



UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

DISSERTAÇÃO

**Investigação da associação entre a Soropositividade para *Neospora caninum*
e Distúrbios Reprodutivos em Vacas Girolandos no Setor de Bovinocultura
de Leite da UFRRJ, Seropédica, RJ**

VINÍCIUS GRANGEIA GAIA

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

**INVESTIGAÇÃO DA ASSOCIAÇÃO ENTRE A SOROPOSITIVIDADE
PARA *NEOSPORA CANINUM* E DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS EM
VACAS GIROLANDOS NO SETOR DE BOVINOCULTURA DE LEITE
DA UFRRJ, SEROPÉDICA, RJ**

VINÍCIUS GRANGEIA GAIA

Sob a Orientação da professora
Andressa Ferreira da Silva

e Co-orientação dos Professores
Helcimar Barbosa Palhano
Marco Roberto Bourg de Mello

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, Programa de Pós- Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas), Área de concentração em Patologia Animal.

Seropédica, RJ
Março de 2019

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

G137i

Gaia, Vinicius Grangeia, 1992-
Investigação da associação entre soropositividade
para *Neospora caninum* e distúrbios reprodutivos em
vacas Girolandos no setor de bovinocultura de leite
da UFRRJ, Seropédica, RJ / Vinicius Gaia. - 2019.57 f.: il.

Orientadora: Andressa Ferreira da Silva.
Coorientador: Helcimar Barbosa Palhano.
Dissertação(Mestrado). --Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós Graduação em
Medicina Veterinária , 2019.

1. *Neospora caninum* em bovinos. 2. Associação com
Distúrbios reprodutivos. 3. Soroprevalencia de
Neospora caninum em vacas Girolandos. I. Ferreira da
Silva, Andressa , 1982-, orient. II. Barbosa Palhano,
Helcimar, 1963-, coorient. III Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro. Programa de Pós Graduação em
Medicina Veterinária . IV. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

VINICIUS GRANGEIA GAIA

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de Concentração em Ciências Clínicas.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 26/03/2019



HELCIMAR BARBOSA PALHANO (Ph. D) UFRRJ
(presidente)

Vera Lúcia Teixeira de Jesus

VERA LÚCIA TEIXEIRA DE JESUS (Ph. D) UFRRJ



EDWARDS FRAZÃO-TEIXEIRA (Ph. D) FIOCRUZ

DEDICATÓRIA

A minha formação como profissional não poderia ter sido concretizada sem a ajuda de meus amados pais Ramiro e Virginia que, no decorrer da minha vida, proporcionaram-me carinho e amor e condições para estudar e procurar meus objetivos. À minha noiva Emily, que além de me fazer feliz, ajudou durante todo o percurso, permaneceu sempre ao meu lado, nos bons e maus momentos. A vocês, além de meus sorrisos, amor e suor, dedico esta dissertação.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela força e perseverança, que me fizeram alcançar meus objetivos, e pelas oportunidades e aprendizado que apareceram durante minha vida.

Aos meus pais, Ramiro e Virginia, por me educarem, sempre com paciência e amor, para que me tornasse uma pessoa íntegra, responsável, justa, pelas oportunidades de estudo e pela vida maravilhosa que me proporcionaram.

À minha irmã, Maria Júlia, por estar sempre ao meu lado, durante minha vida, nos momentos bons e ruins.

Aos professores Andressa Ferreira da Silva, Helcimar Barbosa Palhano e Marco Roberto Bourg de Mello, pela oportunidade de aprendizado, pela paciência, ajuda e indispensável orientação, os quais me fizeram um profissional e uma pessoa melhor.

Ao Setor de Bovinocultura de Leite da UFRRJ, pela parceria e comprometimento, por permitirem o uso das instalações e dos animais no experimento. Aos funcionários da instituição, por estarem sempre dispostos a trabalhar e auxiliar durante o experimento.

Ao Professor Carlos Wilson por permitir o uso do seu laboratório para análise das amostras, sempre disposto a ajudar e ao Técnico de Laboratório seu Valtinho pela grande ajuda.

