

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE *Neospora*
caninum EM BOVINOS DE ASSENTAMENTOS RURAIS
EM CORUMBÁ-MS**

Rony Carlos de Mello

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
ABRIL – 2008**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE *Neospora*
caninum EM BOVINOS DE ASSENTAMENTOS RURAIS
EM CORUMBÁ-MS**

Rony Carlos de Mello

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Aiesca Oliveira Pellegrin

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. Área de Concentração: Sanidade Animal

**CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
ABRIL – 2008**

À minha esposa Ana Karla, que tanto contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho e muito me incentivou;

À minha mãe, Ilaci Santi, que nunca poupou esforços para que eu pudesse estudar e prosseguir na vida acadêmica, a ela devo quase tudo que sou;

Dedico.

Agradecimentos

À Deus, pela sua presença em minha vida.

À minha esposa Ana Karla Moulard de Mello, pela paciência, compreensão e auxílio durante esta caminhada.

Às minhas irmãs Raquel, Roziene e Renata pelo incentivo e companheirismo.

Aos meus colegas pós-graduandos, pelos momentos que juntos passamos estudando e estimulando uns aos outros.

Ao meu amigo Robson Almeida, pela ajuda nos momentos difíceis.

Ao meu cunhado Murillo Roriz, pelo apoio.

À Jackeline Barros, pela prestatividade e ajuda no laboratório da Embrapa.

À Leandra Oshiro, pela ajuda na leitura das lâminas.

Ao prof. Dr^o. Renato Andreotti, pela valiosíssima colaboração na execução deste trabalho e pela amizade que firmamos.

À Dr^a. Renata Tomich, pela prestatividade em permitir usufruir de seus dados.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Aiesca Pellegrin, pela compreensão, dedicação e paciência, foi mais que orientadora.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1. Classificação e etiologia	12
2.2. Biologia do Neospora caninum.....	13
2.3. Patogenia	14
2.4. Sinais Clínicos.....	16
2.5. Epidemiologia	17
2.5.1. Hospedeiros.....	17
2.5.2. Transmissão.....	18
2.5.3. Distribuição do Neospora caninum	19
2.6. Resposta Imune	21
2.7. Diagnóstico	23
2.8. Prevenção e Controle.....	26
2.9. Importância Econômica	27
2.10. Epidemiologia Participativa.....	27
3. Histórico dos Assentamentos Rurais de Corumbá – MS	28
3.1. Caracterização das Propriedades.....	29
3.2. Importância econômica da pecuária bovina para as comunidades.....	33
3.3. Caracterização produtiva da bovinocultura	35
3.4. Caracterização reprodutiva da bovinocultura	36
3.5. Caracterização sanitária da bovinocultura	37
4. Referências Bibliográficas.....	39
Resumo.....	56
Abstract	57
Introdução.....	58
MATERIAIS E MÉTODOS	60
Área de estudo e amostragem	60
Amostragem.....	60

Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).....	61
Análise estatística.....	62
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
Prevalência da Neospora caninum em bovinos:	62
Levantamento de variáveis de risco:	65
CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Animais silvestres presentes na região de quatro assentamentos de Corumbá, MS, segundo informação das famílias.	21
TABELA 2 - Atividades pecuárias desenvolvidas em assentamentos rurais de Corumbá – MS, segundo informação das famílias. Ano 2004 – 2005.	22
TABELA 3 - Principais problemas sanitários reconhecidos pelas comunidades de quatro assentamentos rurais de Corumbá, MS, 2004-2005.	25
TABELA 4 - Práticas sanitárias adotadas na bovinocultura desenvolvida pelas famílias de quatro assentamentos rurais do município de Corumbá, MS, 2004-2005.	26

LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE *Neospora caninum* EM BOVINOS DE ASSENTAMENTOS RURAIS EM CORUMBÁ-MS

1. INTRODUÇÃO

No município de Corumbá, MS, existem quatro projetos de assentamentos (PA) que totalizam 1.071 famílias. Essas famílias são de pequenos produtores que desenvolvem atividades de agricultura e pecuária, utilizando mão de obra familiar. Pelo tipo de ocupação territorial e manejo empregado pelos agricultores, podemos destacar, do ponto de vista sanitário, a possibilidade de dispersão e de manutenção, pelos rebanhos dos assentamentos, de agentes patogênicos correlacionados a importantes perdas econômicas em bovinocultura.

Vários agentes mundialmente conhecidos por causarem perdas produtivas e reprodutivas em rebanhos bovinos, já foram detectados em fazendas próximas à região proposta para estudo: o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) (Herpesvírus Bovino tipo 1 – BoHV-1), o Vírus da Língua Azul (VLA), os agentes da tristeza parasitária bovina (*Anaplasma* sp. e *Babesia* sp), da leptospirose (*Leptospira interrogans*), entre outros (PELLEGRIN et al., 1997, 1999, Tomich et al., 2004).

Nos estudos realizados por Tomich (2007), foram pesquisadas as prevalências dessas doenças em quatro assentamentos do município, além de uma caracterização dos indicadores produtivos, e das modalidades de atenção à saúde, utilizando metodologias qualitativas e quantitativas de coleta de dados. O estudo inicial das doenças serviu de indicador do processo saúde-doença da bovinocultura desenvolvida nesses assentamentos. Essa coleta de informações a partir dos produtores rurais tornou-se um importante método para a identificação de problemas de saúde animal dentro destas comunidades.

Este projeto vem complementar os estudos iniciais de avaliação sanitária dos rebanhos bovinos dos assentamentos rurais de Corumbá, pela inclusão de um levantamento epidemiológico de animais portadores de *Neospora caninum* e analisar qualitativamente os prováveis fatores de risco associados a essa infecção.

Rebanhos de bovinos de leite e corte são afetados pelo *N. caninum* (DUBEY et al., 1999) que provoca abortos e mortalidade neonatal, morte fetal precoce, mumificação e autolização, mais comumente entre o quarto e o sétimo mês de gestação (INNES et al., 2005). Em bovinos, o aborto é considerado o principal sinal clínico da neosporose, entretanto, os bezerros podem nascer vivos, mas doentes, ou clinicamente normais, mas com infecção crônica (DUBEY, 2003).

Lindsay et al., (1999) e Gondim et al., (2004) demonstraram experimentalmente que cães e coiotes são os hospedeiros definitivos de *N. caninum*, eliminando oocisto do parasito nas fezes, que após esporularem são ingeridos por um hospedeiro intermediário, formando cistos teciduais (MCALLISTER et al., 1998). É alta a correlação entre a presença de cães soropositivos para *N. caninum* e a alta soroprevalência do parasito (WOUDA et al., 1999). De acordo com Corbellini et al., (2006) para cada cão na propriedade a probabilidade de uma vaca ser soropositiva aumenta 1.13 vezes.

A importância econômica da neosporose bovina é atribuída principalmente aos custos associados ao aborto, ao valor dos fetos, a inseminação artificial ou a cobertura, a diminuição da produção de leite, ao aumento do descarte e a reposição dos animais. As perdas indiretas estão relacionadas com o estabelecimento do diagnóstico, falhas na estação de reprodução, aumento do período de lactação, possível perda na produção de leite e possíveis perdas por descarte de vacas positivas (ANDREOTTI et al., 2005).

Brautigam et al., 1996, foi o pioneiro no Brasil a detectar anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos no Estado de Mato Grosso do Sul. Atualmente vários estudos em diferentes estados brasileiros têm encontrado rebanhos soropositivos, 11,2% no Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al., 2002) e 11,4% (VOGEL et al., 2006), 20,0% bovinos de corte e 35,5% em bovinos leiteiros em São Paulo (SARTOR et al., 2005), no Mato grosso do Sul de 43% no planalto e de 30% em novilhas no pantanal (ANDREOTTI et al., 2005), 14,9% no estrato I (OSHIRO et al., 2007), 10,4 % em Rondônia (AGUIAR et al., 2005), em bovinos de corte de 29,6%, em bovinos de leite 30,4% e no rebanho de exploração mista de 43,3% em Goiás (MELO et al., 2006), em 14,4% no Paraná (GENNARI et al., 2005), de 10,4% na Bahia (JESUS et al., 2005), e Ragozo et al., (2003) encontraram 14,7% no Rio de Janeiro e 29,0% em Minas Gerais.

Pela reação de imunofluorescência indireta foi estimada a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 394 bovinos de assentamentos rurais nos municípios de Corumbá e analisados os prováveis fatores de risco associados a essa infecção. Considerando-se a natureza e a organização social das comunidades estudadas foi utilizada uma associação de metodologias quantitativas e qualitativas, como entrevistas semi-estruturadas e dinâmicas grupais com produtores.

Considerando a forma de transmissão, os hospedeiros intermediários e definitivos, e a relação entre cães, canídeos silvestres e bovinos nos assentamentos rurais da região do Pantanal é esperado que haja a transmissão de *Neospora caninum* entre as três espécies, completando o ciclo da doença. O trabalho proposto tem como objetivo dar continuidade a caracterização do estado sanitário dos rebanhos bovinos de assentamentos do município de Corumbá-MS, por meio da associação de metodologias quantitativa e qualitativa, no que se refere a doenças da esfera reprodutiva, investigando a ocorrência de animais infectados por *Neospora caninum*, pela estimativa de sua prevalência em bovinos de corte e leite pertencentes às famílias assentadas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Neospora caninum é um protozoário parasita intracelular obrigatório, que pode infectar cães domésticos e selvagens, bem como bovinos e eqüinos, sendo descrito como causador de doença neuromuscular e morte em cães (ANDREOTTI et al., 2006). Foi observado pela primeira vez por Bjerkas et al. (1984) na Noruega em tecidos de filhotes de cães com uma encefalopatia mortal. Antes de 1988 era confundido com *Toxoplasma gondii* por apresentar semelhanças biológicas e estruturais, entretanto estes dois parasitas são antigenicamente diferentes (DUBEY et al., 1988b).

Cães (LINDSAY et al., 1999a) e coiotes (GONDIM et al., 2004) são considerados hospedeiros definitivos, pois nesses animais ocorre a fase reprodutiva do parasita, resultando na eliminação de oocistos nas fezes.

Experimentalmente *Neospora caninum* infectou bovinos, ovelhas, cabras, suínos, cães, gatos e roedores e encontrou-se cistos do parasito infectando naturalmente

bovinos, ovelhas, cabras, cervos e cavalos (DUBEY et al., 2002; DUBEY; LINDSAY, 1996).

São relatadas duas formas de infecção nos bovinos. A forma vertical (transplacentária), mais freqüente (WOUDA et al., 1999) é citada como a mais importante, pois contribui significativamente na permanência da infecção por *Neospora caninum* e na propagação da infecção a gerações sucessivas (BJÖRKMAN et al., 1996; ANDERSON et al., 1997; SCHARES et al., 1998; WOUDA et al., 1998)

O parasita tem distribuição mundial (ANDERSON et al., 2000). É considerado um dos mais importantes agentes causadores de abortamento em bovinos em muitos países, além disso, pode causar nascimentos imaturos e mortalidade neonatal, causando vários prejuízos tanto na produção leiteira como na de corte (DUBEY, 2003).

A forma horizontal, em que os bovinos são infectados pela ingestão de oocistos disseminados nas fezes de cães, que contaminam o pasto, silos ou ração bovina (DIJKSTRA et al., 2001), é importante em rebanhos cuja soroprevalência é alta (DIJKSTRA et al., 2002). Pode haver infecção da vaca prenhe com posterior transmissão vertical para a prole e persistência da mãe infectada após reativação da infecção na gestação (DUBEY et al., 2006).

O primeiro relato de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos no Brasil, foi feito no Estado do Mato Grosso do Sul (BRAUTIGHAM et al., 1996). Posteriormente, vários relatos de ocorrência de anticorpos desse parasita foram feitos em bovinos e em outras espécies animais (GONDIM ; SATOR, 1997; MELO; LEITE, 1999; STOBBE; CORTEZ, 1999; GONDIM et al., 1999) indicando que a neosporose está amplamente distribuída em vários estados brasileiros, independente das diferenças ecofisiográficas.

As taxas de prevalência da neosporose em bovinos variam de 7,6 a 30,13 % nas diferentes regiões brasileiras. Em exames sorológicos com amostras de sangue de bovinos, Andreotti et al., (1999), encontraram as ocorrências de 7,7% (91/7), no Estado do Mato Grosso do Sul.

2.1. Classificação e etiologia

Neospora caninum é um protozoário parasita do filo Apicomplexa, classe Sporozoa, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae (DUBEY; LINDSAY, 1996). Baseados em diferenças protéicas, perfil da região ITS1 e pela morfologia dos cistos teciduais duas espécies são descritas no gênero *Neospora*: *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988a) e *Neospora hughesi* (MARSH et al., 1998), parasitando eqüinos.

Neospora caninum é morfologicamente similar a outros protozoários do grupo dos Apicomplexa de importância em medicina veterinária como: *Toxoplasma gondii*, *Hammondia heydorni*, *Isospora* spp e *Sarcocystis* spp. (DUBEY et al., 2002).

Bjerkas et al., (1984), encontraram cistos semelhantes ao *Toxoplasma gondii* em cérebros de filhotes de cães com miosite e encefalite. Porém, esses animais não apresentavam anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* na pesquisa sorológica. Foi sugerido que um parasita imunologicamente distinto de *Toxoplasma gondii* teria causado a morte dos cães. Posteriormente, Dubey et al.(1988a), revisaram os casos clínicos e os cortes histológicos de cães com diagnóstico ou suspeita de toxoplasmose, utilizando microscopia eletrônica e técnicas imunohistoquímicas. Em 13 cães, foi identificado *Toxoplasma gondii*, e em 10 cães foi encontrado um novo parasita, identificado com o gênero *Neospora* e a espécie *caninum*.

Até 1988, *Neospora caninum* era confundido com *Toxoplasma gondii*, por apresentar semelhanças biológicas e estruturais, entretanto estes dois parasitas são antigenicamente diferentes (DUBEY et al., 1988b). Neste trabalho, o protozoário foi isolado em cultivo celular e em camundongos e cães inoculados com tecidos infectados apresentaram sintomas clínicos como meningoencefalomielite, miosite, poliradiculoneurite e encefalomielite.

Este isolamento de *Neospora caninum* possibilitou desenvolver exames para detectar a neosporose, o sorológico – imunofluorescência indireta (DUBEY et al., 1988b), e um método para identificar o protozoário nos tecidos com a produção de soro específico anti – *Neospora caninum* – exame imunohistoquímico (LINDSAY; DUBEY, 1989).

O primeiro relato de neosporose em bovinos foi feito por Thilsted e Dubey (1989), por meio do teste imunohistoquímico, a partir de cistos encontrados em cérebros de fetos bovinos, em um rebanho com distúrbios reprodutivos de abortamentos repetitivos.

Desde a identificação do protozoário nos fetos bovinos, vários estudos relacionaram o parasita com casos de aborto (ANDERSON et al., 1991; BARR et al., 1991). A partir destes dados o diagnóstico para neosporose foi feito em rebanhos bovinos (NIETFELD et al., 1992; DUBEY; LINDSAY, 1996; GONDIM et al., 1999).

2.2. *Biologia do Neospora caninum*

O ciclo biológico do *Neospora caninum* apresenta três estágios infecciosos: os taquizoítas, os bradizoítas (parasitas que formam os cistos teciduais) e os esporozoítas (ALMEIDA, 2004). Os taquizoítos e bradizoítos são os estágios intracelulares encontrados nos hospedeiros intermediários (DUBEY, 2003).

Os taquizoítas são responsáveis pela fase aguda, são ovóides ou circulares e medem de 3 a 7 x 5 µm, dependendo do estágio da divisão. Multiplicam-se por endogenia, penetram as células do hospedeiro por invasão ativa e podem fazê-lo após 5 minutos de contato (HEMPHILL et al., 1996). Infectando animais são encontrados em muitos tecidos, no citoplasma das células neurais, macrófagos, fibroblastos, células vasculares endoteliais, miócitos, células epiteliais dos túbulos renais e hepatócitos (DUBEY et al., 1988a; DUBEY 1993; BJERKAS; PRESTUS, 1989). Células de hospedeiros infectadas podem conter vacúolos parasitários com até 100 taquizoítas por plano ou corte histológico, podendo ser localizados mais de um vacúolo nestas células (DUBEY et al., 1988b).

Neospora caninum é capaz de produzir lesões necróticas grosseiras em poucos dias, e causar morte celular por multiplicação ativa de taquizoítas. Podendo produzir severas doenças neuromusculares em cães e bovinos e provavelmente em outros hospedeiros, destruindo um grande número de células neurais, incluindo nervos craniais e espinhais e afetando a condutividade das células afetadas. (MAYHEW et al., 1991).

Na fase crônica, os taquizoítas se diferenciam em bradizoítas formando os cistos teciduais, localizando-se principalmente no tecido nervoso (DUBEY et al., 1988b). Os taquizoítas e os cistos teciduais com bradizoítas são as formas assexuadas da infecção que se encontram no hospedeiro intermediário.

