neospora caninum* in calves and heifers from 18 dairy herds of Lavras, Minas Gerais State. Five hundred and thirty and four samples were screened by indirect immunofluorescence antibody test (IFAT) using cut off dilution of 1:200. The dairy herds were classified in two groups: group A) herds produced more than 1,000 lid of milk/day and group B) herds produced less than 1,000 lid of milk/day. The herd prevalence was 100% (18/18). The overall frequency of *N. caninum* infection was 46.25% (247/534) such as 43.66% (93/213) and 47.97% (154/321) in group A and B, respectively. There was no statistically significant difference between the groups ($p>0.05$). There was no significant association between risk factor and serology for *N. caninum* ($p>0.05$).The second one, was to establish the frequency of transplacental transmission and to analysis reproductive factors to *N. caninum* in calves and heifers from two dairy herds of Minas Gerais State. Three hundred and sixty and nine samples were screened by indirect immunofluorescence antibody test (IFAT) using cut off dilution of 1:200. The frequency of *N. caninum* infection was 39, 4 % (93/236) and 31, 37 % (32/102) in farms Ponte Alta and Pinheiros, respectively. Transplacental transmission was 29% in Ponte Alta and 9 % in Pinheiros. The global of transplacental transmission were 23, 72%. In both farms was determined post-natal transmission. There was no significant association between milk production, reproductive factors and serology for *N. caninum* ($p>0.05$).The results indicate that the infection for *N. caninum* appears to be widespread between calves and heifers of dairy herds in micro region of the Lavras, south of Minas Gerais State, and even so post-natal transmission does not the major route of transmission, this route was identified on two farms and this route was important to do the control for this illness in this dairy herds.

* Guidance Committee: Dr. Antônio Marcos Guimarães - UFLA - (Adviser); Dr^a Christiane M. B. M. Rocha- UFLA - (Co-adviser); Dr. Christian Hirsch- UFLA - (Co-adviser)

1 INTRODUÇÃO

O Brasil cada vez mais se consolida como o país de grande importância na produção agropecuária mundial. O agronegócio, cuja maior transformação ocorre nas fazendas brasileiras, impulsiona a economia e gera empregos. A localização do país no globo, assim como sua topografia são fatores favoráveis para produção agropecuária. O efetivo de bovinos em 2004 manteve a posição de maior rebanho comercial do mundo, com mais de 204 milhões de animais. A produção total de leite no país em 2005 foi de 25 bilhões de litros de leite, sendo ordenhadas 21 milhões de vacas.

Minas Gerais é o maior produtor de leite no país. Em 2005, produziu 6.629 milhões de litros. Para que o país e Minas Gerais continuem se destacando na produção leiteira, alguns desafios terão que ser alcançados, como melhorar a produtividade dos animais e a sanidade dos rebanhos com destaque para o controle das doenças reprodutivas.

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). Desde a sua descoberta, este parasito tem emergido como um patógeno significativo, acometendo várias espécies animais como a bovina, sendo apontado em algumas regiões, como uma das maiores causas de abortos nessa espécie animal (Mayhew et al., 1991).

Os abortamentos induzidos pelo parasito acometem rebanhos de corte e leite, sendo relatados em vários países, determinando um grande impacto econômico e gerando enormes prejuízos para a pecuária (Dubey, 1999a). Na Califórnia, EUA, as perdas anuais estão estimadas em 35 milhões de dólares (Anderson et al., 1995). Na Austrália, o valor encontra-se em torno de 85 milhões de dólares/ano para a indústria leiteira e 25 milhões de dólares para a

pecuária de corte (Dubey, 1999a). As perdas não se limitam apenas aos abortamentos. Devem ser considerados os custos indiretos associados ao aborto, tais como infertilidade, repetições deaios, assistência veterinária e possível queda na produção leiteira.

O descarte prematuro de matrizes e os gastos com mão-de-obra também devem ser incluídos no cálculo do custo da doença. Em rebanhos de corte, *N. caninum* tem sido associado à redução significativa no ganho de peso de bezerros após a desmama e na produção de carcaças leves (Barling et al., 2000).

O protozoário está amplamente distribuído no território brasileiro e a transmissão transplacentária (vertical) é considerada a principal via de infecção para os bovinos, podendo acontecer com uma frequência de até 95% (Davision et al., 1999). É a rota de transmissão mais importante e responsável pela manutenção ou expansão da infecção no rebanho por sucessivas passagens de geração para geração (Dubey, 1999). Além disso, infecções pós-natal têm sido observadas, provavelmente causadas por consumo de alimento e água contaminados com oocistos eliminados dos hospedeiros definitivos: cães e coiotes (McAllister et al., 1998; Gondim et al., 2004).

Métodos sorológicos são utilizados para detectar anticorpos anti-*N. caninum* em amostras de soros sanguíneos, fluido cérebro-espinhal, colostro ou leite (Barber & Trees, 1998), fornecendo informações a respeito da ocorrência do agente. Testes tais como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA) utilizando extrato de taquizoítos, antígenos incorporados a imunocomplexos estimulantes, ou ainda anticorpos de captura e teste de aglutinação (NAT) têm sido envolvidos em estudos epidemiológicos para detectar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em infecções naturais, além de serem amplamente utilizados no monitoramento de infecções experimentais (Jenkins et al., 2000).

Muitos fatores relacionados ao *N. caninum* continuam sem respostas (Pérez-Zaballos et al., 2005; Dubey et al., 2006) e para realizar o controle da neosporose esses fatores precisam ser estabelecidos. Para tanto, é necessário identificar os fatores de risco associados à epidemiologia desse parasito nas diferentes áreas (Warleta et al., 2008).

Em função dos prejuízos econômicos provocados pela neosporose bovina e do número limitado de estudos sobre esta enfermidade no Sul de Minas Gerais, é importante que se estabeleça a frequência de rebanhos infectados e as vias de transmissão do *N. caninum* em rebanhos leiteiros nesta área como medida preliminar de futuras ações que visem ao seu controle.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O objetivo principal deste estudo foi determinar a frequência de infecção por *N. caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras e relacionar os fatores de risco ao status sorológico dos animais, bem como avaliar o efeito deste protozoário sobre a reprodução e a produção de leite.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar a frequência de *N. caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros.
- Determinar os fatores zootécnicos e sanitários envolvidos com a frequência de *N. caninum* em rebanhos leiteiros.
- Determinar a frequência de anticorpos anti- *N. caninum* em cães criados em área rural dos municípios de Carrancas e Lavras.
- Avaliar o efeito da infecção por *N. caninum* sobre as alterações reprodutivas e a produção em dois rebanhos leiteiros.
- Quantificar as taxa de transmissão vertical e investigar a ocorrência de transmissão horizontal em dois rebanhos leiteiros.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 *Neospora caninum*

N. caninum é um protozoário descrito em cães desde 1988 e posteriormente em bovinos. O parasito está relacionado estrutural e morfológicamente com o *Toxoplasma gondii*, sendo a sua classificação taxonômica, segundo Dubey & Lindsay (1999) assim descrita:

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoasida

Ordem: Eucoccidiorida

Família: Sarcocystidae

Gênero: *Neospora*

Espécie: *N. caninum*

O ciclo de vida apresenta três estágios infecciosos: bradizoítos, taquizoítos e esporozoítos. Taquizoítos e cistos teciduais são estágios encontrados nos hospedeiros intermediários. Os bradizoítos representam o estágio de proliferação lenta, no qual os parasitas formam cistos teciduais, principalmente no sistema nervoso central (Dubey, 2006).

Os cistos teciduais apresentam-se arredondados ou elípticos, com até 107 μm de diâmetro e são encontrados em células do sistema nervoso, como cérebro, medula espinhal, nervos e retina (Dubey et al., 1988). A parede do cisto é lisa, medindo até 4 μm de espessura, dependendo do tempo de infecção.

No interior dos cistos, encontram-se os bradizoítos, os quais são delgados, medindo 6-8 μm de comprimento por 1-1,8 μm de largura e contendo as mesmas organelas dos taquizoítos, exceto por um menor número de roptrias e maior número de grânulos (Dubey et al., 2006).

Sob certas circunstâncias, como prenhez e imunodeficiência, os bradizoítos, após o rompimento do cisto tecidual, podem converter-se em taquizoítos, que se proliferam assexuadamente, promovendo a infecção fetal ou então causar lesões nesses animais imunossuprimidos.

Os taquizoítos de *N. caninum* medem aproximadamente 7,5µm x 2 µm, podendo variar de tamanho conforme o estágio de divisão (Lindsay et al., 1996). Apresentam a forma ovóide, semilunar ou globular e uma célula infectada pode conter mais de 100 taquizoítos. Os oocistos esporulados medem 11,7µm de comprimento por 11,3µm de diâmetro, contém dois esporocistos com quatro esporozoítos cada um (McCallister, 1998; Dubey et al., 2002).

A ingestão oral de cistos que contêm bradizoítos por hospedeiros carnívoros promove a diferenciação sexual do parasito nos tecidos intestinais, com formação de oocistos não esporulados que são excretados nas fezes. No ambiente, nesses oocistos se desenvolvem os esporozoítos, por um processo chamado de esporulação. Os oocistos esporulados são, oralmente, infectantes para carnívoros e herbívoros, sendo de importância vital na epidemiologia da neosporose devido à contaminação ambiental (Dubey et al., 2002).

O *N. caninum* tem como hospedeiros definitivos o cão e coioete que eliminam oocistos após a ingestão de tecidos ou órgãos dos hospedeiros intermediários (Gondim et al., 2004). Os oocistos após a esporulação no ambiente dentro de 48-72 h, em condições favoráveis, podem ser ingeridos pelos hospedeiros intermediários.

A neosporose está amplamente distribuída em vários estados brasileiros, sendo relatada a ocorrência do parasito ou de anticorpos séricos anti-*N. caninum* nos bovinos, caprinos, ovinos e caninos (Dubey & Lindsay, 1996).

3.2 Transmissão

N. caninum é transmitido de forma muito eficiente nos rebanhos bovinos. Os três estágios infectantes estão envolvidos na transmissão do parasito (Dubey et al., 2007).

De acordo com Dubey et al. (2006), a transmissão horizontal ocorrerá quando os bovinos ingerirem oocistos esporulados de *N. caninum*. A transmissão vertical é responsável pela propagação da infecção de uma fêmea persistentemente infectada para sua prole durante a gestação. Transmissão pós-natal e congênita recebem denominações alternativas na literatura tais como rotas horizontal e vertical e transmissão transplacentária exógena e endógena, estas duas últimas mais recentes com a finalidade de descrever com mais precisão a origem e a rota de infecção do feto (Innes et al., 2001).

A 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 vertical contribui significativamente para a persistência do *N. caninum* no rebanho e para a propagação da infecção, sendo que os animais infectados assim permanecem durante toda a vida, podendo transmitir a infecção para suas gerações de forma consecutiva ou intermitente (Dubey et al., 2006).

Anderson et al. (1997) observaram a transmissão vertical de *N. caninum* em novilhas que se infectaram por via transplacentária. Estas se apresentavam saudáveis quando jovens, porém, quando adultas transmitiram o parasito para o feto, caracterizando com isso, os efeitos negativos da manutenção do *N. caninum* no rebanho.

A infecção por *N. caninum* em fetos não pode ser simplesmente descartada devido à ausência de anticorpos em soros ou fluidos fetais. A presença de anticorpos é determinada pela condição imunológica do feto que, por sua vez, depende da idade do mesmo, da dose infectante e da resposta imune da mãe (Dubey et al., 1998).

O aborto é a principal manifestação clínica da neosporose tanto em gado de corte ou de leite (Anderson et al., 1991). Abortos podem ser epidêmicos, endêmicos e esporádicos. 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), devido à recrudescência da infecção durante a gestação (Dubey & Schares, 2006).

De acordo com Dubey et al. (2006), a transmissão horizontal pode resultar em uma alta taxa de abortos. Em outros casos a transmissão horizontal em rebanhos leiteiros não resulta no aumento de incidência de abortos, por estes rebanhos estarem infectados com uma amostra de *N. caninum* com baixa virulência. A incidência de infecção horizontal subclínica ainda não foi determinada.

Rebanhos soropositivos, tanto leiteiros como de corte, têm maior probabilidade de ocorrência de abortos e até 95% dos bezerros nascidos de mães soropositivas podem ser infectados congenitamente, mas nascem clinicamente normais (Dubey et al., 2006).

Alguns autores descrevem que ocorre um decréscimo na proporção de bezerros infectados congenitamente em vacas com maior número de partos, o 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. O desenvolvimento de imunidade protetora contra novos

abortos em vacas após a primo-infecção com *N. caninum* tem sido indicado por outros pesquisadores (Dubey et al., 2006).

Evidências da eficiência da transmissão vertical são demonstradas pela comparação do status sorológico das vacas e sua progênie (Dubey et al., 2007).

Até o presente momento, a transmissão de animal para animal de *N. caninum* não foi descrita. Uggla et al. (1998) demonstraram que a infecção por *N. caninum* via colostro poderia ser uma possível rota de transmissão vertical resultante da infecção de recém-nascidos com poucas horas de vida. Embora outro estudo realizado por Dubey et al. (1998) indicou que os taquizoítos de *N. caninum* não são resistentes ao HCl.

Davison et al. (2001) concluíram que o *N. caninum* presente no leite e no colostro pode ser transmitido para bezerros jovens, não infectados congenitamente, por meio do pool de colostro realizado nas fazendas leiteiras tecnificadas do Reino Unido.

Moskwa et al. (2007), sintetizaram que em algumas situações bezerros podem ser infectados via colostro, se, por exemplo, um grande número de taquizoítos estiver presente no colostro ou leite de um animal individualmente.

Poucos estudos sugerem que o sêmen de touros infectados podem ser potenciais vetores da transmissão venérea da neosporose bovina (Gay et al., 2006). De qualquer modo, o DNA de *N. caninum* pode ser encontrado no sêmen de touros naturalmente expostos. Resultados sugerem que a viabilidade desses organismos, quando presentes, é pequena e infreqüente (Dubey et al., 2007).

Baillargeon et al. (2001) e Landmann et al. (2002) demonstraram que a transferência de embriões é uma técnica segura e eficiente de controle da transmissão vertical, uma vez que os embriões provindos de doadoras positivas, se transferidos para receptoras negativas, rompem o ciclo da infecção congênita. Porém, o contrário pode acontecer: se ocorrer a transferência de embriões de doadoras, tanto negativas como positivas, para receptoras positivas ao *N.*

caninum, estas são capazes de transmitir a infecção ao feto. No estudo de Baillargeon et al. (2001), o índice de transmissão vertical foi de 75% quando embriões foram implantados em receptoras positivas.

3.3 Sinais clínicos

A neosporose bovina tem sido relatada como uma das maiores causas de aborto e de falhas reprodutivas nos rebanhos em todo mundo (Dubey & Lindsay, 1996). Vacas infectadas com esse parasito têm de três a sete vezes mais chances de abortarem quando comparadas a animais não infectados (Innes et al., 2005).

