

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

MONICA ELISA BARTMER

**LEVANTAMENTO DE *Neospora caninum* EM QUATRO PROPRIEDADES
LEITEIRAS DO MUNICÍPIO DE SANTANA DO LIVRAMENTO-RS**

**Dom Pedrito
2017**

MONICA ELISA BARTMER

**LEVANTAMENTO DE *Neospora caninum* EM QUATRO PROPRIEDADES
LEITEIRAS DO MUNICÍPIO DE SANTANA DO LIVRAMENTO-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia da Universidade Federal do Pampa, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia.

Orientadora: Dr. Adriana Pires Neves

**Dom Pedrito
2017**

MONICA ELISA BARTMER

**LEVANTAMENTO DE *Neospora caninum* EM QUATRO PROPRIEDADES
LEITEIRAS DO MUNICÍPIO DE SANTANA DO LIVRAMENTO-RS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Zootecnia da Universidade
Federal do Pampa, como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia.

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em: 30 de junho de 2017.

Banca examinadora:

Prof. Dra. Adriana Pires Neves
Orientadora
UNIPAMPA

Dra. Anelise Martins
UNIPAMPA

Prof. Dra. Tisa Echevarria Leite
UNIPAMPA

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe Ruth e aos meus tios Regina e Cláudio, que mesmo longe sempre me apoiaram e deram forças para que eu continuasse na luta durante esta etapa da minha vida.

Agradeço aos professores que tive durante minha passagem pela UNIPAMPA que sempre estiveram dispostos a ajudar e contribuir para um melhor aprendizado em especial a minha professora e orientadora Adriana Pires Neves.

Ás TAEs Anelise Martins e Cíntia Saydelles, pela dedicação, incentivo e ajuda nos testes, sem os quais não seria possível a conclusão deste trabalho.

Ás minhas colegas de jornada, em especial a Fernanda Cupertino, que mesmo longe sempre está em meus pensamentos, a Fernanda Scheeren, por escutar pacientemente (ou nem tanto) minhas histórias e reclamações durante este semestre louco e a Viviane Penteado, que por mais estranha que seja esta amizade que criamos, me incentivou a continuar escrevendo.

Á Leonor e José Pedro Isola, que me adotaram durante estes anos de faculdade, por me aturar e até mesmo puxarem minhas orelhas quando eu precisava. Por abrirem as portas da Ponderosa para mim e me mostrarem como é realmente o trabalho em campanha e em um tambo.

E claro que não posso deixar de agradecer ao José Victor Isola, por todos estes anos de amizade e companheirismo, aqui e em qualquer país que estivéssemos, thank you for always being there for me and tolerating all my strangeness.

“As grandes ideias surgem da observação dos pequenos detalhes”.

Augusto Cury

RESUMO

A neosporose é uma doença parasitária considerada uma das principais causas de abortos em diversos animais de interesse zootécnico, principalmente bovinos, em várias partes do mundo. Considerando a escassez de informações sobre a infecção por este parasito no Estado do Rio Grande do Sul e o fato da neosporose não estar contemplada em nenhum programa governamental de controle mesmo estando presente em todo o território nacional, objetivou-se estudar a ocorrência de infecção por *N. caninum* em vacas leiteiras do município de Sant'Anna do Livramento, localizado na Campanha Gaúcha. Foram coletadas amostras de sangue de 40 vacas leiteiras de 4 propriedades do município, as quais foram submetidas ao ensaio imunoenzimático (ELISA). Foram considerados positivos os animais que apresentaram densidade óptica maior ou igual a x2.5 a densidade do soro controle negativo e coloração amarela intensa. Nenhum animal se mostrou positivo, sugerindo uma ausência de *N. caninum*, mostrando a eficiência nas medidas de controle de doenças reprodutivas nas propriedades estudadas.

Palavras-Chave: Bovinocultura leiteira. ELISA. Neospora. Parasitologia.

ABSTRACT

Neosporosis is a parasitary disease considered to be one of the main causes of abortion in several animals of zootechnical interest, mainly cattle, in several parts of the world. Considering the scarcity of information about the infection by this parasite in the State of Rio Grande do Sul and the fact that neosporosis is not contemplated in any governmental control program even though it is present throughout the national territory, it was aimed to study the occurrence of infection by *N. caninum* in dairy cows from the municipality of Sant'Anna do Livramento, located in the southern border of the State. Blood samples were collected from 40 cattle from 4 properties of the city, which were submitted to the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and were considered positive animals with an optical density greater than or equal to x2.5 the negative control serum density and intense yellow color. No animals were positive, suggesting absence of *N. caninum*, showing the efficiency of reproductive diseases' control measures in the studied properties.

Keywords: Dairy cattle. ELISA. Neospora. Parasitology.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Ciclo de Vida do <i>Neospora caninum</i>	18
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Prevalência de anticorpos anti- <i>N. caninum</i> em bovinos no BR – 1999 a 2015.....	20
Tabela 2 - Resultado da Densidade Óptica.....	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ELISA – Ensaio Imunoenzimático

RIFI – Reação de Imunofluorescência Indireta

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

µm – Micrometro

TTE_n – Transmissão Transplacentária Endógena

TTE_{ex} – Transmissão Transplacentária Exógena

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 A Enfermidade.....	16
2.2 Classificação e Ciclo biológico do N. caninum	17
2.3 Prevalência no Brasil.....	19
2.4 Importância da identificação do N. caninum.....	21
2.5 Transmissão	21
2.6 Hospedeiros	22
2.6.1 Neosporose Bovina.....	22
2.6.2 Neosporose em Aves	23
2.6.3 Neosporose ovina	24
2.6.4 Neosporose caprina	24
2.7 Prejuízos Econômicos.....	25
2.8 Evitando as perdas com N. caninum.....	26
2.9 Diagnóstico da Neosporose	27
2.9.1 RIFI.....	27
2.9.2 ELISA	28
3 METODOLOGIA.....	29
3.1 Local de Estudo.....	29
3.2 Amostras de Estudo.....	29
3.3 Propriedades e Animais	29
3.4 Fatores de Risco	30
3.5 Coleta de Sangue.....	30
3.6 Diagnóstico Sorológico	30
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

O *Neospora caninum* é um protozoário coccídeo intracelular obrigatório (DUBEY et al., 2011). A enfermidade associada à infecção por esse parasita é denominada de neosporose. A infecção por *N. caninum* tem sido apontada como uma das principais causas de problemas reprodutivos em bovinos nas últimas décadas em todo o mundo (ANDREOTTI et. al., 2003). No Brasil, este parasito tem sido notificado em diferentes Estados, indicando que a neosporose possui ampla distribuição geográfica, independente das diferenças ecofisiográficas (SPITI, 2016).

A neosporose em bovinos apresenta importância na reprodução destes animais por ser responsável por abortos, morte embrionária e reabsorção, mumificações fetais, repetição de cio, diminuição da taxa de desfrute, além do nascimento de natimortos ou de animais saudáveis, mas persistentemente infectados (PI) que terão uma menor taxa de crescimento e poderão manter o parasito na propriedade por meio de infecção vertical. A prevalência de *N. caninum* é mais elevada em animais com histórico de aborto, do que naqueles aparentemente normais, o que demonstra a relação da neosporose com a perda fetal (IBRAHIM et al., 2012).

