

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

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI – *Neospora caninum* EM
REBANHOS BOVINOS DE UM ESTRATO DO MATO GROSSO DO SUL,
BRASIL**

**PREVALENCE OF ANTI- *Neospora caninum* ANTIBODIES IN CATTLE
HERDS IN AN EXTRACT OF MATO GROSSO DO SUL, STATE, BRAZIL.**

Leandra Marla Oshiro

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2006

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

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI – *Neospora caninum* EM
REBANHOS BOVINOS DE UM ESTRATO DO MATO GROSSO DO SUL,
BRASIL.**

Leandra Marla Oshiro

Profa. Dra. Maria de Fatima Cepa Matos

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

CAMPO GRANDE
MATO GROSSO DO SUL – BRASIL
2006

Dedico este trabalho

A minha filha Arissa,
Aos meus pais Armando e Ivone,
Aos meus irmãos Alexandre, Aléssio e Karla,
pelo apoio, incentivo e compreensão.

“Saber-se amado dá mais força do que se saber forte”

Goethe, escritor alemão.

*“Quando a vida cria uma situação,
é porque estamos maduros para enfrentá-la.”
(autor desconhecido)*

AGRADECIMENTOS

A *DEUS* e a *Meus antepassados*, por iluminarem meu caminho e minhas decisões.

Aos meus pais, *Armando e Ivone*, pela educação, amor, incentivo e, principalmente pela ajuda imprescindível.

À minha filha *Arissa*, pela compreensão das minhas ausências.

À minha orientadora Professora Dra. *Maria de Fatima Cepa Matos*, professora do Departamento de Farmácia-Bioquímica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelos ensinamentos e apoio ao desenvolvimento das etapas deste trabalho e, especialmente pela sua orientação valiosa, dedicação e confiança depositada.

Ao pesquisador e professor Dr. *Renato Andreotti e Silva*, da Embrapa Gado de Corte, pelos ensinamentos, dedicação e oportunidade.

A professora Dra. *Maria da Graça Moraes*, coordenadora do Programa Mestrado em Saúde Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo empenho e dedicação.

À Profa. Dra. *Joice Stein*, professora do Departamento de Morfofisiologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, por disponibilizar o Laboratório de Biofisiofarmacologia, para a realização do cultivo celular.

À médica veterinária *Jacqueline Marques de Oliveira*, pelo companheirismo e colaboração imprescindível.

Ao biólogo *Manoel Sebastião da Costa Lima Junior*, pela amizade, companheirismo e colaboração.

À médica veterinária *Letícia Almeida Retumba Carneiro Monteiro*, *Aline de Oliveira Figueiredo* e Prof^a.Dra. *Ana Luíza Alves Rosa Osório*, pelo companheirismo e colaboração no trabalho.

À médica veterinária *Kelly Noda Gonçalves* pela amizade e apoio neste trabalho.

As estudantes *Patrícia Midori Oguma e Evelyn Cristina da Silva Santos* de graduação de Farmácia-Bioquímica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo apoio durante a etapa do cultivo celular.

À *Regina Rocha de Oliveira*, auxiliar do Laboratório de Hematologia do Departamento de Farmácia-Bioquímica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo apoio.

Ao *Marcio Saravi de Lima*, auxiliar do Laboratório de Biofisiofarmacologia do Departamento de Morfofisiologia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pelo apoio.

À *Jaqueline Cavalcante Barros*, técnica de laboratório de biologia molecular da EMBRAPA – Gado de Corte, pela colaboração e apoio.

À *Marilete Otaño Peixoto Ferencz*, secretária do Programa Mestrado em Ciência Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, pela eficiência e prestatividade.

Aos *amigos* do Laboratório de Diagnóstico de Doenças Animais (LADDAN) da Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal (IAGRO), pelo apoio durante o desenvolvimento deste trabalho.

À IAGRO e a FUNDECT/MS, pelo suporte na realização deste trabalho e financiamento do projeto.

Aos amigos da quarta turma de mestrado em Ciência Animal da UFMS, pela união frente às dificuldades.

LEANDRA MARLA OSHIRO

“Prevalência de anticorpos anti -*Neospora caninum* em rebanhos bovinos de um estrato do estado de Mato Grosso do Sul”.

Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle herds in an extract of Mato Grosso do Sul state, Brazil.

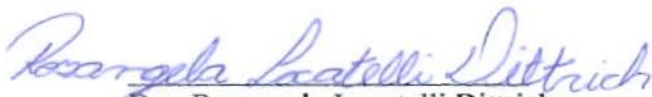
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal para obtenção do título de Mestre.

Área de concentração: Saúde Animal

APROVADA: 11/12/2006



Dra. Maria de Fátima Cepa Matos
Orientadora



Dra. Rosangela Locatelli Dittrich



Dr. Renato Andreotti e Silva

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Coordenadoria de Biblioteca Central – UFMS, Campo Grande, MS, Brasil)

O82p Oshiro, Leandra Marla.
Prevalência de anticorpos anti - Neospora caninum em rebanhos
bovinos de um estrato do Mato Grosso do Sul, Brasil / Leandra Marla
Oshiro. -- Campo Grande, MS, 2006.
52 f. ; 30 cm.

Orientador: Maria de Fatima Cepa Matos.
Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

1. Bovino - Parasito. 2. Neospora caninum. I. Matos, Maria de Fatima
Cepa. II. Título.

CDD (22) – 636.2089696

SUMÁRIO

	Página
1. Introdução.....	04
1.1 Classificação e etiologia	05
1.2 Biologia de <i>Neospora caninum</i>	06
1.3 Ciclo biológico.....	07
1.4 Epidemiologia.....	08
1.5 Transmissão de <i>Neospora caninum</i>	09
1.6 Patogenia da neosporose.....	11
1.7 Resposta imune.....	12
1.8 Sinais clínicos.....	14
1.9 Diagnóstico.....	15
1.10 Medidas de controle.....	18
1.11 Importância econômica.....	19
1.12 Importância em saúde pública.....	19
1.13 Perspectivas.....	19
2. Referências.....	20
3. Anexo.....	33

1. Introdução

O protozoário *Neospora* sp é um parasita intracelular obrigatório do grupo dos Apicomplexa, observado pela primeira vez por Bjerkas et al. (1984) na Noruega em tecidos de filhotes de cães com uma encefalopatia mortal. Duas espécies são descritas no gênero *Neospora*: *Neospora caninum* (DUBEY, 1988a) e *Neospora hughesi* (MARSH et al., 1998). Antes de 1988 era confundido com *Toxoplasma gondii* por apresentar semelhanças biológicas e estruturais, entretanto estes dois parasitas são antigênicamente diferentes (DUBEY et al., 1988b).

Neosporose clínica tem sido descrita em pequenos ruminantes domésticos e selvagens (ovelha, cabra, veado) e eqüinos e anticorpos para *Neospora caninum* tem sido encontrado em soro de búfalos, raposas, coiotes, camelos e felinos (DUBEY, 2003).

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

Neospora caninum é considerado um dos mais importantes agentes causadores de abortamento em bovinos em muitos países e, além disso, pode causar nascimentos imaturos e mortalidade neonatal, causando vários prejuízos tanto na produção leiteira como na de carne (DUBEY, 2003).

O primeiro relato de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos no Brasil, foi feito no Estado de 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., 1999a).

A presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* tem sido relatada em vários estados, indicando que a neosporose possui ampla distribuição geográfica, independente das diferenças ecofisiográficas. No Estado de Mato Grosso do Sul, em exames sorológicos com amostras de sangue de bovinos, Andreotti et al. (1999), encontraram a ocorrência de 7,7% (7/91). Considerando-se que o Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil, possui um dos maiores rebanhos bovinos do Brasil, com 24,9 milhões de cabeças (IAGRO/MS, 2003) e devido a inexistência de informações dos fatores de risco

associados à neosporose no estado, é objetivo do presente estudo estimar, pela reação de imunofluorescência indireta, a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos nos 22 municípios que compõem a região denominada Estrato 1 do Estado de Mato Grosso do Sul e realizar uma avaliação inicial dos prováveis fatores de risco associados a essa infecção.

1.1 Classificação e etiologia

Neospora caninum é um protozoário parasita do filo Apicomplexa, classe Sporozoea, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae (DUBEY; LINDSAY, 1996). Duas espécies são descritas no gênero *Neospora*: *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988a) e *Neospora hughesi* (MARSH et al., 1998). *Neospora caninum* é morfologicamente similar a outros protozoários do grupo dos Apicomplexa que provocam doenças sistêmicas em muitos animais como: *Toxoplasma gondii*, *Hammondia heydorni*, *Isospora* spp, *Sarcocystis neurona* e *Sarcocystis canis* (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 antigênicamente diferentes (DUBEY et al., 1988b). Neste trabalho, o protozoário foi isolado em cultivo celular, camundongos e em cães inoculados com tecidos infectados. As principais lesões observadas nos cães foram 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; THURMOND et al., 1997; GONDIM et al., 1999a; HEMPHILL et al., 2000).

1.2 Biologia de *Neospora caninum*

No ciclo biológico do *Neospora caninum* existem 03 estágios: os taquizoítas, os cistos com os bradizoítas (cistos teciduais) e os oocistos.

Os taquizoítas podem ter formas ovóide, lunar ou globular e medem de 3 - 7 x 1- a 5 µm, dependendo do estágio de divisão; taquizoítas que não estão em divisão medem 7x2 µm. Eles podem estar presentes em muitos tipos de células e cada uma dessas células pode ter muitos taquizoítas. A penetração na célula hospedeira ocorre por meio de invasão ativa, podendo começar após cinco minutos de contato com a célula. Os taquizoítas normalmente localizam-se no citoplasma da célula, formando um vacúolo parasitário, podendo haver mais que um vacúolo por célula (DUBEY et al., 2002).

Os cistos teciduais são freqüentemente ovais, com diâmetro de até 107 µm e foram observados em tecidos neurais, como cérebro, medula espinhal, nervos e retina (DUBEY et al., 1988b). Também já foi descrita a ocorrência de um cisto tecidual na musculatura ocular de um potro (LINDSAY et al., 1996). A maioria dos cistos teciduais apresenta parede variando de 1 a 2 µm de espessura, podendo medir até 4 µm, o que provavelmente está relacionado com o tempo de infecção. No interior desses cistos são encontrados os bradizoítas, que são delgados, medindo 6-8 x 1-1,8 µm e apresentam as mesmas organelas encontradas nos taquizoítas, exceto pela quantidade de roptrias (organelas que atuam provavelmente facilitando a penetração do parasita na célula hospedeira) que é menor nos bradizoítas (BJERKAS; DUBEY, 1991).

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).

1.3 Ciclo biológico

Neospora caninum possui vários hospedeiros intermediários tanto animais domésticos quanto silvestres, e já foram relatados o cão, bovino, ovelha, cabra, eqüinos, búfalos dentre outros e em animais silvestres tem sido detectado em veado, antílope, dentre outros (DUBEY, 2003). Além desses, o rato doméstico (*Rattus norvegicus*) (HUANG et al., 2004), raposa (*Vulpes vulpes*) (ALMERÍA et al., 2002) e guaxinim (*Procyon lotor*) (LEMBERGER et al., 2005) também são considerados hospedeiros intermediários. Algumas infecções experimentais já foram induzidas em camundongos, ratos, cães, raposas, caprinos, gatos, ovinos, coiotes, suínos, gerbils, coelhos e bovinos (MCALLISTER et al., 2002).

O hospedeiro definitivo de *Neospora caninum* foi descoberto por McAllister 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 que esporulam após o período de 24 hs (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).

Em relação ao hospedeiro intermediário, esses se infectam por meio da via transplacentária ou por transmissão horizontal através da ingestão de alimentos ou água contaminada com oocisto de *Neospora caninum* ou pela ingestão de cistos teciduais (DUBEY, 2003).

Os taquizoítas e os cistos teciduais com bradizoítas são as formas assexuadas da infecção que se encontram no hospedeiro intermediário. Os taquizoítas são responsáveis

pela fase aguda, multiplica-se por endogenia em vários tipos de células, incluindo macrófagos, neutrófilos, células do sistema nervoso, hepatócitos, fibroblastos, células do endotélio vascular, miócitos, células do epitélio dos túbulos renais (DUBEY et al., 1988b; SPEER; DUBEY, 2003; DUBEY et al., 2002).

Na fase crônica, os taquizoítas se diferenciam em bradizoítas formando os cistos teciduais, localizando-se principalmente no tecido nervoso (DUBEY et al., 1988b). Os cistos teciduais 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).

1.4 Epidemiologia

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

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, 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 e Gennari et al. (2002), encontraram um resultado de 10% em cães com domicílio e 25% em cães de rua, no Estado de São Paulo. Cânon-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 Oliveira et al. (2004), encontraram uma ocorrência de 26,53% em 245 amostras de cães analisadas na região urbana de Campo Grande, MS.

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 muitos variados e muitas vezes de difícil comparação. Essa diferença de resultados se deve a variações de técnica diagnóstica, país, região, ponto de corte, tipo de exploração, tamanho da amostra, estado reprodutivo do rebanho analisado, dentre outras. Dubey (2003), revisando a soroprevalência através do teste de ELISA em animais de diferentes regiões relata diferenças uns dos outros: rebanho com histórico de aborto (22,1%) em 1196 vacas de 28 propriedades, rebanhos sem histórico de aborto (9,2%) em 1224 de 31 propriedades, (10,5%) em 3162 vacas de 28 propriedades com índice baixo de aborto e (11,2%) em 1704 vacas provenientes de matadouro.

Desde os primeiros relatos correlacionando infecção por *Neospora caninum* com aborto em rebanhos bovinos (THILSTED; DUBEY, 1989; BARR et al., 1990), várias investigações têm dado muita importância à área reprodutiva. A neosporose é considerada uma das causas principais de aborto em vários países, e pode ocorrer em qualquer fase da gestação, entretanto a prevalência é maior entre os dois terços iniciais da gestação (DUBEY; LINDSAY, 1996). Observa-se claramente a associação da soropositividade sem *Neospora* e a presença de abortos em rebanhos do que aqueles que não se conhecem a causa do aborto. (PARÉ et al., 1997; DAVIDSON et al.,1999; JENSEN et al., 1999; SAGER et al., 2001).