À minha noiva Emily, por ser essa pessoa maravilhosa, amor da minha vida, que sempre me animou, dedicou horas para me ajudar e esteve presente durante todo meu percurso nesse mestrado.

Aos meus colegas, que por estarem sempre ao meu lado, durante toda a graduação, se tornaram meus irmãos; Douglas, Raphael, Kleiton e Paloma.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

GAIA, Vinicius Grangeia. **Associação entre a soropositividade de *Neospora caninum* e distúrbios reprodutivos em vacas Girolandas no Setor de Bovinocultura de leite da UFRRJ, Seropédica, RJ.** 2019. 50 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária – Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

A neosporose bovina é uma doença parasitária causada pelo protozoário *Neospora caninum*. O parasito possui distribuição mundial e acomete sobretudo o rebanho bovino leiteiro, porém, é relatado também em rebanhos bovinos de corte, sendo descrito como uma das principais causas de aborto na espécie. É de grande relevância na bovinocultura, uma vez que a presença do agente etiológico está associada a quadros de abortamento bovino no mundo, promovendo assim perdas econômicas diretas e indiretas. Pode ocasionar morte embrionária precoce, abortamento ou mumificação fetal, natimortos e neonatos com sintomatologia neurológica. Este estudo foi desenvolvido no Setor de Bovinocultura de Leite da UFRRJ, localizado no município de Seropédica-RJ, onde foram coletadas amostras de sangue de 40 vacas leiteiras em fase reprodutiva, da veia epigástrica superficial cranial, sendo as amostras testadas pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos *anti-N. caninum*. A sorologia foi realizada no Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC) da UFRRJ. A partir dos resultados sorológicos, foi realizada a verificação de associação, ou não, com a manifestação de distúrbios reprodutivos, analisado por meio da coleta de dados dos registros de histórico reprodutivo dos anos de 2017 a 2018 e observações do rebanho no transcorrer do estudo. O Teste de Qui- quadrado foi utilizado como modelo estatístico para verificar a existência de associação entre a sorologia e distúrbios reprodutivos, adotando um nível de confiança de 95%. O resultado do estudo demonstra uma soroprevalência no rebanho de 27% (11/40) para *N. caninum*, contudo, após análise estatística, não foi confirmada a associação entre soropositividade e distúrbios reprodutivos no rebanho avaliado. Apesar da população estudada estar infectada com o *Neospora caninum*, podemos inferir que anticorpos *anti-Neospora caninum* presentes em vacas leiteiras Girolandas do Setor de Bovinocultura de Leite da UFRRJ, não estão associados à ocorrência de distúrbios reprodutivos.

Palavras chaves: Neosporose, bovino de leite, RIFI, aborto.

ABSTRACT

GAIA, Vinicius Grangeia. **Association between the seropositivity of *Neospora caninum* and reproductive disorders in Girolando cows in the Dairy Cattle Facility of UFRRJ, Seropédica, RJ.** 2019. 50 p. Dissertation (Master Science in Veterinary Medicine - Pathology and Clinical Sciences). Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.

Bovine neosporosis is a parasitic disease caused by the protozoan *Neospora caninum*. The parasite has a worldwide distribution and mainly affects the dairy cattle herd, although, reported in beef cattle, being described as one of the main causes of abortion in cattle. It is of great relevance in cattle breeding, since the presence of the etiological agent is associated with bovine abortion worldwide, thus promoting direct and indirect economic losses. It can cause early embryonic death, fetal abortion or mummification, stillbirths and neonates with neurological symptomatology. This study was carried out in the Dairy Cattle Facility of the UFRRJ, located in the city of Seropédica-RJ, where blood samples were collected from 40 dairy cows in reproductive age from cranial superficial epigastric vein, and the tested by indirect immunofluorescence (RIFI) for detection of anti-*N.caninum* antibodies. The serology was performed at the Laboratório de Coccidios e Coccidioses (LCC) of UFRRJ. From the serological results, we verified the association or not with the manifestation of reproductive disorders, analyzed through the collection of data from the records of reproductive history from 2017 to 2018 and observations of the herd in the course of the study. The Chi-square test was used as a statistical model to verify the existence of an association between serology and reproductive disorders, adopting a confidence level of 95%. The results of the study show a seroprevalence in the herd of 27% (11/40) for *N. caninum*, however, after statistical analysis, the association between seropositivity and reproductive disturbances in the evaluated herd was not confirmed. Although the studied population is infected with *N. caninum*, we can infer that *N. caninum* antibodies present in Giroland dairy cows of the dairy cattle sector of the UFRRJ are not associated with the occurrence of reproductive disorders.