Cistos teciduais são geralmente ovais e acima de 107 μm de comprimento e tem sido observado somente em tecidos nervosos (cérebro, medula espinhal, nervos e retina) (DUBEY et al., 1988 b; DUBEY et al., 1990). Há a descrição de um único cisto no músculo ocular de potro (LINDSAY et al., 1996). São resistentes à solução de pepsina ácida do estômago e sobrevivem a 4°C por 14 dias, mas tornam-se não infectantes a -20°C em apenas um dia (LINDSAY et al., 1992).

Oocistos não esporulados, quando eliminados nas fezes dos hospedeiros definitivos não são infectivos, medem de 10 a 11 μm de diâmetro e são esféricos ou subesféricos, contendo um esporonte central. Após três dias, esses oocistos esporulam e tornam-se infectivos no ambiente (MCALLISTER et al., 1998). Passam a apresentar dois esporocistos, que medem 8,4 x 6,1 μm , e cada esporocisto contém quatro esporozoítas, medindo 7-8 x 2-3 μm (LINDSAY et al., 1999b).

2.3. Patogenia

A patogenia da neosporose bovina é muito complexa, sendo os taquizoítas responsáveis pela fase aguda da infecção, dependendo do equilíbrio entre a capacidade do taquizoíta penetrar e se multiplicar nas células e a capacidade do hospedeiro de impedir essa proliferação (BUXTON et al., 2002).

A invasão da célula hospedeira compreende dois eventos distintos, adesão à superfície da célula hospedeira e o processo de entrada na célula. O evento inicial no processo de adesão é mediado por um contato de baixa afinidade, que subsequente conduz à secreção de micronemas, como consequência, segue-se uma ligação mais específica com a superfície da célula hospedeira, ocorrendo assim à entrada na célula. Para que esse evento ocorra, é necessário que haja a presença de receptores adequados na superfície da célula hospedeira, que forneçam o sinal para a entrada do parasita no citoplasma dessa célula (HEMPHIL ; GOTTSTEIN, 1996).

Os taquizoítas de *Neospora caninum* interagem com a célula hospedeira por meio de mecanismos altamente conservados em todo o filo Apicomplexa. Mas em contraste com outros gêneros desse filo, que exibem considerável especificidade pela célula hospedeira, tanto *Neospora caninum* quanto *Toxoplasma gondii* são capazes de invadir e se proliferar em diferentes tipos de células de mamíferos, sugerindo assim, que eles possam reconhecer um ou vários receptores na superfície da célula hospedeira, para a adesão inicial e subsequente invasão (NAGULESWARAN et al., 2002).

O parasita ao invadir as células uterinas, multiplica-se causando uma destruição local nos tecidos do feto e da mãe e estes tecidos iniciam uma resposta inflamatória. A partir daí, as lesões se estendem para a região corio-alantóide entre os cotilédones. Ao mesmo tempo em que essas lesões ocorrem, o parasita também entra na corrente sanguínea e invade outros tecidos, com uma predileção pelo sistema nervoso central, onde se localiza preferencialmente ao redor dos vasos sanguíneos. A destruição de células fetais, associada à inflamação linfóide, também pode ocorrer em outros tecidos, como coração, músculo esquelético, pulmão e fígado (BARR et al., 1994).

Neospora caninum é capaz de produzir lesões necróticas visíveis em poucos dias, causando morte celular pela ativa multiplicação dos taquizoítas, podendo produzir doenças neuromusculares graves em cães, bovinos e provavelmente em outras espécies, destruindo um grande número de células neurais, incluindo nervos craniais e espinhais, afetando assim a condutibilidade dessas células (CANTILE ; ARISPICI, 2002).

Se o animal estiver com uma boa resposta imune, os taquizoítas se transformam em bradizoítas (fase de multiplicação lenta), formando os cistos teciduais localizados principalmente no Sistema Nervoso Central. Este estágio é mantido na fase crônica da infecção e o animal não apresenta nenhuma sintomatologia nesta fase. Entretanto, alguns fatores, como por exemplo, o período de gestação (QUINN et al., 2002) podem levar a uma baixa nessa imunidade e reativando essa infecção. Os bradizoítas se transformariam em taquizoítas e desenvolveriam infecção aguda.

2.4. Sinais Clínicos

Nos bovinos adultos, o aborto é o único sinal clínico observado em fêmeas gestantes infectadas (vacas ou novilhas), ocorrendo do 3º ao 9º mês de gestação, principalmente entre 5 e 6 meses. A maior parte dos bovinos adultos consegue controlar a infecção e permanecer clinicamente normal, porém, persistentemente infectado. Entre 5% e 6%, desses animais podem abortar novamente em sucessivas gestações (ANDERSON et al., 1995; WOUDA et al., 1998).

A frequência de abortos por *N. caninum* pode ser esporádica, constante durante os meses (endêmica) ou em surtos (epidêmica). Os abortos endêmicos ocorrem em rebanhos cronicamente infectados, em torno de 5% do rebanho ao ano. Nos surtos mais de 30% das fêmeas podem abortar em poucos meses (THORNTON et al., 1994). Após os surtos o rebanho torna-se cronicamente infectado. Nos abortos não há retenção de placenta (ANDERSON et al., 2000).

A infecção fetal pode ocasionar morte embrionária, reabsorção ou mumificação. A infecção no feto nem sempre provoca a sua morte e, em algumas ocasiões, ocorre o nascimento de bezerros infectados congenitamente e com sintomatologia nervosa (DUBEY; LINDSAY, 1996). Os sintomas podem ser desde incoordenação, ligeira dificuldade para se levantar até paralisia completa e debilidade.

A maioria dos bezerros infectada intra-uterinamente, ao nascer apresenta altos títulos de anticorpos anti-*N. caninum*. Oitenta a 90% dos filhos das vacas soropositivas são congenitamente infectados (THURMOND et al., 1999), sendo responsáveis pela manutenção da doença no rebanho.

Em cães, a neosporose, manifesta-se de forma generalizada incluindo a pele. Animais jovens ou filhotes congenitamente infectados apresentam uma paresia dos membros posteriores, progredindo para paralisia. Outras disfunções que podem ocorrer e consistem em dificuldade na deglutição, paralisia das mandíbulas, flacidez e atrofia muscular e falha cardíaca (DUBEY, 2003).

2.5. Epidemiologia

2.5.1. Hospedeiros

A reprodução sexuada do parasita *Neospora caninum*, ocorre no intestino do hospedeiro definitivo. O hospedeiro definitivo de *Neospora caninum* foi descoberto por McCallister et al., (1998) que identificaram oocistos nas fezes dos cães domésticos alimentados com cérebros de ratos contaminados com *Neospora caninum*. Os oocistos não esporulados são eliminados juntamente com as fezes para o meio ambiente, e esporulam após um período de 24 h (LINDSAY et al., 1999a). Dessa forma foi provado que o cão além de hospedeiro intermediário é também considerado o hospedeiro definitivo nesse ciclo biológico, porém recentemente, estudos realizados com coiotes (*Canis latrans*) demonstraram a presença de oocistos de *Neospora caninum* nas fezes desta espécie, caracterizando-a também como hospedeiro definitivo deste protozoário (GONDIM et al., 2004).

Hospedeiros intermediários são aqueles animais que são infectados somente pelos estágios assexuados do parasita. Quando tecidos infectados do hospedeiro intermediário são ingeridos por um hospedeiro definitivo, formas ambientalmente resistentes são eliminadas em suas fezes. Por sua distribuição mundial, suspeitava-se que *N. caninum* tivesse como hospedeiro definitivo um carnívoro cosmopolita (GONDIM, 2006).

Neospora caninum possui vários hospedeiros intermediários, tanto animais domésticos quanto silvestres já relatados como o cão, bovino, ovinos, caprinos, eqüinos, búfalos, pacas e lhamas dentre outros e em animais silvestres tem sido detectado em veado, felinos selvagens, antílope, coiotes dentre outros (DUBEY, 2003; VIANNA et al., 2005).

Algumas infecções experimentais foram induzidas em camundongos, ratos, cães, raposas, caprinos, gatos, ovinos, coiotes, suínos, gerbils, coelhos e bovinos (MCALLISTER et al., 2002).

Em relação ao hospedeiro intermediário, esses se infectam por meio da via transplacentária (vertical) ou por transmissão horizontal através da ingestão de alimentos ou água contaminada com oocisto de *Neospora caninum* ou placentas infectadas (DUBEY, 2003). Infecção transplacentária pode ocorrer repetidamente em um mesmo animal (BJERKAS et al., 1984; DUBEY et al., 1988).

2.5.2. Transmissão

Os dois modos de transmissão, vertical e horizontal, são os enfoques de várias pesquisas sobre neosporose, demonstrando que a epidemiologia e o controle da doença nos bovinos são importantes áreas de pesquisa. (DUBEY, 1999; MCALLISTER , 2002).

A forma vertical (transplacentária), mais freqüente (WOUDA et al., 1999) é citada como a mais importante, pois contribui significativamente na permanência da infecção por *Neospora caninum* e na propagação da infecção a gerações sucessivas (BJÖRKMAN et al., 1996; ANDERSON et al., 1997; SCHARES et al., 1998; WOUDA et al., 1998). Esta via de infecção pode ocasionar aborto, porém, a maioria das infecções congênicas resulta em nascimentos de bezerros portadores e aparentemente normais. (PARÉ et al., 1996; ANDERSON et al., 1997; SCHARES et al., 1998).

A forma horizontal, em que os bovinos vão ser infectados pela ingestão de oocistos disseminados nas fezes de cães, que contaminam o pasto, silos ou ração bovina (DIJKSTRA et al., 2001b), é importante em rebanhos cuja soroprevalência é alta (DIJKSTRA et al., 2002). A transmissão horizontal de cães para bovinos é necessária para disseminar a doença e manter os níveis observados da infecção em bovinos. Foi demonstrado que oocistos disseminados por um único cão após consumir tecidos infectados de um bezerro são potencialmente capazes de infectar centenas ou milhares de bovinos (GONDIM et al., 2002)

Pode haver infecção da vaca prenhe com posterior transmissão vertical para a prole e persistência da mãe infectada após reativação da infecção na gestação (DUBEY et al., 2006). A infecção não necessita ocorrer durante a prenhez para atingir o feto.

Teoricamente *Neospora caninum* pode ser excretado no leite ou descargas uterinas de bovinos infectados. A transmissão de taquizoítas pelo leite ou a ingestão de membranas fetais ou fluidos uterinos contendo taquizoítas pode contribuir na infecção (SCHARES et al., 1998; Ugglá et al., 1998; DAVISON et al., 2001), mas a ocorrência desta forma de infecção é pouco importante (DUBEY et al., 2006).

Isso aumentou as evidências que placentas de vacas infectadas podem ser importantes fontes de infecção para os cães. *N. caninum* foi consistentemente isolado de 20 g de placentas de três vacas naturalmente infectadas que conviviam com outras nove saudáveis, mas produziram bezerros infectados por três gestações consecutivas (FIORETTI et al., 2003), e oocistos de *N. caninum* foram disseminados por cães alimentados com placentas infectadas (DIJKSTRA et al., 2001).

Estudos anteriores confirmaram que o parasita pode ocorrer na placenta e sugere-se que pode estar presente no estágio de bradizoíta. Entretanto, pesquisas futuras serão necessárias para confirmar isso e entender os fatores que podem influenciar seu carreamento e viabilidade. Estes fatores têm significados epidemiológicos consideráveis, tendo em mente que quantidades de tecidos (medidos em quilos) de placenta bovina, e o fato que carnívoros frequentemente têm fácil acesso a tecidos placentários.

É improvável que *N. caninum* seja transmitido sexualmente ou por transferência de embriões nos bovinos, sendo a transferência de embriões recomendada como método de controle da transmissão transplacentária. Um estudo com transferência de embriões demonstrou que a infecção por *Neospora caninum* não ocorreu em nenhum dos bezerros nascidos de vacas soronegativas, que receberam embriões provenientes de doadoras soropositivas. Enquanto bezerros provenientes de doadoras soronegativas e transplantados para receptoras soropositivas foram infectados com *Neospora caninum* (BAILLARGEON et al., 2001).

2.5.3. Distribuição do *Neospora caninum*

Os estudos de prevalência de anticorpos anti – *Neospora caninum*, indicam que a neosporose apresenta uma ampla distribuição mundial, incluindo Austrália, Nova

Zelândia, Europa, Coréia, Japão, Tailândia e as Américas. Os cães e bovinos são as principais espécies expostas ao parasita, afetando tanto bovino de leite quanto de corte (ANDERSON et al., 2000).

A neosporose está bastante distribuída em vários estados brasileiros, sendo relatada a ocorrência do parasita ou dos anticorpos anti – *Neospora caninum* nos bovinos, caprinos, ovinos e caninos.

As infecções clínicas e subclínicas de *Neospora caninum* em cães são importantes epidemiologicamente, porque o cão doméstico (*Canis familiaris*) é o principal hospedeiro definitivo de *Neospora caninum*, podendo eliminar oocistos no meio ambiente, tornando-se um fator de risco para a ocorrência de abortos associados a *Neospora caninum* em bovinos (PARÉ et al., 1998). Estudos no Canadá, Japão e Holanda têm relatado uma relação positiva entre a neosporose canina e bovina (WOUDA et al., 1999).

No Brasil, os estudos de De souza et al. (2002) encontraram anticorpos anti-*Neospora caninum* em 29 (21,6%) de 134 cães em fazendas de bovinos leiteiros no Estado do Paraná, Meira santos et al. (1999) encontraram um resultado de 18% no Estado da Bahia e Belo et al. (1999) detectaram um índice de 35% em cães de rua. Gennari et al. (2002) encontraram um resultado de 10% em cães com domicílio e 25% em cães de rua, no Estado de São Paulo. Canon-franco et al. (2003), encontraram anticorpos anti- *Neospora caninum* em 13 (8,3%) de 136 cães acima de seis meses de idade no Estado de Rondônia e Andreotti et al. (2006), encontraram uma ocorrência de 27,2% em 345 amostras de cães analisadas na região urbana de Campo Grande, MS. Em caninos a soroprevalência geralmente é maior em cães rurais do que cães urbanos (SAWADA et al. 1998).

As taxas de prevalência da neosporose em bovinos variam de 7,6 a 30,13% nas diferentes regiões brasileiras, sendo de 30% em Pernambuco, entre 10,49% na Bahia, 7,7 a 8% no Mato Grosso do Sul, 7,7% em Minas Gerais, 7,6 a 30,13% em São Paulo, 11,69% no Paraná e 23,8% no Rio de Janeiro (ALMEIDA, 2004).

Em levantamento feito por Ragozo et al., (2003), em seis estados brasileiros, observou-se a positividade de 23,6% do rebanho, com aumento dos índices nos bovinos

com idade superior a 24 meses. Foi observada também uma maior ocorrência nos bovinos de leite (26,2%) quando comparados com os de corte (19,1%).

2.6. Resposta Imune

Neospora caninum é um parasito intracelular obrigatório, pelo qual tanto os mecanismos da resposta celular quanto a resposta de anticorpos são importantes para a resposta frente ao parasita.

Quanto à resposta celular, infecções experimentais com *Neospora caninum* induziram uma resposta imunológica típica T helper 1 (Th1), caracterizada por altos níveis de IFN γ e IL-4, tanto em animais naturalmente quanto experimentalmente infectados com taquizoítas ou oocistos (ADRIANARIVO et al., 2001). Estudos *in vitro* têm demonstrado que IFN γ inibe o crescimento de taquizoítas. Estudos em ratos sugerem que a supressão da resposta do IFN γ , usando anticorpos monoclonais, aumenta a suscetibilidade desses animais à proliferação e disseminação dos taquizoítas (INNES et al., 1995).

Em relação à resposta humoral, durante a gestação ocorre uma situação interessante para o sistema imune, uma vez que a mãe carrega o feto, estranho ao sistema imune, sem causar rejeição. Citocinas que são importantes para a produção de resposta do tipo Th1 e que limitam a multiplicação de *Neospora caninum* durante a gestação, são potencialmente prejudiciais podendo causar rejeição ou aborto do feto. Células trofoblásticas do feto produzem IL-10, conhecida por inibir a produção de IFN γ e facilitar a multiplicação de *Neospora caninum* durante a gestação, alterando o balanço existente entre hospedeiro e parasita e favorecendo o último (INNES et al., 2002). Conseqüentemente, ocorre uma situação em que a resposta imune perante a infecção pode influenciar no sucesso da gestação e na imunomodulação que ocorre por causa da gestação, afetando a habilidade do animal em combater a infecção. Assim, a gestação cria um desequilíbrio entre o hospedeiro e o parasita. Sabe-se que a ocorrência de

destruição celular e conseqüentemente da doença depende de um balanço existente entre a capacidade do taquizoíta em penetrar e se multiplicar na célula hospedeira e a habilidade do hospedeiro em inibir a multiplicação do parasita (BUXTON et al., 2002).