Tanto Silva et. al. (2008) quanto Santos et. al. (2005) relataram uma correlação significativa entre a presença de anticorpos contra *N. caninum* e o histórico de abortamento no Brasil. Existem também vários trabalhos mostrando a prevalência do *N. Caninum* no Brasil com resultados muito variáveis entre si (SPITI, 2016). Este fato, segundo Macedo et al. (2013), pode ser devido às variabilidades de raças de animais criados (*Bos indicus* e *Bos taurus*) e aos diversos sistemas de criação animal, que variam radicalmente de região para região, influenciando no manejo e diretamente no modo de transmissão da doença, assim como também a procedência da amostra, as técnicas utilizadas e o ponto de corte empregados nas análises (CADORE et al., 2010).

Pode-se diagnosticar essa enfermidade com base nas lesões histológicas produzidas nos tecidos dos fetos abortados, na identificação do protozoário pela técnica de imunistoquímica e/ou isolamento do mesmo, além de provas sorológicas utilizando-se os testes de RIFI ou ELISA.

Devido aos prejuízos econômicos causados por problemas reprodutivos em várias espécies de interesse produtivo, o *N. caninum* deve ser considerado um patógeno importante. Considerando a escassez de informações sobre a infecção por este parasito no Estado do Rio Grande do Sul e o fato da neosporose não estar contemplada em nenhum programa

governamental de controle mesmo estando presente em todo o território nacional, objetivou-se estudar a ocorrência de infecção por *N. caninum* em vacas leiteiras de quatro propriedades do município de Sant'Anna do Livramento localizado na Campanha Gaúcha.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 A Enfermidade

O *Neospora caninum* é um parasito coccídeo formador de cistos, primeiramente reconhecido em 1984, na Noruega, quando identificaram filhotes de cães da raça boxer com problemas neurológicos e cistos teciduais semelhantes ao *Toxoplasma gondii*, porém, os anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* não foram detectados ao examinarem os cérebros destes cães (BJERKAS et al., 1984).

Posteriormente, Dubey et al. (1988) realizaram um estudo em 23 cães, provavelmente com toxoplasmose, por meio da realização de cortes histopatológicos, identificaram *T. gondii* em 13 animais e um novo parasito, estruturalmente distinto, foi encontrado em dez cães, sendo classificado em um novo gênero e a espécie foi denominada *Neospora caninum*.

Antes da descrição do *N. caninum*, algumas infecções em animais eram diagnosticadas erroneamente como sendo por *T. gondii*. Ambos parasitos pertencem à subclasse Coccidia, mas apresentam características determinantes para separar estas duas espécies. O primeiro critério de diferenciação se refere à paralisia que ocorre principalmente nos membros posteriores dos cães, durante a fase aguda que não é observada em animais com diagnósticos confirmados de toxoplasmose. A outra característica é a diferença morfológica entre os cistos teciduais destas espécies. E finalmente, os anticorpos anti-*T. gondii* não são encontrados em alguns cães com suspeita clínica de neosporose (DUBEY et al., 2002).

Neospora caninum é conhecida por infectar principalmente os bovinos, mas além desta espécie, o *N. caninum* também pode infectar diversos outros animais de produção, tais como ovelhas (DUBEY et al., 1990), cabras (BARR et al., 1992) e cavalos (HAMIR et al., 1998). O potencial patogênico deste parasito foi confirmado através de infecção experimental de vacas prenhes, resultando em morte fetal ou no nascimento de bezerros com infecção congênita (BARR et al. 1994).

A neosporose é uma doença que se manifesta na gestação, quando o feto em desenvolvimento é particularmente vulnerável (INNES et al. 2005), sendo o abortamento o sinal clínico mais evidente. A transmissão vertical é a principal forma de disseminação em bovinos (DUBEY et al. 2007). A patogenia desta enfermidade nos bovinos é complexa, não sendo totalmente esclarecida, uma vez que alguns animais têm abortamento e outros não (DUBEY et al. 2007). Em animais infectados naturalmente, a imunidade adquirida contra a

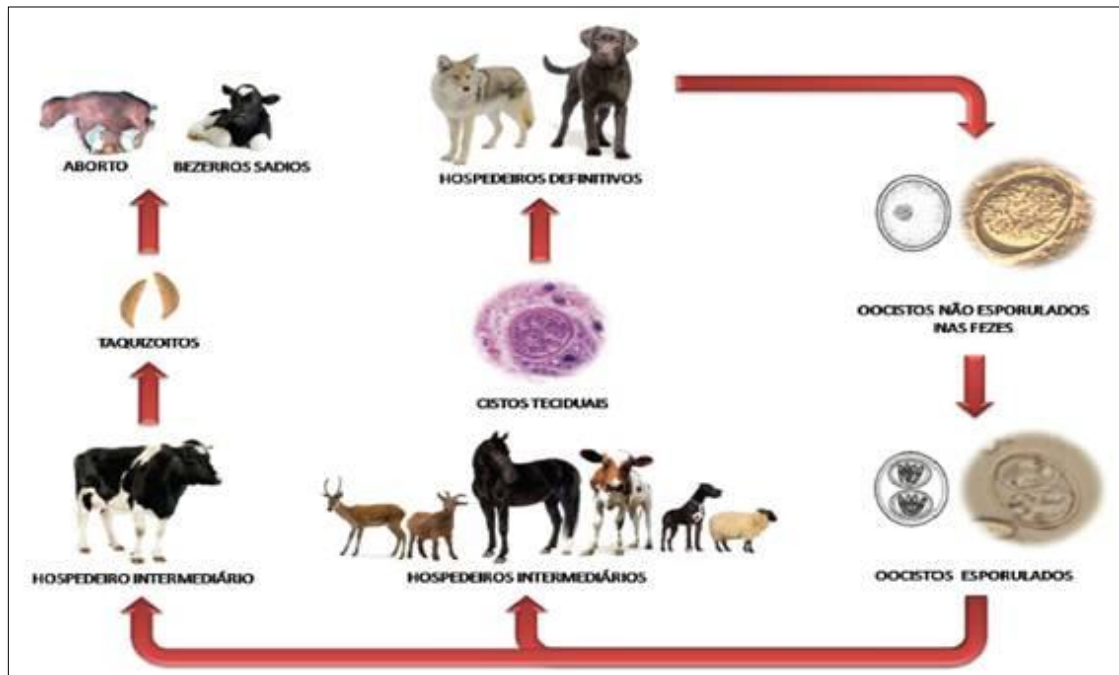
infecção antes da gestação não é suficiente para prevenir a transmissão transplacentária de *N. caninum* para o feto (THURMOND et al, 1996). Atualmente não se possui uma vacina eficiente ou uma medicação que previna os abortos ou a infecção transplacentária.