Keywords: Neosporosis, bovine milk, RIFI, abortion

LISTA DE ABREVIACOES

UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
IA	Inseminaco artificial
IATF	Inseminaco artificial em tempo fixo
RIFI	Reaco de Imunofluorescencia indireta
ECC	Escore de condio corporal
LCC	Laboratrio de Coccidios e Coccidioses
PCR	Reaco em cadeia da polimerase
S/A	Sem alteraco
AB	Abortamento
VELP	Volta ao estro com longo perodo de servio
RC	Repetio de cio
OR	<i>odds ratio</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Ciclo biológico de <i>Neospora.caninum</i> em <i>bovinos</i>	5
Figura 2 Setor de bovinocultura de leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.....	18
Figura 3 População de animais do Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, avaliada do estudo.....	19
Figura 4 Em A, preparo das amostras para sorologia; Em B, microscópio equipado com sistema de epifluorescência, Laboratório de Coccídios e Coccidioses da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.....	21
Figura 5 Taquizoitos com fluorescência periférica total 400x.....	21
Figura 6 Ficha zootécnica do Setor da Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.....	22
Figura 7 Presença de anticorpos anti- <i>Neospora.caninum</i> em vacas Girolandas, pertencentes ao Setor de bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.....	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em bovinos em diferentes países (adaptado de Dubey; Schares et al., 2011).....	9
Tabela 2 Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em bovinos no Brasil (adaptado de Cerqueira-Cézar et al., 2017).....	10
Tabela 3 Distúrbios reprodutivos em vacas soropositivas e soronegativas para <i>Neospora caninum</i> pertencentes ao Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.....	25
Tabela 4 Associação dos resultados sorológicos de vacas com anticorpos anti- <i>Nesospora caninum</i> que apresentaram ou não distúrbios reprodutivos no Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.....	26
Tabela 5 Avaliação da exposição ao <i>Neospora caninum</i> como fator de risco para distúrbios reprodutivos em vacas Girolando pertencentes ao Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.....	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. HIPÓTESE	2
3. OBJETIVOS	3
4. REVISÃO DE LITERATURA	4
4.1 História	4
4.2 Etiologia e Classificação Taxonômica	4
4.3 Ciclo Biológico	5
4.4 Transmissão	6
4.5 Patogenia do Aborto por <i>Neospora caninum</i>	7
4.6 Sinais Clínicos em Bovinos	8
4.7 Abortamento	8
4.8 Prevalência de <i>Neospora caninum</i>	9
4.9 Diagnóstico	10
4.9.1 Sorologia	11
4.9.2 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)	11
4.9.3 Histopatologia e Imunohistoquímica	12
4.9.4 Prova Biológica em Camundongos e Cultivo Celular	13
4.10 Diagnósticos Diferenciais	14
4.11 Fatores de Risco de Infecção e Abortamento	14
4.12 Controle e Profilaxia	15
5. METODOLOGIA	18
5.1 Tipo de estudo e aspectos éticos	18
5.2 Local do Estudo	18
5.3 População estudada e Critério de Seleção	19
5.4 Amostras	20
5.5 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	20
5.6 Associação de Anticorpos <i>anti-Neospora caninum</i> x Distúrbios Reprodutivos	22
5.7 Análises Estatísticas	23
6. RESULTADOS	24
6.1 Sorologia e associação com distúrbios reprodutivos	24
6.2 Análise Estatística	26
7. DISCUSSÃO	27
8. CONCLUSÃO	30
9 BIBLIOGRAFIA	31

1. INTRODUÇÃO

A neosporose bovina é uma doença parasitária de cães e ruminantes causada pelo protozoário *Neospora caninum*. Como uma causa iminente de aborto em bovinos, a neosporose é hoje uma doença de considerável preocupação mundial, inclusive no Brasil.