O primeiro relato de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos foi feito no estado de Mato Grosso do Sul (BRAUTIGAM et al., 1996). Posteriormente, vários relatos de ocorrência têm sido feitos; entre esses estão: 7,7% no Mato Grosso do Sul (ANDREOTTI et al., 1999), 14,09% na Bahia (GONDIM et al., 1999), 11,2% no Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al., 2002), 14,3% no Paraná (GUIMARÃES et al., 2004), 12,61% em Minas Gerais (MELO et al., 2004) e 30,4% em Goiás (MELO et al., 2006). Além da presença de anticorpos, o parasito foi encontrado em fetos bovinos em São Paulo (GONDIM 1999b), no Rio Grande do Sul (CORBERLLINI et al., 2002) e no Paraná (LOCATELLI-DITTRICH, 2002). Em outro trabalho, Locatelli-Ditrich et al., (2003) relatam o isolamento de cepas de *Neospora caninum* de um bezerro com cegueira congênita e na Bahia (GONDIM et al., 2001), isolaram cepas do cérebro de um cão.

1.5 Transmissão de *Neospora caninum*

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; LATHAN, 2002).

A transmissão vertical transplacentária é umas das principais vias de disseminação da neosporose no rebanho bovino, pois está relacionada diretamente com a propagação e a manutenção da doença em um rebanho (BJÖRKMAN et al., 1996). A ausência de variações nas taxas de prevalências entre animais de idades diferentes em um rebanho e a detecção de anticorpos pré colostrais contra *Neospora caninum* em bezerros nascidos de vacas soropositivas, indicam a presença da infecção congênita e a pouca importância da infecção pós-natal (DAVISON et al., 1999; HIETELA; THURMOND, 1999). Uma vez adquirida a infecção, os animais permanecem infectados por toda a vida e podem transmitir a infecção aos seus descendentes em diversas gestações, consecutivos ou não, com porcentagem que varia de 50% a 95% (PARÉ et al., 1996; WOUDA et al., 1998).

Na infecção experimental com taquizoítas de *Neospora caninum* por via parenteral, em bovinos de corte e leite, o feto torna-se infectado e desenvolve a doença quatro semanas após a inoculação do parasita (BUXTON et al., 2002). É pouco provável que ocorra por meio da transferência de embriões, assim sendo, esta prática já é recomendada como um método de controle para prevenir a transmissão vertical. 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).

LANDMANN et al. (2002) confirmaram esses achados e demonstraram que não houve transmissão da infecção de *Neospora caninum* com a transferência de embriões de vacas soropositivas para vacas receptoras soronegativas.

Não há transmissão de animal para animal (ANDERSON et al., 1997). No entanto, sabe-se que a infecção pela via horizontal, pode se estabelecer em bovinos, por meio da ingestão de oocistos esporulados eliminados pelo cão (DE MAREZ et al., 1999) após a ingestão de tecidos de bovinos contaminados (fetos abortados, placentas e

restos de animais mortos), colostro e leite de bovinos contaminados com taquizoítas de *Neospora caninum* (DIJKSTRA et al., 2002; UGLLA et al., 1998). Entretanto, isso não tem ocorrido no caso de cães contaminados que se alimentam de fetos naturalmente infectados (BERGERON et al., 2001) ou colostro contaminado com taquizoítas de cultivo celular (DIJKSTRA et al., 2001).

Nos rebanhos infectados por *Neospora caninum* podem ocorrer abortos na forma esporádica, endêmica ou epidêmica (DAVISON et al., 1999). O aborto na forma esporádica é pouco relatado, ocorre em rebanhos onde a taxa de aborto é baixa e os abortos acontecem em intervalos irregulares. Há várias pesquisas em relação a abortos de forma epidêmica, com taxa elevada de aborto e durante um curto intervalo de tempo (MCALLISTER et al., 1996, 2000; WOUDA et al., 1999; JENKINS et al., 2000; MOEN et al., 1998). O aborto epidêmico está associado com a presença recente da infecção e a transmissão pós-natal da doença, indicando a falta de associação entre a soropositividade da mãe e filhas (THURMOND et al., 1997). O aparecimento de abortos está relacionado com alguns fatores imunodepressores que causem o reaparecimento da enfermidade em um número alto de animais cronicamente infectados (WOUDA et al., 1999).

Nos rebanhos que apresentam abortos endêmicos, os animais apresentam taxas anuais de abortos elevadas durante um longo período (ANDERSON et al., 2000). Isso ocorre principalmente onde há transmissão vertical do parasita e a uma correlação evidente entre soropositividade das mães e filhas com uma distribuição de animais com diferentes idades (SCHARES et al., 2002).

1.6 Patogenia da neosporose

A patogenia da neosporose bovina é muito complexa e depende diretamente de vários fatores do hospedeiro e do parasita, sendo os taquizoítas responsáveis pela fase aguda da infecção.

A patogenia da neosporose depende 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* podem 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 sangüínea e invade outros tecidos, com uma predileção pelo sistema nervoso central, onde se localiza preferencialmente ao redor dos vasos sangüíneos. 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) pode levar a uma baixa nessa imunidade e reativar a infecção. Os bradizoítas se transformariam em taquizoítas e desenvolveriam infecção aguda.

1.7 Resposta imune

Neospora caninum é um parasita 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 Pare 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).

1.8 Sinais clínicos

Nos bovinos adultos, o aborto é o único sinal clínico observado em fêmeas gestantes infectadas (vacas ou novilhas), sendo que 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 infecção fetal pode ocorrer nos primeiros meses de gestação ocasionando morte embrionária ou do feto provocando a sua absorção, enquanto entre o 3º e o 9º mês de gestação, geralmente ocorre aborto. (ANDERSON et al., 1995; MOEN et al., 1996; SAGER et al., 2001).

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, debilidade e cegueira congênita (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2003).

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 consistem na dificuldade em engolir, paralisia das mandíbulas, flacidez, atrofia muscular e falha cardíaca (DUBEY, 2003).

1.9 Diagnóstico

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), Ensaioimunoenzimático (ELISA), Imunoblotting (IB), teste de aglutinação (NAT) que podem detectar anticorpos específicos para *Neospora caninum* (BJÖRKMAN; UGLLA, 1999, DUBEY, 2003).

Os exames histopatológico e a imunohistoquímica podem ser realizados a partir de amostras de cérebro, medula espinhal, coração, fígado, músculo esquelético, pulmão, rim, placenta, onde serão identificados os taquizoítas ou cistos de *Neospora caninum*. Microscopicamente as lesões são degenerativas e inflamatórias, com áreas de necrose multifocal e infiltradas 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 autolisados e o número de cistos teciduais de *Neospora caninum* 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 camundongos (Swiss-Webster). 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 *Neospora 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 *Neospora caninum* sem que seja necessária a imunossupressão (DUBEY; LINDSAY, 2000).

No Brasil, Gondim et al. (2001) relata o isolamento *in vivo* de *Neospora caninum* a partir de cérebro de cão. Em bovinos o isolamento *in vivo* e *in vitro* foi realizado em amostras de bovinos por Locatelli-Dittrich (2002) e em búfalos por Rodrigues et al. (2004).

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 *Neospora caninum* que determina a infecção em bovinos adultos, ainda não foi padronizado (DUBEY, 2003; GUIMARÃES et al., 2004).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi o primeiro método sorológico a ser utilizado para a pesquisa de anticorpos contra *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988b). Neste método os taquizoítas de *N. caninum* são cultivados em diferentes linhagens de células e após processamento adequado são colocados em lâminas de microscopia, que são incubadas inicialmente com soros diluídos e em uma segunda etapa, com anticorpos ligados a uma fluoresceína (conjugado). Este segundo anticorpo é direcionado contra as imunoglobulinas da espécie animal sob investigação. A reação é avaliada pela observação da reação em microscopia de fluorescência (BJORKMAN; UGGLA, 1999).