2.2 Classificação e Ciclo biológico do *N. caninum*

Através de estudos morfológicos e resultados da análise da sequência de DNA, foi determinada a classificação do *N. caninum* pertence ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, sub-classe Coccidiasina, ordem Eucoccidiorida, família Sarcocystidae, sub-família Toxoplasmatinae, gênero *Neospora* e espécie *Neospora caninum* (ELLIS et al, 1994, apud NEGRÃO, 2006). Fazem parte da mesma família o *Toxoplasma gondii* e o *Sarcocystis* e todos apresentam como característica a capacidade de formação de cistos teciduais.

McAllister et al. (1998) conseguiram esclarecer o ciclo biológico do *N. caninum*, confirmando experimentalmente que os cães eliminam oocistos nas fezes quando ingerem cistos contidos em cérebro de camundongos infectados, levando a concluir que o cão doméstico (*Canis familiares*) é um hospedeiro definitivo. Posteriormente, Basso et al. (2001) confirmaram que o cão é hospedeiro definitivo ao observarem a eliminação de oocistos por cães naturalmente infectados. Além do cão, Gondim et al. (2004) comprovaram que o coiote (*Canis latrans*) e o dingo australiano (*Canis lupus dingo*) podem ser reconhecidos como hospedeiro definitivo por também eliminar oocistos nas fezes.

Bovinos são hospedeiros intermediários, assim como ovinos, caprinos e equinos (VOGEL et al., 2006). Através de infecção experimental, Mineo et al. (2009) estabeleceram que pombos podem ser susceptíveis a infecção por *N. caninum*. Experimentos com macacos mostraram que esse parasito causa lesões semelhantes às encontradas em casos de toxoplasmose. Considerando que o cão é o hospedeiro definitivo, pode-se calcular que o ser humano está altamente exposto, o que pode levar a neosporose a também ser considerada uma questão de saúde pública (ANDREOTTI et al, 2001).

Figura 1- Ciclo de Vida do *Neospora caninum*

Fonte: CARDOSO et al., 2010

Gondim et al. 2004 demonstraram que o *N. caninum* é transmitido entre os animais silvestres e domésticos. Esta participação da fauna silvestre dificulta o controle do parasito nos rebanhos.

Como representado na Figura 1, o ciclo biológico do *N. caninum* envolve a participação de dois hospedeiros, um definitivo e outro intermediário sendo, então, um ciclo heteroxeno, no qual a fase assexuada ocorre no hospedeiro intermediário e a sexuada no hospedeiro definitivo (DUBEY et al., 2010). O cão pode se comportar como hospedeiro definitivo ou intermediário (DUBEY et al., 2010).

No hospedeiro intermediário, o *N. caninum* pode se apresentar sob duas formas de desenvolvimento assexuado: taquizoítos e bradizoítos. A primeira multiplica-se por endodiogenia, dentro de vacúolo parasitóforo em diferentes tipos de células hospedeiras, e a segunda é responsável pela infecção crônica persistente do hospedeiro (DUBEY, 1999).

Os caninos podem entrar em contato com o parasito ingerindo cistos presentes em tecidos de hospedeiros intermediários. No intestino, o parasito passará pela fase sexuada, que ocorre somente no hospedeiro definitivo, embora os estágios enteroepiteliais ainda não terem sido demonstrados (DUBEY et al., 2002). Os oocistos eliminados nas fezes do hospedeiro definitivo passarão por um processo de esporulação dentro de 24 a 72 horas, tornando-se infectantes e podem contaminar o ambiente (DUBEY et al., 2010).

O hospedeiro intermediário se infecta após a ingestão dos oocistos esporulados, os esporozoítos desencistam-se e invadem as células no trato intestinal, transformando-se em taquizoítos, provocando lesões teciduais e propagando a infecção para vários tecidos do hospedeiro. Nesses animais infectados os taquizoítos são encontrados em células do sistema nervoso, macrófagos, fibroblastos, células do endotélio vascular, miócitos, células do epitélio dos túbulos renais e hepatócitos (DUBEY et al., 2010). No interior das células os taquizoítos podem entrar em um estado de dormência nos tecidos, os bradizoítos (DUBEY et al., 2010). O estágio de latência não impede a infecção quando são ingeridos pelo cão (DUBEY et al., 2010).

A ingestão de tecidos de origem animal contendo bradizoítos, taquizoítos ou oocistos esporulados faz com que adquira a infecção, tornando-se tanto hospedeiro intermediário quanto definitivo (DUBEY et al., 2010). A eliminação de oocistos pelas fezes, faz do cão o hospedeiro definitivo e a contaminação da água e alimentos consumidos pelos hospedeiros intermediários facilitam a propagação da infecção (McALLISTER et al., 1998).

2.3 Prevalência no Brasil

O primeiro estudo de soroprevalência de *N. caninum* em bovinos no Brasil foi realizado por Gondim et al. (1999), na Bahia, utilizando a RIFI. Neste trabalho os autores detectaram anticorpos anti-*N. caninum* em 14,09% dos bovinos testados, com títulos de 200 a 3.200, e somente uma propriedade não apresentou evidências da presença de *N. caninum* (GONDIM, et. al., 1999). Diversos pesquisadores fizeram levantamentos soropidemiológicos e os valores de soroprevalência variaram de 14,3% (GUIMARÃES JÚNIOR et. al., 2004) a 53,4% (BENETTI et. al., 2009) conforme Tabela 1.

Tabela 1- Prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos no Brasil – 1999 a 2015

Autor	Ano	Estado	Teste	Título	% de positivo
Gondim et al.	1999	BA	RIFI	200 a 3.200	14,09
Costa et al.	2001	SP e MG	RIFI	≥ 200	16,83 (me)
Corbellini et al.	2002	RS	RIFI	≥ 200	11,2 (HPB)
Corbellini et al.	2005	RS	RIFI	≥ 200	17,8
Ragozzo et al.	2003	MT, MG, PR e RJ	RIFI	≥ 25	23,6
		PR			22,2
					26,2 (le)
					19,1 (co)
Sartor et al.	2003	SP	RIFI	≥ 200	15,99 (le)
			ELISA		30,5 (le)
Guimarães Jr. et al.	2004	PR	RIFI	≥ 25	14,3
					15,1 (HPB)
					7,7 (cru)
Ogawa et al.	2005	PR	RIFI	≥ 200	12
Sartor et at.	2005	SP	ELISA		20,00 (co)
					35,5 (le)
Melo et al.	2006	GO	RIFI	≥ 250	30,4
					29,6 (co)
					30,4 (le)
					43,3 (mi)
Vianna et al.	2008	SP	ELISA		19,88 (nel)
Benetti et al	2009	MS	RIFI	≥ 200	53,5
Camillo et al.	2010	PR	RIFI	≥ 100	24,2
Macedo et al.	2013	SC	ELISA	≥ 100	42,5
Langoni et al.	2013	PR	RIFI	≥ 25	24
Boas et al.	2015	RO	RIFI	≥ 100	10,62 (le)

Fonte: Spiti, 2016.

Siglas: me (animais mestiços); HPB (raça Holandês Preto e Branco); le (bovinos de leite); co (bovinos de corte); cru (animais cruzados); mi (animais mistos); nel (raça Nelore).