O aborto é o sinal clínico mais freqüente em vacas adultas e pode ocorrer em qualquer estágio da infecção, sendo, mais freqüente entre o 5° e 6° mês de gestação (Dubey, 2003). Fetos abortados antes de cinco meses de gestação podem estar mumificados e ficarem retidos no útero por vários meses, a infecção no início da gestação geralmente resulta em reabsorção (Anderson et al., 1991).

O estágio da gestação durante a qual ocorre a infecção por *N. caninum* é importante no resultado da doença. Infecções adquiridas no início da prenhez, antes de o feto desenvolver o sistema imune, comumente causam morte fetal e reabsorção. Infecções no meio da gestação podem 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).

A neosporose em bezerros neonatos apresenta sinais clínicos como os membros posteriores e/ou anteriores flexionados ou hiperestendidos, ataxia, diminuição do reflexo patelar, perda da consciência, exoftalmia, assimetria ocular e deformidades associadas com lesões de células nervosas e, na fase embrionária, geralmente, esses estão abaixo do peso da média e têm poucas chances de sobrevivência (Dubey & Lindsay, 1996).

O aparecimento dos sinais clínicos em bezerros nascidos de mães infectadas ocorre cerca de cinco dias após o parto. (Barr et al. 1993; Dubey. 1989) observaram ainda mielite, miocardite e encefalite associadas ao *N. caninum* em bezerros infectados.

Dubey (1989) observou que bezerros podem nascer com distúrbios neurológicos ou desenvolvê-los alguns dias após o nascimento e, além disso, vacas com histórico de neosporose podem abortar novamente ou gerar bezerros infectados em próximas gerações. Barr et al. (1993) verificaram ainda que a infecção e abortamentos ocorrem em gestações consecutivas ou não.

Infecções em bovinos leiteiros têm sido associadas a abortos, mortalidade neonatal com um decréscimo de 3% a 4% na produção leiteira (Hernández et al., 2001). É importante salientar que há um significativo aumento no intervalo entre partos nas vacas soropositivas. Vacas reagentes, comparadas às soronegativas, podem apresentar maior número de inseminações por prenhez, evidenciando o baixo desempenho reprodutivo (Hall et al., 2005). Em estudo realizado na Argentina, em gado de corte, Moore et al. (2002) concluíram que ocorrem perdas na reprodução devido à infecção por *N. caninum* incluindo aborto, baixo ganho de peso nos bezerros e produção de carcaças de baixa qualidade.

Em rebanhos leiteiros na Costa Rica, Romero et al. (2005) concluíram que o status sorológico não afetou de modo significativo a produção leiteira das vacas e os parâmetros reprodutivos; não havendo diferença entre o intervalo entre partos e o número de serviços por concepção.

3.4 Frequência de bovinos infectados por *N. caninum* no Brasil e no mundo

O primeiro inquérito sorológico para *N. caninum* no Brasil foi relatado por Brautigam et al. (1996) em bovinos criados no Mato Grosso do Sul e São Paulo. Uma indicação de que a neosporose poderia ser uma significativa causa

de abortos em bovinos no país foi observada em estudo com vacas leiteiras com histórico de abortamento em São Paulo (Gondim et al., 1999). O primeiro caso confirmado da infecção por *N. caninum* foi publicado por Gondim et al. (1999) em bovinos no Estado da Bahia.

Nesse mesmo ano, ocorreu o primeiro isolamento de *N. caninum* no país (Gondim et al., 1999), em um cão da raça Collie, com sete anos de idade, que apresentava neuropatia, com incoordenação e paresia de membros posteriores. O título sérico de 1: 1.600 para *N. caninum* foi determinado pela imunofluorescência indireta.

Levantamentos sorológicos no Brasil apontam ocorrências de anticorpos anti-*N. caninum* que variam de 8,0 % a 67,8 % Gennari (2004). Essa diferença é decorrente do tipo de amostragem utilizada, como as provenientes de animais que sofreram abortamentos ou de uma amostra simplesmente casualizada. Influencia também o índice de soro-reatividade e a sensibilidade do método de diagnóstico utilizado (Tabela 1).

A ocorrência de animais positivos pode variar com o tipo de exploração, manejo do rebanho e a presença de hospedeiros definitivos. Rebanhos leiteiros mostram maior ocorrência de anticorpos (35,9%) quando comparados aos de corte (17,9%) (Pituco et al., 1998). Entretanto, outros autores apontam semelhanças nas taxas, conforme Sartor et al. (2003), que constataram 15,9 % em rebanhos leiteiros e de 15,5% em gado de corte em São Paulo.

Em Minas Gerais, anticorpos anti-*N. caninum* foram relatados inicialmente por Melo & Leite (1999). Em um estudo retrospectivo, a frequência de anticorpos para o parasito no Estado, em 1997, foi de 18,66% para fêmeas de sete a 18 meses, 17,94% para animais de 19 a 30 meses e 20,63% para vacas com idade a partir de 31 meses (Melo et al., 2001).

Melo et al. (2001) analisaram, pelo teste de Elisa, amostras de soros de bovinos pertencentes a 18 rebanhos que foram agrupados em duas categorias, de

acordo com o tipo de leite produzido nas propriedades: 1) rebanhos produtores de leite tipo A/B e 2) rebanhos produtores de leite tipo C, constatando freqüências diferentes de infecção por *N. caninum*, de 27,31% (65/238) para o sistema leiteiro do tipo A/B e de 12,72% (44/346) para o sistema leiteiro do tipo C. Também houve diferença entre as mesmas faixas etárias quando comparados os dois sistemas leiteiros, mas a idade não diferiu dentro de um mesmo sistema produtivo.

Em estudo analisando 18 rebanhos leiteiros oriundos de 14 municípios de Minas Gerais, a freqüência variou de nenhum animal positivo em Lavras a 72,73% em Caeté (Melo & Leite, 2001). Nesse estudo, os animais foram divididos em três faixas etárias, sendo a freqüência de animais positivos de sete a 18 meses foi de 7,69% (5/65) em rebanhos produtores de leite C e 30,77% (16/52) em rebanhos produtores de leite A/B. Em relação aos animais de 19 a 30 meses, a freqüência de positivos variou de 12,33% (9/73) no grupo produtor de leite C a 32,08% (17/53) no grupo produtor de leite A/B. Nos animais com idade acima de 31 meses, a freqüência variou de 14,42% (30/208) nos produtores de leite C e 24,06% (32/132) nos produtores de leite A/B.

Em estudo realizado em soros bovinos provenientes de seis estados brasileiros (Minas Gerais, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul), a freqüência de soropositivos conforme a idade foi de 12,5% para animais de 0 a 24 meses, 20,2% para animais de 24 a 48 meses e 25,6% para 48 a 72 meses e 24,1% para animais de 72 a 181 meses de idade (Ragozzo et al., 2003).

Em ensaio para determinar a taxa de infecção por *N. caninum* em vacas e fetos provenientes da microrregião de Lavras, MG, a freqüência global média dos rebanhos leiteiros foi de 91,2% (510/559), indicando que o parasito está amplamente distribuído em bovinos leiteiros da região (Guedes, 2006).

A frequência de *N. caninum* varia dependendo do país e da região estudada (Tabela 2) (Warleta et al., 2008). Em um estudo comparativo realizado por Bartels et al. (2006), a frequência em rebanhos leiteiros na Europa variou de 0,5% na Suíça a 16,2% na Espanha. A frequência tem sido estimada entre 14,1% a 40,4% nas Américas (Paré et al., 1996; Chi et al., 2002; Moore. 2005), 5,7 % a 35,6% na Ásia (Hur et al., 1998; Koiwai et al., 2005) e 6,0% a 21,1% na Oceania (Hall et al., 2006).

TABELA 1 Valores de ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos de diferentes estados brasileiros, respectivas técnicas e autores.

Estado	Amostras analisadas	Ocorrência (%)	Técnica	Autor(es)
SP	40	15,0	ELISA	Brautigam(1996)
SP	102	34,3	ELISA	Pituco et al.(1998)
BA	447	14,0	RIFI	Gondim et al.(1999)
MS	91	7,7	ELISA	Andreooti et al.(1999)
SP	28	67,8	RIFI	Belo et al.(1999)
SP	521	16,3	RIFI	Sartor et al.(1999)
MG	39	7,7	ELISA	Melo & Leite (1999)
PR	385	11,7	RIFI	Ogawa et al.(1999)
SP	777	15,5	RIFI	Hasegawa (2000)
MG	584	18,7	ELISA	Melo et al. (2001)
PR	172	34,8	ELISA	Locatelli-Dietrich et al. (2001)
SC	29	65,5	ELISA	Corbellini et al. (2001)
MG	88	6,8	RIFI	Costa et al. (2001)

“... continua...”

“Tabela 1, cont.”

BA	391	10,3	RIFI	Jesus et al. (2002)
PE	469	34,7	RIFI	Silva et al. (2002)
RJ	140	33,6	ELISA	Munhoz et al. (2002)
MS	110	28,2	RIFI	Ragozo et al. (2003)
MG	162	29,0	RIFI	Ragozo et al. (2003)
PR	90	22,2	RIFI	Ragozo et al.(2003)
RJ	150	14,7	RIFI	Ragozo et al.(2003)
RS	140	20,0	RIFI	Ragozo et al.(2003)
RO	2109	8,7	RIFI	Aguiar (2004)
SP	408	35,5	ELISA	Sartor et al. (2005)
RO	2109	10,4	RIFI *	Aguiar et al. (2006)
RJ	563	23,2	ELISA**	Munhoz et al. (2006)
MG		91,2	RIFI	Guedes (2006)

Fonte: Adaptado de Gennari (2004)

*Reação de imunofluorescência indireta

** Ensaio Imunoenzimático

TABELA 2 Levantamento soroepidemiológico de *N. caninum* em bovinos no mundo, segundo o país, frequência de soropositivos, técnica utilizada, autor e ano.

Local	Frequência (%)	Técnica	Autor (es) e ano
USA	34,0%	RIFI*	Paré et al. (1994)
França	26,0%	ELISA**	Klein et al. (1997)
Chile	15,7 %	RIFI	Patitucci et al. (2000)
Argentina	13,3%	RIFI	Moore et al. (2002)
USA	16,0%	ELISA	Rodrigues et al. (2003)
Portugal	46%	NAT ***	Canada et al.(2004)
Canadá	12,0%	ELISA	Hobson et al. (2005)
Itália	30,8%	ELISA	Rinaldi et al. (2005)
Costa Rica	43,3%	ELISA	Romero et al. (2005)
Austrália	21,1%	ELISA	Hall et al. (2006)
Uruguai	11,3%	ELISA	Bañales et al. (2006)
Espanha	15,7%	ELISA	Warleta et al. (2008)
China	17,2%	ELISA	Yu et al. (2007)
Nova Zelândia	33,6%	RIFI	Reitt et al. (2007)

*Reação de imunofluorescência indireta

**Ensaio imunoenzimático

***Teste de aglutinação *Neospora*

3.4.1 Fatores de risco

Diversos fatores de risco para a infecção por *N. caninum* em bovinos têm sido relatados na literatura. A determinação dos fatores de risco para que os rebanhos adquiram *N. caninum* e a associação da infecção ao aborto são etapas fundamentais para o desenvolvimento e a implementação de medidas de controle da neosporose bovina (Dubey et al., 2007).

Muitos pesquisadores têm realizado estudos para identificar os fatores de risco nos rebanhos e nos animais em individual, comparando o status sorológico às diversas variáveis. Os resultados desses estudos podem ser influenciados pela sensibilidade e especificidade do teste sorológico utilizado, flutuações nos níveis de anticorpos durante a gestação, estágio da prenhez ou número de partos (Dubey et al., 2007).

De qualquer modo, a repetição de estudos para a identificação do mesmo fator de risco ou fator de proteção em diferentes regiões, aumenta a evidência de um fator ser realmente um verdadeiro fator de risco ou de proteção frente à infecção ou a doença (Dubey et al., 2007).

Na Holanda, Bartels et al. (1999) realizaram um estudo com o objetivo de analisar fatores de risco para *N. caninum* associado a surtos de abortamento e apontaram como fatores significantes a presença de cães e aves na propriedade, além da alimentação com silagem de milho úmida, durante o verão. Em estudo realizado por Otranto et al. (2003), em rebanhos de corte e leite na Itália, a presença de aves nas fazendas foi caracterizada como fator de risco para infecção por *N. caninum*. Os autores acreditam que as aves podem ser vetores mecânicos para os oocistos, ou os cães podem adquirir a infecção após ingerirem aves infectadas.

Realmente, as aves foram consideradas, experimentalmente, como suscetíveis a neosporose e podem ser consideradas como potenciais hospedeiros intermediários (Mc. Guire et al., 1999).

Barling et al. (2001), no Texas, realizaram estudo para verificar se práticas de manejo estavam associadas à prevalência de *N. caninum* em rebanhos de corte. Nesse estudo, constituíram-se fatores de risco: período de nascimento dos bezerros, densidade animal, manutenção dos animais em uma única área e canídeos selvagens terem acesso à ração. O uso de cães no manejo de bovinos e comedouros protegidos funcionou como fator de proteção.

Com o objetivo de determinar os fatores de risco envolvidos no aparecimento da infecção por *N. Caninum*, Corbellini et al. (2002), em estudo realizado em fazendas leiteiras no Sul do Brasil, concluíram que o número de cães na fazenda é um fator de risco para a infecção. O mesmo resultado foi encontrado por Rinaldi et al. (2005) na Itália. Essa associação se deve ao fato que os cães liberam oocistos nas áreas de pastagem, levando ao aumento de animais infectados no rebanho (Schares et al., 2003).

Há várias indicações de que a soroprevalência para *N. caninum* pode variar de acordo com a raça dos animais (Bartels et al., 2006). Esses resultados precisam ser interpretados com cautela já que as diferenças encontradas podem estar relacionadas ao sistema de produção e não à susceptibilidade à infecção por determinada raça (Dubey et al., 2007).

Um exemplo claro para isso são as raças nativas de touros da Espanha serem consideradas mais resistentes à infecção quando comparadas às raças puras ou cruzamentos industriais. Isso pode ser explicado pelo fato de que as raças nativas sofrem menos pressão e a intensidade do manejo é menor, os animais são criados em pastagens com densidade animal menor quando estas são comparadas às outras raças (Bartels et al., 2006).

A alta densidade tem sido associada a uma maior soropositividade para *N. caninum*, (Sanderson et al. 2000; Otranto et al. 2003). Entretanto, Aguiar et al. (2006) em estudo realizado em Rondônia não encontraram associação entre a taxa de densidade animal e aumento da frequência de animais soropositivos para

N. caninum. No entanto, autores observaram uma grande associação entre o tamanho do rebanho e a presença de vacas soropositivas, sendo nove vezes maior a chance de terem animais reagentes os rebanhos com mais de 25 bovinos adultos.