Seu estudo de grande relevância para o monitoramento e estabelecimento de estratégias de controle para minimizar os impactos sobre a saúde reprodutiva e garantir retorno em produtividade compatível com o potencial genético dos rebanhos. Trata-se de um agravo de saúde animal com importante impacto na bovinocultura, principalmente devido às perdas econômicas determinadas pela baixa performance reprodutiva.

A transmissão de *N. caninum* ocorre por meio de duas formas: a transmissão vertical e a transmissão horizontal. A forma horizontal ocorre através da ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos esporulados do parasita, que são excretados por canídeos domésticos ou selvagens, os hospedeiros definitivos de *N. caninum*. Diversos estudos mostram que o protozoário pode ser transmitido verticalmente da matriz para o concepto, ganhando relevância epidemiológica, pois contribui significativamente para o comportamento enzoótico da doença nos rebanhos.

As fêmeas bovinas podem abortar a partir do primeiro trimestre, porém, os abortamentos são mais comuns no segundo trimestre de gestação e ainda os embriões podem ser absorvidos, os fetos mumificados, podendo-se observar ainda a ocorrência de natimortos e parto a termo com neonato apresentando sinais clínicos neurológicos.

Na América Latina, a neosporose é considerada uma doença emergente em gado leiteiro, que está difundida por todo o continente, sendo relatada na Colômbia, Argentina e Venezuela com variações na prevalência de *N. caninum*.

Vários estudos sobre a neosporose bovina no Brasil demonstraram a presença do parasito em rebanhos leiteiros, relacionando-o, com abortamentos, perdas econômicas nas unidades de produção de gado leiteiro, bem como aumento nos custos indiretos associados ao diagnóstico veterinário, repetição da inseminação, perdas na produção de leite e custos de reposição pelo descarte prematuro das vacas.

O estudo da soroprevalência de *N. caninum* apresenta a sua relevância ao identificar fêmeas expostas ao agente e ainda poder associar, ou não, aos distúrbios da esfera reprodutiva nos rebanhos bovinos.

Possibilitando o devido monitoramento da evolução da doença no rebanho e o planejamento de estratégias de controle, pois uma vez a vaca infectada o agente pode permanecer na propriedade por gerações.

Poucos são os trabalhos e dados sobre neosporose bovina no estado do Rio de Janeiro, o que reforça a importância de estudos epidemiológicos nas diferentes regiões do estado, com isso, ressalta a importância desse estudo.

Permitindo conhecer a realidade da soroprevalência da neosporose bovina, suas implicações na performance reprodutiva dos rebanhos bovinos leiteiros, se essas implicações afetam vacas adultas soropositivas pertencentes a um rebanho mestiço e saudável. Levando-se em consideração o impacto econômico que essa enfermidade pode vir a causar.

Reforça a relevância deste trabalho no contexto do Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, cuja população de bovinos estudada, representa um núcleo de atividades de ensino e pesquisa em moldes de atividade produtiva e geração de conhecimentos para a formação acadêmica.

2. HIPÓTESE

Não existe associação entre a soropositividade para *Neospora caninum* e os distúrbios reprodutivos observados nas vacas Girolandos pertencentes ao Setor de bovinocultura da UFRRJ.

3. OBJETIVOS

Investigar a presença de anticorpos *anti-Neospora caninum* em fêmeas Girolando no Setor de Bovinocultura de leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ avaliando a associação entre a soropositividade e os distúrbios reprodutivos na população estudada.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 História

Neosporose foi inicialmente identificada em 1984, na Noruega, por Bjerkas et al., em uma ninhada de cães com encefalomielite, soronegativos para *Toxoplasma.gondii*, entretanto, o isolamento do parasito foi realizado por Dubey et al. (1988) em cães com encefalomielite e, antes dessa descrição, o parasito era confundido com *T. gondii*. Mcallister et al., em 1998, ao alimentar cães com tecidos de ratos infectados com *N. caninum*, detectaram a eliminação de oocistos nas fezes, inferindo que os cães eram os hospedeiros definitivos.