2.4 Importância da identificação do *N. caninum*

É importante a identificação da presença do *N. caninum* nos rebanhos, principalmente de bovinos, devido aos prejuízos econômicos causados pelos problemas reprodutivos que este parasito causa nos animais (Andreotti et al. 2003), tais como, fetos mumificados, natimortos, nascimento de bezerras com problemas neurológicos, assim como os custos com a reprodução (inseminação artificial ou cobertura e valor dos fetos), os custos indiretos (aumento do intervalo entre partos, diminuição da produção de leite, aumento do descarte e reposição dos animais, diminuição da vida produtiva), além de custos com assistência veterinária, medicamentos e diagnóstico da doença (DUBEY et al. 2007).

Segundo Monney et al. (2014), os riscos de contrair a infecção de maior importância são: a idade dos animais; o número de hospedeiros definitivos em contato com o alimento do rebanho; gerenciamento e instalações da propriedade, com maiores riscos com maiores lotações e rebanhos grandes.

2.5 Transmissão

O *N. Caninum* possui dois mecanismos de transmissão conhecidos: vertical e horizontal. A transmissão vertical tem um papel primordial na manutenção da doença, já que a maioria das infecções congênicas resultam em animais clinicamente normais, mas cronicamente infectados (DUBEY et al.,1992). Na transmissão horizontal, os hospedeiros ingerem alimentos ou água contaminada com oocistos esporulados de *N. caninum* ou cistos presentes em tecidos de qualquer hospedeiro intermediário (McALLISTER et al.,1998). Nos cães, a transmissão horizontal ocorre principalmente quando estes ingerem cistos teciduais presentes no sistema nervoso central ou em placentas de bovino (PETERS et al., 2001).

A transmissão vertical tem sido demonstrada em vários hospedeiros (bovinos, carneiros, cabras, cães, gatos, camundongos, macacos e porcos), sendo a principal via de infecção para os bovinos. Ocorre via materno-fetal, sendo que nesta a infecção pode ser recrudesciente ou primária. Um animal infectado pode transmitir a infecção ao feto por sucessivas gestações, contribuindo significativamente para a persistência da doença no rebanho e pode apresentar um ou mais abortos durante a sua vida reprodutiva acarretando grandes perdas. Os taquizoítos presentes no sangue passam pela placenta infectando o feto, que pode morrer no útero e ser reabsorvido, mumificado ou autolisado. As consequências para

o feto variam de acordo com a imunidade da fêmea (primoinfecção ou reinfecção) e o período gestacional em que se encontra (STENLUND et al., 1999).

Estudos recentes têm demonstrado que a infecção vertical ou congênita pode ser dividida em transmissão transplacentária endógena (TTE_n) e transmissão transplacentária exógena (TTE_x). A TTE_n se refere a infecção fetal que ocorre a partir da reativação de uma infecção materna pré-natal, podendo causar abortos endêmicos ou esporádicos. Já na TTE_x, a infecção fetal se dá quando a mãe se infecta durante a gestação, podendo provocar abortos epidêmicos (TREES, 2005).

2.6 Hospedeiros

O *Neospora caninum* possui um ciclo de vida em animais silvestres e outros hospedeiros domésticos, sendo que nestes diferentes ambientes as duas espécies de caninos, coiotes e cães, liberam oocistos nas fezes. Nos Estados Unidos, foram observados cervídeos infectados naturalmente por *N. caninum* transmitindo para cães, por meio de carnivorismo (GONDIM et al., 2004).

De acordo com Dubey et al. (2010), o *N. caninum* possui uma distribuição mundial, tendo várias espécies como hospedeiras intermediárias. Estudos mostram que infecções naturais por *N. caninum* podem ocorrer em ratos e camundongos (FERROGLIO et al., 2007). Sabe-se que camundongos e ratos são consumidos por diferentes espécies de carnívoros, inclusive caninos, podendo assim, contribuir para a disseminação da doença.

2.6.1 Neosporose Bovina

Em bovinos os abortos causados pela neosporose podem ocorrer do terceiro mês de gestação até seu final, mas evidentemente a maioria dos abortos se dão entre o quinto e sexto mês (WILLIANS et al., 2009). Em vacas persistentemente infectadas, o parasito existe em equilíbrio com o sistema imune do hospedeiro, mas durante a gestação, a imunidade é modificada, isto leva a conversão dos bradizoítos em taquizoítos invasivos.

Dano tecidual pode ser causado pela multiplicação dos parasitos na placenta ou nos tecidos fetais (INNES et al., 2007). O dano também pode ocorrer pela ativação do sistema

imune materno, conseqüentemente, a falta de oxigênio e nutrição devido ao dano na placenta podem ter um impacto negativo na sobrevivência fetal (INNES et al., 2007).

Em fetos mais jovens, o *Neospora* pode causar a morte por causa de sua proliferação incontrolada, mas em fetos mais velhos, que mostram uma imunidade mais desenvolvida, é visto um efeito mais restrito com pequenos pontos de necrose localizados (DUBEY et al., 2006).

A maioria dos bezerros (até 95%) que nascem de vacas soropositivas não mostram anormalidades clínicas e são aparentemente saudáveis, mas persistentemente infectados e transmitirão o parasito para sua progênie (DUBEY et al., 2006). Apesar do *N. caninum* causar repetidos abortos na mesma fêmea, o risco de abortos é reduzido em gestações subsequentes (INNES et al., 2007).

2.6.2 Neosporose em Aves

Em pesquisas sobre a transmissão do *Toxoplasma gondii* ficou evidente o papel das aves na manutenção da infecção nos rebanhos, sendo elas consideradas reservatórios naturais do parasito, já que estes animais são frequentemente caçados pelo hospedeiro definitivo do *T. gondii*, os felinos (ELMORE et al., 2010). O mesmo padrão pode ser observado com relação a cães e aves, levantando assim a possibilidade de os pássaros terem o mesmo papel em relação ao ciclo de vida do *Neospora caninum* (MINEO et al. 2009), mesmo que este parasito nunca tenha sido detectado em animais não mamíferos.

Mineo et al. (2011), em suas análises sorológicas de aves selvagens mantidas em cativeiro não conseguiram detectar anticorpos IgG específicos para *N. caninum*, mas esta ausência de anticorpos pode ser atribuída ao fato de já ter sido relatado que pombos e diferentes modelos de galinhas apresentam uma soroconversão de anticorpos abrupta, apesar de um breve período de detecção. Também segundo Mineo et al. (2009), este mesmo fenômeno acontece em infecções experimentais de pássaros selvagens com *T. gondii*.

Em um experimento para avaliar a susceptibilidade de galinhas (*Gallus domesticus*), tanto mantidas em gaiola quanto soltas, à infecção por *N. caninum* e *Toxoplasma gondii*, Costa et al. (2007) confirmaram que esta espécie também pode ser contaminada pelo parasito, sendo que os animais mantidos soltos apresentaram maior soropositividade (23,5%) do que as mantidas em gaiolas (1,5%). Os autores confirmaram o resultado com PCR, das dez amostras soropositivas para *N. caninum* analisadas, seis foram confirmadas. Com este trabalho obteve-

se a confirmação de que as galinhas, e potencialmente outras aves, são um fator de risco para a manutenção do *N. caninum* no ambiente.