Como os taquizoítas utilizados para antígeno nos testes de Reação de Imunofluorescência indireta estão intactos, 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 *Neospora caninum* apresentam uma baixa incidência de reação cruzada com outros coccídios. Isto é particularmente importante em relação a *Toxoplasma gondii*. Por essa razão, o teste de Reação de Imunofluorescência indireta é usado frequentemente como teste de referência para detecção de anticorpos contra *Neospora 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 *Neospora 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 taquizoítos (PARÉ et al., 1995; BJÖRKMAN ; UGLA, 1999). Existem outros testes de ELISA, como o ELISA de competição para detectar anticorpos específicos para *Neospora* em bovinos com anticorpos monoclonais (Mab 4A4-2) dirigido ao antígeno de superfície de 65 kDa (BASZLER et al. 1996), e o Elisa ISCOM que foi desenvolvido com taquizoítas incorporados aos imunoestimulantes. (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 *Neospora caninum*, tanto em infecções naturais, quanto experimentais (HOLMDAHL et al.,1996; H O et al.,1997).

A PCR, através da detecção do DNA de *N. caninum* em tecidos de fetos, bezerros, bovinos adultos e em placentas, é considerado um método diagnóstico, 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 *Neospora caninum* é essencial para os avanços no conhecimento da epidemiologia desse parasita.

1.10 Medidas de 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 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 *Neospora caninum*, pelas vias de transmissão horizontal e/ou vertical (McALLISTER et al., 1998; PARÉ et al., 1998; ATKINSON et al., 2000).

1.11 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 associados 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).

1.12 Importância em saúde pública

Mesmo que, nenhum caso de neosporose tenha sido relatado em humanos, devido a similaridade entre *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*, e a importância da toxoplasmose em mulheres gestantes e pessoas imunodeprimidas, bem como ao sucesso da transmissão do parasita em primatas não humanos, existe a possibilidade da transmissão em humanos (SUNDERMANN et al., 1997). A favor dessa possibilidade está o fato de que já foi demonstrado a ocorrência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em amostras de sangue de doadores (TREES et al., 1999).

1.13 Perspectivas

Uma vez que o diagnóstico sorológico é uma estratégia para o controle da neosporose (LARSON et al., 2004), é necessário que ele se torne acessível ao setor produtivo. Andreotti et al. (1999) foram os primeiros pesquisadores do Estado de Mato Grosso do Sul a relatarem a ocorrência de *Neospora* por meio de ensaio imunoenzimático (ELISA).

Posteriormente, por meio do cultivo celular e produção de antígenos a RIFI foi utilizada para o diagnóstico sorológico de *Neospora caninum* em cães do município de Campo Grande, MS (OLIVEIRA et al., 2004). Em continuidade, este teste foi utilizado em estudos preliminares para outras espécies, tais como ovinos (GONÇALVES et al., 2004) e caprinos (OSHIRO et al., 2006).

A produção de antígenos para o diagnóstico sorológico e a avaliação epidemiológica em bovinos são importantes para o conhecimento da neosporose no Estado de Mato Grosso do Sul, considerando-se que este estado é um dos maiores produtores de carne no Brasil.

2.Referências Bibliográficas

ALMERÍA, S.; FERRER, D.; PABON, M.; CASTELLA, J.; MANAS, S. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, v.107, n. 4, p.287-294, 2002.

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*, v. 87, n. 10, 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, 1999. p. 226.

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.; PARE, 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.; BLANCHARD, P.C.; DAFT, B.M.; KINDE, H.; CONRAD, P.A. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Veterinary Pathology*, v.27, p.354-61, 1990.

BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A. Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. *Veterinary Pathology*, v.28,n.2, p.110-116, 1991.

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

BASZLER, T. V.; KNOWLES, D. P.; DUBEY, J. P.; GAY, J. M.; MATHISON, B. A.; MCELWAIN, T. F. Serological diagnosis of bovine neosporosis by *Neospora caninum* monoclonal antibody-based competitive inhibition enzyme-linked immunosorbent assay. *Journal of Clinical Microbiology*, v.34, n.6, p.1423-1428, 1996.

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. 1999. *Anais....* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p.228.

BERGERON, N.; FECTEAU, G.; VILLENEUVE, A.; GIRARD, C; PARE, J. Failure of dogs to shed oocysts afterbeing 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.; DUBEY, J.P. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Veterinaria Scandinavica*, v.32, n. 3, p.407-410, 1991.

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.6, 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, 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.

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.

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

DE MAREZ, T.; LIDDELL, S.; DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; GASBARRE, L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *International Journal Parasitology*, v.29, n.10, p.1647-1657, 1999.

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.; 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.; BOW1~, 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.

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., McINNES, C.J., ROTHEN, J.S., HAIG, D.M. Kinetics of ovine interferon-gamma production: detection of mRNA and characterization of biologic activity. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v.33, p.171-178.1992.

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.

GONÇALVES, K. N.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; MELO, H. J. H.; BARROS, J. C.; ANDREOTTI, R. Infecção por *Neospora caninum* em rebanho ovino de Mato Grosso do Sul. In: *13º Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & 1º Simpósio Latino-Americano de Ricettisioses*, 1 , 2004, Ouro Preto – MG. Anais.....Ouro Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004, p.223.

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. 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, 1999a.

GONDIM, L.F.; SATOR, I.F.; MONTEIRO Jr., L.A.; HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine foetus in Brazil. *New Zealand Veterinary Journal*, v.47, p.35, 1999b.

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.

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.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; CONRATHS, F.J.; DE MEERSCHMAN, F.; ELLIS, J.T.; INNES, E.A.; MCALLISTER, M.M.; ORTEGA-MORA, L.M.; TENTER, A.J.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; WILLIAMS, D.J.L.; WOUDA, W. A. European perspective on *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v.30, n.8, p. 877-924, 2000.

HIETALA, S. K.; THURMOND, M.C. Postnatal *Neospora caninum* transmission and transient serologic responses in two dairies. *International Journal for Parasitology*. v.29, n.10, p.1669-1676, 1999.

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. *The Journal of 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.

HUANG, C.C.; YANG, C. H.; WATANABE, Y.; LIAO, Y. K.; OOI, H.K. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). *Veterinary Research*, v.35, n.3, p. 283-290, 2004.

IAGRO/MS. Informe da campanha de vacinação contra a febre aftosa. Consolidado das regiões de Planalto e Pantanal, etapa novembro de 2003. Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2003

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.31, n., 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.

JENKINS, M. C., J. A. CAVER, C. BJÖRKMAN, T. C. ANDERSON, S. ROMAND, B. VINYARD, A. UGGLA, P. THULLIEZ, AND J. P. DUBEY. 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.

JENSEN, A. M.; BJÖRKMAN C.; KJELDSSEN, A. M.; WEDDERKOPP, A. ; WILLADSEN, C. ; UGGLA, A.; LINDSAY, D.S. Associations of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v.40, p.151-163, 1999.

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

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.