A gestação em bovinos perdura por um período de aproximadamente 280 dias e o sistema imune do feto desenvolve-se de maneira progressiva durante este período, assim o bezerro é imunologicamente competente ao nascer. O feto é particularmente vulnerável durante o primeiro trimestre da gestação, quando o timo, baço e linfonodos periféricos estão em formação. Durante o terço médio da gestação, esses tecidos já começam a reconhecer e responder aos microorganismos. Então, antes de 100 dias de gestação, o feto é incapaz de reconhecer um patógeno como uma partícula estranha. Assim, se sobreviverem à infecção nesse estágio, ao nascerem tornam-se imunotolerantes ao patógeno em questão. Dos 100 aos 150 dias de gestação, o feto inicia uma resposta imunológica e após os 150 dias de gestação, ele torna-se progressivamente mais imunocompetente, sendo capaz de reconhecer e responder à presença de vários patógenos (ENTRICAN, 2002).

Portanto, no primeiro trimestre o feto é bastante vulnerável a uma infecção por *N. caninum* e é incapaz de sobreviver a ela. No terço médio da gestação, o feto é capaz de iniciar uma resposta imune rudimentar, que pode não ser suficiente para salvá-lo, sendo este o período em que a maioria dos abortos ocorre. Isto sugere que a resposta imunológica celular da vaca prenhe para *Neospora caninum* é mais efetiva no início da gestação do que no seu terço médio. No terceiro trimestre de gestação, o feto já é capaz de defender-se contra o patógeno, podendo então sobreviver (INNES et al., 2002). De acordo com Paré et al., (1996) a imunidade que se desenvolve em resposta a uma exposição primária a *Neospora caninum* é insuficiente para prevenir uma transmissão vertical, devido à taxa elevada de transmissão congênita do parasita da mãe ao feto. Entretanto as infecções experimentais comprovaram que animais com infecção crônica desenvolvem uma forte resposta humoral e celular que os protege frente a posteriores abortos e evitam a transmissão congênita (INNES et al. 2001).

2.7. Diagnóstico

A maioria dos dados a respeito da prevalência da infecção por *Neospora caninum* no rebanho bovino são principalmente de estudos sorológicos. Os valores de soroprevalências obtidos são muito variados e muitas vezes de difícil comparação. O diagnóstico depende de uma combinação entre o histórico do rebanho, os sinais clínicos e os dados de laboratório.

Os métodos diretos utilizados no diagnóstico e pesquisa de *Neospora caninum* são os exames histopatológicos, imunohistoquímico, o isolamento *in vitro* e *in vivo* através da inoculação do material suspeito em cultivo celular ou em animais de laboratório, a detecção do DNA do parasita por PCR e a observação dos cistos nos tecidos a fresco (sem coloração). Entre os métodos indiretos estão Reação de Imunofluorescência indireta (RIFI), Ensaio imunoenzimático (ELISA), Imunoblotting (IB), teste de aglutinação (NAT) que podem detectar anticorpos específicos para *Neospora caninum* (BJÖRKMAN; UGLLA, 1999; DUBEY, 2003).

Os exames histopatológicos e a imunohistoquímica podem ser realizados a partir de amostras de cérebro, medula espinhal, coração, fígado, músculo esquelético, pulmão, rim, e placenta, onde serão identificados os taquizoítas ou cistos de *Neospora caninum*. Microscopicamente as lesões são degenerativas e inflamatórias, com áreas de necrose multifocal e infiltrado de células mononucleares. (SHIVAPRASAD et al., 1989; LINDSAY et al., 1993; DUBEY et al., 1988b).

Considerando a extensa distribuição de casos de neosporose bovina no mundo, relativamente poucos casos de isolamento com sucesso são relatados. Isto ocorre porque os fetos estão geralmente autorizados e o número de protozoários de *Neospora* no cisto tecidual é relativamente pequeno (CONRAD et al., 1993). Porém, o desenvolvimento de novos métodos para o aumento da concentração do parasita aumenta as chances de obtenção dos isolados (YAMANE et al., 1998).

Os taquizoítas de *Neospora caninum* podem se manter indefinidamente em cultivo celular e podem ser conservados em nitrogênio líquido, sem perda aparente da sua infectividade em ratos. Entre as células utilizadas no cultivo estão, monócitos e células endoteliais de artéria cardio-pulmonar de bovinos, células Vero (rim de macaco)

e Marc-145 (fibroblastos de pele humana) (LINDSAY; DUBEY, 1989; DUBEY, et al., 2002).

No isolamento de *N. caninum* in vivo a inoculação de tecidos infectados pode ser realizada em cultura de células ou em camundongos imunossuprimidos ou imunodeficientes (DUBEY *et al.*, 1988b). Porém camundongos têm demonstrado resistência à infecção, em contraste, gerbils (*Meriones unguiculatus*) são susceptíveis a infecção com *N. caninum* sem que seja necessária a imunossupressão (DUBEY; LINDSAY, 2000).

No Brasil, Gondim et al., (2001) relata o isolamento *in vivo* de *N. caninum* a partir de cérebro de cão. Em bovinos o isolamento *in vivo* e *in vitro* foi realizado em bovinos por Locatelli-dittrich (2002).

As técnicas sorológicas são de grande valia, pois podem ser realizadas no animal vivo e, além disso, elas têm alta sensibilidade e especificidade e são indicadas para avaliar a exposição e o risco de infecção.

As condições experimentais *in vitro* são muito variadas, e como consequência, o título de anticorpos para *N. caninum* que determina a infecção em bovinos adultos, ainda não foi padronizado (GUIMARÃES et al.; 2004; DUBEY, 2003).

Os taquizoítas são utilizados para antígeno nos testes de Reação de Imunofluorescência indireta, o teste detecta principalmente anticorpos direcionados para antígenos presentes na superfície celular do parasita. Nas espécies de Apicomplexas, os antígenos de superfície são considerados mais específicos que os componentes intracelulares. Estudos epidemiológicos em diversos hospedeiros demonstram que testes de Reação de Imunofluorescência indireta para *N. caninum* apresentam uma baixa incidência de reação cruzada com outros coccídeos. Isto é particularmente importante em relação a *Toxoplasma gondii*. Por essa razão, o teste de Reação de Imunofluorescência indireta é usado freqüentemente como teste de referência para detecção de anticorpos contra *N. caninum* (DUBEY, 2003).

O método de IFI foi utilizado no diagnóstico da infecção em várias espécies animais, como: cães, raposas, gatos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos, eqüinos, roedores e primatas (DUBEY; LINDSAY, 1996; BJÖRKMAN; UGGLA, 1999).

O teste de aglutinação para anticorpos anti-*Neospora caninum* (NAT) foi desenvolvido por Romand et al. (1998), utilizando soros de vacas e cães naturalmente infectados, e soros de coelho, ratos e ovinos, experimentalmente infectados com taquizoítas e oocistos de *N. caninum*. Além disso, esse teste e o “imunoblotting” (IB) têm sido utilizados em estudos epidemiológicos para detectar a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* em infecções naturais, além de serem muito utilizados no monitoramento de infecções experimentais (PARÉ et al., 1995; JENKINS et al., 2000).

Um grande avanço no diagnóstico da neosporose foi a utilização do ensaio imunoenzimático, ELISA (BJÖRKMAN et al., 1994). Enquanto na Reação de Imunofluorescência indireta são utilizados como antígenos os taquizoítas inteiros, os ELISAs convencionais empregam o antígeno solúvel de taquizoítas (PARÉ et al., 1995; BJÖRKMAN; UGLA, 1999 e o Elisa ISCOM que foi desenvolvido com taquizoítas incorporados aos imunestimulantes. (BJÖRKMAN et al., 1994).

A reação da polimerase em cadeia (PCR) é uma das técnicas mais importantes da biologia molecular, e representa um grande avanço no diagnóstico de várias doenças, pela amplificação de segmentos específicos do DNA. Este método de diagnóstico possibilitou a caracterização molecular do parasita *Neospora caninum* (DUBEY; LINDSAY, 1996) e levou a descoberta de que os isolados de *N. caninum* de cães e de bovinos, pertencem a mesma espécie e são geneticamente idênticos (MARSH et al., 1998). A PCR é altamente sensível e específica para o diagnóstico da neosporose (ELLIS, 1998; ELLIS et al., 1999). Esta técnica vem sendo utilizada para detectar o DNA de *N. caninum*, tanto em infecções naturais, quanto experimentais (HOLMDAHL; MATTSSON, 1996; H O et al., 1997), Paiva et al., (2005) 4% em cães em Campo Grande – MS. Contudo, a técnica não é rotina devido ao seu custo e aos problemas técnicos associados com a detecção do DNA em cérebros de fetos autolisados (DUBEY, 1999; BERGERON et al., 2001).

Verifica-se assim que o desenvolvimento de testes sorológicos específicos, sensíveis e de baixo custo para *N. caninum* é essencial para os avanços no conhecimento da epidemiologia desse parasito.

2.8. Prevenção e Controle

A prevenção da transmissão vertical e horizontal é a base para o controle da neosporose (PARÉ et al., 1996). A realização de testes sorológicos nos animais é fundamental para avaliar o grau de infecção do rebanho (THURMOND; HIETALA, 1995).

A sorologia deve ser realizada em todos os animais do rebanho e, não apenas, nas vacas que abortaram. Isto porque os bovinos podem adquirir a infecção após o nascimento pela ingestão de oocistos (McALLISTER et al., 1998). Além disso, animais clinicamente normais, gerados por vacas soropositivas, podem apresentar títulos de anticorpos (DANNAT et al., 1995).

O descarte de animais infectados (pela via congênita) evita a disseminação do parasita no rebanho pela transmissão vertical (THURMOND; HIETALA, 1995). Porém, Larson et al. (2004) ao avaliarem um modelo de estratégias de controle para um período estimado de cinco anos em um rebanho endemicamente infectado de gado de corte, concluíram que medidas como o descarte de fêmeas que abortaram e a venda de fêmeas soropositivas, seguida pela reposição de fêmeas soronegativas, não foram economicamente viáveis. Enquanto que a realização do teste para *Neospora caninum* em animais que serão introduzidos no rebanho, seguido da exclusão das fêmeas provenientes de mães soropositivas como potenciais repositoras do rebanho, parece ser uma estratégia de controle com melhor retorno econômico.

Proteger os alimentos e a água da contaminação com oocistos das fezes de cães; não fornecer e nem permitir acesso dos cães à placenta, carne e vísceras de fetos abortados, e de vacas e bezerros mortos; coibir o contato de cães com as instalações tipos depósitos e currais, são medidas preventivas, que visam o controle da infecção por *N. caninum*, pelas vias de transmissão horizontal e/ou vertical (McALLISTER et al., 1998; PARÉ et al., 1998; ATKINSON et al., 2000).

Ainda não existem vacinas eficazes para prevenir abortos por *Neospora* nos bovinos ou a eliminação de oocistos pelos cães (DUBEY, 1999).

2.9. Importância Econômica

As perdas econômicas causadas pela neosporose estão associadas à reprodução. Apesar de o aborto ser considerado o efeito mais adverso da neosporose, há outros problemas que devemos levar em consideração como diminuição da produção de leite nos animais soropositivos, a infertilidade associada à mortalidade fetal e reabsorção, a mortalidade neonatal e o nascimento de bezerros congenitamente infectados com sintomatologia clínica. Quanto às perdas indiretas associadas ao aborto, devemos considerar a infertilidade, repetição de cio, assistência veterinária, gastos com diagnóstico, reposição, possíveis perdas da produção de leite e compra de animais (TREES et al., 1999).

2.10. Epidemiologia Participativa

Os produtores rurais representam uma importante fonte de conhecimentos práticos. Desta forma, o sucesso de estratégias de controle se inicia no reconhecimento do problema (doença) a ser controlado pela comunidade e termina na apropriação de tecnologias que sejam construídas de forma participativa, considerando a realidade local.

O uso de técnicas de Diagnóstico Rural Rápido (DRR) como base para coleta de informações da comunidade tem mostrado ser um método adequado, preciso e de baixo custo. O diagnóstico rural participativo está amparado na participação ativa da comunidade no processamento das informações e na utilização das mesmas para o seu próprio benefício. Segundo Chambers (1989) o diagnóstico rural participativo de agroecossistemas é um termo utilizado para designar um conjunto de métodos e abordagens que possibilitam às comunidades compartilhar e analisar sua percepção acerca de suas condições de vida, planejar e agir. O DRR não se caracteriza meramente pela quantificação, mas também, pela descrição, podendo ser utilizado em diversas áreas, como a epidemiologia (FAO, 2000).

A epidemiologia participativa é um termo recentemente utilizado em medicina veterinária cunhado a partir de trabalhos realizados principalmente com comunidades da África (CATLEY, 1997; CATLEY; IRUNGU, 2000; CLEAVELAND et al., 2000; CATLEY et al., 2001; CATLEY et al., 2002) e é utilizado para a coleta de dados, aproximando-se assim do DRR, ou como parte de um programa de desenvolvimento local em que os próprios participantes do processo formulam planos de ação para melhorar a saúde animal e a produtividade. Para isto, são utilizadas várias ferramentas, tais como: fontes secundárias (literatura existente, inventários ou levantamentos prévios), observação direta na comunidade, entrevistas semi-estruturadas, técnicas de visualização dos cenários existentes (mapeamentos, calendários de aplicação de técnicas sanitárias) e métodos de escores (forma de priorizar a informação obtida ou prover estimativas semi-quantitativas do impacto dos problemas priorizados, de acordo com a percepção dos participantes do processo) (FAO, 2000).

Diagnósticos realizados por epidemiologia participativa, associando dados quantitativos e qualitativos para a caracterização da saúde do rebanho, permitem diferenciar os produtores rurais com base nos sistemas produtivos e nas estruturas econômicas resultantes, assim como na atribuição de diferentes significados dados à saúde e doença animal, determinando os riscos específicos relacionados à ocorrência de doenças na bovinocultura local (PEREIRA, 1998). Dai a importância da epidemiologia participativa na coleta de dados que permitam diagnosticar doenças de maior impacto nos sistemas de produção de uma comunidade específica, permitindo o planejamento e aplicação de soluções práticas para os problemas sanitários detectados.

3. Histórico dos Assentamentos Rurais de Corumbá – MS

Na região do município de Corumbá, MS, existem atualmente quatro assentamentos rurais que abrigam 1.071 famílias assentadas. Essas famílias desenvolvem atividades de agricultura e pecuária em pequena escala utilizando mão de obra familiar, e exercem uma importante função no abastecimento alimentar dessa

região. A bovinocultura é uma das mais importantes atividades desenvolvidas nesses assentamentos, sendo a produção de leite o seu principal produto de venda.

A ocupação territorial por assentamentos rurais está associada a transformações sócio-econômicas e ambientais, destacando-se, do ponto de vista da saúde animal, a possibilidade de dispersão e de manutenção, pelos rebanhos dos assentamentos, de agentes causadores de doenças de importância econômica ou para a saúde pública.

Este projeto vem complementar os estudos iniciais de avaliação sanitária dos rebanhos bovinos dos assentamentos rurais de Corumbá, pela inclusão de um levantamento epidemiológico de animais portadores de *Neospora caninum* e analisar qualitativamente os prováveis fatores de risco associados a essa infecção. Tratou-se de uma abordagem epidemiológica da saúde bovina em comunidades específicas - os assentamentos - utilizando 17 metodologias participativas de diagnóstico e inquérito sorológico para avaliar a saúde bovina. Como resultado, obteve-se a caracterização da bovinocultura desenvolvida pelas famílias de quatro assentamentos da região de Corumbá, com destaque para os problemas de saúde do rebanho e práticas sanitárias adotadas. Também foi realizada uma caracterização da família (faixa etária, escolaridade, força de trabalho na terra) e da propriedade (área total e produtiva, infraestrutura, atividades agropecuárias desenvolvidas e voltadas para o comércio, outras fontes de renda, problemas regionais relacionados à produtividade). As informações coletadas resultaram em um banco de dados contemplando o perfil da pecuária e a infraestrutura de sua indústria, as enfermidades, as atividades de atenção veterinária e a estrutura da região estudada.