2.6.3 Neosporose ovina

Segundo Dubey et al. (1990), a neosporose foi diagnosticada em ovinos persistentemente infectados na Inglaterra, mas existem poucos relatos de ovinos infectados naturalmente e grande parte do conhecimento da neosporose ovina foi obtido por infecções experimentais. De acordo com Buxton et al. (1997), as alterações provocadas pela infecção em ovinos são similares as da toxoplasmose ovina e neosporose bovina.

Infecções experimentais realizadas por McAllister et al. (1996) em ovelhas prenhes provocaram abortos, fetos mumificados, natimortos, nascimento de filhotes fracos que não foram capazes de levantar e mamar, e cordeiros clinicamente saudáveis. O período gestacional foi um fator importante, pois ovelhas inoculadas com 65 dias de prenhes abortaram, enquanto que as inoculadas com 120 dias deram à luz a cordeiros clinicamente normais.

2.6.4 Neosporose caprina

Não existem muitos estudos relacionados à infecção por *N. caninum* em caprinos, entretanto, há relatos de abortos e mortalidade neonatal nestes animais nos Estados Unidos (BARR et al., 1992), e em rebanhos leiteiros na Costa Rica (DUBEY et al., 1996). No Rio Grande do Sul, caprinos com sinais neurológicos foram diagnosticados como portadores de neosporose neonatal, em propriedades com histórico de aborto (CORBELLINI et al., 2001).

Segundo Eleni et al. (2004), em um estudo realizado na Itália, *N. caninum* foi encontrado infectando naturalmente um feto abortado de cabra. Lesões macroscópicas associadas à neosporose são raras, e estudos realizados em cabras por Dubey et al. (1996) observaram somente hidrocefalia com hipoplasia de cerebelo. Análises microscópicas detectaram encefalite não supurativa associada a áreas de glicose e presença de estruturas parasitárias nos tecidos (DUBEY et al., 2006).

Um estudo dos aspectos macroscópicos e microscópicos da neosporose caprina foi realizado em Lavras, Minas Gerais. Um caprino proveniente de um rebanho com histórico de abortos foi a óbito logo após o nascimento, apresentando malformação cerebral e permitiu o

relato do primeiro caso de hidranencefalia associado à neosporose. No exame de imunoistoquímica foi identificada a presença do parasito no cerebelo e tronco encefálico, além de vários cistos parasitários nos tecidos ou dentro do citoplasma dos neurônios, o que levou, junto com a soropositividade no rebanho, à conclusão para o diagnóstico de neosporose (VARASCHIN et al., 2007).

2.7 Prejuízos Econômicos

A neosporose impacta significativamente nos índices produtivos da criação de bovinos, através de sua ocorrência endêmica, que está associada a transmissão vertical (congenita ou transplacentária), ou através de surtos (epidemias). A morte fetal representa um custo direto, mas perdas indiretas tais como ajuda profissional e diagnóstico, e o re-acasalamento ou descarte da fêmea também aumentam consideravelmente os custos ao produtor (DUBEY et al., 2007), além de diminuir os lucros com produção de leite e afetarem negativamente a performance reprodutiva dos animais.

Efeitos na produção leiteira de vacas infectadas são controversos, alguns estudos mostram a diminuição (HERNANDEZ et al., 2001; TIWARI et al., 2007), enquanto outros mostram um aumento (PFEIFFER et al., 2002) ou ainda nenhuma diferença significativa na produção de leite (HALL et al., 2005). No entanto a interrupção da gestação impede o início de uma nova lactação o que aumenta o número de dias não produtivos dos animais afeta drasticamente sua produção vitalícia.

Em gado de corte, a questão dos efeitos no ganho de peso se apresenta da mesma forma, Barling et al. (2000) observaram uma redução no ganho de peso pós-desmame em terneiros infectados, mas More et al. (2010) não observou diferença no ganho de peso entre terneiros infectados e não-infectados.

Em 2013, Reichel et al. revisaram 99 publicações contendo dados econômicos relevantes de dez países e estimaram que a média de perdas com abortos induzidos por *N. caninum* passa de US\$ 1,298 bilhões por ano, com dois terços (US\$ 842,9 milhões, 64%) ocorrendo no rebanho leiteiro e um terço (US\$ 455,4 milhões, 35,1%) no rebanho de corte. Os custos globais foram estimados em US\$ 852,4 milhões na América do Norte (EUA, Canadá e México), US\$ 239,7 milhões na América do Sul (Brasil e Argentina), US\$ 137,5 milhões na Australasia (Austrália e Nova Zelândia) e US\$ 68,7 milhões na Europa (Holanda, Espanha e Reino Unido).

No Brasil, estima-se que a neosporose cause uma perda para as propriedades leiteiras, a nível nacional, de US\$ 51,3 milhões por ano, enquanto a perda a nível de propriedade seria menor do que US\$ 100,000/ano. Já na indústria da carne brasileira estima-se que as perdas causadas pela *Neospora*, nacionalmente, cheguem a US\$ 101 milhões (REICHEL et al., 2013).

2.8 Evitando as perdas com *N. caninum*

Para reduzir os custos das infecções por *N. caninum* nos rebanhos, diferentes estratégias têm sido propostas, dependendo do país ou região, taxa de infecção e fatores de risco associados. Em propriedades com infecção endêmica, o método mais eficiente é identificar os animais infectados e abatê-los ou cruzar seletivamente. Em propriedades com infecção epidêmica, o contato entre hospedeiros definitivos e o rebanho deve ser evitado e a contaminação da comida e água por fezes contendo oocistos deve ser cuidadosamente controlada. As novilhas ou vacas de reposição devem ser testadas para *N. caninum* ou compradas de rebanhos livres da infecção. O acesso de cães e animais selvagens às instalações, galpões, água utilizada pelos animais e estoque de alimentos, assim como a tecidos potencialmente infectados de hospedeiros intermediários deve ser evitado (DUBEY et al., 2007).

Os dois métodos de manejo reprodutivo que mostraram redução na transmissão vertical são a transferência de embriões de vacas infectadas para receptoras não-infectadas (LANDMANN et al., 2002) e a inseminação de vacas leiteiras soropositivas com sêmen de touros de corte (YANIZ et al., 2010). O cruzamento mostrou ter um efeito positivo na função de proteção placentária, que, segundo Lopez-Gatius et al. (2005) pode ser devido a uma maior concentração de glicoproteínas associadas a prenhez.

Mesmo com todas as estratégias de controle existentes, dificilmente será possível chegar a uma soroprevalência de zero, por causa da existência da transmissão horizontal. Para que ocorresse a eliminação do *N. caninum* seria necessário um controle tanto da transmissão vertical quanto da transmissão horizontal dentro do rebanho (HASLER et al., 2008 apud MONNEY et al., 2014). Segundo Dubey et al. (2007) tratamento quimioterápico em animais soropositivos não é economicamente interessante, já que não existem medicações seguras e efetivas no mercado e o longo período de tratamento deixaria a carne e o leite impróprios para o consumo.