LEMBERGER, K.Y.;GONDIM, L.F.P.; PESSIER A.P.; MCALLISTER, M.M.; KINSEI, M.J. *Neospora caninum* infection in a free-ranging Raccoon (*Procyon lotor*) with concurrent canine distemper virus infection. *The Journal of Parasitology*, v.91, n.4, p.960-961, 2005.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J.P. In vitro development of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) from dogs. *The Journal of 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. *The Journal of 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.; STEINBERG, H.; DUBIELZIG, R.R.; SEMRAD, S.D.; KONKLE, D.M.; MILLER, P.E.; BLAGBURN, B.L. Central nervous system neosporosis in a foal. *Journal of Veterinary Diagnosis Investigation*, v.8, p.507-510, 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.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; RICHARTZ, R.R.T.B.; GASINOJOINEAU, M.E.; PINCNEY, R.D.; SOUSA, R.S.; LEITE, L.C.; THOMAZ-SCCOL, V. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Parana, southern Brazil. *Veterinary Record*, n. 153, p.366-367, 2003.

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.

MCALLISTER, M. M.; MCGUIRE, A.M.; JOLLEY, W.R.; LINDSAY, D.S.; TREES, A.J.; STOBART, R.H. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. *Veterinary Pathology*, v.33, p.647-655, 1996.

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

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. p.228

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.

MOEN, A.R.; WOUDA, W.; DE GEE, A. Clinical and serological observation of bovine *Neospora* abortion in three Dutch dairy herds. *Proceeding XIX World Buiatrics Congress, BCVA*, p.198-202, 1996.

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

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.; GONÇALVES, K.N.; OLIVEIRA, J.M.; FELICIO, A.P.; GUGLIELMI, V.T.J.; MATOS, M.F.C.; ANDREOTTI, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caprinos no município de Campo Grande-MS, In: *Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 14, 2006, Ribeirão Preto. Anais....Ribeirão Preto: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2006. p.313.

PARÉ, J. HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Na enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.7, p. 352-359, 1995.

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

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

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.

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.

RODRIGUES, A.A.R.; GENNARI, S.M.; AGUIAR, D.M.; SREEKMUR, C.; HILL, D.E.; MISKA, K.B.; VIANNA, M.C.B.; DUBEY, J.P. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.124, p.139-150, 2004.

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.

SAGER, H.; FISCHER, I.; FURRER, K.; STRASSER, M.; WALDVOGEL, A.; BOERLIN, P.; AUDIGE, L.; GOTTSTEIN, B. A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. *Veterinary Parasitology*, v.102, n.1-2, p.1-15, 2001.

SCHARES, G.; BARWALD, A.; STAUBACH, C.; SÖNDGEN, P.; RAUSER, M.; SCHRODER, R.; PETERS, M.; WURM, R.; SELHORST, T.; CONRATHS, F.J. p38-avidity-ELISA: examination of herds experiencing epidemic or endemic *Neospora caninum*-associated bovine abortion. *Veterinary Parasitology*, v.106, n.4, p.293-305, 2002.

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.

SUNDERMANN, C. A.; ESTRIDGE, B.H.; BRANTON, M.S.; BRIDGMAN, C.R.; LINDSAY, D.S. Immunohistochemical diagnosis of *Toxoplasma gondii*: potential for cross-reactivity with *Neospora caninum*. *The Journal of Parasitology*, v.83, n. p.440-443, 1997.

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.

THURMOND, M.; HIETALA, S. 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 of American Veterinary Medical Association*, v.210, n.5, p.672-674, 1997.

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.

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.

PREVALENCE OF ANTI-*Neospora caninum* ANTIBODIES IN CATTLE HERDS IN AN EXTRACT OF MATO GROSSO DO SUL, BRAZIL¹.

Leandra Marla Oshiro²; Maria de Fatima C. Matos³; Jacqueline Marques de Oliveira⁴; Letícia A. R. C. Monteiro⁴; Renato Andreotti⁵

ABSTRACT

Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle herds in an extract of Mato Grosso do Sul, Brazil. [Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle herds in an extract of Mato Grosso do Sul, Brazil.]. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v., n., p.

Neospora caninum is an obligate intracellular parasite that can infect domestic and wild canids, as well as ruminants and equines. It was described in 1988 and has been known as a major cause of abortion in bovines and of neuromuscular alterations and death in dogs. To estimate the prevalence of bovine neosporosis in the 22 counties of the so-called Estrato 1 subregion of the Brazilian state of Mato Grosso do Sul, blood samples were collected from female animals aged 24 months and older, from December 2003 to March 2004. The subregion accounts for 23% of the state's herd of 24.9 million cattle. During sample collection, a questionnaire was used to gather data of epidemiological interest. The samples were subjected to serological diagnosis (indirect fluorescence antibody test – IFAT). Prevalences of 14.86% (449/2488) and 69.75% (143/205) were found for the animals and herds sampled, respectively. The variable found to be associated with seropositivity to neosporosis was abortion (OR 2.52; CI 1.25-5.06). The results revealed the presence of neosporosis in the herds investigated, drawing attention to its role as a potential cause of abortion in cattle in Mato Grosso do Sul.

KEYWORDS: *Neospora caninum*, bovines, indirect fluorescent antibody test, prevalence

¹ Supported by Fundect-MS.

² CNPq grant-holder Graduate student, Animal Science Program, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/UFMS.

³ Departamento de Farmácia –Bioquímica/ UFMS.

⁴ Agência estadual de defesa sanitária animal e vegetal – IAGRO/MS.

⁵ Embrapa Gado de Corte, BR 262, km 4, CP 154; Campo Grande, MS 79002-970, Brazil. E-mail: andreott@cnpqg.embrapa.br

RESUMO

Neospora caninum é um parasita intracelular obrigatório, que pode infectar canídeos domésticos e selvagens, ruminantes e eqüídeos. Esse parasita foi descrito em 1988 e, desde sua descoberta, tem emergido como uma das principais causas de aborto em bovinos, além de causar alterações neuromusculares e morte em cães. Para estimar a prevalência da neosporose bovina em 22 municípios que compõem a sub-região denominada Estrato 1 do estado de Mato Grosso do Sul, foram analisados soros obtidos no período de dezembro de 2003 a março de 2004 de fêmeas com idade igual ou superior a 24 meses. A região analisada representa 23% do rebanho total de 24,9 milhões de bovinos do estado. Durante a colheita das amostras foi preenchido um questionário com informações de interesse epidemiológico. A determinação da presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* foi feita pela Reação de Imunofluorescência Indireta, sendo as prevalências encontradas nos animais e nos rebanhos amostrados de 14,86% (449/2488) e 69,75% (143/205), respectivamente. A variável que apresentou associação de soropositividade com a neosporose foi o aborto (OR 2,52; IC 1,25-5,06). Os resultados indicaram que a neosporose está presente nos rebanhos e que deveria ser considerada como uma potencial causa de aborto no Estrato 1 de Mato Grosso do Sul.

PALAVRAS-CHAVE: *Neospora caninum*, bovinos, imunofluorescência indireta, soroprevalência

Introdução

Neospora caninum é um protozoário parasita formador de cistos em tecidos de animais, o qual antes de 1988, era confundido com *Toxoplasma gondii* por apresentar semelhanças biológicas e estruturais, entretanto estes dois parasitas são antigênicamente diferentes (DUBEY et al., 1988).