3.1. Caracterização das Propriedades

A média de área total por lote foi calculada em 22,2 ha, sendo a área de pastagem igual a 10,1, a área agrícola igual a 2,1 ha e a área de mata igual a 9,4 ha. O PA Tamarineiro II apresentou o maior número de lotes acima de 30 ha. Esse assentamento destacou-se com a maior área de mata média e o PA Taquaral com a menor. Observa-se percentual alto de área de mata nos quatro assentamentos, apesar do tamanho pequeno dos lotes, com destaque para o PA Paolzinho que, apesar de

apresentar os menores lotes, destacou-se com quase metade de sua extensão ainda não utilizada. A percentagem de produtores que disseram não possuir área destinada à agricultura no PA Mato Grande foi menor do que as encontradas para os demais assentamentos. Da mesma forma, o assentamento Mato Grande apresentou a maior média de área voltada para a atividade agrícola. Segundo relatado por algumas famílias muitos lotes dos assentamentos Paiolzinho, Tamarineiro II e Taquaral “não são bons para a agricultura” ou “foram condenados” para essa atividade. A área média de pastagem foi semelhante para os assentamentos Mato Grande e Paiolzinho, porém, sendo menor nesses assentamentos do que nos assentamentos Tamarineiro II e Taquaral. O PA Mato Grande apresentou um percentual médio de área voltada para a agricultura e para a pecuária semelhante, enquanto os demais assentamentos exibiram percentual reduzido de área agrícola.

Com base no número de lotes e na área total de cada assentamento, e supondo que 100% dos lotes estão ocupados e que todos têm criação de bovinos, ainda, considerando que os lotes têm área de tamanho semelhante, podemos supor a presença de 4 rebanhos/km² no PA Mato Grande, 5,8 rebanhos/km² no PA paiolzinho, 3 rebanhos/km² no PA Tamarineiro II e 3,9 rebanhos/km² no PA Taquaral.

Em média, 19,8% dos entrevistados disseram alugar pasto de terceiros na época da seca. Embora seja evidente a restrição imposta pelo tamanho da propriedade que em sua maioria tem entre 11 ha e 20 ha, a insuficiência das pastagens não necessariamente equivale à insuficiência do tamanho do terreno, mas, muitas vezes, ao mau uso da terra, provocado pela baixa utilização de tecnologias. Esse fato é importante também sobre o ponto de vista sanitário uma vez que é comum o convívio entre animais de diferentes rebanhos nos terrenos alugados ou pastoreando as margens das estradas ou margens das baías (nas entrevistas foi citada a baía do Jacadigo por moradores do PA Taquaral e PA Tamarineiro II). Foi notada a falta de divisão de pastagem, o que dificulta seu manejo, e o pouco uso de capineiras ou outro tipo de reserva de forragem para alimentação dos animais na época da seca. Apenas 12,4% dos entrevistados disseram plantar cana-de-açúcar, 2,8% asseguraram plantar capim-elefante e 2,5% afirmaram plantar milho, com o objetivo de reserva de forragem para a seca.

O PA Mato Grande apresentou a maior frequência de famílias que afirmaram contar com alguma assistência técnica (agrícola ou pecuária) (61,8%; 21/34), seguido pelo PA Paiolzinho (42,9%; 18/42), pelo PA Taquaral (29,0%; 27/93) e pelo PA Tamarineiro II (28,4%; 25/88). Foi comum a reclamação de assistência técnica deficiente, principalmente o atendimento médico veterinário, por parte do órgão governamental responsável. Segundo as famílias entrevistadas no presente estudo, quando o atendimento veterinário é solicitado, não há resposta ou a resposta é tardia e o animal acaba morrendo. Várias famílias disseram que, por isso, não solicitavam mais o atendimento veterinário. Esse descontentamento pôde ser notado pela frequência de famílias que afirmaram nunca contar com o atendimento veterinário, 60,4% (Tabela 1). Entre aqueles que afirmaram solicitar esse tipo de atendimento, 32,8% o faziam quando algum animal adoecia, 3,4% contavam com visitas periódicas, 2,6% solicitavam para vacinação e 0,9% para auxiliar em partos complicados, podendo ser notada a característica do atendimento veterinário como de intervenção clínica de caráter emergencial.

Tabela 1. Motivos para a solicitação de atendimento veterinário citados pelas famílias entrevistadas em quatro assentamentos de Corumbá, MS, 2004-2005.

Motivação	Frequência de famílias (N*=235)	
	n**	% (IC 95%)*
Nunca chama	142	60,4 (53,9 – 66,7)
Quando algum animal adoecer	077	32,8 (26,8 – 39,2)
Visitas periódicas	008	03,4 (01,5 – 06,6)
Vacinação	006	02,6 (00,9 – 05,5)
Auxílio em parto difícil	002	00,9 (00,1 – 03,0)

*N = Total de famílias que informaram (2 famílias não informaram)

**n = Total de resposta positiva

***IC 95% = Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

Tomich (2007)

Em contradição, veterinários dos órgãos de fiscalização (IAGRO) e de extensão rural (AGRAER) do Estado do Mato Grosso do Sul foram citados como as principais fontes de informações sobre criação de bovinos, seguidos pela TV; pelos vizinhos, parentes e amigos; vendedores (lojas agropecuárias) e representantes comerciais e

jornais escritos e revistas (tabela 2). Algumas famílias disseram que normalmente vão às lojas de venda de produtos agropecuárias, expõem os sintomas por eles percebidos para os vendedores e retornam com os medicamentos indicados.

Tabela 2. Fontes de informação sobre criação de bovinos, citadas pelas famílias entrevistadas em quatro assentamentos de Corumbá, MS, 2004-2005.

Fonte	Frequência de famílias		Distribuição
	(N*=237)		relativa
			respostas obtidas (N=382)
	n**	% (IC 95%***)	%
Não procura se informar	022	09,3 (05,9 – 13,7)	05,8
Televisão	092	38,8 (32,6 – 45,3)	24,1
Jornal escrito e/ou revistas	020	08,4 (05,2 – 12,7)	05,2
Veterinários (IAGRO e IDATERRA)	101	42,6 (36,2 – 49,2)	26,4
Vizinhos, parentes e amigos	089	37,6 (31,4 – 44,1)	23,3
Vendedores e representantes comerciais	058	24,5 (19,1 – 30,5)	15,2
TOTAL	382	100,0	

*IC 95%= Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

**n = Total de resposta positiva

***N = Total de famílias amostradas que criavam bovinos Tomich (2007)

Além da falta de divisões de pastagens; ausência de reserva de forragem para época da seca; desconhecimento, por parte dos assentados, quanto aos recursos forrageiros existentes na região; falta de sistema adequado para captação e tratamento de água; existência de assistência técnica deficiente; entre outros problemas já citados, o baixo nível tecnológico da agropecuária desenvolvida nos assentamentos pesquisados pôde ser percebido pelo padrão estrutural das parcelas. Em média apenas 51,6% das famílias possuíam curral, em sua maioria um cercado de madeira ou mesmo de arame, com piso de terra e sem telhado; 13,2% possuíam instalação para contenção de animais; 45,7% possuíam bomba de aspersão costal para banho carrapaticida e 2,3% possuíam maquinários agrícolas. Foi relatado o uso da estrutura de contenção animal do vizinho, situação importante na disseminação de doenças. A maioria das famílias afirmou possuir eletricidade (98,1%) e geladeira e/ou congelador (91,9%).

As espécies de animais silvestres citadas como as mais comumente vistas foram cervídeos, cachorro do mato (também chamado de lobinho ou mão pelada), tatu, rato silvestre, macaco e caititu (Tabela 3).

Tabela 3. Animais silvestres presentes na região de quatro assentamentos de Corumbá, MS, segundo informação das famílias. Ano 2004-2005

Animais Silvestres	Frequência de famílias por animal citado (N*=258)		Distribuição relativa dos animais citados
	n**	% (IC 95%***)	%
Cervídeos	174	67,4 (61,4-73,1)	29,0
Lobinho/mão pelada	111	43,0 (36,9-49,3)	18,5
Tatu	083	32,2 (26,5-38,2)	13,8
Rato silvestre	075	29,1 (23,6-35,0)	12,5
Macaco	061	23,6 (18,6-29,3)	10,2
Caititu	036	14,0 (10,0-18,8)	06,0
Tamanduá mirim	030	11,6 (08,0-16,2)	05,0
Queixada	014	05,4 (03,0-08,9)	02,3
Lobo guará	009	03,5 (01,6-06,5)	01,5
Capivara	005	01,9 (00,6-04,5)	00,8
Porco monteiro	002	00,8 (00,1-02,8)	00,3
Total	600		100

*N = Total de famílias amostradas

**n = Total de resposta positiva

***IC 95% = Intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

Fonte: TOMICH (2007)

3.2. Importância econômica da pecuária bovina para as comunidades

Entre as criações exploradas pelas famílias dos assentamentos estão os bovinos, as aves, os eqüinos, os suínos, os caprinos, os ovinos e as abelhas (Tabela 4). A quantidade média de animais por proprietário foi de 24,4 bovinos, 32,3 aves, 7,4 suínos, 17,5 caprinos 18,2 ovinos, 2,2 eqüinos e 6,8 colméias.

Tabela 4. Atividades pecuárias desenvolvidas em assentamentos rurais de Corumbá – MS, segundo informação das famílias. Ano 2004 – 2005.

Atividade Pecuária	ASSENTAMENTO									
	Total		Mato Grande		Paiolzinho N=43		Tamarineiro II N=88		Taquaral N=93	
	n**	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Bovinocultura	237	91,9	29	85,3	38	88,4	82	93,2	88	94,6
Avicultura	216	83,7	31	91,2	31	72,1	77	87,5	77	82,8
Equinocultura	168	65,1	24	70,6	22	51,2	55	62,3	67	72,0
Suinocultura	098	38,0	17	50,0	19	44,2	30	34,1	32	34,4
Caprinocultura	036	14,0	02	05,9	08	18,6	18	20,5	08	08,6
a										
Ovinocultura	021	08,1	01	02,9	01	02,3	09	10,2	10	10,8
Apicultura	012	04,7	04	11,8	00	00,0	03	03,4	05	05,4

*N= Total de famílias amostradas

**n = Total de resposta positivas

Fonte: TOMICH (2007)

Nota-se a importância da bovinocultura como atividade econômica para essas famílias. Os bovinos aparecem como a principal atividade pecuária com objetivo de comercialização. Por sua vez, os equinos foram citados como animais de serviço por todas as famílias, não tendo função comercial. A apicultura, voltada para a produção de mel, e a caprinocultura e ovinocultura, ambas para corte, foram identificadas como atividades em ascensão, com várias famílias iniciando ou pretendendo iniciar essas atividades.

Foi observada coabitação das diferentes espécies de animais de criação (bovinos, aves, caprinos, ovinos, suínos e equinos) e de companhia (cães e gatos presente em 74,8% e 55,8% das famílias entrevistadas, respectivamente) nas propriedades visitadas. Essa prática é comum em fazenda com pequena escala de produção e representa risco sanitário para o rebanho. Com relação a doença pesquisada no presente trabalho, os cães, representam risco epidemiológico, pelo fato de terem acesso a abortos e placentas, infectando e posteriormente eliminando oocistos nas pastagens.

3.3. Caracterização produtiva da bovinocultura

Em média a família criava gado há 7,1 anos. Em sua maioria, os bovinos eram mestiços com aptidão leiteira ou com dupla aptidão, também denominado gado comum ou sem caracterização racial definida. Esse tipo de gado é adequado às condições de criação pouco tecnificadas observada na região do estudo, devido às suas características de rusticidade e adaptabilidade. Observou-se que a exploração bovina era voltada principalmente para a produção de leite, sendo 62,9% apenas para produção de leite e 33,8% para produção de carne e de leite. A produção de leite de 72,6% das famílias entrevistadas era destinada ao consumo familiar apontando a importância desse alimento para a segurança alimentar das famílias.

A comercialização de carne bovina para açougues ou para vizinhos foi citada por 19,4% das famílias entrevistadas. A venda do leite direto para o consumidor, *in natura*, foi detectada como a principal forma de comercialização desse produto, além da venda de queijos artesanais fabricados a partir de leite cru. Apenas 17,7% das famílias afirmaram fornecer o leite para a cooperativa.

Em média, 57,4% (136/237; IC = 50,8% a 63,8%) dos entrevistados que criavam bovinos faziam alguma anotação zootécnica, sendo que 45,1% afirmaram manter anotações de controle sanitário. Porém, percebeu-se que, em sua maioria 34,2% (81/237), essas anotações equivaliam à nota de controle fiscal da vacinação para a Febre Aftosa. Esse mesmo documento era visto como controle do número efetivo do rebanho.

Com base nas informações do efetivo bovino existente nos lotes no dia da entrevista, a média de bovino por rebanho foi de 24,4 animais, sendo a média do número de bezerros igual a 6,4 animais, do número de vacas igual a 10,3 animais e do número de touros igual a 1,0 animal. Baseado nesses valores o número de bezerros/vaca/ano foi estimado em 0,62 bezerros e a relação vaca/touro, em 10,3 vacas/touro. Esse número de bezerros/vaca/ano equivale a 1 bezerro/vaca a cada 20 meses. A maioria dos entrevistados disse que a idade média das novilhas à primeira parição era de dois a três anos de idade e 40,9% das famílias afirmaram que o tempo de lactação das vacas era de 7 a 8 meses.

Entre as famílias entrevistadas, 53,6% (127/237) possuíam apenas um touro e 28,3% (67/237) não possuíam touro em seus rebanhos. Em sua maioria, essas famílias utilizavam touros dos vizinhos. Do ponto de vista sanitário, essa prática pode ser responsável pela disseminação de várias doenças reprodutivas, entre elas a Leptospirose, a Língua Azul e a IBR, cujos agentes etiológicos apresentaram altas prevalências no presente estudo, como será visto adiante. Além das causas sanitárias, a falta de touro no rebanho pode ser um dos fatores relacionados à baixa quantidade de bezerros nascidos por vaca por ano.

3.4. Caracterização reprodutiva da bovinocultura

Das famílias entrevistadas, 42,6% e 35,9% disseram não ter critérios definidos para o descarte de vacas e touros, respectivamente. Idade avançada foi citada como o principal critério para descarte de vacas, seguido por queda na produção de leite e vacas que “não pegam cria/vacas que falham”.

Para os touros, o principal critério de descarte foi “evitar refinamento do gado”, ou seja, evitar o cruzamento consanguíneo no rebanho. Animais que “varam cerca” surgiu como outro critério utilizado tanto para descarte de fêmeas quanto de machos. Outro critério citado para descarte de vacas leiteiras foi “animal bravo”. A maioria das famílias disse não ter idade definida para descarte dos reprodutores, embora idade avançada das vacas tenha sido citada como principal critério de descarte desses animais. Dez anos de idade foi citado como limite máximo de descarte de vacas, por 21,1% e de touros, por 18,1% das famílias. A inseminação artificial ainda é uma prática não utilizada pelas famílias assentadas.

Os animais de reposição são oriundos principalmente de parcelas vizinhas dentro do próprio assentamento, além de fazendas próximas. Poucas famílias citaram comprar animais de fazendas localizadas na região de planície (Pantanal) ou de outros municípios e algumas citaram não comprar animais de reposição, apenas retirá-los do próprio rebanho. Apesar da proximidade dos assentamentos Paiolzinho, Tamarineiro II

e Taquaral com fazendas bolivianas (fronteira seca), todos os entrevistados afirmaram não comprar animais de fazendas localizadas nesse país.

3.5. Caracterização sanitária da bovinocultura

Os principais problemas sanitários percebidos pelas famílias foram as infestações por carrapatos e por moscas-dos-chifres. O carbúnculo sintomático (manqueira; agente causal *Clostridium chauvoei*), caracterizado como possível causa de morte de vários bezerros e novilhas pelas famílias, foi reconhecido como problema sanitário por apenas 10,1% dos entrevistados. A diarreia de bezerros relatada apenas por 14 famílias.

Das famílias entrevistadas, 16,5% disseram não ter problemas com saúde em seus rebanhos (tabela 3). Alguns produtores citaram a ocorrência de retenção de placenta 6,3% (15/237) e aborto 7,6% (18/237). Entretanto, notou-se que poucas famílias reconheceram o aborto e a retenção de placenta como possibilidade de problema de saúde. No caso de retenção de placenta observou-se que a maioria das famílias identificou como um fator fisiologicamente normal, sendo necessária intervenção mecânica (puxar com as mãos) ou medicamentosa, em casos de retenções por tempo prolongado; prazos citados para intervenção: acima de 24 horas, acima de 28 horas, acima de uma semana. Das famílias entrevistadas, 3,4% (8/237) citaram fazer intervenção para a retirada de anexos fetais. Apesar da impossibilidade de quantificação, devido a pouca importância dada pelas famílias a esses sintomas, foi possível constatar que aborto, retenção de placenta e repetição de cio ocorrem nos rebanhos.

A ocorrência de aborto normalmente foi associada com falta de alimento e água na seca e acidentes tais como contusão causada por outro animal. Esses resultados indicam a necessidade de um melhor manejo sanitário do rebanho, bem como um programa de educação em saúde da população local.

As principais práticas sanitárias citadas pelas famílias foram: vacinação, controle de ectoparasitas (carrapatos e moscas-dos-chifres) e controle de endoparasitas

(vermifugação). O controle de mastite e o fornecimento de alimentação boa e água a vontade foram mencionadas em menor proporção. O fornecimento de sal mineral e vitaminas foi citado como prática sanitária adotada por 33 famílias. Entretanto, como manejo alimentar essa prática foi citada por 168 proprietários 70,9% (168/237), com a suplementação sendo realizada durante todo o ano 62,4% (148/237).