2.9 Diagnóstico da Neosporose

O diagnóstico da neosporose depende de uma combinação entre histórico reprodutivo do rebanho, sinais clínico e dados laboratoriais. Em animais adultos, a ocorrência de abortos e o nascimento de bezerros fracos ou natimortos são sinais sugestivos de neosporose (ANDREOTTI et al., 2003).

Casos assintomáticos e sinais inespecíficos da neosporose dificultam o diagnóstico clínico da doença (ANDREOTTI et al., 2003). Consequentemente o diagnóstico laboratorial é imprescindível para confirmar a infecção.

A confirmação laboratorial é realizada pelo diagnóstico parasitológico, com os exames histopatológico e imunoistoquímico, reação de cadeia polimerase (PCR), e isolamento dos parasitas mediante inoculação de material suspeito em cultivar celular ou em animais de laboratório. A alternativa é o diagnóstico, com a pesquisa de anticorpos contra o *N. caninum* (ANDREOTTI et al., 2003).

A sorologia é utilizada como método diagnóstico nos estudos epidemiológicos de abortos por causa de *N. caninum*. O soro diagnóstico é mais indicado para avaliar a exposição e o risco de infecções por esse parasita no rebanho, do que para diagnóstico de aborto em um animal (ANDREOTTI et al., 2003).

Existem muitos tipos de testes que detectam os anticorpos séricos específicos para *N. caninum*, principalmente em bovinos e caninos. Os mais utilizados são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o teste imunoenzimático (ELISA). Os testes sorológicos de RIFI e ELISA necessitam de conjugado, o anticorpo secundário espécie-específico, para detectar os anticorpos de *N. caninum* (ATKINSON et al., 2000).

2.9.1 RIFI

O método de RIFI foi o primeiro teste empregado no diagnóstico sorológico da neosporose, em 1988, sendo utilizado no diagnóstico da infecção em várias espécies animais, como: cães, raposas, bovinos, ovinos, caprinos, equinos e primatas (ANDREOTTI et al., 2003).

A reação de imunofluorescência indireta é a metodologia de referência para pesquisa de anticorpos de *N. caninum*, considerada como um teste padrão para calibração e comparação com os novos testes. Um resultado positivo no método RIFI é indicado pela

fluorescência de todo o taquizoíta, nos soros com títulos moderados a elevados. Uma fluorescência reduzida ocorre nos soros com títulos baixos e nas reações cruzadas não específicas causadas por infecção com espécies relacionadas, como o *T. gondii* (ANDREOTTI et al., 2003).

2.9.2 ELISA

O teste ELISA é o principal método sorológico utilizado nas avaliações dos rebanhos de bovinos, com finalidades diagnósticas ou nas pesquisas. O teste imunoenzimático apresenta algumas vantagens em relação aos métodos da RIFI, tais como a realização de um maior número de análises, rapidez, registro das reações realizado de maneira objetiva e o exame pode ser automatizado (PEREIRA-BUENO et al., 2003).

O valor de corte (*cut-off*) é determinado com soros de referência, caracterizados geralmente pela RIFI. Nos diferentes tipos de ELISA (solúvel, *iscom*, recombinante, e no IFAT-ELISA), o valor da absorbância situado acima do valor do *cut-off* indica um resultado positivo. Os diferentes antígenos utilizados nos métodos da RIFI, NAT (teste de aglutinação para *N. caninum* e ELISA podem medir diferentes classes de anticorpos, resultando em uma variação nos resultados entre os testes (ANDREOTTI et al., 2003).

3 METODOLOGIA

3.1 Local de Estudo

A pesquisa foi realizada no município de Sant'Anna do Livramento na região da Campanha Gaúcha do estado do Rio Grande do Sul. A cidade localiza-se a uma latitude 30°53'27" sul e a uma longitude 55°31'58" oeste, a uma altitude de 208 m.

O clima predominante na região da Campanha é o CFA (Temperado Subtropical), segundo classificação de Koeppen. Convencionalmente é descrito como um clima subtropical úmido com verão quente. Ainda segundo esta classificação, as estações são bem definidas, sendo que a temperatura média do mês mais quente é maior do que 22°C e a do inverno fica compreendida entre -3 e 18°C. Conta-se com precipitação todos os meses do ano e sem uma estação seca definida.

3.2 Amostras de Estudo

Foi coletado uma amostragem de 10% dos animais em ordenha, totalizando quarenta amostras de soro de bovinos leiteiros para o levantamento da prevalência de infecção por *N. caninum* em quatro rebanhos no município de Sant'Anna do Livramento no Estado do Rio Grande do Sul.

3.3 Propriedades e Animais

Os critérios adotados para a seleção dos proprietários que cederam seus rebanhos para coleta foram os seguintes: possuir gado leiteiro próprio, fácil acesso à propriedade, mais de trinta vacas em ordenha, dispor de estrutura física e instalação na propriedade para facilitar a coleta de sangue.

Os animais que participaram do presente estudo eram animais registrados da raça Holandesa (Holstein) das variedades Preto e Branco (HPB) e Vermelho e Branco (HVB), em sua maioria animais com menos de 5 anos. Os rebanhos trabalhados tinham uma produção média diária de leite de 15litros/vaca. Todas as propriedades possuíam mangueiras com tronco e tesoura onde foi feita a contenção dos animais para a coleta do sangue.

A ordenha era do tipo mecanizada em todas as propriedades analisadas, sendo todas no estilo espinha de peixe. Durante ordenha era realizado o pré e pós dipping em todas as propriedades analisadas e as vacas ganhavam uma suplementação alimentar durante ou após a ordenha, composta de concentrado e silagem de milho ou grão úmido. Todas as propriedades forneciam sal mineral aos animais. Os animais utilizavam água de córregos para beber em todas as propriedades em ao menos algum estágio de sua vida.

3.4 Fatores de Risco

Foram feitas observações, durante as visitas às propriedades, de alguns dos principais fatores de risco associados à transmissão da neosporose, como ocorrência de abortos na propriedade, presença de cães, destino das carcaças e produtos de abortamento, presença de caninos silvestres.

3.5 Coleta de Sangue

Os animais selecionados (40 fêmeas) foram contidos no brete e o sangue coletado por venopunção coccígea mediana, jugular ou mamária (não sendo relevante para o teste a origem venosa ou arterial do mesmo), acondicionado em tubos de ensaio, sem anticoagulante, com capacidade para 10mL. Posteriormente os tubos foram acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo e transportados até o laboratório da Universidade Federal do Pampa – Campus Dom Pedrito. Os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm por 3 minutos, o soro foi acondicionado em tubos tipo Eppendorf® com capacidade para 2 ml e mantidos congelados a -20°C até a realização dos exames sorológicos.

3.6 Diagnóstico Sorológico

O diagnóstico sorológico foi realizado por meio de ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) no Laboratório de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA) - Campus Dom Pedrito, conforme recomendações do fabricante do Kit para Diagnóstico *in vitro* de *Neospora caninum* por ELISA - Immunodot®.