Em estudo realizado por Guedes (2006), na região sul de Minas Gerais, o tamanho da propriedade foi descrito como um fator de risco para infecção por *N. caninum*. Animais oriundos de fazendas com área menor que 100 *ha* apresentaram maior probabilidade de serem soropositivos. Provavelmente, devido a maior chance de os bovinos se infectarem através da ingestão de oocistos eliminados por cães nas pastagens.

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

Em rebanhos leiteiros e de corte na Itália, resultado semelhante foi encontrado por Otranto et al. (2003), onde a aquisição de novos animais foi um forte fator de risco e fazendas que realizavam reposição dos animais com seus próprios bezerros tiveram menor frequência de animais positivos quando comparadas àquelas que realizavam a reposição com aquisição de animais de outros rebanhos.

Corbellini et al. (2006) descreveram que a região e a umidade podem ser fatores de risco para *N. caninum*, assim, em regiões com umidade relativamente alta os oocistos podem esporular e permanecer viáveis no ambiente por mais tempo.

O risco de ser soropositivo é maior com o aumento da idade e o número de gestações, tanto em rebanhos de leite como de corte. Sugerindo que a

transmissão horizontal é particularmente importante em alguns rebanhos. (Dubey et al., 2007).

Rinaldi et al. (2005) observaram que vacas e novilhas apresentavam maior soroprevalência que bezerros. Já em estudo realizado por Corbellini et al. (2006), a soropositividade não diferiu significativamente de acordo com a idade do animal. Esse resultado sugere que nos rebanhos estudados no Sul do Brasil a transmissão vertical continua a ser a principal rota de transmissão da neosporose bovina.

Pesquisas realizadas nos últimos anos demonstram que a presença e o número de cães nas propriedades constituem um importante fator de risco para a infecção e a ocorrência de abortos nos bovinos, indicando uma associação entre a infecção em ambas as espécies.

Sawada et al. (1998) & Wouda et al. (1999) observaram que cães criados em propriedades leiteiras apresentavam maior frequência de infecção por *N. caninum* que cães mantidos em áreas urbanas, fato também observado por Sanchez et al. (2003) em pesquisa semelhante realizada na região de Tizayuca, México.

Gennari et al. (2002) observaram soroprevalência de 40,1% em cães de rua (25/61) e de 20%, em cães com domicílio fixo. Cães de áreas periurbanas apresentaram frequência mais alta do que os de áreas urbanas (Fernandes et al., 2004). Os animais com acesso à rua ou contato com outras espécies animais podem ser mais frequentemente infectados com *N. caninum* (Gennari et al., 2002; Fernandes et al., 2004). Patitucci et al. (2001) observaram diferenças no percentual de cães positivos que comiam carne crua (29,5%). Também Cañón-Franco et al. (2003) mencionaram que a proporção de cães soropositivos sob dieta caseira foi maior do que a de cães alimentados com comida comercial.

Trees et al. (1993), por meio da RIFI, observaram uma frequência de 13% de cães soro reagentes ao *N. caninum*. Não relataram correlação entre os níveis de anticorpos e raça, sexo, idade, tipo de alimentação.

No Brasil, a infecção por *N. caninum* em cães foi relatada em Uberlândia, MG (Fernandes et al., 2004), no Paraná (Souza et al., 2002), em São Paulo, SP (Gennari et al., 2002), e em Monte Negro, RO (Cañón-Franco et al., 2003). Diversos estudos têm sido realizados no Brasil e no mundo para determinar a importância dos cães na epidemiologia da neosporose. (Tabelas 3 e 4)

TABELA 3 Levantamento soropidemiológico de *N. caninum* em cães no Brasil, pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI), frequência de soropositivos, autor e ano.

Local	Número de amostras	Frequência (%)	Técnica	Autor(es) e ano
São Paulo	295	8,4	RIFI *	Varandas et al. (2001)
Paraná	134	21,6	RIFI	Gennari et al. (2002)
Rondônia	157	8,3	RIFI	Canón-Franco et al. (2003)
Mato Grosso do Sul	345	27,2	RIFI	Andreotti et al. (2004)
Minas Gerais	300	10,7	RIFI	Fernandes et al. (2004)
Bahia	415	12	RIFI	Jesus et al. (2006)
Maranhão	100	45,0	RIFI	Teixeira et al. (2006)
Paraíba	286	8,4	RIFI	Azevedo et al. (2006)

*Reação de imunofluorescência indireta

TABELA 4. Levantamento soroepidemiológico de *N. caninum* em cães de área rural, no Mundo, frequência de soropositivos, técnica, autor e ano.

Local	Número de amostras	Frequência (%)	Técnica	Autor(es) e ano
Japão	48	31,3	RIFI*	Sawada et al.(1998)
Taiwan	13	23	RIFI	Ooi et al.(2000)
Argentina	125	48	RIFI	Basso et al.(2001)
Chile	81	25,9	RIFI	Patitucci et al.(2001)
França	22	22,7	RIFI	Pitel et al.(2001)
México	27	51	ELISA**	Sanchez et al.(2003)
Itália	162	26,5	ELISA	Paradies et al.(2007)
Áustria	433	5,3	RIFI	Wanha et al.(2005)
Iran	50	20,0	RIFI	Malmasi et al.(2006)

*Reação de imunofluorescência indireta

** Ensaio imunoenzimático

3.5 Diagnóstico Sorológico e Histológico

Igualmente ao *T. gondii*, infecções por *N. caninum* expressam repostas a anticorpos que podem ser demonstradas por diferentes testes. A presença de anticorpos nos animais indica que este está ou foi infectado pelo parasito (Bjorkman et al., 1999).

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 considerada de referência quando outros ensaios são comparados (Uggla et al., 1998).

Como os antígenos, na RIFI são utilizados taquizoítos íntegros e o teste detecta anticorpos direcionados para antígenos presentes na superfície do parasita. Nas espécies do filo Apicomplexa, os antígenos de membrana são considerados mais específicos que os componentes intracelulares (Bjorkman et al., 1999). Normalmente, o valor do ponto de corte (“cut-off”) para RIFI difere de um laboratório para outro, mas frequentemente os títulos situam-se na faixa de 1: 160-1: 640 para os ensaios com os soros bovinos e 1:50 em estudos com soros de cães (Bjorkman et al., 1999).

As técnicas histológicas são muito utilizadas no diagnóstico do aborto por *N. caninum*. Juntamente com a placenta, o feto deve ser remetido ao laboratório e, se possível, com o soro sanguíneo da mãe. Os órgãos fetais de eleição para o diagnóstico histopatológico são cérebro, coração e fígado (Silva, 2004).

A identificação do parasito utilizando técnicas de histopatologia é difícil, pois as lesões macroscópicas são pouco frequentes (Anderson et al., 2000) e o número de protozoários também é escasso.

As técnicas de imunistoquímica permitem localizar e identificar os parasitos nos cortes de tecido, utilizando soro policlonal ou anticorpo monoclonal anti-*Neospora* (Dubey et al., 1989).

Em geral, fetos infectados no útero por *N. caninum* contém anticorpos específicos contra o parasito. Sorologia pode ser usada para examinar um feto abortado, utilizando soro 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).

3.6 Controle da neosporose bovina

Devido à inexistência de tratamento e de vacinação eficazes frente à neosporose bovina, os esforços para o controle devem ser dirigidos ao estabelecimento de medidas higiênico-sanitárias com o intuito de evitar a propagação do agente e reduzir o nível de infecção. Tendo em conta o ciclo biológico do parasito e suas possíveis vias de transmissão, as práticas de manejo que devem ser instauradas são divididas em função da transmissão vertical e horizontal (Collantes-Fernandez, 2003).

A medida mais indicada para controlar a infecção congênita é a redução do número de animais infectados mediante o descarte e a reposição seletiva (Jensel et al. 1999). As medidas de controle devem atingir todo o rebanho, sempre em função das taxas de soroprevalência e aborto. A eliminação das vacas soropositivas pode ser a medida mais adequada se a soroprevalência for baixa, porém, se for elevada, as medidas a serem tomadas não devem ser tão drásticas (Oliveira, 2007).

Nos animais soropositivos podem ser observados diferentes tipos de manifestações, que influirão na decisão a ser tomada. Vacas que abortaram uma ou mais vezes devem ser consideradas casos de descarte. Todavia, vacas soropositivas sem antecedentes de aborto podem atuar como portadoras da infecção, devendo-se evitar a utilização de sua descendência para reposição (Oliveira, 2007).

Medidas higiênicas devem ser tomadas com os objetivos de prevenir contra a infecção dos animais soronegativos e de reduzir a possível contaminação ambiental pelas diferentes fases do parasito. Deve-se evitar a ingestão de fetos, fluidos e restos de placentas por cães, bem como o acesso dos mesmos aos locais de comida (pastagens, currais de alimentação) e água, mantendo sempre os alimentos em lugares fechados ou silos. Além do controle

da população de cães, indica-se o controle de roedores, principalmente nos estábulos (Dubey et al., 2007).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento epidemiológico

Este trabalho foi dividido em dois estudos. O primeiro, constituiu-se de um “estudo epidemiológico transversal”, também denominado “estudo de prevalência”. Esse delineamento se caracteriza pela observação direta das variáveis de estudo em uma única oportunidade e sua análise considera que todas as observações foram feitas num mesmo instante, ignorando o espaço de tempo decorrido para a coleta dos dados do primeiro ao último indivíduo.

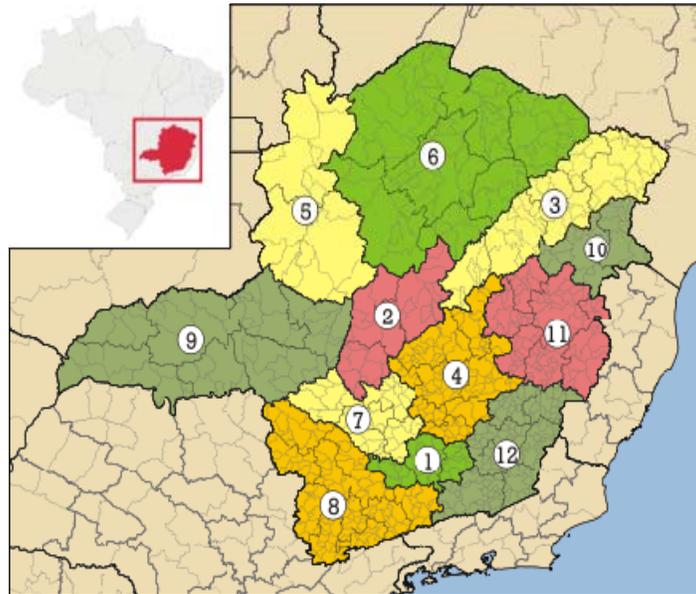
Para o desenvolvimento dessa pesquisa foram selecionadas propriedades rurais de forma aleatória da Cooperativa Agropecuária do Alto Rio Grande (CAARG), Lavras, MG, onde foram realizadas visitas e, na oportunidade, aplicou-se questionário para coletar dados relacionados ao manejo, sistema de produção, histórico de problemas reprodutivos e presença de cães na propriedade. Essas constituíram as variáveis independentes do estudo. A variável dependente caracterizou-se pelo resultado do diagnóstico laboratorial para pesquisa de anticorpos para *N. caninum*.

O segundo estudo foi realizado em dois rebanhos leiteiros, previamente selecionados por possuírem histórico de problemas reprodutivos, dados de produção e árvores familiares de três gerações. Constituiu-se de um estudo para quantificar a taxa de infecção congênita e investigar a ocorrência de transmissão horizontal, bem como avaliar os efeitos da soropositividade para *N. caninum* sobre a produção leiteira e alguns parâmetros reprodutivos.

4.2 Caracterização das regiões estudadas

O estado de Minas Gerais, segundo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), é dividido em 12 mesorregiões, que por sua vez são subdivididas em 66 microrregiões. O Campo das Vertentes é uma das mesorregiões, sendo formado pela união de 36 municípios agrupados em três microrregiões (a de Barbacena, Lavras e São João Del Rei).

A mesorregião do Oeste de Minas é formada pela união de 44 municípios agrupados em cinco microrregiões, entre estas a de Oliveira. Participaram deste estudo oito municípios das microrregiões de Lavras e Oliveira e um distrito da microrregião de São João Del Rei.



Fonte: www.wikipédia.com.br

- | | |
|------------------------|------------------------------------|
| 1. Campo das Vertentes | 2. Central Mineira |
| 3. Jequitinhonha | 4. Metropolitana de Belo Horizonte |
| 5. Noroeste de Minas | 6. Norte de Minas |
| 7. Oeste de Minas | 8. Sul e Sudoeste de Minas |
| 9. Triângulo Mineiro | 10. Vale do Mucuri |
| 11. Vale do Rio Doce | 12. Zona da Mata |

FIGURA 1 Mapa com as 12 mesorregiões do estado de Minas Gerais.

4.3 Estudo 1 - Frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, MG

4.3.1 Características da área da microrregião de Lavras

A microrregião de Lavras é uma das microrregiões do estado brasileiro de Minas Gerais pertencente à mesorregião Campo das Vertentes. Sua população foi estimada em 2006 pelo IBGE em 145.075 habitantes e está dividida em nove municípios. Possui uma área total de 3.430,728 km².

A microrregião possui clima do tipo Cwa clima subtropical/clima tropical de altitude (chuvas no verão), segundo a classificação de KOPPEN, com duas estações bem definidas durante o ano. A estação chuvosa geralmente começa em outubro e se estende até março, com o mês de janeiro apresentando a maior média de precipitação pluvial. Nesse período, as temperaturas média, mínima e máxima variam entre 16,5°C e 22,6°C (Antunes, 1986).

A microrregião de Lavras caracteriza-se como importante pólo de produção leiteira no Sul de Minas Gerais, com um total de 42.070 vacas ordenhadas e uma produção de 108.040 litros por ano (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE, 2005).

Segundo o Instituto Brasileiro Geografia e Estatística, nos sete municípios pesquisados, um total de 33.270 vacas foram ordenhadas e 84.790 mil de litros de leite foram produzidos em 2006. Em cada município o efetivo de rebanho em 2006 foi 13.603 cabeças em Luminárias, 20.105 em Carrancas, 20.091 em Ijaci, 13.362 em Ingaí, 28.455 em Lavras, 21.901 em Nepomuceno, e 3.056 em Ribeirão Vermelho.

4.3.2 Amostras de soros bovinos

As amostras de soros deste estudo foram selecionadas de um banco de soro bovino do Laboratório de Virologia Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (DMV/UFLA). Esse banco possui amostras de soros coletados em 18 propriedades produtoras de leite, distribuídas em sete municípios, na microrregião de Lavras, sul de Minas Gerais.

Para este estudo foram utilizadas amostras de soros de bezerros com quatro meses de vida até novilhas com 24 meses de idade, que foram então subdivididas em dois grupos de acordo com a produção de leite das propriedades: A) fazendas que produziam abaixo de 1.000 litros de leite/dia (n= 8) e B) fazendas que produziam acima de 1.000 litros de leite/dia (n= 10). Os municípios, a quantidade de fazendas envolvidas e o número de amostras de soros coletadas por propriedade, constam na tabela 5.