4. Referências Bibliográficas

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; CAÑÓN-FRANCO, W.A.; RODRIGUES, A.A.R.; CHIEBAO, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. Prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos, ovinos e cães da Amazônia Ocidental Brasileira, Estado de Rondônia. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...*São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005. p.31.

ALMEIDA, M. A. O. Epidemiologia de *Neospora caninum*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, supl. 1, p.37-40, 2004.

ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, P.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 American Veterinary Medical Association*. v.198, p.241- 244. 1991.

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

ANDERSON, M.L.; FEYNOLDS, 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 Association*. v. 210, p.1169-1172, 1997.

ANDERSON, M. L.; ADRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 60-61, n.1, p. 417-431, 2000.

ANDRIANARIVO, A. G.; BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; ROWE, J.D.; PACKHAM, A.E.; SVERLOW, K.W.; CONRAD, P.A. Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. *Parasitology Research*, n.87, p.817-825, 2001.

ANDREOTTI, R., PINCKNEY, R.; GOMES, A. Diagnóstico sorológico de um rebanho bovino de corte de Mato Grosso do Sul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11. 1999, Salvador. 1999. Anais... Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p. 226, 1999,

ANDREOTTI, R.; PAIVA, F. ; LIMA-JUNIOR, M.S.C.; CAETANO, A.; MATOS, M.F.C. Clonagem e expressão da porção C-terminal do antígeno de superfície NC-43 de *Neospora caninum* e sua identidade com anticorpos de bovinos no estado de Mato Grosso do Sul. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. Anais...São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p.21.

ANDREOTTI, R.; OLIVEIRA, J. M.; SILVA, E. A.; OSHIRO, L. M.; MATOS, M. F. C. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.135, p.375-379, 2006.

ATKINSON, R. A.; COOK, R.W.; REDDACLIFF, L.A.; ROTHWELL, J.; BROADY, K.W.; HARPER, P.; ELLIS, J.P. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. *Australian Veterinary Journal*, v. 78, p.262-266, 2000.

BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARÉ, J.; LAMOTHE, P.; SAUVE, 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 American Veterinary Medical Association*, v.218, n. 11, p.1803-1806, 2001.

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A. Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Veterinary Pathology*. v. 28, p. 110-116, 1991.

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.

BELO, M.A . A .; REZENDE, P.C.B.; CASTAGNOLLI, K.C.; BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A .J. Pesquisa de anticorpos anti- Neospora caninum em cães criados sob diferentes condições sanitárias. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. *Anais....* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p.228.

BERGERON, N.; FECTEAU, G.; VILLENEUVE, A.; GIRARD, C; PARÉ, J. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by Neospora caninum. *Veterinary Parasitology*. v.97, n. 2, p.145-152, 2001.

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

BJERKAS, I.; PRESTUS, J. The neuropathology in toxoplasmosis-like infection caused by a newly recognized cyst-forming sporozoon in dogs. *Pathologica, Microbiológica et Immunologica Scandinavica*, v. 32, p. 459-468, 1989

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

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

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

BRAUTINGAM, 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: PANVET, p.284, 1996.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M. M.; DUBEY, J. P. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitology*, v.18, n. 12, p. 546-552, 2002.

CANTILE, C.; ARISPICI, M. Necrotizing cerebellitis due to Neospora caninum infection in a old dog. *Journal of Veterinary Medicine*, v.49, n.1, p.47-50, 2002.

CANON-FRANCO, W.A.; BERGAMACHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.; SOUZA, S.L; SILVA, J.C. PINTER, A.; DUBEY , J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of antibodies to Neospora caninum in dogs from Amazon, Brasil. *Veterinary Parasitology*, v.115, n.1, p.71-74, 2003.

CHAMBERS, R.; PACEY, A.; THRUPP, L.A. (Eds). Farmer First: Farmer Innovation and Agricultural Research. *Intermediate Technology Publications*, 1989.

CATLEY, A. Adapting participatory appraisal (PA) for the veterinary epidemiologist: PA tools for use in livestock disease data collection. *Proceedings of the Society for Veterinary Epidemiology and Preventive Medicine*, p. 246-257, 1997

CATLEY, A.; OKOTH, S.; OSMAN, J.; FISON, T.; NJIRU, Z.; MWANGI, J.; JONES, B. A.; LEYLAND, T. J. Participatory diagnosis of a chronic wasting disease in cattle in southern Sudan. *Preventive Veterinary Medicine*. v. 51, p. 161-181, 2001

CATLEY, A.; IRUNGU, P.; SIMIYU, K.; DADYE, J.; MWAKIO, W.; KIRAGU J.; NYAMWARO, S.O. Participatory investigations of bovine trypanosomiasis in Tana River District, Kenya. *Medical and Veterinary Entomology*, v.16, 1-12, 2002.

CLEAVELAND, S., KUSILUKA, L., KUWAI, J.O., BELL, C., KAZWALA, R. Assessing the impact of malignant catarrhal fever in ngorongoro district, Tanzania: A study commissioned by the Animal Health programme, Department for International Development. *International Animal Health: The University of Edinburgh*,. 58p, 2000

CONRAD, P. A.; SVERLOW, P.; ANDERSON, M.; ROWE, J.; BONDURANT,R.; TUTER, G.; BREITMEYER, R.; PALMER, C.; THURMOND, M.; ARDANS, A. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental Neospora infections. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. v.5, p.572-578, 1993.

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, n.3, p.195-202. 2002.

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

DANNATT, L.; GUY, F.; TREES, A.J. Abortion due to Neospora species in a dairy herd. *Veterinary Record*. v.137, p.566-567, 1995.

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

DE SOUZA, S.L.P.; GUIMARAES, J.S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J.P.; DENNARI, S.M. Prevalence of Neospora caninum antibodies in dogs from cattle farms in Paraná. *The Journal of Parasitology*, v.88, n.2, p.408-409, 2002.

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

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

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

DUBEY, J. P.; HATEL, A. L.; LINDSAY, D. L.; 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, n.10, p.1259-1263, 1988b.

DUBEY, J.P.; HARTLEY, W.J.; LINDSAY, D. L.; TOPPER, M. J. Fatal congenital Neospora caninum infection in a lamb. *Journal Parasitology*. V. 76, p. 127-130, 1990.

DUBEY, J.P. Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis, and other tissue cyst-forming coccidia of human and animals. In: Kreir JP, editor. *Parasitic Protozoa*, v. 6,1-158, 1993.

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

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

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D.S. Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. *Parasitology Research*. v.86, n.2, p.165-168, 2000.

DUBEY, J.P.; BARR,B.C.; BARTA, IR.; BJERKAS, I.; BJORIÜVIAN, C.; BLAGBURN, B.L.; BOW, D.D.; BUXTON, D.; ELLIS, J.T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; IML, D.E.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A.E.; MATTSSON, J.G.; McALLISTER, M.M.; MODRY,D.; OMATA,Y.; SIBLEY, L.D.; SPEER, C.A.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; UPTON, S.J.; WILLIAMS, D.J.L.; LINDSAY, D.S. Redescription of *Neospora caninum* and its differenfatation from related coccidia. *International Journal for Parasitology*, v.32, n.8, p.929-946, 2002.

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

DUBEY, J.P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. The pathogenesis of bovine neosporosis. *Journal of Comparative Pathology*. V. 134, p. 267-289, 2006.

ELLIS, J. T. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*. v.28, n. 7, p.1053-1060, 1998.

ELLIS, J. T.; MCMILLAN, D.; RYCE, C.; PAYNE, S.; ATKINSON, R.; HARPER, D.P.A. Development of a single tube nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Neospora caninum* DNA. *International Journal for Parasitology*, v.29, n.10, p.1589-1596, 1999.

ENTRICAN, G. Immune regulation during pregnancy and host pathogen interactions in infectious abortion. *Journal of Comparative Pathology*, v. 126, p. 79-94, 2002.

FAO -Food and Agriculture Organization of the United Nations. Manual on participatory epidemiology: method for the collection of action-oriented epidemiological intelligence. Rome: FAO, 2000. (FAO. Animal Health Manual 10).

FIORETTI, D. P.; PASQUAI, P.; DIAFERIA, M.; MANGILI, V.; ROSIGNOLI, L. *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. *Journal of Veterinary Medicine B*, v. 50, p. 399-404, 2003.

GENNARI, S.M.; YAI, L.E.; D'AURIA, S.N.; CARDOSO, S.M.; KWOK, O.C.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology, Amsterdam*, v.106, n.2, p.177-179, 2002.

GENNARI, S.M.; SOUZA, S. L. P.; GUIMARÃES, J.S.; BERGAMASCHI, D.P. Anticorpos anti- *Neospora caninum* em cães e bovinos de propriedades rurais produtoras de leite tipo B da região norte do Estado do Paraná: Estudo da prevalência e de fatores de risco. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora*

caninum, 1, 2005, São Paulo. Anais...São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p.57.

GONDIM, L.F.P; SARTOR, I.F.Detecção de anticorpos contra Neospora caninum em vacas leiteiras numa propriedade com histórico de aborto. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 10, 1997, Itapema. Anais...Itapema: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1997. p.36.

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

GONDIM, L.F.; PINHEIRO, A.M.; SANTOS, P.O.M.; JESUS, E.E.V.; RIBEIRO, M.B.; FERNANDES, H.S.; ALMEIDA, M.A.O.; FREIRE, S.M.; MEYER, R.; McALLISTER, M.M. Isolation of Neospora caninum from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Veterinary Parasitology, Amsterdam*, v.101, n.1, p.1-7, 2001.

GONDIM, L. F. P.; GAO, L.; McALLISTER, M. M. Improved production of Neospora caninum oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *Journal of Parasitology* 88: 1159–1163, 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*, v.34, n. 2, p.159-161, 2004.

GONDIM, L. F. Neospora caninum in wildlife. *Trends in parasitology*. v. 22, n. 6, p. 247-252, 2006.

GUIMARÃES, 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 north of Paraná state, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.124, n.1-2, p.1-8, 2004.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B. Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitology Research*, v. 82, n.6, 497-504, 1996.

HO, M. S.; BARR, B.C.; ROWE, J.B.; ANDERSON, M.L.; SVERLOW, K.W.; PACKHAM, A.; MARSH, A.E.; CONRAD, P.A. Detection of *Neospora* sp. from infected bovine tissues by PCR and probe hybridization. *Journal Parasitology*. v.83, p.508-514, 1997.

HOLMDAHL, O. J.; MATTSSON, J.G. Rapid and sensitive identification of *Neospora caninum* by in vitro amplification of the internal transcribed spacer 1. *Parasitology* v.112 (Pt 2)p.177-182, 1996.

INNES, E.A.; PANTON, W.R.; MARKS, J.; TREES, A.J; HOLDMDHAL, J.; BUXTON, D. Interferon gamma inhibits the intracellular multiplication of *Neospora caninum*, as shown by incorporation of 3H uracil. *Journal of Comparative Pathology*, London, v.113, n.1, p.95-100, 1995.

INNES, E.A.; WRIGHT, S. E.; MALEY, S.; RAE, A.; SCHOCK, A.; KIRVAR, E.; BARTLEY, P.; HAMILTON, C.; CAREY, I. M.; BUXTON, D. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*. v.13, p.1523-1534, 2001.

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

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

JENKINS, M.C., CAVER, J.A.; BJÖRKMAN, 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.; UZÊDA, R. S.; PINHEIRO, A.M.; MENK, J.C.F.; ALMEIDA, M.A.O. Inquérito soropidemiológico do *Neospora caninum* em bovinos criados na região semi-árida do Estado da Bahia. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. Anais...São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p.65.

LARSON, R.L.; HARDIN, D.K.; PIERCE, V.L. Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.224,n.10, p.1597-1604, 2004.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. In vitro development of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) from dogs. *Journal Parasitology*.v. 75, p.163-165, 1989.

LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; DUBEY, J.P. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. *Journal Parasitology*. v.78, p.70-72, 1992.

LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A.; TOIVIO-KINNUCAN, M.A.; DUBEY, J.P.; BLAGBURN, B.L. Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of

Neospora caninum from dogs and Toxoplasma gondii. *American Journal Veterinary Research*. v.54, p.103-106, 1993.

LINDSAY, D.S.; KELLY, E.J.; MCKOWN, R.D.; 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.

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

LINDSAY, D.S.; UPTON, S.J.; DUBEY, J.P. A structural study of the Neospora caninum oocyst. *International Journal for Parasitology*. v.29, n.10, p.1521-1523, 1999b.

LOCATELLI-DITTRICH, R. *Diagnóstico sorológico, isolamento, cultivo e caracterização molecular de neospora caninum em bovinos leiteiros e em eqüinos no Estado do Paraná, Brasil*. 2002. 184 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

MARSH, A.E.; BARR, B.C.; PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A. Description of a new Neospora species (Protozoa: Apicomplexa: sarcocystidae). *The Journal of Parasitology*, v.84, n.5, p.983-991, 1998.

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 of Small Animals Practice*. V. 32, p. 609-612, 1991.

MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Dogs are the definitive hosts of Neospora caninum. *International Journal for Parasitology*, v.28, n.8, p.1473-1478, 1998.

MCALLISTER, M.M.; BUXTON, D.; DUBEY, J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends in Parasitology*. v. 18, n.12, p. 546-551, 2002.

MCALLISTER, M.M; LATHAM, S. Neospora 2001. *Trends in Parasitology*, v.18, n.1, p.4-5,2002.

MEIRA SANTOS, P.O.; VIANA DE JESUS,E.E.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O.; GUIMARÃES, J.E.; SOUZA, R.M.; GONDIM, L.F.P. Frequência de anticorpos contra Neospora caninum em cães criados no Estado da Bahia. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 11, 1999, Salvador. Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 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: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999.

MELO, D. P. G.; DA SILVA, A.C.; ORTEGA-MORA, L. M.; BASTOS, S. A.; BOAVENTURA, C. M. Prevalência de anticorpos anti-Neospora caninum em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v.15, n3, p. 105-109, 2006.

NAGULESWARAN, A.; CANNAS, A.; KELLER, N.; VONLAUFEN, N.; BJÖRKMAN, C.; HEMPHILL, A. Vero cell surface proteoglycan interaction with the microneme protein NcMIC₃ mediates adhesion of Neospora caninum tachyzoites to host cells unlike that in Toxoplasma gondii. *International Journal for Parasitology*. v.32, n.6, p.695-704, 2002.

NIETFELD, J. C.; DUBEY,J. P.; ANDERSON, M.L.; LIBAL, M.C.; YAEGER, M. J.; NEIGER, R G. Neospora-like protozoan infection as a cause of abortion in dairy cattle. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. v.4, p.223-226. 1992.

OLIVEIRA, J. M.; MATOS, M. F. C.; OSHIRO, L. M.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-Neospora caninum antibodies in dogs in the urban area of Campo Grande, MS, Brazil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*. v.13, n.4, p.155-158, 2004.

OSHIRO, L.M.; MATOS, M.F.C.; OLIVEIRA, J. M.; MONTEIRO, L.A.R.C.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-neospora caninum antibodies in cattle from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.16, n.3, p.133-138, 2007.

PAIVA, F; ANDREOTTI, R; PIACENTI, A. K. ; BORGHESAN, T.C. Prevalência de Neospora caninum em cães na cidade de Campo Grande, MS. In: FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...*São Paulo: CBPV, 2005. p.43.

PARÉ, J.; HIETALA, S. K; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of Neospora spp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Investigation*. v. 7, p. 273-275, 1995.

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

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

PELLEGRIN, A. O.; GUIMARÃES, P. H. da S.; SERENO, J.R.B.; FIGUEIREDO, J.F.; LAGE, A. P.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. Corumbá: Embrapa Pantanal, 1999, 9p. (Embrapa Pantanal. Comunicado Técnico, 22).

PEREIRA, M. J. S. *Saúde animal na produção familiar: uma abordagem epidemiológica qualitativa e quantitativa*. 1998. 106p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

QUINN, H. E.; ELLIS, J.T.; SMITH, N.C. Neospora caninum: a cause of immune-mediated failure of pregnancy? *Trends Parasitology*. v.18, p.391-394, 2002.

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A. L.; LEMOS, R. A. A.; BORGES, J. R. J. *Doenças de ruminantes e eqüídeos*, Santa Maria, Palloti, 2007. 694 p

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.

ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J.P. direct agglutination test for serologic diagnosis of Neospora caninum infection. *Parasitology Research*, v.84, p.50-53. 1998.

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

SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F. J. The efficiency of fertical transmission of Neospora caninum in dairy cattle analyzed by serological techniques. *Veterinary Parasitology*. v. 80, p. 87-98, 1998

SHIVAPRASAD, H.L.; ELY, R.; DUBEY, J.P. Neospora-like protozoan found in na aborted bovine placenta. *Veterinary Parasitology*, v.34, n.1-2, p.145-148, 1989.