Foram utilizadas no exame sorológico placas sensibilizadas com antígenos solúveis de *Neospora caninum*. Os soros bovinos (controle positivo, negativo e amostras-teste) foram encubados na placa sensibilizada e em seguida foi adicionado o conjugado anti-bovino (IgG de coelho anti-IgG de bovino), seguido de lavagem com o substrato. Após a incubação com o substrato, as amostras positivas e controle positivo deveriam se apresentar com coloração amarela e ter sua densidade óptica determinada pelo leitor de ELISA.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 40 amostras de soro analisadas, nenhuma apresentou uma densidade óptica maior ou igual a x2.5 a densidade do controle negativo (0.860), como pode ser verificado na Tabela 2. A coloração amarela intensa característica de um resultado positivo não foi vista em nenhuma amostra além do controle positivo (G5).

Tabela 2 - Resultado da Densidade Óptica

	1	2	3	4	5	6
A	0.689	0.455	0.780	0.510	0.410	0.609
B	0.417	0.385	0.524	0.376	0.372	0.504
C	0.321	0.357	0.274	0.313	0.432	0.515
D	0.409	0.314	0.499	0.266	0.367	0.429
E	0.271	0.233	0.210	0.240	0.344	0.581
F	0.323	0.245	0.311	0.307	0.318	0.597
G	0.328	0.245	0.411	0.344	1.565	0.606
				Contr. Negat.	Contr. Posit.	

Fonte: A Autora (2017)

Os bezerros eram retirados das mães até 12 horas após o parto e criados separadamente com fornecimento de leite duas vezes ao dia e ração a vontade. Os tecidos de abortamentos ficavam expostos ao ambiente do mesmo modo que carcaças de animais mortos.

Todos os produtores vacinavam contra febre aftosa e brucelose. Todas as vacas estavam em lactação não tendo sido levado em conta o número de prenhezes ou produção de leite. A pastagem predominante era o campo nativo em estado regular a ruim onde as vacas permaneciam. Durante o inverno os animais pastejavam durante o dia em pastagem de azevém e/ou aveia. Todas as propriedades possuíam ao menos dois cães, e cães de outras propriedades circulavam livremente pelas propriedades e consumiam as carcaças de animais mortos expostas ao ambiente. Em todas as propriedades era praticado o sistema de inseminação artificial com monta natural em vacas que abortam ou retornam ao cio.

O teste ELISA é o mais recomendado para este tipo de análise. Sartor et al (2005) justificaram que utilizaram o ELISA por apresentar sensibilidade de até 98%, especificidade de 100%, menor tempo de execução, precisão e custos menores.

Em todas as propriedades houve relatos de abortos e reabsorção fetal, em anos anteriores, sendo que em um dos rebanhos haviam sido diagnosticadas 17 vacas com neosporose alguns anos antes deste trabalho. Entretanto, percebe-se que a maioria das vacas que apresentam abortos ou reabsorção embrionária acabam sendo eliminadas pelos produtores, que necessitam que as gestações sejam levadas a termo para que possa haver produção de leite. Esta prática é talvez a principal forma de controlar a doença.

Outro manejo que pode estar relacionada à ausência da doença é o fato de que bovinos leiteiros, na região estudada, geralmente recebem suplementação mantida embalada (silagem dado que as chances de contaminação por *N. caninum* neste tipo de alimento são mínimas, especialmente em relação ao pasto. No entanto, Hasegawa et al. (2004), observaram, em gado de corte, na região de Avaré (SP), que a suplementação de inverno (milho, e silagem, cana de açúcar e napier), não influenciou no índice de infecção para *N. caninum*.

Grande parte dos animais avaliados apresentava pouca idade (vaquilhonas e primíparas). Este também pode ser um dos fatores da não detecção do parasito nos rebanhos, visto que quanto mais tempo exposto aos fatores de risco maior a chance de contaminação do animal. Entretanto, dados de idade dos animais não foram coletados.

Verificou-se que todas as propriedades possuíam dois ou mais cães e/ou que cães de propriedades vizinhas costumavam vagar pelas propriedades. Em todas as propriedades as carcaças ficavam expostas ao ambiente, onde os cães e outros animais tem acesso, servindo de meio de propagação de doenças. Da mesma maneira, os produtos de abortamento ficavam expostos ao ambiente.

A ausência de anticorpos contra *N. caninum* em vacas que abortaram poderia excluir a neosporose como a causa do aborto. Segundo Andreotti et al. (2003) o fato de alguns indivíduos não serem capazes de sintetizar anticorpos detectáveis contra o parasita, por causa da imunotolerância inata ou adquirida, poderia explicar o resultado obtido. O número de anticorpos pode estar relacionado com a exposição do antígeno, e a maior exposição coincidir com o aborto.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem ausência de *N. caninum* nas propriedades Município de Santana do Livramento-RS. No entanto mais estudos devem ser conduzidos, utilizando maior número de animais e uma maior variedade de propriedades, alocadas em diferentes regiões e com diferentes níveis de manejo.

O fato de eliminar-se vacas que apresentam perdas embrionárias e fetais é uma boa maneira de diminuir-se a prevalência da neosporose. Outros manejos como eliminar resíduos de partos e abortos (placentas e fetos) e diminuir a incidência de cães vagando pelos campos também podem ser eficazes.

REFERÊNCIAS

ANDREOTTI, R. Neosporose: Um possível problema reprodutivo para o rebanho bovino. **Embrapa**, Documento 104, Campo Grande – MS, 2001.

ANDREOTTI, R.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V. T.; PAIVA, F. Diagnóstico e controle da neosporose em bovinos. **Embrapa**, Documento 136, Campo Grande – MS., 2003.

ATKINSON, R.; HARPER, P. A.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T.; Progress in the serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today**, v. 16, n. 3, p.110-113, 2000.

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; WOODS, L. W.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A. Neospora-like protozoal infections associated with abortion in goats. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.4, p.365- 367, 1992.

BARR, B. C.; CONRAD, P.C.; SVERLOW, K.W.; TARANTAL, A.F.; HENDRICKX, A.G. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. **Laboratory Investigation**. v.71, p.236-242, 1994.

BARLING, K. S.; McNEILL, J. W.; THOMPSON, J. A.; PASCHAL, J. C., McCOLLUM 3^o, 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**, n. 217, p. 1356-1360, 2000.

BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; HILL, D. E.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K.; DUBEY J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 3, p. 612-618, 2001.

BELO, M.A.A.; REZENDE, P.C.B.; SOUZA, L.M.; COSTA, A.J. Presença de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos com históricos de aborto não diagnosticados etiologicamente. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 11., 1999, Salvador. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p. 229, 1999.

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

CADORE, G. C. IgM e IgG como marcadores da infecção transplacentária por *Neospora caninum* em fetos bovinos. **Pesquisa Veterinária**, v. 30, n. 7, p. 551553, 2010.

CARDOSO, J. M. S.; FUNADA, M. R.; SOARES, R. M.; GENNARI, S. M. Serological profile of colostral antibodies to *Neospora caninum* in infection free calves. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. n 45, p. 379-384, 2008.