Desde a sua descoberta, este parasita tem recebido atenção, sendo responsável por abortamentos e nascimentos de animais prematuros (DUBEY; LINDSAY 1996). Em bovinos, o aborto é considerado o principal sinal clínico da neosporose e pode ocorrer em qualquer fase da gestação, mas a maioria ocorre entre o quinto e sexto mês. Os fetos podem morrer no útero e ser absorvidos, mumificados ou autolizados. Os bezerros podem nascer vivos, mas doentes, ou clinicamente normais, mas com infecção crônica. Além disso, neosporose clínica já foi descrita em canídeos, eqüinos, ruminantes domésticos (bovinos, ovelhas, cabras) e selvagens (veado, rinoceronte) (DUBEY, 2003). O rato doméstico (*Rattus norvegicus*) (HUANG et al., 2004), raposa (*Vulpes vulpes*) (ALMERIA et al, 2002) e guaxinim (*Procyon lotor*) (LEMBERGER et al., 2005) também são considerados hospedeiros intermediários.

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

Das vias de transmissão dessa enfermidade, a vertical é citada como a mais importante, onde a maioria das infecções congênitas resulta em nascimentos de bezerros aparentemente normais (DAVISON et al., 1999), sendo a via horizontal importante em rebanhos cuja soroprevalência é alta (DIJKSTRA et al., 2002). Forte correlação entre cães soropositivos para *Neospora caninum* e a alta prevalência de bovinos com anticorpos contra o parasito foi relatada por Wouda et al. (1999). Outras fontes de infecção em potencial na via horizontal incluem colostro (UGLLA, 1998), assim como a placenta ou o líquido amniótico (DIJKSTRA et al., 2002) e animais infectados (McALLISTER et al., 1998).

As perdas econômicas causadas pela neosporose estão associadas à reprodução. Além do aborto, outras perdas diretas são a diminuição da produção de leite nos animais soropositivos, infertilidade associada à mortalidade fetal e a reabsorção, e ainda, pelo nascimento de bezerros congenitamente infectados com sintomatologia clínica. Entre as

indiretas estão, repetição de cio, assistência veterinária, gastos com diagnóstico e tratamento, reposição de animais (TREES et al., 1999).

Técnicas diagnósticas precisas para a detecção de animais infectados com *Neospora caninum* são a chave para o entendimento dos aspectos epidemiológicos da neosporose. Entre essas técnicas estão os exames histopatológicos, imunohistoquímicos, 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 da parasita por PCR e a observação dos cistos nos tecidos a fresco (sem coloração). Entre os métodos indiretos estão a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Ensaioimunoenzimático (ELISA), Imunoblotting (IB), teste de aglutinação (NAT) que podem detectar anticorpos específicos para *Neospora caninum* (BJÖRKMAN; UGLLA, 1999; DUBEY, 2003).

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 bovinos de leite quanto de corte (ANDERSON et al., 2000).

O primeiro relato no Brasil de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos foi feito no Estado de Mato Grosso do Sul (BRAUTIGAM et al., 1996). Posteriormente, vários relatos de ocorrência têm sido feitos; com valores de 7,7% no Mato Grosso do Sul (ANDREOTTI et al., 1999), 14,09% na Bahia (GONDIM et al., 1999a), 11,2% no Rio Grande do Sul (CORBELLINI et al., 2002), 14,3% no Paraná (GUIMARÃES et al., 2004), 12,61% em Minas Gerais (MELO et al., 2004) e 30,4% em Goiás (Melo et al., 2006). O parasito foi encontrado em fetos bovinos em São Paulo (GONDIM et al., 1999b) e no Rio Grande do Sul (CORBERLLINI et al., 2002), e cepas de *Neospora caninum* foram isoladas de cão na Bahia (GONDIM et al., 2001) e de feto e bezerro bovino, no Paraná (LOCATELLI-DITTRICH, 2002; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2003).

O objetivo do presente estudo é estimar, pela reação de imunofluorescência indireta, a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos nos 22 municípios do Estrato 1 do Estado de Mato Grosso do Sul e analisar os prováveis fatores de risco associados a essa infecção.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

Realizou-se o presente estudo na região denominada estrato 1 do Estado do Mato Grosso do Sul. Esse estrato, composto de 22 municípios (Tabela 1), faz parte da estratificação realizada pela coordenação estadual do Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose Bovina (PNCEBT), em quatro estratos distintos, com número de rebanhos bovinos equivalentes.

O estrato considerado abrange municípios pertencentes a três das quatro mesorregiões geográficas do estado: centro-norte, leste e sudoeste uma área de 70214,1 km², que representa 19,7% do Estado de Mato Grosso do Sul (IBGE, 2002) e as propriedades têm extensão variada, dedicadas à exploração pecuária de corte e/ou leite e algumas desenvolvem atividade agrícola. O rebanho bovino dessa região é de aproximadamente 5,7 milhões do rebanho total do estado, que é de 24,9 milhões (IAGRO/MS, 2003). Além disso, a região amostrada do estado é de grande importância com localização central servindo de corredor de animais entre as regiões.

Tabela 1 – Rebanhos e animais do estrato 1 do Estado de Mato Grosso do Sul estudados para o diagnóstico sorológico de anticorpos- anti-*Neospora caninum* por município.

Município	Rebanhos amostrados	Animais amostrados
Angélica	06	49
Bandeirantes	07	95
Caarapó	08	107
Campo Grande	16	176
Deodápolis	09	99
Douradina	02	21
Dourados	17	197
Fátima do Sul	05	45
Glória de Dourados	09	113
Itaporã	06	74
Ivinhema	14	164
Jaraguari	09	95
Jateí	07	96
Maracaju	10	88
Nova Alvorada do Sul	08	160
Novo Horizonte do Sul	10	153
Ribas do Rio Pardo	18	261
Rio Brilhante	06	87
Rochedo	06	89
Sidrolândia	17	88
Terenos	10	169
Vicentina	05	62
Total	205	2488

Métodos de amostragem

Os rebanhos foram considerados as unidades primárias de amostragem.

O tamanho da amostra (N) foi calculado conforme NOORDHUIZEN et al. (1997), $[N = Z^2 \cdot P(1-P)/E^2]$, com o intervalo de confiança (Z) de 95% e aceitando-se um erro (E) máximo de 5%.

Adotou-se a prevalência esperada (P) de 15%, valor que corresponde à média encontrada nos estudos epidemiológicos já realizados em outras localidades brasileiras (GONDIM et al. 1999a, MELO et al. 2004, GUIMARÃES et al., 2004, CORBELLINI et al., 2005), resultando em um total de 196 propriedades, mas optou-se por 205 propriedades devido a disponibilidade de amostras (Tabela 1).

A escolha aleatória das propriedades seguiu a listagem das fichas sanitárias fornecidas pela Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal do Estado de Mato Grosso do Sul (IAGRO/MS) e para o cálculo do intervalo amostral dividiu-se o número total de propriedades pelo número de propriedades a serem amostradas.

Após o sorteio das propriedades, procedeu-se o sorteio dos animais, sendo o critério de inclusão no estrato, fêmeas de idade igual ou superior a 24 meses, que estivessem nas mesmas condições de manejo. Em cada propriedade sorteada, onde existiam até 99 fêmeas, foram amostradas dez fêmeas, ou todas as fêmeas dessa faixa etária, se elas fossem menos do que dez. Naquelas, onde o número de fêmeas de idade igual ou superior a dois anos era superior a 99, foram amostradas 15 fêmeas dessa faixa etária.