SILVA, L.J. Considerações acerca dos fundamentos teóricos da explicação em epidemiologia. *Revista de Saúde Pública de São Paulo*, v.19, p.377-383, 1985.

STOBBE, N.S.; CORTEZ, J.A. Estudo interativo entre a presença de anticorpos anti-Neospora caninum e a ocorrência de abortamentos em bovinos no noroeste do estado de São Paulo, Brasil. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 11, 1999, Salvador. Anais... Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p. 226.

THILSTED, J.P.; DUBEY, J.P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. v.1, p.205-209, 1989.

THORNTON, R.N.; GAJADHAR, A.; EVANS, J. Neospora abortion epidemic in a dairy herd. *New Zealand Veterinary Journal*. v. 42, p. 190-191, 1994.

THURMOND, M.; HIETALA, S.K. Strategies to control Neospora infection in cattle. *The bovine practitioner*. v.4, p.29-32, 1995.

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

TOMICH, R.G.P.; BOMFIM, M.R.Q.; PELLEGRIN, A.O.; FELIX, D.F.; DIAS, C.M.R.; KOURY, M.C.; BARBOSA-STANCIOLI, E.F. Frequência de bovinos positivos para *Leptospira* sp em fazendas de gado de corte localizadas em Corumbá, MS. In: Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal, 4, 2004. *Anais...*, Corumbá: SIMPAN, Sustentabilidade Regional, 2004.

TOMICH, R.G.P.. *Processo saúde-doença de bovinos em rebanhos de assentamentos rurais do município de Corumbá, MS – Brasil*. 2007. 186p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

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, n.8, p.1195-1200, 1999.

UGLLA, A.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O.J.M.; JAKUBEK, E.B.; THEBO, P.; KINDAHL, H.; BJÖRKMAN, C. Oral Neospora caninum inoculation of neonatal calves. *International Journal for Parasitology*, v. 28, n.9, p.1467-1472, 1998.

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

WOUDA, W.; BRINKHOF, J.; VAN MAANEN, C.; DE GEE, A.L.; MOEN, A.R. Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: A comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunological*. v.5, p.711-716, 1998.

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

YAMANE, I.; SHIBAHARA, T.; KOKUHO, T.; SHIMURA, K.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; CONRAD, P.A.; PARK, C.H.; SAWADA, M.; UMEMURA, T. An improved isolation technique for bovine Neospora species. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v.10, p.364-368, 1998.

**LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE *Neospora caninum* EM BOVINOS
DE ASSENTAMENTOS RURAIS EM CORUMBÁ-MS**

Rony C. Mello¹; Aiesca O. Pellegrin²; Renato Andreotti³; Ana Karla M. Mello⁴

Resumo

Neospora caninum, é um parasita intracelular obrigatório, que infecta canídeos domésticos e selvagens, ruminantes e eqüídeos. Foi descrito em 1988, e a importância econômica da neosporose bovina é atribuída aos custos com aborto, ao valor dos fetos, a inseminação artificial e a cobertura, a diminuição da produção de leite, ao aumento do descarte e a reposição dos animais. No município de Corumbá - MS existem quatro assentamentos rurais (Mato Grande, Paiolzinho, Taquaral e Tamarineiro II), e utilizando uma associação de metodologias qualitativas em 37 entrevistas semi-estruturadas e dinâmicas grupais para análise participativa com produtores rurais de 657 animais, foram levantados problemas sanitários relacionados à produção e doenças do rebanho, bem como possíveis variáveis de risco para a presença da neosporose. Vários agentes mundialmente conhecidos por causarem perdas produtivas e reprodutivas em rebanhos bovinos, já foram detectados em fazendas próximas à região. Este trabalho avaliou em 394 amostras de soro de bovinos dos assentamentos de Corumbá, a presença de animais soropositivos para *N. caninum*, por reação de imunofluorescência indireta (RIFI), e a prevalência ponderada para a Neospora foi de 9,17%, variando de 4,96% a 13,38%. O levantamento de variáveis de risco para a Neospora investigadas nas entrevistas não indicou nenhum fator de risco para a doença.

Palavras-chave: Agricultura familiar, epidemiologia participativa, *Neospora caninum*, bovinos, imunofluorescência indireta, soroprevalência.

SURVEY EPIDEMIOLOGIST OF *Neospora caninum* IN BOVINES OF RURAL SETTLEMENTS IN CORUMBÁ-MS

Abstract

Neospora caninum, is an obligate intracellular parasite, can infect domestic and wild dogs, equines and ruminants. It was described in 1988, and the economic importance of bovine neosporosis is attributed to costs of abortion, the value of the fetuses, artificial insemination and coverage, the decrease in milk production, the increase in the disposal and replacement of animals. In the city of Corumbá - MS there are four rural settlements (Mato Grande, Paiolzinho, Taquaral and Tamarineiro II) and using a combination of qualitative methodologies in 37 semi-structured interviews and group dynamics for analysis with participatory rural producers of 657 animals were raised health problems related to production and disease of the herd, and possible variables of risk for the presence of neosporosis. Several agents worldwide known to cause losses in productive and reproductive cattle herds have been detected in farms close to the region. This study evaluated in 394 samples of bovine serum from the settlements of Corumbá, the presence of animals seropositive for *N. caninum*, reaction by indirect immunofluorescence (IFAT), and prevalence weighted for neospora was 9.17%, ranging from 4.96% to 13.38%. The survey of variables of risk to Neospora investigated in the interviews did not indicate any risk factor for the disease.

Key-words: Familiar agriculture, participatory epidemiology, *Neospora caninum*, bovine, indirect immunofluorescence, seroprevalence.

¹Unigran, Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Cidade Universitária, Campo Grande, MS 79070-900.

*Autor para correspondência. rony.mello@terra.com.br

² Embrapa Pantanal, Rua 21 de Setembro, 1880, CEP: 79320-900, Caixa Postal 109, Corumbá, MS.

³ Embrapa Gado de Corte, BR 262, km 4; CP 154, CEP: 79002-970, Campo Grande, MS.

⁴ AGRAER – CEPAER , Rodovia MS 080, Km 10, CEP: 79180-000, Campo Grande, MS.

Introdução

No município de Corumbá, MS, existem 4 assentamentos que totalizam 1.431 famílias. Essas famílias são pequenos produtores que desenvolvem atividades de agricultura e pecuária, utilizando mão de obra familiar. Pelo tipo de ocupação territorial e manejo empregado pelos agricultores, podemos destacar, do ponto de vista sanitário, a possibilidade de dispersão e de manutenção, pelos rebanhos dos assentamentos, de agentes patogênicos correlacionados a importantes perdas econômicas em bovinocultura.

Vários agentes mundialmente conhecidos por causarem perdas produtivas e reprodutivas em rebanhos bovinos, já foram detectados em fazendas próximas à região proposta para estudo: o vírus da rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR) (Herpesvirus Bovino tipo 1 – BoHV-1), o Vírus da Língua Azul (VLA), os agentes da tristeza parasitária bovina (*Anaplasma* sp. e *Babesia* sp), da leptospirose (*Leptospira interrogans*), entre outros (PELLEGRIN et al., 1999; TOMICH et al., 2004) . Nos estudos realizados por Tomich (2007), foram pesquisadas as prevalências dessas doenças em quatro assentamentos do município além de uma caracterização dos indicadores produtivos, e das modalidades de atenção à saúde, utilizando metodologias qualitativas e quantitativas de coleta de dados.

A importância econômica da neosporose bovina é atribuída principalmente aos custos associados ao aborto, ao valor dos fetos, a inseminação artificial ou a cobertura, a diminuição da produção de leite, ao aumento do descarte e a reposição dos animais. As perdas indiretas estão relacionadas com o estabelecimento do diagnóstico, falhas na estação de reprodução, aumento do período de lactação, possível perda na produção de leite e possíveis perdas por descarte de vacas positivas (ANDREOTTI et al., 2005).

Lindsay et al. (1999) e Gondim et al. (2004) demonstraram experimentalmente que cães e coiotes são os hospedeiros definitivos de *N. caninum*, eliminando oocisto do parasito nas fezes, que após esporularem são ingeridos por um hospedeiro intermediário, formando cistos teciduais (MCALLISTER et al., 1998). É alta a correlação entre a presença de cães soropositivos para *N. caninum* e a alta

soroprevalência do parasito (WOUDA et al., 1999). De acordo com Corbellini et al. (2006) para cada cão na propriedade a probabilidade de uma vaca ser soropositiva aumenta 1.13 vezes.

Brautigam et al., 1996, foi o pioneiro no Brasil a detectar anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos no Estado de Mato Grosso do Sul. Atualmente vários estudos em diferentes estados brasileiros têm encontrado rebanhos soropositivos, 11,2% no Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al., 2002) e 11,4% (VOGEL et al., 2006), 20,0% bovinos de corte e 35,5% em bovinos leiteiros em São Paulo (SARTOR et al., 2005), no Mato grosso do Sul de 43% no planalto e de 30% em novilhas no pantanal (ANDREOTTI et al., 2005), 14,9% no estrato I (OSHIRO et al., 2007), 8,8% em Rondônia (AGUIAR et al., 2005), em bovinos de corte de 29,6%, em bovinos de leite 30,4% e no rebanho de exploração mista de 43,3% em Goiás (MELO et al., 2006), em 14,4% no Paraná (GENNARI et al., 2005), de 10,4% na Bahia (JESUS et al., 2005), e Ragozo et al., (2003) encontraram 14,7% no Rio de Janeiro e 29,0% em Minas Gerais.

Este projeto vem complementar os estudos iniciais de avaliação sanitária dos rebanhos bovinos dos assentamentos rurais, pela inclusão de um levantamento epidemiológico de animais portadores de *Neospora caninum*, agente largamente implicado pela literatura em perdas reprodutivas como aborto e infertilidade e a investigação qualitativa de seus possíveis fatores de risco. Considerando-se a natureza e a organização social das comunidades estudadas foi utilizada uma associação de metodologias qualitativas como entrevistas semi-estruturadas e dinâmicas grupais com produtores para análise participativa de incidência sazonal de doenças e problemas que afetavam o rebanho bovino.

Pela reação de imunofluorescência indireta foi estimada a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 394 bovinos de assentamentos rurais nos municípios de Corumbá e analisados os prováveis fatores de risco associados a essa infecção.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

A área de estudo foi composta por quatro assentamentos da reforma agrária no município de Corumbá-MS: Paiolzinho, Taquaral, Tamarineiro e Mato-Grande (Fig 1).

Amostragem

Foi utilizado um desenho amostral do tipo conglomerado considerando-se cada lote um rebanho. A escolha recaiu sobre este desenho amostral pois é o recomendado pela literatura para levantamentos em que não há disponibilidade de um cadastro amostral preciso. O tamanho amostral foi calculado com o auxílio do software CSurvey para um nível de confiança de 95%, 10% de precisão e coeficiente de correlação intraconglomerado de 0,20, levando-se em consideração o melhor benefício-custo operacional.

O contato com as famílias escolhidas aleatoriamente para amostragem contou com o apoio das associações de produtores dos assentamentos. Os dados obtidos com a aplicação das entrevistas semi-estruturadas foram armazenados em um banco de dados, formatado por meio do programa Epi Info¹, abrangendo os campos de preenchimento dos formulários.

¹ Epi Info, Center for Disease Control e Prevention (CDC/WHO). [On line] URL: <http://www.cdc.gov/epiinfo>

Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

As amostras foram examinadas através da detecção de anticorpos usando a reação de imunofluorescência indireta (RIFI). O antígeno foi produzido após cultivo de taquizoítas de *N. caninum*, cepa NC-1 (DUBEY et al., 1988) em células Vero (LOCATELLI-DITRICH, 2002; OLIVEIRA et al., 2004). O conjugado comercial foi anti-IgG bovino (Sigma) e as amostras foram testadas na diluição de 1:50 (PARÉ et al., 1998). Em cada lâmina foram incluídos soros controle positivo e negativo.

Entrevistas semi-estruturadas

Foram conduzidas 37 entrevistas semi-estruturadas com o apoio de um roteiro que contemplava questões abertas e fechadas visando levantar problemas sanitários relacionados a produção e doenças do rebanho, bem como possíveis variáveis de risco para a presença da Neosporose.

Dinâmicas de grupo para levantamento de problemas sanitários e variáveis de risco para doenças da reprodução:

Foram realizadas 4 dinâmicas grupais, por meio de reuniões com produtores dos assentamentos Taquaral, Tamarineiro, Paiolzinho e Mato Grande, As reuniões tiveram a participação de, em média, 14 assentados por assentamento e contaram com a participação de um facilitador treinado e colaboradores que anotavam as informações levantadas. Não foram utilizados gravadores para não causar inibição nos participantes. Nas reuniões foi aplicada uma metodologia adaptada de Catley et al., (2002) visando realizar uma análise das incidências sazonais de doenças e problemas do rebanho, associada a matriz de escores onde para cada problema abordado/destacado pelo produtor o facilitador orientava a discussão para que o grupo apontasse os meses ou a época de maior frequência, visando também investigar variáveis de risco para problemas reprodutivos e dentro destes a Neosporose.

Durante a dinâmica não era repassada nenhuma informação sobre a exatidão ou correção das respostas e afirmativas dos produtores. O facilitador conduziu a dinâmica fazendo com que os produtores expusessem quais os tratamentos eram realizados

rotineiramente na propriedade nas diferentes épocas do ano e nas diferentes etapas do processo de produção (manejo alimentar, reprodutivo, cria, recria, etc...), ocasião em que, caso alguma informação se destacasse era melhor detalhada. As perguntas eram dirigidas a todos e caso houvesse alguma informação divergente de algum produtor os demais eram estimulados a participar das discussões ratificando ou não a exclusividade da informação. Dessa forma a maior parte das respostas obtidas no processo foram consensuais.

Análise estatística

Os cálculos de prevalência aparente de animais infectados e erro padrão foram estimados de acordo com Putt et al., 1987.

Para o cálculo da prevalência de animais, assumiu-se que a amostragem foi do tipo conglomerado, de acordo com Putt et al., 1987.

Para estudo dos fatores de risco associados à soropositividade para *Neospora caninum* nos rebanhos amostrados, foi realizada análise univariada por meio da estimativa intervalar da *odds ratio* (OR), executada com o auxílio do programa Win Episcope 2.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Prevalência da *Neospora caninum* em bovinos:

Foram coletadas 397 amostras de sangue de um total de 657 fêmeas bovinas dos quatro assentamentos de Corumbá, sendo encontrado 43 animais soropositivos para *Neospora caninum*. (Tabela 1)

Tabela 1. Número de amostras coletadas e número de animais positivos nos quatro assentamentos de Corumbá – MS.

Assentamento	Nº. Fêmeas	Nº. Amostras	Positivos	% positivos
Mato Grande	292	146	16	10,95
Paiolzinho	231	155	12	7,74
Tamarineiro II	84	62	12	19,35
Taquaral	50	29	3	10,34
TOTAL	657	392	43	

A Prevalência aparente simples de anticorpos para *Neospora caninum* e seus limites de IC (95%) foi estimada em 11,65%, variando de 6,44% a 11,90%. Considerando-se que foi utilizada a amostragem por conglomerado para a estimativa da prevalência, foi inserido um fator de ponderação que considerou o peso de cada animal positivo no total da amostra na estimativa da prevalência (DEAN, 1994).

A prevalência ponderada estimada foi de 9,17%, variando de 4,96% a 13,38%. Este resultado é próximo aos achados por Oshiro et al. (2007), que encontraram prevalência de 14,9% nos animais de 22 municípios do MS. A positividade foi de 12,23%, superior aos achados de Andreotti et al., (1999) que encontraram 7,7% de ocorrência no Estado; dados superiores aos deste trabalho foram obtidos por Andreotti et al. (2005), que encontraram 30% de novilhas soropositivas no pantanal.

O percentual de animais reagentes nos diferentes rebanhos variou de 2% a 67%, uma variação considerada elevada sendo que em treze rebanhos não foi encontrado nenhum animal reagente dentre os testados. O número médio de animais testados foi de 10,5, variando de 1 a 42.

As taxas de prevalência da neosporose em bovinos nas diferentes regiões do Brasil variaram de 7,6 a 30,13% (ALMEIDA, 2004). Foi encontrado o percentual de 11,2% (CORBELLINI et al., 2002) e 11,4% (VOGEL et al., 2006) no Rio Grande do Sul, em São Paulo de 20,0% em bovinos de corte e 35,5% em bovinos leiteiros (SARTOR et al., 2005), 8,8% em Rondônia (AGUIAR et al., 2005). Em Goiás MELO et. al. (2006) encontraram em bovinos de corte de 29,6%, em bovinos de leite 30,4% e no rebanho de exploração mista de 43,3%. No Paraná 14,4% (GENNARI et al., 2005),

de 10,4% na Bahia (JESUS et al., 2005), e Ragozo et al., (2003) encontraram 14,7% no Rio de Janeiro e 29,0% em Minas Gerais.