COBERLLINE, L.G.; COLODEL, E.M.; DRIEMEIER, D. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. **Journal of Veterinary Diagnostic**, v.13, n.5, p.416-419, 2001.

DUBEY, J.P.; BARR, B.C., BARTA, J.R. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.929-946, 2002.

DUBEY, J.P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of Bovine Neosporosis. **Journal Comparative Pathology**, v.134, p.134-267, 2006.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals – The last five years. **Veterinary Parasitology**. 180, 90-108, 2011.

DUBEY, J.P.; SONN, R. J.; HEDSTROM, O.; SNYDER S. P.; LASSEN, E. D. Serologic and histologic diagnosis of toxoplasmic abortions in sheep in Oregon. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, n. 196, p. 291-294, 1990.

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.

ELENI, C.; CROTTI, S.; MANUALI, E.; COSTARELLI, S.; FILIPPINI, G.; MOSCATI, L.; MAGNINO, S. Detection of *Neospora Caninum* in an aborted goat foetus. **Veterinary Parasitology**, v. 123, p.271-274, 2004.

ELMORE, S. A., JONES, J. L., CONRAD, P. A., PATTON, S., LINDSAY, D. S., DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. **Trends in Parasitology**, n. 26, 190-196, 2010.

FERROGLIO, E.; PASINO, M.; ROMANO, A.; GRANDE, D.; PREGEL, P.; TRISCIUOGLIO, A. Evidence of *Neospora caninum* DNA in wild rodents. **Veterinary Parasitology**, v.148, p. 346-349, 2007.

GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; ZEMLICKA, C. Coyotes (*Canis latrans*) are definite hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 159-161, 2004.

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

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**, n. 219, p. 632-635, 2001.

IBRAHIM, A. M. E.; ELFAHAL, A. M.; EL HUSSEIN, A. R. M. First report of *Neospora caninum* infection in cattle in Sudan. **Tropical Animal Health and Production**, v. 44, n. 4, p. 769-772, 2012.

INNES, E. A.; BARTLEY, P. M.; MALEY, S. W., WRIGHT, S. E.; BUXTON, D. Comparative host-parasite relationships in ovine toxoplasmosis and bovine neosporosis and strategies for vaccination. **Vaccine**, n. 25, p. 5495-5503, 2007.

INNES, E. A.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; MALEY, S.; MACALDOWIE, C.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, n 108, p. 29-36, 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**, n. 80, p. 502-503, 2002.

LÓPEZ-GAUTIUS, F.; SANTOLARIA, P.; YÁNIZ, J. L.; GARBAYO, J. M.; ALMERIA, S. The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *Neospora*-seropositive dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, n. 52, p. 88-92, 2005.

MACEDO, C. A. B.; Macedo, M. F.; Cardim, S. T.; Paiva, M. C.; Taroda, A.; Barros, L. D.; Cunha, I. A.; Zulpo, D. L.; Garcia, J. L. *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered dairy cows (*Bos taurus*). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 13-17, 2013.

McALLISTER, M. M., DUBEY, J. P., LINDSAY, D. S. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal Parasitology**, v. 28, p. 1473-1478, 1998.

MINEO, T.W., CARRASCO, A. O., MARCIANO, J. A., WHERTER, K., PINTO, A. A., MACHADO, R.Z. Pigeons (*Columba livia*) are a suitable experimental model for *Neospora caninum* infection in birds. **Veterinary Parasitology**, n. 159, p149-153, 2009.

MINEO, T. W., CARRASCO, A. O., RASO, T. F., WHERTER, K., PINTO, A. A., MACHADO, R.Z. Survey for natural *Neospora caninum* infection in wild and captive birds. **Veterinary Parasitology**, n. 182, p. 352-355, 2011.

MONNEY, T.; HEMPHILL, A. Vaccines against neosporosis: What can we learn from the past studies? **Experimental Parasitology**, n. 140, p. 52-70, 2014.

MORE, G.; BACIGALUPE, D; BASSO, W.; RAMBEAUD, M.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L. Serologic profiles for *Sarcocystis* sp. and *Neospora caninum* and productive performance in naturally infected beef calves. **Parasitology Research**, n.106, p. 689-693, 2010.

NEGRÃO, C. B. A Importância do *Neospora caninum* na Reprodução de Bovinos. **Monografia**. UNESP – Campus de Botucatu, 2006.

PEREIRA-BUENO, J.; QUINTANILLA-GOZALO, A.; PÉREZ-PÉREZ, V.; ESPI-FELGUEROSO, A.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L. M.; Evaluation by diferente diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 111, n. 2-3, p. 143-152, 2003.

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

PFEIFER, D. U.; WILLIAMSON, N. B.; REICHEL, M. P.; WICHTEL, J. J.; TEAGUE, W. R. A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on o dairy farm in New Zealand. **Preventive Veterinary Medicine**, n. 54, p. 11-24, 2002.

REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T.; DUBEY, J. P. Neosporosis and hammondiosis in dogs. **Journal of Small Animals Practice**, n. 48, p. 308-312, 2007.

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

SPITI, S. M. Ocorrência de *Neospora Caninum* em bovinos e cães de propriedades produtoras de leite de Ivaiporã – PR. **Dissertação de Mestrado**, Unopar, Araçongas, 2016.

STENLUND, S.; KINDAHLA, H.; MAGNUSSONA, U.; UGGLAB, A.; BJÖRKMAN, C. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 185, n. 4, p. 227-234, 1999.

TIWARI, A.; VANLEEUEWEN, J. A.; DOHOO, I. R.; KEEFE, G. P.; HADDAD, J. P.; TREMBLAY, R.; SCOTT, H. M.; WHITING, T. Production effects of pathogens causing bovine leucosis, bovine viral diarrhoea, paratuberculosis, and neosporosis. **Journal of Dairy Science**, n. 90, p. 659-669, 2007.

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

VARASCHIN, M.S. GUIMARÃES, A.M.; WOUTERS, F.; SILVA, M.G.C.; BEZERRA JÚNIOR, P.S.; PAVARINI, S.P.; MOREIRA, M.C.; SANTOS, R.R.D.; DIAS, F.C. Neosporose em caprinos no município de Lavras, Minas Gerais. **In: XIII ENCONTRO NACIONAL DE PATOLOGIA VETERINÁRIA**, n.7, Anais...Campo grande, 2007.

VOGEL, F.S.F; ARENHART, S.; BAUERMAN, F.V. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos, ovinos e bubalinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n.6, p.1948-1951, nov/dez, 2006.

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

YÁNIZ, J. L.; LÓPEZ-GATIUS, F.; GARCÍA-ISPIERTO, I.; BECH-SÀBAT, G.; SERRANO, B.; NOGAREDA, C.; SANCHEZ-NADAL J. A.; ALMERIA, S.; SANTOLARIA, P. Some factors affecting the abortion rate in dairy herds with high incidence of *Neospora*-associated abortions are different in cows and heifers. **Reproduction of Domestic Animals**, n. 45 p. 699-705, 2010.