A neosporose bovina foi associada a surtos de abortamentos pela primeira vez em 1987, em um estudo realizado com um rebanho de bovinos de leite situado no estado do Novo México, Estados Unidos da América (EUA) (THILSTED e DUBEY, 1989).

Este agente também foi observado de forma esporádica em outras espécies pecuárias, incluindo pequenos ruminantes (DUBEY et al., 1996; BARR et al., 1992), cavalos (DUBEY et al., 1990; MARSH et al., 1996), búfalos (RODRIGUES et al., 2004; SILVA et al., 2014), galinhas (COSTA et al., 2008; BARROS et al., 2018) e nos dias atuais praticamente todos os animais de sangue quente são considerados hospederos intermediários (DUBEY et al., 2017).

Desde a sua descrição, em 1984, a neosporose tem sido alvo de muitas pesquisas no mundo inteiro, principalmente por afetar o sistema reprodutivo de bovinos, causando perdas econômicas na pecuária (DUBEY, 2003). Muitos estudos sorológicos foram conduzidos em animais domésticos e selvagens (DUBEY et al., 2011).

No Brasil, *N. caninum* foi identificado pela primeira vez na Bahia (GONDIM et al., 1999), e desde então tem sido observado em diferentes Estados, como São Paulo, Paraná, Minas Gerais, Goiás, Rio Grande do Sul e Rio de Janeiro, indicando que a neosporose está difundida pelo país (CERQUEIRA-CÉZAR et al., 2017).

Corbellini et al (2002) foram os primeiros a reconhecer a neosporose como uma importante causa de abortamento em bovinos no Brasil. Os autores documentaram lesões compatíveis com infecção por *N. caninum* em 47,8% (22/46) dos fetos submetidos à necropsia em 12 propriedades no Estado do Rio Grande do Sul. Destes, 18 fetos apresentaram encefalite e foram positivos pela imuno-histoquímica com anticorpo primário anti-*N. caninum*.

4.2 Etiologia e Classificação Taxonômica

A neosporose é uma doença parasitária de distribuição global, causada por um parasita protozoário intracelular obrigatório *Neospora caninum* (DUBEY, 2003).

Neospora. caninum encontra-se classificado como pertencente ao filo: Apicomplexa, que agrupa os parasitas que possuem um complexo apical em certos estágios do seu desenvolvimento, que confere habilidade de invadir as células do hospedeiro;

Classe: Sporozoea (parasitas com produção de esporos durante o seu ciclo de vida);

Subclasse: Coccidia (complexo apical completo);

Ordem: Eucoccidiida;

Subordem: Eimeriina (os microgametócitos produzem inúmeros microgametas);

Família: *Sarcocystidae* (ciclo biológico com um hospedeiro intermediário);

Gênero: *Neospora* (DUBEY, 1999, 2003; GOODSWEN et al., 2013).

4.3 Ciclo Biológico

Neospora caninum apresenta ciclo biológico heteroxeno obrigatório, ou seja, necessita de dois hospedeiros para completar seu ciclo de vida (Figura 1).