Essa diferença é decorrente do tipo de amostragem utilizada, como as provenientes de animais que sofreram abortamentos ou de uma amostragem simplesmente casualizada. A sensibilidade do método diagnóstico utilizado influencia também no índice de sororeatividade, exemplo desse fato é a constatação que o teste de ELISA detecta maior número de animais infectados que a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (SARTOR *et al.*, 2003). A ocorrência da neosporose pode variar com o tipo de exploração, manejo dos rebanhos e a presença de hospedeiros definitivos.

O presente trabalho demonstrou que 27/40 (N/n) rebanhos tem pelo menos um animal positivo para a *Neospora caninum*, embora as frequências individuais por rebanho sejam por vezes baixas. Tomich (2007) realizou um diagnóstico quantitativo em 73 rebanhos dos mesmos assentamentos, para detecção de anticorpos contra várias doenças que interferem no processo produtivo como leptospirose, BoHV-1 e Língua Azul. A percentagem média de rebanhos positivos para os agentes foi de 78,1% para BoHV-1, 80,8% para o vírus da Língua Azul e 68,5% para *Leptospira*. A alta prevalência de rebanhos positivos para esses agentes demonstra a disseminação de doenças reprodutivas nos rebanhos dos assentamentos.

A estimativa dos coeficientes de correlação dentro de fazendas (CCI) ou o efeito de desenho (D) para enfermidades infecciosas pode ser de interesse no desenho de pesquisas e para calcular fatores de inflação de variação para estimadores de prevalência em amostragens por conglomerados (SEGURA-CORREA; SOLORIO-RIVERA, 2006). A perda de precisão pelo uso deste tipo de amostragem, em lugar da amostragem aleatória simples é o chamado efeito de desenho (BENNETT *et al.*, 1991). Na prática significa que, caso a opção tivesse sido por uma amostragem aleatória simples esta deveria ser inflacionada pelo valor calculado para o efeito de desenho. Um efeito de desenho > 1 significa que o desenho amostral utilizado é menos preciso (maior erro padrão) que se a escolha tivesse recaído em uma amostragem aleatória simples.

A amostragem por conglomerados não atende a suposição de independência entre as observações, ou seja, que a presença ou ausência de doença em um animal

independe da presença ou ausência da mesma doença em outro animal do mesmo rebanho, devido ao fato que os animais em um mesmo rebanho estão submetidos a condições semelhantes de manejo e clima apresentando na maior parte das vezes também a mesma base genética. Isto faz com que as respostas (soropositividade) frente a uma enfermidade estejam correlacionadas e a resposta individual de cada animal não seja independente do rebanho ao qual pertence. Como resultado em uma amostragem por conglomerado, os resultados da infecção dentro de um rebanho tende a ser mais similares que os resultados encontrados em outro(s) rebanho(s) (SEGURA-CORREA; SOLORIO-RIVERA, 2006). O coeficiente de correlação intraconglomerado, portanto, reflete a variância existente entre os diferentes conglomerados. Doenças consideradamente infecciosas normalmente não alcançam prevalências individuais muito elevadas dentro dos rebanhos e tem valores de ρ_{oh} entre 0.08 e 0.12 (OTTE; GUMM, 1997). De acordo com Cameron (1999) em amostras realizadas em dois estágios (rebanhos e animais) em cada estágio existe uma variância. A dispersão de valores (ou condição) dentro de um rebanho é chamada variância intra-rebanho (no de animais com resultados positivos, por ex) e entre diferentes rebanhos chamada de entre-rebanhos. Na prática, quanto maior o ρ_{oh} maior deve ser o tamanho de amostra para rebanhos, pois significa que existe grande heterogeneidade com relação a variável que está sendo estudada (no caso prevalência de doenças).

Não foi estimada a prevalência real da infecção pela Neospora uma vez que não havia dados referentes a sensibilidade e especificidade do teste sorológico (IFI).

Levantamento de variáveis de risco:

Foram realizadas 37 entrevistas com produtores, para levantamento de variáveis de risco para doenças da reprodução em geral e para a Neosporose. “Vários autores têm demonstrado que os inquéritos de opinião aplicados a criadores, bem como trabalhadores em fazendas de criação, servem para detectar a realidade sanitária e

estrutura de produção pecuária de uma região, evidenciando através do diálogo o que o criador tem a propor para melhorar as condições de exploração de seu rebanho”.

A proximidade do rebanho com animais silvestres, principalmente lobinhos, informada por 22 respondentes não foi considerada um fator de risco para a ocorrência da Neospora, com valor de ODD=1,119 e IC (0,363 - 3,901), embora estes animais silvestres sejam hospedeiros definitivos do *N. caninum*.

Dos produtores entrevistados, 72,97% possuíam cães no lote, embora não tenha sido constatada a correlação entre os canídeos e a ocorrência da neosporose nestes rebanhos, isso tem sido amplamente relatado como fator de risco para a infecção pós-natal por neospora em bovinos (PARÉ, et. al., 1998), pois normalmente é alta a correlação entre a presença de cães soropositivos para *N. caninum* e a alta soroprevalência do parasito (WOUDA et al., 1999). De acordo com Corbellini et al., (2006) para cada cão na propriedade a probabilidade de uma vaca ser soropositiva aumenta 1.13 vezes. Além disso, os cães podem translocar fetos abortados e restos de placenta, que poderão servir de alimento a outros hospedeiros definitivos, como os lobinhos presentes na região.

Quanto ao descarte dos animais não há critérios definidos. Idade avançada foi citada como o principal critério para descarte de vacas, seguido por queda na produção de leite e vacas que “não pegam cria/vacas que falham”.

Os animais de reposição são oriundos principalmente de parcelas vizinhas dentro do próprio assentamento, além de fazendas próximas. Algumas citaram não comprar animais de reposição, apenas retirá-los do próprio rebanho. Os critérios utilizados para compra de animais de reposição mais citados foram características externas do animal, características produtivas dos pais e qualidade da raça. Saúde quando citada pelas famílias como critério de escolha de animais de reposição incluía principalmente vacinações e aparência de animal saudável (animal forte, robusto, etc.). A constante aquisição de animais soropositivos pode ser uma explicação para a frequência de infecção encontrada, bem como para a manutenção do agente de forma vertical no rebanho.

A produção de leite é a principal atividade econômica em mais de 90% das famílias entrevistadas. Rebanhos leiteiros mostram maior ocorrência de anticorpos anti-

N. caninum (26,2%) quando comparados aos de corte (19,19%) (RAGOZO *et al.*, 2003). Um estudo na Califórnia mostrou que novilhas soropositivas produzem aproximadamente 1 kilo a menos de leite por dia que os animais soronegativos e, que as vacas soropositivas foram descartadas 6 meses antes que as soronegativas (THURMOND; HIETALA, 1997). HERNANDEZ *et al.*, (2001) na Flórida realizaram um levantamento retrospectivo em que foi comparada a produção leiteira durante todo o período de lactação (305 d), demonstrando uma queda de 3 a 4% na produção, associando à exposição ao *N. caninum*. Os números também demonstram que uma queda na produção leiteira de 362,88 kilos por vaca em 305 dias de lactação, representou uma perda financeira de 128 dólares por vaca.

A falta de controle zootécnico dos animais dificulta a avaliação das variáveis de risco, quando inquiridos quanto ao número de vacas que abortaram, repetição de cio ou sobre retenção de placenta no período de um ano, os entrevistados não responderam ou não sabiam. Pela análise do resultado das entrevistas foi observado que os produtores conhecem poucas doenças que possam interferir nos índices reprodutivos de seu rebanho. De acordo com Tomich (2007), que analisou 237 entrevistas de produtores que responderam ao quesito saúde animal nos mesmos assentamentos, os principais problemas sanitários reconhecidos são em ordem de importância (frequência de respostas): infestação por carrapatos (68,8%); mosca-dos-chifres (45,6%); verminose (4,3); mastite (10,1%); além de diarreia, raiva e aborto com 5,4,3,9 e 3,8% das respostas, sendo que 16,5 % dos produtores relataram não possuir problemas sanitários no rebanho. Tomich (2007) considerou que as enfermidades mais frequentemente apontadas são aquelas mais aparentes, com sinais clínicos visíveis.

Informações obtidas sobre o uso de medicamentos como a placentina visavam elucidar questões como a inexistência de problemas como retenção de placenta. Considerando-se que o uso da placentina foi relatado por alguns produtores é compreensível que os relatos, por esses mesmos produtores de que retenção de placenta é pouco frequente. A maioria dos produtores também não demonstraram saber com exatidão o tempo que deve decorrer entre o parto e a expulsão completa da placenta, com exceção de alguns respondentes no assentamento Paiozinho. Tomich (2007)

salientou que alguns produtores citaram a ocorrência de retenção de placenta (3%) e aborto (3,8%) muitas vezes associando o aborto a problemas de falta de água e alimento concluindo que poucas famílias reconheciam o aborto e a retenção de placenta como possibilidade de problema de saúde. Prazos citados para intervenção: acima de 24 horas, acima de 28 horas, acima de uma semana. Das famílias entrevistadas, 3,4% (8/237) citaram fazer intervenção para a retirada de anexos fetais, demonstrando que, na prática esse é um problema.

Uma das perguntas que não houve consenso foi a que se referiu ao destino da placenta que foi inserida no rol de assuntos a serem investigados coletivamente com o objetivo de detectar este fator de risco para a Neospora. A maioria dos produtores disseram que normalmente a vaca mesmo é que ingere, mas quando foi feita a pergunta direta se os cães comiam ou não, um número reduzido respondeu afirmativamente, sendo de consenso que isto não era freqüente, pois normalmente a “vaca mesmo resolvia o problema” (reprodução da fala de um assentado). Estes dados reiteram a importância da presença de canídeos como fator de risco para ocorrência da Neospora. Wouda et al., (1999) analisaram amostras de soro sanguíneo de cães de fazenda e cães urbanos e encontraram 23,6% (36/152) de positivos oriundos de fazendas, enquanto os cães urbanos apresentaram soropositividade de 5,5% (19/344).

A pesquisa em produção e sanidade animal visando caracterizar sistemas, processos e levantar problemas utilizando métodos convencionais e participativos tem demonstrado uma boa sobreposição entre o conhecimento local e empírico e o conhecimento científico. Métodos participativos têm sido utilizados por veterinários na África desde os anos 80, podendo ser aplicados a comunidades rurais que, através deles expõe um conhecimento que seria difícil de ser repassado e analisado para o pesquisador caso fossem utilizados métodos convencionais como questionários (CATLEY et al., 2002).

Problemas reprodutivos no rebanho são geralmente de difícil percepção, a não ser em criações onde existe um controle zootécnico individual rígido dos animais. A repetição de cio e o aborto costumam passar despercebidos e são de diagnóstico complicado porque a natureza das variáveis envolvidas é múltipla, desde problemas nutricionais, o que foi apontado pela maioria dos produtores dos assentamentos rurais

pesquisados neste trabalho, passando por causas infecciosas e inadequação ou ausência de práticas de manejo sanitário/profilático e reprodutivo. Pelas questões levantadas nas dinâmicas de grupo sem nenhum tipo de indução aos participantes, os principais problemas da pecuária apontados são via de regra visíveis e, portanto claramente percebidos. Ao descreverem as práticas e o processo reprodutivo do rebanho a ocorrência de repetição de cio e de aborto pouco são declaradas, sendo evidenciadas principalmente eventos como nascimento de bezerros gêmeos, com má-formação, entre outros. Dessa forma, fica difícil ao produtor compreender a necessidade de controle de enfermidades as quais ele não percebe o seu efeito e, desta forma, não lhes categoriza como uma doença propriamente dita.

CONCLUSÃO

A prevalência ponderada estimada para a Neospora nos quatro assentamentos do município de Corumbá foi de 9,172%, variando de 4,96% a 13,38%.

O levantamento de variáveis de risco para a Neospora, investigadas em 37 entrevistas com produtores rurais proprietários de 657 bovinos não indicou nenhum fator de risco para a doença.

Os produtores não têm uma percepção das doenças da reprodução no rebanho, portanto programas de controle para a Neospora devem ser elaborado de forma conjunta a outras doenças da reprodução e devem ser construídos de forma participativa para a efetiva apropriação dos conhecimentos e tecnologias pelo produtor.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; CAÑÓN-FRANCO, W.A.; RODRIGUES, A.A.R.; CHIEBAO, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; GENNARI, S.M. Prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos, ovinos e cães da Amazônia Ocidental Brasileira, Estado de Rondônia. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...*São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005. p.31.

ALMEIDA, M.A.O. Epidemiologia de *Neospora caninum*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v. 13, supl. 1, p.37-40, 2004.

ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, P.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 American Veterinary Medical Association*. v.198, p.241- 244. 1991.

ANDERSON, M.L.; FEYNOLDS, 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 Association*, v. 210, p.1169-1172, 1997.

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

ANDERSON, M.L.; ADRIANARIVO, A.G.; CONRAD, P. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, v. 60-61, n.1, p. 417-431, 2000.

ANDREOTTI, R., PINCKNEY, R.; GOMES, A. Diagnóstico sorológico de um rebanho bovino de corte de Mato Grosso do Sul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11. 1999, Salvador. 1999. *Anais...* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 226.

ANDREOTTI, R.; PAIVA, F.; LIMA-JUNIOR, M.S.C.; CAETANO, A.; MATOS, M.F.C. Clonagem e expressão da porção C-terminal do antígeno de superfície NC-43 de *Neospora caninum* e sua identidade com anticorpos de bovinos no estado de Mato Grosso do Sul. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...*São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005, p.21.

ANDREOTTI, R.; OLIVEIRA, J.M.; SILVA, E.A.; OSHIRO, L.M.; MATOS, M.F.C. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.135, p.375-379, 2006.

ANDRIANARIVO, A.G.; BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; ROWE, J.D.; PACKHAM, A.E.; SVERLOW, K.W.; CONRAD, P.A. Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. *Parasitology Research*, n.87, p.817-825.2001.

ARMITAGE, P.; BERRY, G. Statistical methods in medical research. London: *Blackwell Science*, 620p,1994..

ATKINSON, R.A.; COOK, R.W.; REDDACLIFF, L.A.; ROTHWELL, J.; BROADY, K.W.; HARPER, P.; ELLIS, J.P. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection following an abortion outbreak in a dairy cattle herd. *Australian Veterinary Journal*, v. 78, p.262-266. 2000.

BAILLARGEON, P.; FECTEAU, G.; PARÉ, J.; LAMOTHE, P.; SAUVE, 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 American Veterinary Medical Association*, v.218, n. 11, p.1803-1806. 2001.

BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A. Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Veterinary Pathology*. v. 28, p. 110-116, 1991.

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.

BASZLER, T.; MARK, J.; BJÖRKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *International Journal of Parasitology*, v. 32, p. 631-636, 2002.

BENNETT, S.; WOODS, T.; LIYANAGE, W.M.; SMITH, D.L.; A simplified general method for cluster-sampling surveys of health in developing countries. *World Health Stat. Quart.* 44: 98-106, 1991.

BERGERON, N.; FECTEAU, G.; VILLENEUVE, A.; GIRARD, C; PARÉ, J. Failure of dogs to shed oocysts after being fed bovine fetuses naturally infected by *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*. v.97, n. 2, p.145-152. 2001.

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

BJERKAS, I.; PRESTUS, J. The neuropathology in toxoplasmosis-like infection caused by a newly recognized cyst-forming sporozoan in dogs. *Pathologica, Microbiológica et Immunologica Scandinavica*, v. 32, p. 459-468, 1989

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

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

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

BRAUTINGAM, F.E.; HIETALA, S.K.; GLASS, R. Resultados de levantamentos sorológicos para espécie Neospora em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande. *Anais...Campo Grande: PANVET*, 1996, p. 284.

BUXTON, D.; MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitology*, v.18, n. 12, p. 546-552, 2002.

CAMERON, P. J. Permutation Groups. Mathematical Society. Student texts 45. 1999, 213p.

CANON-FRANCO, W.A.; BERGAMACHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.; SOUZA, S.L; SILVA, J.C. PINTER, A.; DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of antibodies to Neospora caninum in dogs from Amazon, Brasil. *Veterinary Parasitology*, v.115, n.1, p.71-74. 2003.

CANTILE, C.; ARISPICI, M. Necrotizing cerebellitis due to *Neospora caninum* infection in a old dog. *Journal of Veterinary Medicine*, v.49, n.1, p.47-50. 2002.

CONRAD, P. A.; SVERLOW, P.; ANDERSON, M.; ROWE, J.; BONDURANT,R.; TUTER, G.; BREITMEYER, R.; PALMER, C.; THURMOND, M.; ARDANS, A. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. v.5, p.572-578, 1993.

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, n.3, p.195-202, 2002.