Este sorteio foi feito de forma aleatória, empregando-se o método de amostragem aleatório simples ou sistemático. A escolha por um dos métodos foi definida dividindo o total de fêmeas com idade igual ou superior a dois anos existentes na propriedade pelo total de fêmeas a serem amostradas. Para resultados inferiores a dois, foi empregado o método de amostragem aleatório simples; nos casos em que o resultado era superior a dois, foi empregado o método de amostragem aleatório sistemático. A Tabela 1 sumariza os resultados dos cálculos realizados para escolha das propriedades amostradas e para a escolha das fêmeas para a coleta de sangue.

Obtenção das amostras

Os soros bovinos analisados foram fornecidos pelo IAGRO/MS e obtidos conforme descrito previamente (MONTEIRO et al., 2006), no período de dezembro de 2003 a março de 2004. Durante a colheita dessas amostras, foi preenchido um questionário com informações epidemiológicas, incluindo entre outras, histórico de abortamento, presença de cães, ingresso de animais, fonte de contaminação e tipo de reprodução.

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), gentilmente cedidos pela Dr^a Rosangela Locatelli-Dittrich, da Universidade Federal do Paraná, em células Vero (ATCC- CCL 81, de rim de macaco africano) adquiridas do Instituto Adolpho Lutz (São Paulo, SP) e originalmente obtidas da American Type Culture Collection (ATCC). O meio utilizado foi *Dulbecco's Modified Eagle's* (DMEM – Sigma), suplementado com soro fetal bovino a 10% (SFB) e solução antibiótico/antimicótico, GIBCO, de concentração final: 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina e 0,25 µg/mL de anfotericina (LOCATELLI-DITTRICH, 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.

Banco de dados

Os resultados do teste sorológico e as informações do questionário aplicado em cada propriedade foram armazenados em um banco de dados, utilizando o programa Microsoft Access 97, desenvolvido para o PNCEBT.

Análise estatística

Os cálculos de prevalência real de animais infectados e de prevalência aparente de rebanhos foram feitos conforme Martin et al. (1987,1992).

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 Episcopo 2.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo ao se analisar uma amostra representativa da região que corresponde a 23% do rebanho total bovino do Estado de Mato Grosso do Sul, observa-se uma prevalência real de 14,86% (Tabela 2). Este resultado é semelhante aos encontrados por outros autores em rebanhos dos estados do Paraná (GUIMARÃES et al., 2004) e Bahia (GONDIM et al., 1999a) que observaram prevalências de 14,04% e 14,09%, respectivamente e também similar a aqueles obtido por Moore et al. (2002) na Argentina.

Tabela 2 – Resultado da Reação de Imunofluorescência Indireta (Título = 1:50) para anticorpos anti- *Neospora caninum* em municípios do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

Município	Animais amostrados	Animais positivos
Angélica	49	08
Bandeirantes	95	06
Caarapó	107	11
Campo Grande	176	23
Deodápolis	99	06
Douradina	21	01
Dourados	197	65
Fátima do Sul	45	13
Glória de Dourados	113	31
Itaporã	74	19
Ivinhema	164	08
Jaraguari	95	19
Jateí	96	17
Maracaju	88	10
Nova Alvorada do Sul	160	13
Novo Horizonte do Sul	153	34
Ribas do Rio Pardo	261	98
Rio Brilhante	87	15
Rochedo	89	05
Sidrolândia	88	08
Terenos	169	16
Vicentina	62	23
Total	2488	449

Estudos de soroprevalência de anticorpos anti *Neospora caninum* têm sido conduzidos em várias partes do mundo e no Brasil; entretanto, uma comparação dos resultados é difícil devido aos diferentes ponto de corte e às diferentes técnicas de diagnóstico empregados.

Ragozo et al. (2003), ao analisar uma amostragem também do estado de Mato Grosso do Sul, encontrou uma prevalência de 28% (110/31). A diferença entre esse resultado e a prevalência encontrada no presente trabalho, deve se provavelmente aos diferentes pontos de corte utilizados; 1: 25 no de Ragozo et al. (2003) e, a um banco de soro com amostras colhidas por conveniência, proporcionando limitação importante quanto à utilização de técnicas estatísticas de análise de dados. Os primeiros trabalhos realizados utilizando a RIFI para o diagnóstico do *Neospora caninum* (DUBEY; LINDSAY 1996) utilizaram um ponto de corte maior ou igual a 1: 640 posteriormente Venturini et al. (1999), concluíram que esse ponto de corte poderia ser reduzido. Atualmente, vários laboratórios utilizam ponto de corte menor ou igual a 1: 200 na RIFI. Entretanto ainda não há consenso em relação a este valor.

Brautingam et al. (1996) e Andreotti et al. (1999), analisando rebanhos do Mato Grosso do Sul encontraram prevalências de 7,8% e 7,7%, respectivamente, utilizando o método de Elisa.

Ao considerarmos a prevalência aparente do rebanho diagnosticado pela RIFI, 69,75% (143/205) (Tabela 3), verifica-se que a maior parte do rebanho bovino encontra-se infectada pelo *Neospora caninum*, sendo estes resultados semelhantes ao de Aguiar et al. (2005), 72,1% (62/86) no Estado de Rondônia. Entretanto, houve grande variação na prevalência entre os municípios, com a maior exposição ao *Neospora caninum* sendo em Ribas do Rio Pardo, Itaporã e Fátima do Sul com prevalências de 100% e o de menor soropositividade foi o de Ivinhema com prevalência de 28,57%. Esses resultados obtidos não guardam relação com a localização geográfica do município.

Tabela 3 – Classificação dos rebanhos segundo o teste Reação de Imunofluorescência Indireta (Título = 1:50) para anticorpos anti- *Neospora caninum* em propriedades amostradas por municípios do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

Município	Rebanhos amostrados	Rebanhos positivos
Angélica	06	03
Bandeirantes	07	03
Caarapó	08	06
Campo Grande	16	12
Deodápolis	09	04
Douradina	02	01
Dourados	17	16
Fátima do Sul	05	05
Glória de Dourados	09	08
Itaporã	06	06
Ivinhema	14	04
Jaraguari	09	07
Jateí	07	05
Maracaju	10	06
Nova Alvorada do Sul	08	07
Novo Horizonte do Sul	10	09
Ribas do Rio Pardo	18	18
Rio Brilhante	06	05
Rochedo	06	03
Sidrolândia	17	06
Terenos	10	06
Vicentina	05	03
Total	205	143

Na Tabela 4 observa-se os dados obtidos para o estudo da associação entre os fatores de risco e a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* nos rebanhos amostrados.

Tabela 4 - Fatores de risco para a neosporose nos rebanhos estudados no Estado de Mato Grosso do Sul, com os respectivos valores das *odds ratio* (OR)

Variáveis	Descrição	Rebanho Positivo	Rebanho Negativo	OR	IC % inferior	IC% superior
Cão	Sim	128	57	0,96	0,35	2,63
	Não	14	06			
Aborto	Sim	55	13	2,52	1,25	5,06
	Não	84	50			
Ingresso animais	de Compra animais	61	27	1	0,55	1,83
	Não compra animais	81	36			
Fonte de contaminação	Existe área alagadiça	104	47	0,93	0,47	1,84
	Não existe	38	16			

* IC = 95%

Observa-se que a presença de feto abortado ou placenta é um fator de risco (OR 2,52; IC 1,25-5,06) nesse estrato e representa uma importante fonte de infecção, pois os cães ou outros hospedeiros importantes no ciclo biológico podem se contaminar através da ingestão de tecidos de bovinos contaminados como fetos abortados e placentas, eliminando assim os oocistos no meio ambiente (DIJKSTRA et al., 2002; WOUDA, 2005).