TABELA 5 Municípios e número de amostras (absoluto e relativo) de soros coletados em propriedades leiteiras da microrregião de Lavras, sul de Minas Gerais.

Município	Nº de propriedades	Nº de amostras coletadas	Frequência (%)
Carrancas	2	59	11,04
Ijaci	1	25	4,68
Ingaí	7	218	40,82
Lavras	3	95	17,79
Luminárias	1	32	5,99
Nepomuceno	3	79	14,79
Ribeirão Vermelho	1	26	4,86
Total	18	534	100

4.3.3 Coleta das amostras de soros bovinos na microrregião de Lavras

A coleta das amostras de sangue (10 mL) ocorreu por meio da punção da veia jugular de cada animal, utilizando tubos a vácuo sem anticoagulante. As coletas foram realizadas uma única vez em cada animal. Durante a coleta das amostras de soros bovinos, foi aplicado um questionário contemplando os principais aspectos zootécnicos e sanitários de cada rebanho, com objetivo de caracterizar as propriedades estudadas e as variáveis que seriam utilizadas para este estudo: tamanho da propriedade, tamanho e padrão racial do rebanho, tipo de sistema de produção (semi-intensivo ou intensivo), sistema de ordenha, total

de vacas em lactação, produção total da propriedade, tipo de leite produzido (B ou C), frequência de aquisição de animais, ocorrência e frequência de abortos e intervalo entre partos. No laboratório de virologia do DMV/UFLA, o material foi centrifugado a 1.400g por 5 minutos. Os soros coletados, após serem transferidos para criotubos de 2 ml, foram identificados e armazenados a -20°C, até a realização da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) no Laboratório de Protozooses do DMV/UFLA.

4.3.4 Coleta de soros de cães da zona rural dos municípios de Carrancas e Lavras, microrregião de Lavras

As amostras de soros de cães do município de Lavras (n= 85) foram coletadas de animais criados em propriedades leiteiras, durante a campanha de vacinação contra raiva em agosto/07. Já as 128 amostras de soros de cães de propriedades leiteiras de Carrancas foram gentilmente cedidas pelo Dr. Lívio Martins Costa Júnior do Centro de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Federal do Maranhão (CCAA/UFMA) e foram coletadas entre abril de 2004 e março de 2005. Durante a coleta de soro, foi registrada a raça, idade, porte e sexo do animal.

4.3.5 Cultivo de células

O antígeno utilizado na reação de imunofluorescência indireta (RIFI) constitui-se de taquizoítos de *N. caninum*, gentilmente cedidos pela Dr^a Solange Maria Gennari da Faculdade de Medicina e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP) e mantidos em cultivo de células Vero no Laboratório de Virologia do DMV/UFLA.

O meio de cultura utilizado para o crescimento celular foi o RPMI (Sigma), suplementado com 5% de soro fetal bovino e antibióticos. Havendo necessidade, foi substituído a cada três ou cinco dias conforme confluência

(aderência) das células e fechamento da monocamada celular. Para cultivo do parasito, foi utilizado o mesmo meio, mas sem soro fetal bovino. As garrafas foram inoculadas quando a confluência estava entre 80% e 100%. Após a ruptura de pelo menos 80% da monocamada, esta foi removida com o auxílio de raspadores celulares (*cell scrapers*), o conteúdo foi homogeneizado e submetido à análise mecânica das células Vero por meio da passagem em seringa 10 ml e agulhas calibre 21 X 7, ambas estéreis. Após isto, o material foi transferido para tubo tipo Falcon 15,0ml, centrifugado por 10 minutos a 4°C e 500g. Desprezou-se o sobrenadante e o material precipitado foi ressuspenso em solução tampão PBS (pH 7,2-7,4) e lavado por três vezes.

A seguir, as cavidades das lâminas foram preenchidas com 20 µL de suspensão e deixadas para secar à temperatura ambiente. Depois de fixadas com metanol, as lâminas foram mantidas em caixas de polipropileno a -20°C até o momento do uso.

4.3.6 Reação de imunofluorescência indireta

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi utilizada para pesquisa de anticorpos IgG circulantes, específicos para antígenos de *N. caninum*. Como antígeno de *N. caninum*, foram utilizadas lâminas adquiridas do Laboratório Imunodot (Jaboticabal, SP) e as produzidas no Laboratório de Virologia do DMV/UFLA.

As reações que ocorreram de forma apical ou parcial foram consideradas negativas, enquanto as reações positivas foram aquelas em que os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total.

As amostras de soros foram homogeneizadas e diluídas em solução de PBS e distribuídas nas lâminas (sendo 1 µL de soro para 199 µL de PBS) e foi considerado positivo o soro que apresentou título na diluição de 1:200 para bovinos (Dubey & Schares, 2006) e 1:50 para os cães mostras (Silva et al.,

2007). O material foi incubado em estufa a 37°C por 30 minutos e em seguida realizou-se duas lavagens de 5 minutos com PBS e duas lavagens de 5 minutos com água destilada.

Após a secagem a temperatura ambiente, acrescentou-se o conjugado SIGMA (F-7887) - imunoglobulina G anti-bovina marcada com isotiocianato de fluoresceína (FITC), previamente diluindo em PBS Tween (1:200), na quantidade de 10 µL por cavidade nas lâminas. As lâminas foram novamente incubadas por 30 minutos, seguindo-se de duas lavagens de 5 minutos com PBS e duas lavagens de 5 minutos com água destilada, secaram em temperatura ambiente e foram cobertas com glicerina tamponada a 10%. A leitura foi realizada em microscópio epifluorescente utilizando objetiva de 40x. Soros controles positivos e negativos foram incluídos em cada lâmina.

4.3.7 Análise Estatística do Estudo I

Para a análise do questionário e resultados da sorologia em rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras, foi formado um banco de dados no programa EPIDATA 3.1. As análises descritivas de todas as variáveis deste estudo foram realizadas no programa SPSS 12.0 for Windows. Em seguida, buscou-se a associação entre níveis de positividade nos rebanhos com as variáveis coletadas pelo questionário por meio do Teste Exato de Fisher e razão de prevalências pelo programa EPIINFO 6.04. Para testar a diferença de médias, foi utilizado o Teste T Student, com o teste de igualdade de variâncias. Para todos os cálculos considerou-se a grau de significância de 95%.

Para a análise das variáveis observadas durante a coleta de sangue dos cães e o resultado da sorologia, foi formado um banco de dados no programa EPIDATA 3.1. As análises descritivas de todas as variáveis deste estudo foram realizadas no programa SPSS 12.0 for Windows. Foi analisada a associação da

positividade nos cães com as variáveis coletadas por meio do Teste Exato de Fisher. Para todos os cálculos considerou-se a grau de significância de 95%.

4.4 Estudo 2 - Frequência de infecção congênita e investigação da transmissão horizontal e efeitos do *N. caninum* sobre a produção leiteira e as alterações reprodutivas

4.4.1 Coleta de amostras de soros de bovinos leiteiros da fazenda Ponte Alta, localizada no município de Bom Sucesso, microrregião de Oliveira

As amostras de sangue foram coletadas de todo o rebanho (n= 260) por meio da punção da veia coccígea, em tubos de 10 mL, sem anticoagulante.

As amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 5 minutos, transferidas para criotubos de 2 mL e armazenados a -20°C até serem submetidos à RIFI, no Laboratório de Protozooses do DMV/UFLA.

4.4.1.1 Características do município de Bom Sucesso

A microrregião de Oliveira caracteriza-se por possuir nove municípios com um efetivo de 60.259 vacas ordenhadas e 130.444 litros de leite (IBGE, 2005). Entre esses, o município de Bom Sucesso possui uma área de 708,1 km² e temperatura média anual de 19,9°C e precipitação média anual de 1.597,6 mm. Possui um efetivo de 39.481 bovinos e 13.000 vacas ordenhadas por ano, com uma produção de 33.000 mil litros/ano (IBGE, 2004).

4.4.1.2 Características do sistema de produção da Fazenda Ponte Alta

A propriedade foi escolhida por apresentar características semelhantes às fazendas selecionadas da microrregião de Lavras. Durante a coleta das amostras de soros, foi aplicado um questionário contemplando os principais aspectos zootécnicos e sanitários do rebanho (número de animais, tamanho da

propriedade, tipo de alimentação, manejo sanitário, presença de cães, parâmetros reprodutivos como o intervalo entre partos e frequência de repetição de cio)

A propriedade apresenta sistema de produção semi-intensivo, sendo alimentado em pista de trato com silagem de milho e ração e com pastos de *Brachiaria brizanta* e uma área total de 408 hectares.

A propriedade apresenta média diária de 1.740 litros, 85 animais em lactação com uma média de 20,47 litros/dia. A ordenha é mecânica de tipo duplo 4x4, realizada duas vezes ao dia.

Os bezerros são criados em piquete com área para suplementação e são separados da mãe três dias após o parto, recebendo cuidados básicos como colostragem individual e cura do umbigo.

Os animais são da raça holandesa (PO) e a propriedade possui assistência veterinária constante. Os animais são vacinados anualmente para IBR, leptospirose, raiva e clostridiose. Além das vacinas obrigatórias de febre aftosa e brucelose, recebem anti-helmínticos quatro vezes ao ano.

Embora a propriedade possua controle de pragas e realize limpeza dos pastos, foi relatada a presença de roedores, provavelmente em função da armazenagem dos alimentos que ocorre em local coberto, mas não fechado e de fácil acesso.

Em relação há presença ou criação de outros animais, foi relatada a criação de dois equinos destinados ao trabalho, mantidos separados dos bovinos. Há a criação de três cães que têm acesso aos bovinos, bem como à água e aos alimentos destes, que são alimentados com ração e pães. Porém, também foi relatada a presença de cães selvagens. A aquisição de animais ocorre de forma esporádica e a fazenda utiliza água de mina. Embora exista o procedimento de enterrar os restos placentários, fetos natimortos, restos de abortos e animais mortos, é comum os cães terem acesso a estes materiais.

A fazenda possui registro de variáveis como: intervalo entre partos, frequência e ocorrência de abortos, problemas reprodutivos, vacinação e produção leiteira, além de possuir árvore genealógica de três gerações.

4.4.2 Coleta de amostras de soros de bovinos leiteiros na Fazenda Pinheiros, no município de São João Del Rei, microrregião de São João Del Rei

As amostras de soro (n= 109) foram coletadas de uma propriedade localizada no distrito de São Sebastião da Vitória no município de São João Del Rei. As amostras de sangue foram coletadas de todo rebanho por meio da punção da veia coccígea, em tubos de 10 ml, sem anticoagulante.

As amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 5 minutos, transferidas para criotubos de 2 ml e armazenadas a -20°C até serem submetidas à RIFI, no Laboratório de Protozooses do DMV/UFLA.

4.4.2.1 Características da microrregião de São João Del Rei

São João Del Rei é uma das microrregiões de Minas Gerais pertencente à mesorregião Campo das Vertentes. Possui 15 municípios com uma população estimada em 82.954 habitantes no ano de 2006 (IBGE, 2006). A produção de leite dessa microrregião foi de 113.536 litros de leite/ano com um total de 58.116 vacas ordenhadas (IBGE, 2006).

4.4.2.2 Características do sistema de produção leiteira da Fazenda Pinheiros

A propriedade foi escolhida por apresentar características semelhantes às fazendas selecionadas da microrregião de Lavras. Durante a coleta das amostras de soros bovinos, foi aplicado um questionário contemplando os principais aspectos zootécnicos e sanitários do rebanho (número de animais, tamanho da

propriedade, tipo de alimentação, manejo sanitário, presença de cães, parâmetros reprodutivos como intervalo entre partos e frequência de repetição de cio).

A propriedade apresenta sistema de produção semi-intensivo, com pastos formados por capim braquiária. A área total da fazenda é de 280 hectares.

Os animais são alimentados em pista de trato com silagem de milho e ração à base de fubá, soja e caroço de algodão. A propriedade apresenta média diária de 1.100 litros, possui 50 animais em lactação com uma média de 22 litros/dia. O tipo de ordenha é mecânica, realizada duas vezes ao dia.

Os bezerros são criados em sistema de casinhas individuais, com aleitamento até 100 dias de vida, após o parto são mantidos com a mãe por 24 horas e recebem cuidados básicos como colostragem individual e cura do umbigo.

Os animais são mestiços (holandês x zebu), a propriedade possui assistência veterinária e agrônômica constante. Os animais foram vacinados no ano de 2007 para leptospirose, IBR e BVD, após um surto de abortos. As respectivas vacinas já haviam sido utilizadas em outra época e seu uso estava suspenso, sendo aplicadas apenas as vacinas de brucelose e febre aftosa.

Embora a propriedade possua controle de pragas e realize limpeza dos pastos, foi relatada a presença de roedores, provavelmente em função da armazenagem dos alimentos que ocorre em local coberto, mas não fechado e de fácil acesso.

Em relação há presença ou criação de outros animais, foi relatada a presença de cães que variam em quantidade de três a oito animais, sendo considerados errantes, pois não se conhece sua origem. Devido à proximidade da fazenda a povoados e ao distrito de São Sebastião da Vitória, os cães ficam próximos aos bovinos leiteiros e não há procedimento de descarte dos restos placentários, fetos natimortos, restos de abortos e animais mortos. É comum os

cães terem acesso a esses materiais. Não foi relatada a presença de cães selvagens.

A fazenda possui registro de variáveis como: intervalo entre partos, frequência e ocorrência de abortos, problemas reprodutivos, vacinação e produção leiteira, além de possuir árvore genealógica de três gerações. Não há aquisição de animais para reposição e os animais não têm acesso a leilões e exposições.

4.4.3 Frequência de infecção congênita nas fazendas Ponte Alta e Pinheiros

Para determinar a frequência da transmissão vertical e da horizontal foram selecionados dois rebanhos que possuíam histórico de aborto e árvore genealógica de três gerações.

O estudo genealógico para cada animal foi traçado por meio de diagramas, metodologia similar à utilizada por Schares et al. (1998) e Bergeron et al. (2000).

Para determinação da ocorrência de transmissão horizontal, foi considerada esta rota de infecção quando uma vaca ou novilha positiva, nascida de mãe negativa, possuía no mínimo duas irmãs soronegativas. Para determinação da transmissão vertical, foi calculado a proporção de filhas soropositivas nascidas de mães soropositivas. Quando um animal possuía mais de uma cria (par de mãe/filha) foi considerado apenas um par de mãe/filha, conforme Schares et al. (1998) e Bergeron et al. (2000).

Foram utilizados apenas animais acima de três meses de idade com intuito de evitar possíveis erros devido à imunidade passiva.