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

DANNATT, L.; GUY, F.; TREES, A.J. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. *Veterinary Record*. v.137, p.566-567, 1995.

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

DEAN, A. G. EpiInfo version 6: a word-processing, database, and statistic program for public health on IBM-compatible microcomputers. *Atlanta: Center for Diseases Control and Prevention*, 1994. 601 p.

DE SOUZA, S.L.P.; GUIMARAES, J.S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J.P.; DENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from cattle farms in Paraná. *The Journal of Parasitology*, v.88, n.2, p.408-409. 2002.

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

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

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

DUBEY, J.P.; HATEL, A.L.; LINDSAY, D.L.; 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, n.10, p.1259-1263, 1988b.

DUBEY, J.P.; HARTLEY, W.J.; LINDSAY, D.L.; TOPPER, M.J. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *Journal Parasitology*. V. 76, p. 127-130, 1990.

DUBEY, J.P. Toxoplasma, *Neospora*, Sarcocystis, and other tissue cyst-forming coccidia of human and animals. In: Kreir JP, editor. *Parasitic Protozoa*, v. 6,1-158, 1993.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 67, n1-2, p.1-59, 1996.

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

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. *Parasitology Research*. v.86, n.2, p.165-168, 2000.

DUBEY, J.P.; BARR, B.C.; BARTA, IR.; BJERKAS, I.; BJORIÜVIAN, C.; BLAGBURN, B.L.; BOW, D.D.; BUXTON, D.; ELLIS, J.T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; IML, D.E.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A.E.; MATTSSON, J.G.; McALLISTER, M.M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L.D.; SPEER, C.A.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; UPTON, S.J.; WILLIAMS, D.J.L.; LINDSAY, D.S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International Journal for Parasitology*, v.32, n.8, p.929-946, 2002.

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

DUBEY, J.P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. The pathogenesis of bovine neosporosis. *Journal of Comparative Pathology*. V. 134, p. 267-289, 2006.

ELLIS, J.T. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *International Journal for Parasitology*. v.28, n. 7, p.1053-1060, 1998.

ELLIS, J.T.; MCMILLAN, D.; RYCE, C.; PAYNE, S.; ATKINSON, R.; HARPER, D.P.A. Development of a single tube nested polymerase chain reaction assay for the detection of *Neospora caninum* DNA. *International Journal for Parasitology*, v.29, n.10, p.1589-1596, 1999.

ENTRICAN, G. Immune regulation during pregnancy and host pathogen interactions in infectious abortion. *Journal of Comparative Pathology*, v. 126, p. 79-94, 2002.

FIORETTI, D.P.; PASQUAI, P.; DIAFERIA, M.; MANGILI, V.; ROSIGNOLI, L. Neospora caninum infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. *Journal of Veterinary Medicine B*, v. 50, p. 399-404, 2003.

GENNARI, S.M.; YAI, L.E.; D'AURIA, S.N.; CARDOSO, S.M.; KWOK, O.C.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Occurrence of Neospora caninum antibodies in sera from dogs of the city of Sao Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.106, n.2, p.177-179. 2002.

GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L. ; GUIMARÃES, J.S.; BERGAMASCHI, D.P. Anticorpos anti- Neospora caninum em cães e bovinos de propriedades rurais produtoras de leite tipo B da região norte do Estado do Paraná: Estudo da prevalência e de fatores de risco. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE Neospora caninum, 1, 2005, São Paulo. *Anais...São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 2005, p.57.

GONDIM, L.F.P; SATOR, I.F. Detecção de anticorpos contra Neospora caninum em vacas leiteiras numa propriedade com histórico de aborto. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 10, 1997, Itapema. *Anais...Itapema: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 1997. p.36.

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

GONDIM, L.F.; PINHEIRO, A.M.; SANTOS, P.O.M.; JESUS, E.E.V.; RIBEIRO, M.B.; FERNANDES, H.S.; ALMEIDA, M.A.O.; FREIRE, S.M.; MEYER, R.; McALLISTER, M.M. Isolation of Neospora caninum from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Veterinary Parasitology*, v.101, n.1, p.1-7, 2001.

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*, v.34, n. 2, p.159-161, 2004.

GONDIM, L.F. *Neospora caninum* in wildlife. *Trends in parasitology*. v. 22, n. 6, p. 247-252, 2006.

GUIMARÃES, 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 north of Paraná state, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.124, n.1-2, p.1-8, 2004.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B. Identification of a major surface protein on *Neospora caninum* tachyzoites. *Parasitology Research*, v. 82, n.6, 497-504,1996.

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, n. 5, p. 632-635, 2001.

HO, M.S.; BARR, B.C.; ROWE, J.B.; ANDERSON, M.L.; SVERLOW, K.W.; PACKHAM, A.; MARSH, A.E.; CONRAD, P.A. Detection of *Neospora* sp. from infected bovine tissues by PCR and probe hybridization. *Journal Parasitology*. v.83, p.508-514, 1997.

HOLMDAHL, O.J.; MATTSSON, J.G. Rapid and sensitive identification of *Neospora caninum* by in vitro amplification of the internal transcribed spacer 1. *Parasitology* v.112 (Pt 2)p.177-182, 1996.

INNES, E.A.; PANTON, W.R.; MARKS, J.; TREES, A.J; HOLDMDHAL, J.; BUXTON, D. Interferon gamma inhibits the intracellular multiplication of *Neospora*

caninum, as shown by incorporation of 3H uracil. *Journal of Comparative Pathology*, v.113, n.1, p.95-100, 1995.

INNES, E.A.; WRIGHT, S.E.; MALEY, S.; RAE, A.; SCHOCK, A.; KIRVAR, E.; BARTLEY, P.; HAMILTON, C.; CAREY, I. M.; BUXTON, D. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*. v.13, p.1523-1534, 2001.

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

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

JENKINS, M.C.; CAVER, J.A.; BJÖRKMAN, 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.; UZÊDA, R.S.; OTERO, A.R.S.; PINHEIRO, A.M.; ALMEIDA, M.A.O. Inquérito soropidemiológico do *Neospora caninum* em bovinos criados na região semi-árida do Estado da Bahia. In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...*São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p.67, 2005.

JUNIOR, J.S.G.; ROMANELLI, P.R. Neosporose em animais domésticos. *Semina: Ciências Agrárias*, v.27, n.4, p.665-678, 2006.

LARSON, R.L.; HARDIN, D.K.; PIERCE, V.L. Economic considerations for diagnostic and control options for *Neospora caninum*-induced abortions in endemically infected herds of beef cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.224,n.10, p.1597-1604. 2004.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. In vitro development of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) from dogs. *Journal Parasitology*.v. 75, p.163-165, 1989.

LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B.L.; DUBEY, J.P. Factors affecting the survival of *Neospora caninum* bradyzoites in murine tissues. *Journal Parasitology*. v.78, p.70-72, 1992.

LINDSAY, D. S.; SPEER, C.A.; TOIVIO-KINNUCAN, M.A.; DUBEY, J.P.; BLAGBURN, B.L. Use of infected cultured cells to compare ultrastructural features of *Neospora caninum* from dogs and *Toxoplasma gondii*. *American Journal Veterinary Research*. v.54, p.103-106, 1993.

LINDSAY, D. S.; KELLY, E.J.; MCKOWN, R.D.; 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.

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

LINDSAY, D.S.; UPTON, S.J.; DUBEY, J.P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *International Journal for Parasitology*. v.29, n.10, p.1521-1523, 1999b.

LOCATELLI-DITTRICH, R. *Diagnóstico sorológico, isolamento, cultivo e caracterização molecular de neospora caninum em bovinos leiteiros e em eqüinos no*

Estado do Paraná, Brasil. 2002. 184 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

MARSH, A.E.; BARR, B.C.; PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: sarcocystidae). *The Journal of Parasitology*, Lawrence, v.84, n.5, p.983-991. 1998.

MARTIN S.W., MEEK A.H., WILLEBERG P. *Veterinary Epidemiology: Principles and methods*. Iowa State University: Press 1987, 343p.

MARTIN S.W., SHOUKRI M., THORBURN M.A. Evaluating the health status of herds based on tests applied to individuals. *Preventive Veterinary Medical*, v.14, n.1, p. 33-43, 1992.

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 of Small Animals Practice*. V. 32, p. 609-612, 1991.

MCALLISTER, M.M., DUBEY, J.P., LINSLEY, D.S. Dogs are the definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal Parasitology*, v.28, n.8, p.1473-1478, 1998.

MCALLISTER, M.M.; BUXTON, D.; DUBEY, J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends in Parasitology*. v. 18, n.12, p. 546-551, 2002.

LUIZ, R.R & MAGNANINI, M.M.F. O tamanho da amostra em investigações epidemiológicas. In: MEDRONHO, A. R., CARVALHO, D. M., BLOCH, K. V., LUIZ, R. R. WERNECK, G. L. Editora Atheneu, 2002. 493pp.

MELO, C.B.; LEITE, R.C. *Neospora caninum* em Minas Gerais: dados preliminares. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 11, 1999, Salvador. *Anais...Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 1999.

MELO, D.P.G.; DA SILVA, A.C.; ORTEGA-MORA, L. M.; BASTOS, S.A.; BOAVENTURA, C.M. Prevalência de anticorpos anti-Neospora caninum em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. v.15, n3, p. 105-109, 2006.

NAGULESWARAN, A.; CANNAS, A.; KELLER, N.; VONLAUFEN, N.; BJÖRKMAN, C.; HEMPHILL, A. Vero cell surface proteoglycan interaction with the microneme protein NcMIC₃ mediates adhesion of Neospora caninum tachyzoites to host cells unlike that in Toxoplasma gondii. *International Journal for Parasitology*. v.32, n.6, p.695-704, 2002.

NIETFELD, J.C.; DUBEY, J.P.; ANDERSON, M.L.; LIBAL, M.C.; YAEGER, M.J.; NEIGER, R.G. Neospora-like protozoan infection as a cause of abortion in dairy cattle. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. v.4, p.223-226. 1992.

NOORDHUIZEN, J.,P.T.M.; FRANKENA, K.; VAN DER HOOFF, C.M.; GRAAF, E.A.M., Application of quantitative methods in veterinary epidemiology. *Wageningen Pers*, 1997. 445p.

OLIVEIRA, I.C.S. *Representações e práticas de produtores rurais sobre saúde-doença, com ênfase na verminose em bovinos de leite, Pedro Leopoldo, Minas Gerais*. 1999. 62p. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais - Belo Horizonte, 2000.

OLIVEIRA, J.M.; MATOS, M.F.C.; OSHIRO, L. M.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-Neospora caninum antibodies in dogs in the urban area of Campo Grande, MS, Brazil. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*. v.13, n.4, p.155-158. 2004.

OLIVEIRA, V.S.F.; FERNANDES, P.R.; MELO, D.P.G.; GUIMARÃES, M.S.; FILHO, B.D.O.; SILVA, A.C. Neosporose bovina – Revisão. *Revista CFMV- Brasília*, Ano XIII, n.42, 2007.

OSHIRO, L.M.; MATOS, M.F.C.; OLIVEIRA, J.M.; MONTEIRO, L.A.R.C.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-neospora caninum antibodies in cattle from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.16, n.3, p.133-138, 2007.

OTTE, M.J. & GUMM, I.D. Intracluster correlation coefficient of 20 infections calculated from the results of cluster-sample surveys. *Preventive Veterinary Medicine*, v.31, p.147-150, 1997.

PAIVA, F; ANDREOTTI, R; PIACENTI, A. K. ; BORGHESAN, T.C. Prevalência de Neospora caninum em cães na cidade de Campo Grande, MS. In: FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, 1, 2005, São Paulo. *Anais...*São Paulo: CBPV, 2005. p.43

PARÉ, J.; HIETALA, S.K; THURMOND, M. C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of Neospora spp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Investigation*. v. 7, p. 273-275, 1995.

PARÉ, J.; THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Congenital Neospora caninum infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. *Canadian Journal Veterinary Research*. v.60, p.133-139.1996.

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

PELLEGRIN, A.O.; GUIMARÃES, P. H.S.; SERENO, J.R.B.; FIGUEIREDO, J.F.; LAGE, A.P.; MOREIRA, E.C.; LEITE, R.C. Prevalência da leptospirose em bovinos do Pantanal Mato-Grossense. Corumbá: Embrapa Pantanal, 1999, 9p. (Embrapa Pantanal. Comunicado Técnico, 22).

PEREIRA, M.J.S. *Saúde animal na produção familiar: uma abordagem epidemiológica qualitativa e quantitativa*. 1998. 106p. Tese (Doutorado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1998.

PUTT, S.N.H.; SHAW, P.M.; WOODS, A.J. *Veterinary epidemiology and economics in Africa*. *University of Reading, Reading, UK*, 1987, 130p.

QUINN, H.E.; ELLIS, J.T.; SMITH, N.C. *Neospora caninum: A cause of immune-mediated failure of pregnancy?* *Trends Parasitology*. v.18, p.391-394, 2002.

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

RIET-CORREA, F.; SCHILD, A.L.; LEMOS, R.A.A.; BORGES, J.R.J. *Neosporose. Doenças de ruminantes e eqüídeos*, Santa Maria. Palloti. 2007. 694p.

ROCHA, C.M.B.M. *Caracterização da percepção dos produtores do município de Divinópolis/MG sobre a importância do carrapato *Boophilus microplus* e fatores determinantes das formas de combate utilizadas*. 1996. 205p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.

ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J.P. *Indirect agglutination test for serologic diagnosis of Neospora caninum infection*. *Parasitology Research*, v.84, p.50-53. 1998.

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

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

SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BÄRWALD, A.; CONRATHS, F.J. The efficiency of fertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analyzed by serological techniques. *Veterinary Parasitology*. v. 80, p. 87-98, 1998

SEGURA-CORREA, J.C.; SOLORIO-RIVERA, J.L. Coeficientes de correlación dentro de hatos y efectos de diseño para seropositividad a brucelosis, diarrea viral bovina y rinotraqueítis infecciosa bovina de hatos lecheros. *INCI*, vol.31, no.12, p.885-887. ISSN 0378-1844, 2006.

SHIVAPRASAD, H.L.; ELY, R.; DUBEY, J.P. *Neospora*-like protozoan found in na aborted bovine placenta. *Veterinary Parasitology*, v.34, n.1-2, p.145-148, 1989.

STOBBE, N.S.; CORTEZ, J.A. Estudo interativo entre a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* e a ocorrência de abortamentos em bovinos no noroeste do estado de São Paulo, Brasil. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 11, 1999, Salvador. Anais... Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999.p.226.

THILSTED, J.P.; DUBEY, J.P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*. v.1, p.205-209, 1989.

THORNTON, R.N.; GAJADHAR, A.; EVANS, J. *Neospora* abortion epidemic in a dairy herd. *New Zealand Veterinary Journal*. v. 42, p. 190-191, 1994.

THURMOND, M.; HIETALA, S K. Strategies to control neospora infection in cattle. *The bovine practitioner*. v.4, p.29-32, 1995.

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

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

TOMICH, R.G.P.; BOMFIM, M.R.Q.; PELLEGRIN, A.O.; FELIX, D.F.; DIAS, C.M.R.; KOURY, M.C.; BARBOSA-STANCIOLI, E.F. Frequência de bovinos positivos para *Leptospira* sp em fazendas de gado de corte localizadas em Corumbá, MS. Simpósio sobre Recursos Naturais e Sócio-econômicos do Pantanal, 4, 2004. *Anais ...*, Corumbá: SIMPAN, Sustentabilidade Regional, 2004.

TOMICH, R.G.P.. *Processo saúde-doença de bovinos em rebanhos de assentamentos rurais do município de Corumbá, MS – Brasil*. 186p. 2007. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

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, n.8, p.1195-1200, 1999.

UGLLA, A.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O.J.M.; JAKUBEK, E.B.; THEBO, P.; KINDAHL, H.; BJÖRKMAN, C. Oral Neospora caninum inoculation of neonatal calves. *International Journal for Parasitology*, v. 28, n.9, p.1467-1472, 1998.

VIANNA, M.C.B.; SREEKUMAR, C.; MISKA, D.E.; HILL, D.E.; DUBEY, J.P. Isolation of Neospora caninum from naturally infected white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *Veterinary Parasitology*. v. 129, p. 253 – 257, 2005.

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

WOUDA, W.; BRINKHOF, J.; VAN MAANEN, C.; DE GEE, A.L.; MOEN, A.R. Serodiagnosis of neosporosis in individual cows and dairy herds: A comparative study of three enzyme-linked immunosorbent assays. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunological*. v.5, p.711-716, 1998.

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

YAMANE, I.; SHIBAHARA, T.; KOKUHO, T.; SHIMURA, K.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; CONRAD, P.A.; PARK, C.H.; SAWADA, M.; UMEMURA, T. An improved isolation technique for bovine Neospora species. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation*, v.10, p.364-368, 1998.