Quando analisada a associação entre a soroprevalência no rebanho e a presença de cães nas propriedades não houve diferença significativa (OR 0,96; IC 0,35-2,63), resultados similares àqueles obtidos por Guimarães et al. (2004) no Paraná utilizando também a RIFI, porém Bartels et al. (1999), em estudo de caso-controle e usando o método ELISA para o diagnóstico sorológico, demonstraram que a presença do cão constitui-se em um fator de risco (OR 4,2).

As outras duas variáveis analisadas: ingresso de animais (reprodução) e a fonte de contaminação (área alagadiça ou não), com Odds Ratio calculado de 1 (IC 0,55-1,83) e 0,93 (IC 0,47-1,84), respectivamente, não apresentaram associação com a soroprevalência no rebanho.

Os resultados encontrados, utilizando-se a reação de imunofluorescência indireta, mostraram a presença de anticorpos anti- *Neospora caninum* no Estado de Mato Grosso do Sul, com prevalência similar aquela encontrada em outros estados do Brasil. Visando evitar perdas econômicas nos rebanhos relacionados principalmente aos abortos, falhas na reprodução, nascimentos de bezerros cronicamente infectados dentre outras causas da neosporose, e considerando-se o estado como um dos maiores

produtores de carne no Brasil, como perspectiva dos nossos estudos sugere-se completar o inquérito epidemiológico dos outros estratos do Estado de Mato Grosso do Sul, e ainda, investigar a participação de animais silvestres servindo como reservatórios, o que poderia revelar a extensão da contaminação de *Neospora caninum* nas propriedades

AGRADECIMENTOS

A Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal (IAGRO) e à Embrapa Gado de Corte, pelo suporte na realização deste trabalho. A FUNDECT/MS pelo financiamento e ao CNPq pela bolsa do projeto.

REFERÊNCIAS

- 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*, São Paulo. *Anais...*São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005. p.31.
- ALMERÍA, S.; FERRER, D.; PABON, M.; CASTELLA, J.; MANAS, S. Red foxes (*Vulpes vulpes*) are a natural intermediate host of *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, v. 107, n. 4, p. 287-294, 2002.
- ANDERSON, M. L.; ADRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. 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.
- BARTELS, C.J.M., WOUDA, W. SCHUKKEN, Y.H. Risk factors for *Neospora caninum* – associated abortions storms in dairy herds in the Netherlands, *Theriogenology*, v.52, n.2 p.247-257, 1999.
- 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.

- 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. *Neosporose bovina: estudo de fatores de risco em 60 propriedades leiteiras no estado do Rio Grande do Sul e levantamento de causas de aborto bovino com ênfase em Neospora caninum*. 2005. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) Faculdade de Veterinária – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- DAVISON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle, *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 10, p. 1683-1689, 1999.
- 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, 1988.
- 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. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal Parasitology*, v.41, n.1, p.1-16, 2003.
- DIJKSTRA, Th., BARKEMA, H.W., EYSKER, M., HESSLINK, 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.
- 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, 1999a.
- GONDIM, L.F.; SARTOR, I.F.; MONTEIRO Jr., L.A.; HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine foetus in Brazil. *New Zealand Veterinary Journal*, v. 47, p. 35, 1999b.

- 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.
- 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 Parasitotology*, v.124, n.1-2, p. 1-8, 2004.
- HUANG, C.C.; YANG, C. H.; WATANABE, Y.; LIAO, Y. K.; OOI, H.K. Finding of *Neospora caninum* in the wild brown rat (*Rattus norvegicus*). *Veterinary research* , v. 35, n.3, p. 283-290, 2004.
- IAGRO/MS. Informe da campanha de vacinação contra a febre aftosa. Consolidado das regiões de Planalto e Pantanal, etapa novembro de 2003. Agência Estadual de Defesa Sanitária Animal e Vegetal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2003
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE, Resolução PR-051, de 31/7/89, 2002. Divisão de Pesquisa no Estado de Mato Grosso do Sul. Setor de documentação e disseminação de informações. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, 2002.
- LEMBERGER, K.Y.;GONDIM, L.F.P.; PESSIER A.P.; MCALLISTER, M.M.; KINSEI, M.J. *Neospora caninum* infection in a free-ranging raccoon (*Procyon lotor*) with concurrent canine distemper virus infection. *The Journal of Parasitology*, v.91, n.4, p.960-961, 2005.
- 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, 1999.

- 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.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; RICHARTZ, R.R.T.B., GASINOJOINEAU, M.E.; PINCNEY, R.D., SOUSA, R.S.; LEITE, L.C., THOMAZ-SCCOL, V. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Parana, southern Brazil. *Veterinary Record*, n. 153, p.366-367, 2003.
- 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.
- 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.
- MELO, C. B.; LEITE, R. C.; LOBATO, Z. I. P.; LEITE, R. C. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhoea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*.v.119, n.2-3, p.97-105, 2004.
- 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.
- MONTEIRO, L.A.R.C.; PELLEGRIN, A.O.; ISHIKAWA, M.M.; OSÓRIO, A.L.A.R., Investigação epidemiológica da brucelose bovina em um estrato do Estado de Mato Grosso do Sul, *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.26, n.4, p.217-222, 2006.
- MOORE, D.P., CAMPERO, C.M., ODEON, A.C., POSSO, M.A., CANO, D., LEUNDA, M.R., BASSO, W., VENTURINI, M.C., SPATH, E. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina, *Veterinary Parasitology*, v.107, n.4, p.303-316, 2002.

- NOORDHUIZEN J.P.T.M.; FRANKENA K.; VAN DER HOOF C.M.; GRAAF E.A.M.,
Application of quantitative methods in veterinary epidemiology. *Wageningen Pers*, 1997.
445p.
- 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.
- PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of
Neospora caninum in dairy herds. *Journal of the American Veterinary Medical
Association*, v.213, p. 1595-1598, 1998.
- 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.
- TREES, A. J.; DAVISON, H.C.; INNES, E.A.; WASTLING, J.M. Towards evaluating the
economic impact of bovine neosporosis. *International Journal Parasitology*, v.29,
p.1195-1200, 1999.
- VENTURINI, M.C., VENTURINI, L., BACIGALUPE, D., MACHUCA, M., ECHAIDE,
I., BASSO, W., UNZAGA, J.M., DI LORENZO, C., GUGLIELMONE, A., JENKINS,
M.C., DUBEY, J.P. *Neospora caninum* infections in bovine fetuses and dairy cows with
abortions in Argentina, *International Journal for Parasitology*, v.29, n.10, p.1705-1708,
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*, Oxford, v. 28, n.9, p.1467-1472, 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.

WOUDA, W., Some aspects of the epidemiology of bovine neosporosis. *In: I Fórum Brasileiro de Estudos sobre Neospora caninum* ,In: I FÓRUM BRASILEIRO DE ESTUDOS SOBRE *Neospora caninum*, São Paulo. *Anais...*São Paulo: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2005. p.10.