4.4.4 Análise estatística do Estudo II

Para a análise das variáveis produtivas, reprodutivas e zootécnicas (intervalo entre partos, ocorrência de problemas reprodutivos gerais, idade dos animais, produção de leite, persistência da lactação) e resultados da sorologia, foram formados dois bancos de dados no programa Excel: um banco contendo os dados reprodutivos dos animais (n= 103) e outro com a produção leiteira dos mesmos, dias em lactação e data do parto (n= 39). Os animais que possuíam idade inferior a 23 meses não foram utilizados para as análises por não estarem em idade produtiva e reprodutiva. Também foram excluídos animais que não possuíam pesagens de leite periódicas, a fim de evitar erros ao traçar a curva de lactação destes.

As análises descritivas de todas as variáveis deste estudo foram realizadas no programa SAS. Para todos os cálculos, considerou-se o grau de significância de 95%. Para avaliar os problemas reprodutivos (natimortos, retenção de placenta, abortos, prolapso uterino, perda embrionária, cisto ovariano e intervalo entre partos irregulares) os mesmos foram categorizados. Como o aborto é o sinal clínico mais observado em vacas adultas, realizou-se uma categorização onde os animais que já haviam abortado foram dispostos em um grupo e os animais restantes, em outro grupo. Em seguida, buscou-se a associação entre a soropositividade dos bovinos para *N. caninum* com as variáveis coletadas por meio do Teste Qui-quadrado. Para todos os cálculos, considerou-se o grau de significância de 95%.

Para avaliar os efeitos da soropositividade sobre a produção leiteira, as pesagens de leite de cada animal foram utilizadas para traçar a curva de lactação dos mesmos e corrigir a produção de leite para 305 dias. Após a correção da lactação, foi realizada a análise de variância.

5 RESULTADOS

5.1 Estudo 1 - Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, MG

5.1.1 Caracterização das 18 propriedades leiteiras na microrregião de Lavras

As Tabelas 6 e 7 apresentam as características das propriedades dos grupos A (< 1.000 litros de leite/dia) e B (> 1.000 litros de leite/dia). A área da propriedade, número médio de vacas em lactação e produção média de leite por fazenda por dia apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), para propriedades do grupo B em comparação com aquelas do grupo A.

Embora as propriedades do grupo B apresentem uma área (*ha*) maior que as do grupo A, em relação à media de produção de litros de leite por vaca/dia, observou-se uma pequena variação que reflete mais um crescimento horizontal em função de um número maior de vacas em lactação nos rebanhos com produção acima de 1.000 litros por dia, (grupo B).

Em relação às características zootécnicas das propriedades, observou-se uma grande similaridade entre os dois grupos. Nas propriedades do grupo B, predomina a produção de leite tipo B com 100% dos animais sendo ordenhados mecanicamente.

TABELA 6 Parâmetros descritivos de 18 propriedades leiteiras da microrregião de Lavras, MG, por grupo de produção, 2004.

Característica	Média ± dp (Mínimo - Máximo)	
	Grupo A (<1.000 l/dia)	Grupo B (>1.000 l/dia)
	Área da propriedade (ha)	108,8 ± 85,5 * (21 - 300)
Número médio de vacas em lactação	32,8 ± 12,3 * (20 - 62)	128,5 ± 45,1 (50 - 205)
Produção total média leite fazenda/dia	557,8 ± 212,8* (250 - 850)	1.988,2 ± 721,0 (1.250 - 3.800)
Produção média por vaca/dia	16,7 ± 4,8* (8 - 23)	17,6 ± 4,9 (9 - 26)
Intervalo médio de partos (meses)	13,2 ± 1,5* (12 - 16)	14,0 ± 1,4 (12 - 17)

*Não foi encontrada associação significativa ($p > 0,05$).

TABELA 7 Caracterização das 18 propriedades leiteiras dos Grupos A (<1.000 litros de leite/dia) e B (>1.000 litros de leite/dia) da microrregião de Lavras, MG, 2004.

Característica	Frequência (%)	
	Grupo A	Grupo B
Tipo de leite produzido		
Tipo B	62,5	90,0
Tipo C	37,5	10,0
Tipo de ordenha		
Manual	12,5	0,0
Mecânica	87,5	100,0
Composição racial do rebanho		
Puro	77,8	54,5
Mestiço	22,2	18,2
Ambos	0,0	27,3
Tipo de criação dos animais		
Semi-intensivo	75,0	70,0
Intensivo	25,0	30,0
Tipo de alimentação do rebanho		
Pasto + concentrado	77,8	54,5
Confinado (concentrado + volumoso no cocho)	22,2	45,5
Modo de reposição dos animais de descarte		
Com animais do próprio rebanho	88,9	90,9
Compra de novos animais	11,1	9,1

“... continua...”

“ Tabela 7, Cont. ”

Histórico de aborto		
Sim	75,0	90,0
Não	25,0	10,0
Intervalo entre partos		
Até 14 meses	75,0	80,0
Acima de 14 meses	25,0	20,0
Presença de cães		
Sim	100,0	100,0
Não	0,0	0,0

5.1.2 Frequência de bovinos soropositivos e fatores de risco

Nas Tabelas 8 e 9 constam as frequências de anticorpos anti-*N. caninum* observada em bovinos das propriedades dos grupos A e B. A frequência média global nos bovinos foi de 46,25% (247/534) e 100% das propriedades apresentaram animais soropositivos.

Nas oito propriedades pesquisadas no grupo A, a frequência média global foi de 43,66% (93/213). A menor prevalência foi de 32,0% encontrada em duas fazendas dos municípios de Ijaci e Lavras. E a maior frequência foi de 72,22%, observada em uma propriedade do município de Lavras.

No grupo B, as dez propriedades apresentaram frequência média global de 47,97% (154/321), sendo a menor frequência de 25,0% no município de Ingaí e a maior frequência de 77,77% no município de Carrancas.

Não foi encontrada associação significativa ($p > 0,05$) entre os fatores de risco e a frequência de bovinos positivos para *N. caninum* nos rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras. A média de frequência de soropositividade foi menor nos rebanhos que apresentaram intervalo entre partos menores que 410 dias.

Em ambos os grupos, os bovinos descartados eram repostos quase exclusivamente por animais da própria fazenda. A maioria das propriedades

possuía histórico de aborto, entretanto, não houve associação significativa ($p>0,5$) com a frequência de animais soropositivos. Não foi possível verificar a associação entre a infecção por *N. caninum* em bovinos e a presença de cães nas fazendas, já que em 100% das propriedades foi registrada a presença destes animais.

TABELA 8. Frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em fêmeas bovinas menores de 24 meses de idade de propriedades leiteiras dos grupos A (< 1.000 litros de leite/dia) e B (> 1.000 litros de leite/dia) da microrregião de Lavras, MG, 2004.

Grupos	Propriedades	Nº de animais testados	Nº de Positivos	Frequência (%)
A	1	18	13	72,22
	2	25	8	32,00
	3	32	16	50,00
	4	29	13	44,82
	5	29	13	44,82
	6	32	13	44,82
	7	28	8	32,00
	8	20	9	45,00
Subtotal A	8	213	93	43,66
B	9	49	26	53,06
	10	31	11	35,48
	11	32	8	25,00
	12	32	12	37,50

“... continua...”

“ Tabela 8, Cont. ”

B	13	26	8	30,76
	14	27	21	77,77
	15	32	21	65,62
	16	30	16	53,33
	17	32	14	43,75
	18	30	17	56,66
Subtotal B	10	321	154	47,97
Total A+B	18	534	247	46,25

TABELA 9 Municípios e frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em fêmeas bovinas menores de 24 meses de idade de propriedades leiteiras da microrregião de Lavras, MG.

Município	Nº de propriedades	Nº de positivos	Frequência (%)
Carrancas	2	35	59,3
Ijaci	1	8	32,0
Ingáí	7	98	44,9
Lavras	3	47	49,4
Luminárias	1	13	40,6
Nepomuceno	3	37	46,8
Ribeirão	1	9	34,6
Vermelho			
Total	18	247	46,2

5.1.3 Frequência de cães soropositivos da zona rural dos municípios de Lavras e Carrancas, microrregião de Lavras

Em 213 amostras de soros, coletadas de cães criados em fazendas localizadas nos municípios de Carrancas (n= 128) e Lavras (n= 85), 7,0% foram

positivas para *N. caninum*. Não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre a soropositividade para *N. caninum* e a idade, raça e sexo dos animais.

A frequência de cães caracterizados como sem raça definida (SRD) foi de 69,9%, a idade dos animais variou de dois meses a sete anos de idade, com 61,8% de machos e 38,2% de fêmeas.

5.2 Estudo 2 - Frequência de infecção congênita e investigação da transmissão horizontal e efeitos do *N. caninum* sobre a produção leiteira e as alterações reprodutivas

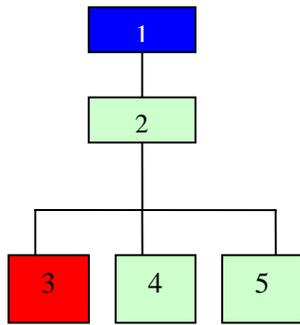
5.2.1 Frequência de infecção congênita e transmissão horizontal em bovinos das fazendas Ponte Alta e Pinheiros

A frequência de *N. caninum* nos rebanhos foi de 39,4 % (93/236) para a Fazenda Ponte Alta e 31,37 % (32/102) para a Fazenda Pinheiros. A frequência média global dos rebanhos foi de 36,98% (125/338). Para calcular a transmissão vertical foram utilizadas 98 famílias (68 do rebanho Fazenda Ponte Alta e 30 da Fazenda Pinheiros) e 118 pares de mães/filhas.

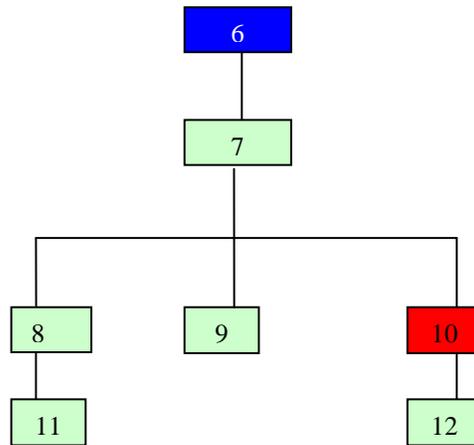
A transmissão vertical foi de 29% na Fazenda Ponte Alta e de 9 % na Fazenda Pinheiros. A taxa média de infecção congênita nas duas fazendas foi de 23,72%. Em ambos os rebanhos, foi verificada a ocorrência da transmissão horizontal, ocorrendo em duas famílias na Fazenda Ponte Alta e uma família na Fazenda Pinheiros (Figura 2).

Fazenda Ponte Alta

Família 1



Família 2



Fazenda Pinheiros

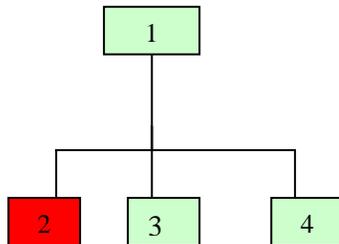


Figura 2 Árvores genealógicas dos rebanhos das Fazendas Ponte Alta e Pinheiros em que foi verificada a transmissão horizontal para *N. caninum*, 2007.

5.2.2 Efeito da soropositividade sobre a produção leiteira e as alterações reprodutivas em bovinos das fazendas Ponte Alta e Pinheiros

Na Tabela 10, constam as alterações reprodutivas analisadas nas fazendas Ponte Alta e Pinheiros, quanto à soropositividade para *N. caninum*. Verificou-se que 72,81% (75/103) dos animais apresentavam parâmetros reprodutivos normais. Em relação as alterações reprodutivas, as que mais se destacaram foram a ocorrência de abortos 7,76% (8/103) e a retenção de placenta 11,65% (12/103).

A Tabela 12 apresenta as características zootécnicas e produtivas das duas fazendas. A idade dos animais variou de 23-157 meses em ambas as propriedades. Em relação ao intervalo entre partos, a média do rebanho da Fazenda Ponte Alta foi de 390 dias e da Fazenda Pinheiros de 369 dias.

TABELA 10. Frequência (%) das alterações reprodutivas analisadas nas fazendas Ponte Alta e Pinheiros em função da soropositividade dos bovinos para *N. caninum*, MG, 2007.

Alterações reprodutivas	Animais negativos (%)	Animais positivos (%)	Total
Normal	71,01(49)	76,47 (26)	72,81(75)
Natimortos	4,34 (3)	(0)	2,91 (3)
Retenção de placenta	11,59 (8)	11,76 (4)	11,65 (12)
Abortos	10,14 (7)	2,94 (1)	7,76 (8)
Prolapso Uterino	1,45 (1)	(0)	0,97 (1)
Perda embrionária	1,45 (1)	2,94 (1)	1,94 (2)
Cisto ovariano	(0)	2,94 (1)	0,97 (1)
Intervalo de partos irregular	(0)	2,94 (1)	0,97 (1)

TABELA 11 Características descritivas das propriedades leiteiras Ponte Alta e Pinheiros, MG, 2007.

Características	Fazenda Ponte Alta	Fazenda Pinheiros
Tipo de ordenha	Mecânica	Mecânica
Composição Racial do Rebanho	Holandês	Mestiço
Tipo de alimentação	Pasto e concentrado	Pasto e concentrado
Tamanho da fazenda	408	280
Número de vacas em lactação	85	50
Produção média de leite dos animais (L/dia)	20,47	22,0
Histórico de aborto	Sim	Sim
Presença de cães	Sim	Sim
Número de cães	3	3-8
Presença de cães selvagens	Sim	Não
Presença de cães errantes	Não	Sim
Cães têm acesso à alimentação dos bovinos	Sim	Sim
Intervalo médio de partos	13 meses	12 meses

Como observado na tabela 12, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre os parâmetros reprodutivos avaliados, a idade dos animais e a soropositividade para *N. caninum*. Como o aborto é o sinal clínico mais observado em vacas adultas, realizou-se uma categorização, onde os animais que

já haviam abortado foram dispostos em um grupo e os animais restantes em outro grupo. Assim, buscou-se a associação entre a ocorrência de aborto e a soropositividade. Não houve, no entanto, diferença significativa ($p>0,05$) entre a ocorrência de abortos e a soropositividade.

TABELA 12 Valores de P para as variáveis independentes testadas pelo teste de qui-quadrado.

Variáveis	Valores de P
Problemas reprodutivos	0,3409
Idade	0,3984
Intervalo de partos	0,3127
Aborto	0,1990

Em relação à produção de leite e a persistência da lactação, não houve associação significativa ($p>0,05$) entre estas variáveis e a infecção por *N. caninum*.

6 DISCUSSÃO

6.1 Estudo 1 – Frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, MG

6.1.1 Frequência de bovinos soropositivos e fatores de risco

O resultado deste estudo indica que a infecção por *N. caninum* está presente em rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras numa frequência maior que a observada por outros pesquisadores em Minas Gerais, em porcentagens que variaram de 6,8% (Costa et al., 2001) a 29,0% (Ragozo et al., 2003); entretanto, esteve próxima dos níveis relatados em estudos sorológicos realizados em outros países (Dubey, 1999b).

As diferenças na frequência de soropositividade entre os 18 rebanhos podem ter ocorrido devido ao pequeno número de amostras testadas nestas fazendas. Além disso, é difícil a comparação entre estudos de soroprevalência, já que o tipo de amostra utilizada influencia nos resultados, como as provenientes de animais que sofreram abortamentos ou de uma amostragem simplesmente casualizada. Influencia também no índice de soro-reatividade a sensibilidade do método de diagnóstico utilizado e os valores de pontos de cortes conforme o teste sorológico escolhido e a população estudada (Sartor et al., 2003).

A frequência média global de animais infectados por *N. caninum* neste estudo foi de 46,25% (247/534) para bezerras e novilhas. Guedes (2006) observou que a frequência média global de vacas soropositivas para *N. caninum*, oriundas das mesmas propriedades envolvidas no presente estudo, foi de 91,23% (510/559). Houve diferença significativa entre os grupos ($p < 0,05$) (bezerros e novilhas *versus* vacas). Esse fato evidencia a ocorrência de transmissão horizontal e sugere a presença de oocistos esporulados de *N. caninum* no ambiente (Dijkstra et al., 2002).

Hietal & Thurmond (1999b) relataram que os níveis de anticorpos podem apresentar flutuações com a idade. Animais entre 13 e 24 meses apresentam tendência de baixas soroprevalência em relação a outras faixas etárias. Esses autores sugeriram que isto se deve ao declínio de anticorpos em bovinos congenitamente infectados. Essas informações apontam as dificuldades e o cuidado que merecem as interpretações da soropidemiologia do *N. caninum*.

Em estudo realizado no Mato Grosso, quando comparadas as faixas etárias dos bovinos relativamente à presença de anticorpos, observou-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as faixas de 0 a 24 meses e de 24 a 48 meses, apontando maior prevalência de bovinos soropositivos com a maior faixa etária (Benetti, 2006).

Davison et al. (1999), Dyer et al. (2000) e Sanderson et al. (2000) observaram aumento significativo ($p < 0,05$) da soroprevalência com o avanço da idade dos bovinos, sugerindo a ocorrência de infecção pós-natal em rebanhos nos EUA. No norte do Paraná, Guimarães et al. (2004) observaram que a soroprevalência para *N. caninum* foi significativamente ($p < 0,05$) menor em fêmeas bovinas com idade inferior a 24 meses e concluíram que a idade constitui um fator de risco para a presença de neosporose bovina no rebanho.

Estudo em 18 rebanhos leiteiros oriundos de 14 municípios de Minas Gerais, a frequência variou de nenhum animal positivo em Lavras a 72,73% dos animais em Caeté (Melo et al., 2001). Nesse ensaio, os animais foram divididos em três faixas etárias. A frequência de animais positivos entre 7 e 18 meses foi de 7,69% (5/65) em rebanhos produtores de leite C e de 30,77% (16/52) em rebanhos produtores de leite A/B. Em relação aos animais entre 19 e 30 meses, a frequência de positivos variou de 12,33% (9/73) no grupo produtor de leite C a 32,08% (17/53) no grupo produtor de leite A/B. No grupo de animais com idade acima de 31 meses, a frequência variou de 14,42% (30/208) nos produtores de leite C e 24,06% (32/132) nos produtores de leite A/B.

Em outro estudo realizado em bovinos provenientes de seis estados brasileiros (Minas Gerais, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Mato Grosso do sul e Rio Grande do Sul), a frequência de soropositivos conforme a idade foi de 12,5% para animais entre 0 e 24 meses; de 20,2% para animais entre 24 e 48 meses; de 25,6% para animais entre 48 e 72 meses e de 24,1% para animais entre 72 e 181 meses de idade (Ragozzo et al., 2003).

Em estudo realizado por Rinaldi et al. (2005), em relação aos fatores de risco para a infecção por *N. caninum*, adultos e novilhas mostraram maior soroprevalência que bezerras. Já em estudo realizado por Corbellini et al. (2006), a soropositividade não diferiu de modo significativo de acordo com a idade dos animais.

Diante das divergências entre os resultados obtidos sobre a correlação entre a idade dos bovinos e a presença de anticorpos contra *N. caninum*, nos diferentes estudos, conclui-se, baseando-se também em citações de Schares et al. (1998), que as diferenças entre rebanhos podem estar relacionadas com o tempo de exposição ao parasito e à forma de transmissão do mesmo. O descarte e a reposição de animais do rebanho também podem interferir nos resultados.

No presente estudo, não houve associação significativa ($p>0,05$) entre a frequência de animais soropositivos nos rebanhos testados e a quantidade diária de leite produzido nas fazendas dos grupos A e B. Na Espanha, Quintanilla-Goza et al. (1999) observaram que o tamanho do rebanho leiteiro não apresentou associação significativa ($p>0,05$) com a infecção por *N. caninum*.

Em rebanhos leiteiros no norte do Paraná, Ogawa et al. (2005) também não observaram diferença significativa ($p>0,05$) entre a frequência de bovinos positivos para *N. caninum* e a produção de leite. No Rio Grande do Sul, Corbellini et al. (2006), analisando os fatores de risco em vacas leiteiras, não encontraram associação significativa ($p>0,05$) entre o tamanho da propriedade e a frequência de animais soropositivos para *N. caninum*.

Embora a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em vacas individualmente só indique a exposição ao parasito em algum momento da sua vida, a probabilidade de aborto em bovinos soropositivos é duas vezes maior em relação aos soronegativos (Thurmond et al. 1997a; Wolda et al., 1999). No México, García-Vasquez et al. (2002) encontraram associação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre soropositividade e frequência de abortos em rebanhos leiteiros. No entanto, no presente estudo não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre o histórico de abortos nos rebanhos leiteiros e a frequência de bovinos positivos para *N. caninum*. Fato similar foi relatado por Sadrebazzaz et al. (2004), em estudo realizado com bovinos leiteiros no Irã.

Na análise de fatores de risco do presente estudo, nenhum apresentou associação significativa com a soropositividade para *N. caninum* ($p < 0,05$). Embora a frequência média de soropositividade fosse maior nos rebanhos que apresentaram intervalo entre partos maior que 410 dias quando comparada aos outros rebanhos.

Waldner et al. (1998) no Canadá e Thurmond et al. (1997b) nos EUA verificaram associação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre a positividade para *N. caninum* e uma maior frequência de abortos e natimortos em vacas leiteiras. Entretanto, Aguiar et al. (2006) não encontraram associação significativa ($p > 0,05$) entre a prevalência de *N. caninum* e a ocorrência de problemas reprodutivos em bovinos leiteiros na Amazônia.

Não foi possível verificar a associação entre a infecção por *N. caninum* em bovinos e a presença de cães nas fazendas, já que em 100% das propriedades foi registrada a presença destes animais. Em estudo realizado na região sudoeste do Estado de Mato Grosso, a presença de cães soro-reagentes nas propriedades pesquisadas levou a uma correlação positiva fraca em relação à ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos (Benetti, 2006). De acordo com Wolda

et al.(1999), a presença de cães portadores de anticorpos anti-*N. caninum* nas fazendas está associada à prevalência desta infecção em bovinos.

A escassez de informações sobre a frequência da infecção no hospedeiro definitivo, o cão, em fazendas da microrregião de Lavras, não permite estabelecer qual método de transmissão (horizontal ou vertical) é a principal rota de infecção na microrregião.

Entretanto, nas 213 amostras de soros coletadas de cães criados em fazendas do município de Carrancas e Lavras, a frequência de anticorpos anti-*N. caninum* foi de 7,0 %. A frequência de soropositivos como podemos observar na tabela 3 está abaixo da média da frequência encontrada nos estudos epidemiológicos no Brasil. Neste levantamento, não houve associação entre machos e fêmeas e a soropositividade. Resultado similar foi encontrado por Jesus et al. (2006) na Bahia, corroborando outros estudos prévios que não relacionaram a ocorrência preferencial da infecção a um determinado sexo (Azevedo et al., 2006). Também não foi observada predisposição racial para a infecção por *N.caninum*, fato similar encontrado por Jesus et al. (2006).

Embora seja uma amostragem pequena, o resultado deste estudo demonstra a presença de cães infectados por *N. caninum* em propriedades leiteiras da microrregião de Lavras, o que reforça a necessidade de novos estudos epidemiológicos para se estabelecer a relação de causalidade e verificar o papel da transmissão horizontal na epidemiologia da neosporose bovina nessa região. Outro aspecto importante a ser discutido é a presença de cães errantes nas propriedades, que podem participar no ciclo do *N. caninum*, sendo que esta informação se baseia em fatos citados em estudos realizados por Corbellini (2002).

6.2 Estudo 2 - Frequência de infecção congênita e investigação da transmissão horizontal e efeitos do *N. caninum* sobre a produção leiteira e as alterações reprodutivas

6.2.1 Infecção congênita e transmissão horizontal de *N. caninum* em bovinos das Fazendas Ponte Alta e Pinheiros

N. caninum é um dos mais eficientes parasitas transmitidos de forma transplacentária entre todos os microorganismos que afetam os bovinos (Dubey et al., 2007). Em certos rebanhos, todos os bezerros nascem infectados, mas assintomáticos. Evidências sobre a eficácia da transmissão transplacentária vêm de diferentes fontes: árvores familiares, comparação entre o status de anticorpos nas vacas e suas progênes e experimentalmente (Dubey et al., 2007).

No presente estudo, ao quantificar a taxa de transmissão vertical em bovinos leiteiros de dois rebanhos, foi encontrada uma taxa média global de 23,72%, sendo de 29% no rebanho da Fazenda Ponte Alta e de 9% no rebanho da Fazenda Pinheiros. As taxas observadas estão entre os valores descritos na literatura. Bergeron et al. (2000), em Quebec no Canadá, pesquisando a transmissão vertical em 23 rebanhos leiteiros encontraram valores que variaram de 0% a 85,7%, obtendo uma taxa média global de 44,4%.

Embora os valores deste estudo estejam entre os resultados descritos na literatura, a taxa de transmissão vertical pode ser considerada baixa, já que a maioria dos trabalhos relatam taxas que variam de 41% (Paré et al., 1994) a 95% (Davison et al., 1999). Esse fato pode ser explicado em parte pelo baixo número de rebanhos pesquisados no presente estudo (dois) e pela metodologia empregada.

Diversos estudos têm procurado quantificar a taxa de transmissão vertical e horizontal. Paré et al. (1996) e Wouda et al. (1998) ao realizarem estudos com o objetivo de determinar essas taxas, utilizaram rebanhos onde a

coleta de sangue dos bezerros para a determinação do status sorológico foi realizada antes que estes ingerissem o colostro. O mesmo procedimento foi adotado por Davison et al. (1999), ao estimarem a transmissão vertical e horizontal em rebanhos leiteiros no Reino Unido.

Apenas animais acima de três meses de idade foram utilizados para o presente estudo (Bergeron et al., 2000). Essa precaução foi tomada a fim de evitar possíveis erros decorrentes da imunidade passiva. Há dificuldades em trabalhar com rebanhos de propriedades particulares objetivando a coleta de sangue de bezerros antes de estes ingerirem o colostro.

Para determinar a taxa de transmissão vertical, foi calculada a proporção de filhas positivas nascidas de mães soropositivas. Assim, o status sorológico do dia da coleta de sangue é que foi utilizado para calcular a taxa de transmissão vertical conforme recomendado por Bergeron et al.(2000).

É importante ressaltar que os resultados deste estudo podem conter pequenas falhas ao estimar a transmissão vertical. Por exemplo, uma vaca que no momento da coleta de sangue foi considerada soropositiva, pode ter sido negativa no momento da parição e pode ter gerado uma filha soronegativa. Entretanto, a vaca pode ter adquirido a infecção após a parição pela rota horizontal. Falhas similares foram descritas por Bergeron et al. (2000) e Romero et al. (2003) em estudos para a quantificação da infecção congênita. Em estudos observacionais, essas falhas ocorrem e podem subestimar a transmissão horizontal e subseqüentemente, superestimar a infecção congênita.

Em um estudo de corte, realizado por Davison et al. (1999), ambas as mães e filhas foram amostradas no momento do parto/nascimento e acompanhadas a fim de e verificar se ocorreu a soroconversão e quando esta ocorreu. Em pesquisa realizada por Bartels et al. (2007), a soroconversão não foi acompanhada, mas os autores realizaram cálculos para ajustar as taxas de

transmissão vertical e horizontal, a fim de evitar falsos positivos e falsos negativos.

Além do pequeno número de rebanhos e da metodologia aplicada, no presente estudo outros fatores podem explicar a baixa taxa de transmissão vertical encontrada. Entre esses, estão o descarte de vacas com baixa performance reprodutiva e baixa produção leiteira que poderiam ser animais soropositivos, reduzindo dessa forma a taxa de transmissão vertical. Esta hipótese foi também citada em estudos observacionais sobre a taxa de transmissão vertical, ao encontrarem valores abaixo da média de outras pesquisas. Além disso, esses autores concluíram que o manejo, tamanho do rebanho e clima da região também podem ter influenciado na baixas taxas de transmissão congênita.

Esses fatores já haviam sido discutidos na literatura, o pequeno tamanho do rebanho poderia facilitar o contato entre os cães e os bovinos leiteiros e aumentar a exposição ao parasita. O clima também poderia facilitar a esporulação dos oocistos (Mainar-Jaime et al. 1999; Bergeron et al. 2000).

Secundariamente, a baixa probabilidade de transmissão vertical pode ser explicada pela continua estimulação do sistema imune materno em rebanhos com infecção endêmica (Paré et al., 1996).

A transmissão horizontal ocorreu nos dois rebanhos estudados, em duas famílias na Fazenda Ponte Alta e em uma família na Fazenda Pinheiros. Foi adotado como critério para determinação da transmissão horizontal, quando um animal (vaca ou novilha) positivo, nascida de mãe negativa, possuía no mínimo duas irmãs soronegativas. Quando uma vaca possuía mais de uma cria (par de mãe/filha), foi considerado apenas um par de mãe/filha, metodologia similar a adotada por Schares et al. (1998) e Bergeron et al. (2000). Assim, um número limitado de famílias foi encontrado nessa situação. Por essa razão,

provavelmente a ocorrência da transmissão horizontal pode ser mais freqüente do que a estimada no presente estudo.

Não foi possível realizar a sorologia para *N. caninum* nos cães das propriedades leiteiras, mas as fazendas possuíam de três a oito animais, além da presença de cães errantes na Fazenda Pinheiros e cães selvagens na Fazenda Ponte Alta. Segundo os responsáveis pelas propriedades, os cães além de manterem contato com os bovinos leiteiros e seus alimentos, ingeriam restos placentários, fetos abortados e bezerros natimortos. Esses fatores reforçam o risco de transmissão horizontal do *N. caninum* nessas propriedades.

Os resultados deste estudo confirmam a importância da transmissão vertical na epidemiologia da neosporose bovina e sua contribuição para manutenção da infecção nos rebanhos. Demonstra ainda que, embora não seja a rota principal de infecção, a transmissão horizontal foi identificada nas duas fazendas e deve ser levada em consideração na adoção de medidas de controle desta parasitose nesses rebanhos leiteiros.

6.2.2 Efeitos da soropositividade sobre a produção leiteira e as alterações reprodutivas em bovinos das Fazendas Ponte Alta e Pinheiros

A neosporose constitui uma das principais causas de problemas reprodutivos em bovinos leiteiros de todo mundo (Dubey, 2003). Animais infectados com o *N. caninum* têm de duas a sete vezes mais chances de abortarem se comparados a animais negativos (Romero et al., 2005). Outros possíveis efeitos da infecção por *N. caninum* incluem descarte de animais soropositivos, perdas reprodutivas e redução na produção de leite (Trees et al., 1999). Vários estudos investigaram o efeito da soropositividade para *N. caninum* sobre o descarte de animais (Cramer et al., 2002), performance reprodutiva (Romero et al., 2005) e a produção de leite em rebanhos leiteiros (Hernandez et al., 2001). Entretanto, os resultados desses estudos não foram conclusivos, especialmente para os efeitos da infecção sobre o descarte de animais e a produção de leite (Bartels et al., 2006).

No presente estudo, não foi observado efeito da soropositividade para *N. caninum* sobre a produção de leite, a ocorrência de abortos, o aumento de intervalo entre partos e outros problemas reprodutivos que constam na tabela 10. Resultado semelhante foi encontrado por Romero et al. (2005) quando verificaram os efeitos do *N. caninum* sobre a reprodução e produção em rebanhos leiteiros na Costa Rica. Bjorkman et al. (1996) e Jensen et al. (1999) também relataram resultados similares, pois não encontraram diferença significativa ($p > 0,05$) entre animais soropositivos e soronegativos em relação ao intervalo entre partos.

Na Espanha Warleta e colaboradores (2008) avaliaram o efeito do *N. caninum* sobre a reprodução de bovinos leiteiros e observaram um aumento do intervalo entre partos em vacas soropositivas. Infecções por *N. caninum* não têm demonstrado um decréscimo na fertilidade (López-Gatius et al., 2005) e, até o momento, o aborto tem sido descrito como único sinal clínico em vacas adultas.

Em relação aos efeitos do *N. caninum* sobre o número de serviços por concepção, Romero et al., (2005) não encontraram diferença significativa em vacas soropositivas ou não. Poucos estudos têm documentado o efeitos do *N. caninum* sobre o número de serviços por concepção. Em estudo realizado por Munhoz-Zanzi et al. (2004), houve associação entre a infecção por *N. caninum* e o número de serviços por concepção. Neste estudo, essa variável não pode ser avaliada devido à falta de dados para realização das análises estatísticas

É importante ressaltar que a reprodução é um componente complexo na produção leiteira e pode ser influenciada por vários fatores como genética, nutrição, inseminação artificial, presença de outras doenças, práticas de manejo e ambiente. É difícil estimar o real efeito de uma doença específica sobre a performance reprodutiva. Sendo assim, outros estudos são necessários para determinar o efeito do *N. caninum* na reprodução bovina (Romero et al., 2005).

Em relação à associação da ocorrência de abortos e à soropositividade, no presente estudo, não houve diferença significativa ($p>0,05$) entre estas variáveis. Romero et al. (2005) não conseguiram estabelecer uma forte associação entre a probabilidade de abortos e vacas soropositivas, porém houve uma tendência ao aumento da taxa de aborto em vacas positivas. Em estudo realizado em rebanhos leiteiros na Espanha, vacas infectadas por *N. caninum* demonstraram um risco cinco vezes maior de abortarem em relação às soronegativas (Warleta et al., 2008). Bartels et al. (2006) observaram que a ocorrência de abortos foi de 1,88 vezes maior em vacas soropositivas se comparadas a um animal soronegativo.

Em estudo realizado para avaliar os efeitos do *N. caninum* sobre a fertilidade em animais de alta produção na Espanha, López-Gatius et al. (2005) concluíram que a infecção não afeta a fertilidade em vacas de alta produção. Resultado semelhante ao relatado por Bjorkman et al. (2003) e López-Gatius (2003), que concluíram que as técnicas de manejo empregadas em rebanhos de

alta produção (melhoramento genético, de inseminação artificial e rações balanceadas) possibilitam efeitos benéficos sobre a fertilidade dos mesmos. Essa justificativa pode ser empregada nos rebanhos utilizados neste estudo, já que ambos rebanhos possuíam assistência técnica veterinária e utilizavam técnicas de manejo que beneficiam a reprodução dos animais.

Para este estudo, é importante destacar que o tamanho da amostra pode ter influenciado a falta de associação entre a soropositividade e os parâmetros reprodutivos devido ao pequeno número de rebanhos pesquisados. Para análise estatística dos dados reprodutivos, o número total de animais utilizados, nos dois rebanhos, foi de 103 bovinos.

Em relação à produção leiteira, alguns estudos têm demonstrado que pode ocorrer um decréscimo de 3% a 4% na produção de leite em animais soropositivos (Hernandez et al. 2001). Segundo Romero et al. (2005), vacas soronegativas para *N. caninum* produzem aproximadamente 84,7 kg de leite a mais por lactação. No presente estudo, não houve diferença significativa entre a produção leiteira e a soropositividade. Não houve diferença estatística entre a persistência da lactação e a infecção por *N. caninum*. Resultado similar foi descrito por López-Gatius et al. (2005) que, por meio de análises de regressão linear, observaram não ocorrer efeitos significativos da infecção por *N. caninum* sobre produção de leite em vacas de alta produção.

Bartels et al. (2006) concluíram que a produção de leite é afetada pelo status sorológico dos animais. Resultado similar ao de Thurmond & Hietala (1997) que observaram que há um decréscimo de 1,4 kg leite /dia em animais soropositivos quando comparados aos soronegativos. Hernandez et al. (2001) reportaram que ocorreu um decréscimo de 1,2 kg leite/dia na produção dos animais soropositivos. É difícil estabelecer o efeito negativo do *N. caninum* na produção leiteira, mas de qualquer modo sabe-se que toda infecção causa lesões e consome energia dos animais infectados (Hobson et al., 2002). Entretanto,

como a produção de leite depende de muitos fatores, é um risco concluir que apenas um parâmetro foi capaz de influenciar a produção de leite, como por exemplo, a infecção por *N. caninum*. A capacidade leiteira do animal está associada a aspectos genéticos, manejo, ambiente, entre outras variáveis. Assim, é difícil concluir sobre os efeitos da infecção por *N. caninum* na produção leiteira (Romero et al., 2005).

7 CONCLUSÕES

- A infecção por *N. caninum* está amplamente distribuída entre bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras, sul de Minas Gerais.
- Nos rebanhos leiteiros da microrregião de Lavras não foram observados fatores de risco associados à infecção por *N. caninum*.
- A presença de cães infectados por *N. caninum* na zona rural da microrregião de Lavras demonstra o risco de ocorrência de transmissão horizontal em rebanhos leiteiros desta região.
- A infecção congênita é a principal rota de transmissão do *N. caninum* entre os bovinos leiteiros das fazendas Ponte Alta e Pinheiros.
- A transmissão horizontal foi identificada nos bovinos das fazendas Ponte Alta e Pinheiros e deve ser levada em consideração na adoção de medidas de controle do *N. caninum* nestas propriedades.
- A infecção por *N. caninum* não produziu efeitos negativos sobre a produção leiteira e as alterações reprodutivas nos rebanhos das fazendas Ponte Alta e Pinheiros.

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, 2006.

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

ANDERSON, M.L.; PALMER, C.W.; THURMOND, M.C.; PICANSO, J.P.; BLANCHARD, C.; BREITMEYER, R.E.; MCALLISTER, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; READ, D.H.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A.; BARR, B.C. Evaluation of abortion in cattle attributed to neosporosis in selected dairies in California. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.207, n.9, p.1206-1210, 1995.

ANDERSON, M.L.; REYNOLDS, J.P.; ROWE, J.D.; SVERLOW, K.W.; PACKHAM, A.E.; BARR, B.C.; CONRAD, P.A. Evidence of vertical transmission of *Neospora sp* infection in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary**, v.210, p.1169-1172, 1997.

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

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.D.; PIRES, P.P.; SILVA, E.A.E. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, center-western region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.13, p.129-131, 2004.

ANTUNES, F. Caracterização climática do Estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.12, n.138, p.9-13, 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**, v.16, n.3, p.110-114, 2000.

AZEVEDO, S.S.; BATISTA, C.S.A.; VASCONCELLOS, S.A.; AGUIAR, D.M.; ARAGOZO, A.M.; RODRIGUES, A.A.R.; ALVES, C.J.; GENNARI,

S.M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.79, p.51–56, 2006.

BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARE, J.; LAMONTHE, P.; SAUVÉ, R. Evaluation of the embryo transfer procedure proposed by the International Embryo Transfer Society as a method of controlling vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.218, n.11, p.1803-1806, 2001.

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

BARLING, K.S.; McNEILL, J.W.; PASCHAL, J.C.; McCOLLUM III, F.T.; CRAIG, T.M.; ADAMS, L.G.; THOMPSON, J.A. Ranch management factors associated with antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in Texas, USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v.52, n.1, p.53-61, 2001.

BARLING, K.S.; McNEILL, J.W.; THOMPSON, J.A.; 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.; CONRAD, P.A.; BREITMEYER, R.; SVERLOW, K.; ANDERSON, M.L.; REYNOLDS, J.; CHAUVET, A.E.; DEBEY, J.P.; ARDANS, A.A. Congenital *Neospora* infections in calves born from cows that had previously aborted *Neospora* - infected fetuses: four cases (1990-1992). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.202, p.113-117, 1993.

BARTELS, C.J.M.; ARNAIZ-SECO, J. I.; RUIZ-SANTA-QUITERA, A.; BJORCKMAN, 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**, v.137, p.17–27, 2006.

BARTELS, C.J.M.; VAN SCHAIK, G.; VELDHUISEN, J. P.; VAN DEN BORNE, B.H.P.; WOUDA, W.; DIJKSTRA, T. Effect of *Neospora caninum*-serostatus on culling, reproductive performance and milk production in Dutch dairy herds with and without a history of *Neospora caninum* associated abortion epidemics. **Preventive Veterinary Medicine**, v.77, p.186–198, 2006.

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

BARTELS, C.J.M. et al. Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. **Veterinary Parasitology**, v.148, p.83-92, 2007.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M.C.; MOORE, D.P.; RAMBEAU, M.; UNZAGA, J.M.; CAMPERO, C.; BACIGALUPE, D.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef cattle farms, dairy farms, and from urban areas of Argentina. **Journal of Parasitology**, v.87, p.906-907, 2001.

BENETTI, H.A. **Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros da região sudoeste do estado de Mato Grosso**. 2006. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.

BERGERON, N.; FECTEAU, G.; PARE´, J.; MARTINEAU, R.; VILLENEUVE, A. Vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* in dairy herds in Quebec. **Canadian Veterinary Journal**, v.41, p.464–467, 2000.

BJORKMAN, C.; JOHANSSON, O.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O.J.; UGGLA, A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, p.1441–1444, 1996.

BJORKMAN, C.; MCALLISTER, M. M.; FROSSILING, 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**, v.15, n.1, p.3-7, 2003.

BJORKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **International Journal of Parasitology**, v.29, p.1497-1507, 1999.

BRAUTIGAM, F.E.; HIETALA, S.K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15., 1996, Campo Grande. **Anais**. Campo Grande: Sociedade Matogrossense do Sul de Medicina Veterinária, 1996. p.284.

CANADA, N.; CARVALHEIRA, J.; MEIRELES, C.S.; CORREIA da COSTA, J.M.; ROCHA, A. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. **Theriogenology**, v.62, p.229–1235, 2004.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; BERGAMASCHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; SOUZA, S.L.P.; SILVA, J.C.R.; PINTER, A.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.115, p.71-74, 2003

CHI, J.; VANLEEUWEN, J.A.; WEERSINK, A.; KEEFE, G.P. Direct production losses and treatment costs from bovine viral diarrhoea virus, bovine leukosis virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum*. **Preventive Veterinary Medicine**, v.55, p.137–153, 2002.

COLLANTES-FERNANDEZ, E. **Patogenia de la neosporosis en el feto bovino y en un modelo murino experimental**. 2003. 277p. Tese (Doutorado) - Universidad Complutense de Madrid.

COLLANTES-FERNANDEZ, 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 fetuses. **Theriogenology**, New York, v.65, n.3, p.629-641, 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**, v.103, p.195–202, 2002.

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**, v.74, n.2-3, p.130-141, 2006.

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**, v.22, n.1, p.61-66, 2001.

CRAMER, G.; KELTON, D.; DUFFIELD, T.F.; HOBSON, J.C.; LISSEMORE, K.; HIETALA, S.K.; PEREGRINE, A.S. *Neospora caninum* serostatus and culling on Holstein cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.221, p.1165–1168, 2002.

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

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

DIJKSTRA, T.H.; BARKEMA, H.W.; EYSKER, M.; BEIBOER, M.L.; WOUDA, W. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 31, n.2, p. 99-104, 2002.

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

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v.84, p.349-367, 1999b.

DUBEY, J.P. Neosporosis in cattle. **Journal of Parasitology**, v.89, p.542-556, 2003.

DUBEY, J.P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of Bovine Neosporosis. **Journal Comp. Pathology**, v.134, p.134-267, 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**, v.193, n.9, p.1269-1285, 1988.

DUBEY, J.P.; DOROUGH, K.R.; JENKINS, M.C., LIDDELL, S.; SPEER, C.A.; KWOK, O.C.H.; SHEN, S.K. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.1293–1304, 1998.

DUBEY, J.P.; HATTEL, A.L.; LINDSAY, D.S.; TOPPER, M.J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.193, p.1259-1263, 1988.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. **American Journal Veterinary Res.**, v.50, p.1578–1579, 1989.

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

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; HILL, D.; ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; KWOK, O.C.H.; SILVA, J.C.R.; OLIVEIRA-CAMARGO, M.C.; GENNARI, S.M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Sarcocystis neurona* in sera of domestic cats from Brazil. **Journal Parasitology**, v.88, p.1251–1252, 2002.

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

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v.20, n.2, p.323–367, 2007.

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**, v.90, n.3, p.171-181, 2000.

FERNANDES, B.C.T.M.; GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.P.; CARVALHO, J.M.; OLIVEIRA, W.G.; CURY, M.C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, p.33-40, 2004.

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

GARCÍA-VÁZQUEZ, Z.; CRUZ-VÁZQUEZ, C.; MEDINA-ESPINOZA, L.; GARCÍA-TÁPIA, D.; CHAVARRIA-MARTINEZ, B. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, Mexico. **Veterinary Parasitology**, v.106, p.115-120, 2002.

GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; DÁURIA, S.N.R.; CARDOSO, S.M.S.; KWOK, O.C.H.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.106, p.177-179, 2002.

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

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

GUEDES, P.H.M. **Frequência de anticorpos anti *Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do Sul de Minas Gerais**. Lavras, 2006. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

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**, v.124, n.1-2, p.1-8, 2004.

HALL, C.A.; REICHEL, M.P.; ELLIS, J.T. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. **Veterinary Parasitology**, v.128, p.231-241, 2006

HERNANDEZ, J.; RISCO, C.; DONOVAN, A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.219, p.632-635, 2001.

HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1669-1676, 1999.

HOBSON, J.C.; DUFFIELD, T.F.; KELTON, D.; LISSEMORE, K.; HIETALA, S.K.; LESLIE, K.E.; MCEWEN, B.; CRAMER, G.; PEREGRINE, A.S.

Neospora caninum serostatus and milk production of Holstein cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v.221, p.1160–1164, 2002.

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**, v.127, p.177-188, 2005.

HUR, K.; KIM, J.H.; HWANG, W.S.; HWANG, E.K.; JEAN, Y.H.; LEE, B.C.; BAE, J.S.; KANG, Y.B.; YAMANE, I.; KIM, D.Y. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* in Korean dairy cattle by indirect immunofluorescent antibody assay. **Korean Journal Veterinary Res.**, v.38, p.859–866, 1998.

INNES, E.A.; WRIGHT, S.E.; MALEY, S.; RAE, A.; SCHOCK, A.; KIRVAR, E.; BARTLEY, P.; HAMILTON, C.; CAREY, I.M. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v.31, p.1523-534, 2001.

INNES, E.A.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; MALEY, S.; MACALDOWIE, C.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. **Vet. Immunol. Immunopathol**, v.108, p.29–36, 2005.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. 2004a. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Produção Pecuária/Produção da Pecuária Municipal%5Banual%5D/2004/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Produção_Pecuária/Produção_da_Pecuária_Municipal%5Banual%5D/2004/)>. Acesso em: 20 nov. 2006.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção da pecuária municipal**. 2004b. Disponível em: <[ftp://ftp.ibge.gov.br/Produção Pecuária/Produção da Pecuária Municipal%5Banual%5D/2004/](ftp://ftp.ibge.gov.br/Produção_Pecuária/Produção_da_Pecuária_Municipal%5Banual%5D/2004/)>. Acesso em: 15 ago. 2007.

JENKINS, M.C.; CAVER, J.A. ; BJORKMAN, C.; ANDERSON, T.C.; ROMAND, S.; VINYARD, B.; UGGLA, A.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J.P. Serological investigation of an outbreak of *Neospora caninum*- associated abortion in a dairy herd in southeastern United States. **Veterinary Parasitology**, v.94, n.1-2, p.17-26, 2000.

JESUS, E.E.V.; SANTOS, P.O.M.; BARBOSA, M.V.F.; PINHEIRO, A.M.; GONDIM, L.F.P.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, Estado da Bahia—Brasil. **Braz. Journal Veterinary Res. Animal Science**, v.43, p.5–10, 2006.

KLEIN, F.; HIETALA, S.K.; BERTHET, H.; VERY, P.; GRADINARU, D. *Neospora caninum*: enquête serologique sur les avortements des bovins normands et charolais. **Le Point Vet.**, v.28, p.1283–1286, 1997.

KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; TSUTSUI, T.; ETO, M.; YAMANE. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle with reproductive disorders in Japan. **Veterinary Parasitology**, v.130, p.15–18, 2005.

LANDMANN, J.K.; JILLELLA, D.; O'DONOGHUE, P.J.; MCGOWAN, M.R. Confirmation of the prevention of vertical transmission of *Neospora caninum* in cattle by the use of embryo transfer. **Australian Veterinary Journal**, Victoria, v.80, n.8, p.502-503, 2002.

LINDSAY, D.S.; KELLY, E.J.; MCKOWN, R.; STEIN, F.J.; PLOZER, J.; HERMAN, J.; BLAGBURN, B.L.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. **Journal Parasitology**, v.82, p.657–659, 1996.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; THOMAZ SOCCOL, V.; RICHARTZ, R.R.T.B.; GASINO-JOINEAU, M.E.; VAN DER VINNE, R.; SILVA, R.; LEITE, L.C.; PINCKNEY, R. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras e bezerros no estado do Paraná. **Archive Veterinary Science**, v.6, p.37–41, 2001.

LOPEZ-GATIUS, F.; SANTOLARIA, P.; ALMERIA, S. *Neospora caninum* infection does not affect the fertility of dairy cows in herds with high incidence of *Neospora*-associated abortions. **Journal Veterinary Medical B.**, v.52, p.51–53, 2005.

LOPEZ-GATIUS, F.; PABON, M.; ALMERIA, S. *Neospora caninum* does not affect early pregnancy in dairy cattle. **Theriogenology**, v.62, p.606–613, 2003.

- 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. **Vet. Rec.**, v.145, p.72–75, 1999.
- MALMASI, A.; HOSSEININEJAD, M.; HADDADZADEH, H.; BADI, A.; BAHONAR, A. Serologic study of anti-*Neospora caninum* antibodies in household dogs and dogs living in dairy and beef cattle farms in Tehran, Iran. **Parasitology**, v.100, n.5, p.1143-1145, 2006.
- MAYHEW, I.G.; SMITH, K.C.; DUBEY, J.P.; GATWARD, L.K.; MCGLENNON, N.J. Treatment of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. **Journal Small Animal Practice**, v.32, n.12, p.609-612, 1991.
- McALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R.; WILLS, R.A.; McGUIRE, A.M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.1473-1478, 1998.
- MCGUIRE, A.M.; McALLISTER, M.; WILLS, R.A.; TRANAS, J.D. Experimental inoculation of domestic pigeons (*Columbia livia*) and zebra finches (*Poephilia guttata*) with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1525–1529, 1999.
- MELO, C.B.; LEITE, R.C. *Neospora caninum* em Minas Gerais: dados preliminares. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11. 1999, Salvador. **Anais...** Salvador, BA: Universidade Estadual de Santa Cruz, 1999. p. 255-256.
- MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N.; LEITE, R.C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.10, n.2, p.67-74, 2001.
- MOORE, D.P. Neosporosis in South America. **Veterinary Parasitology**, v.127, n.1, p.87-97, 2005.
- MOORE, D.P.; CAMPERO, C.M.; ODEON, A.C.; POSSO, M.A.; CANO, D.; LEUNDA, M.R.; BASSO, W.; VENTURINI, M.C.; SPATH, E. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. **Veterinary Parasitology**, v.107, p.303–316, 2002.

MOSKWA, B.; PASTUSIAK, K.; BIEN, J.; CABAJ, W. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. **Parasitol. Res.**, v.100, p.633–636, 2007.

MUNHOZ, A.D.; FLAUSINO, W.; ALMEIDA, C.R.R.; LOPES, C.W.G. Frequência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em vacas, no rebanho leiteiro do município de Rio Claro, estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. **Anais...** Rio de Janeiro, 2002.

MUNHOZ, A.D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R.T.; ALMEIDA, A.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 Parasitologia Veterinária**, v.15, p.101–104, 2006.

MUNOZ-ZANZI, C.A.; THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy heifers. **Theriogenology**, v.61, p.1085–1099, 2004.

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**, v.57, n.3, p.312-316, 2005.

OLIVEIRA, F.S.V. **Transmissão vertical e ocorrência de abortos por *Neospora caninum* em bovinos de uma central de transferência de embriões em Goiás.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Animal) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO.

OOI, H.K.; HUANG, C.C.; YANG, C.H.; LEE, S.H. Serological survey and first finding of *Neospora caninum* in Taiwan, and the detection of its antibodies in various body fluids of cattle. **Veterinary Parasitology**, v.90, p.47–55, 2000.

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

PARADIES, P.; CAPELLI, G.; TESTINI, G.; CANTACESSI, C.; TREES, A.J.; OTRANTO, D. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v.145, n.3, p.240-244, 2007.

PARE´, J.; THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Congenital *Neospora* infection in dairy cattle. **Vet. Rec.**, v.134, p.531–532, 1994.

PARE´, J.; THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calf hood mortality. **Canadian Journal Veterinary Res.**, v.60, p.133–139, 1996.

PATITUCCI, A.N.; PÉREZ, M.J.; ROZAS, M.A.; ISRAEL, K.F. Neosporosis canine: detection of sera antibodies in rural and urban canine population of Chile. **Arquivos de Medicina Veterinária**, v.33, p.227-232, 2001.

PEREZ-ZABALLOS, F.J.; ORTEGA-MORA, L.M.; ALVAREZ-GARCIA, G.A.; COLLANTES-FERNANDEZ, A.E.; NAVARRO-LOZANO, V.; GARCIA-VILLADA, L.; COSTAS, E. Adaptation of *Neospora caninum* isolates to cell-culture changes: an argument in favor of its clonal population structure. **Journal Parasitology**, v.91, p.507–510, 2005.

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

PITUCO, E.M.; SOARES, J.A.G.; OKUDA, L.H.; STEFANO, E. Ocorrência de neosporose bovina em rebanhos com histórico de abortamento no Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.65, p.70, 1998.

QUINTANILLA-GOZALO, A.; PEREIRA-BUENO, J.; TABERÉS, E.; INNES, E.A.; GONZÁLEZ-PANIELLO, R.; ORTEGA-MORA, L.M. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1201-1208, 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**, v.12, n.1, p.33-37, 2003.

REITT, K.; HILBE, M.; VOEGTLIN, A.; CORBOZ, L.; HAESSIG, M.; POSPISCHIL, A. A etiology of bovine abortion in Switzerland from 1986 to 1995—a retrospective study with emphasis on detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* by PCR. **Journal Veterinary Medical A**, v.54, p.15–22, 2007.

- 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**, v.128, p.219–230, 2005.
- RODRIGUEZ, I.; CHOROMANSKI, L.; RODGERS, S.; WEINSTOCK, D. Survey of *Neospora caninum* antibodies in dairy and beef cattle from five regions of the United States. **Veterinary Ther.**, v.3, p.396–401, 2003.
- ROMERO, J.J.; BREDA, VAN, S.; VARGAS, B.; DOLZ, G.; FRANKENA, K. Effect of neosporosis on productive and reproductive performance of dairy cattle in Costa Rica. **Theriogenology**, v.64, p.1928-1939, 2005.
- 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** v.114, p.159–171, 2003.
- SADREBAZZAZ, A.; HADDADZADEH, H.; ESMAILNIA, K.; HABIBI, G.; VOJGANI, M.; HASHEMIFESHARAKI, R. Serological prevalence of *Neospora caninum* in healthy and aborted dairy cattle in Mashhad, Iran. **Veterinary Parasitology**, v.124, p.201-204, 2004.
- SANCHEZ, G.F.; MORALES, E.; MARTINEZ, M.J.; TRIGO, J.F. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. **Canadian Journal Veterinary Research**, v.67, p.142–145, 2003.
- 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**, v.90, n.1-2, p.15-24, 2000.
- SARTOR, F.I.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA, L.C.; PITUCO, M.E.; PAI, DAR, V. Ocorrência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte na região de Presidente Prudente, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.4, p.423-418, 2005.
- SARTOR, I.F.; HASEGAMA, M.Y.; CANAVESSI, A.M.O.; PINCKNEY, R.D. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelo método de ELISA e RIFI no município de Avaré, SP. **Semina Ciências Agrárias**, v.24, p.3-10, 2003.

- SAWADA, M.; PARK, C.H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I.; UEMURA, T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. **Journal Veterinary Medical Science**, v.60, n.7, p.853-854, 1998.
- SCHARES, G.; BAERWALD, A.; STAUBACH, C.; ZILLER, M.; KLOSS, D.; WURM, R.; RAUSER, M.; LABOHM, R.; DRÄGER, K.; FASEN, W.; HESS, R.G.; CONRATHS, F.J. Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modeled by logistic regression. **International Journal for Parasitology**, v.33, p.1631-1640, 2003.
- SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BAERWALD, A.; CONRATHS, F.J. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analyzed by serological techniques. **Veterinary Parasitology**, v.80, p.87-98, 1998.
- SILVA, A.C. Diagnóstico da Neosporose bovina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E I SIMPOSIO LATINO AMERICANO DE RICKETTISIOSES, 13., 2004, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto, MG: Colégio Brasileiro de Parasitologia, 2004. p.29-33.
- SILVA, D.O.; LOBATO, J.; MINEO, T.W.P.; MINEO, J. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *neospora caninum* infection in dogs: optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, v.143, n.3-4, p.234-244, 2007.
- 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. Frequência 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.
- SOUZA, S.L.P.; GUIMARÃES, J.S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Parana, Brazil. **Journal Parasitology**, v.88, p.408-409, 2002.
- TEIXEIRA, W.C.; SILVA, M.I.S.; PEREIRA, J.G.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P. Frequência de cães reagentes para *Neospora caninum* em São Luis, Maranhão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária. Zootecnia**, v.58, p.685-687, 2006.

THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.210, p.672–674, 1997a.

THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.58, p.1381-1385, 1997b.

THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K.; BLANCHARD, P.C. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum* induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.9, p.44-49, 1997.

THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K.; BLANCHARD, P.C. Predictive values of fetal histopathology and immunoper-oxidase in diagnosing bovine abortion caused by *Neospora caninum* in a dairy herd. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.11, p.90-94, 1999.

TREES, A.J.; DAVISON, H.C.; INNES, E.A.; WASTLING, J.M. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v.29, p.1195–1200, 1999.

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

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

UGGLA, A.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O.J.M.; JAKUBEK, E.B.; THEBO, P.; KINDAHL, AH.; BJORKMAN, C. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.1467–1472, 1998.

VARANDAS, N.P.; RACHED, P.A.; COSTA, G.H.N.; SOUZA, L.M.; CASTAGNOLLI, K.C.; COSTA, A.J. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da região nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com neuropatias. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.22, n.1, p.105-111, 2001.

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

WANHA, K.; EDELHOFER, R.; GABLER-EDUARDO, C.; PROSL, H. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. **Veterinary Parasitology**, v.128, p.189–193, 2005.

WARLETA, G. M.; HERMIDA,C.A.J.; MELLA,C.J.; MEZO, M. Epidemiology of neosporosis in dairy cattle in Galicia. **Parasitology Res**, v. 102, n.2, p.243-249, 2008.

WOLDA, W.; BARTELS, C.J.; MOEN, A.R. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortions storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology**, v.52, n.2, p.233-245, 1999.

WOUDA, W.; MOEN, A.R.; SCHUKKEN, Y.H. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. **Theriogenology**, v.49, p.1311–1316, 1998.

YU, J.; LIU, Q.; XIA, Z. Seroepidemiology of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the People's Republic of China. **Veterinary Parasitology**, v.143, p.9–85, 2007.