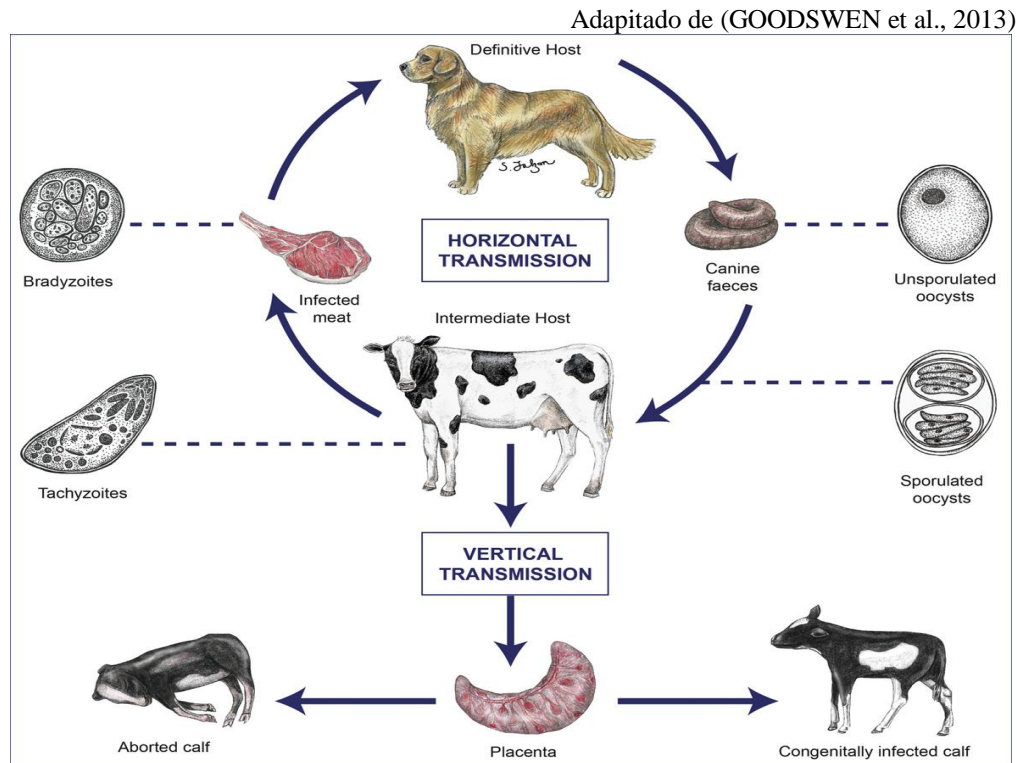


Figura 1 Ciclo biológico de *Neospora.caninum* em bovinos.

Atualmente considera-se que todos os animais de sangue quente tem potencial para serem hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 2017). O hospedeiro definitivo natural de *N. caninum* é o cão, o coiote, *Canis lupus latrans* (GONDIM et al., 2004), o dingo australiano, *Canis lupus dingo* (KING et al., 2010) e mais recentemente o lobo cinzento, *Canis lupus lupus* (DUBEY et al., 2014).

Infecções experimentais foram induzidas em camundongos, ratos, cães, raposas, caprinos, gatos, ovinos, coiotes, suínos, coelhos e bovinos (MCALLISTER e LATHAM, 2002; DUBEY; SCHARES, 2011).

Existem três formas infectantes conhecidas de *N. caninum*: esporozoítos, taquizoítos e bradizoítos. Os taquizoítos e os bradizoítos são estágios de multiplicação assexuada que ocorrem em todos os hospedeiros parasitados, enquanto que os esporozoítos estão contidos em oocistos, que são produzidos de forma sexuada e eliminados apenas nas fezes dos hospedeiros definitivos, na forma não esporulada (DUBEY et al., 2006).

A esporulação ocorre a partir de 24 horas após a eliminação dos oocistos para o ambiente, passando a ter potencial infectante (LINDSAY et al., 1999).

Quando o hospedeiro intermediário, por exemplo, a vaca, ingere os oocistos, os esporozoítos contidos no seu interior são liberados no trato gastrointestinal do hospedeiro (DIJKSTRA et al., 2002; DUBEY et al., 2007).

Os esporozoítos invadem as células epiteliais do intestino delgado e diferenciam-se em taquizoítos, que se replicam rapidamente, provocando lise celular e conseqüentemente liberados e disseminação dos mesmos, responsáveis pela fase aguda da infecção (DUBEY, 2003). Posteriormente, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos que se encistam nos

tecidos do hospedeiro, replicam-se lentamente e passam a ser a forma de persistência do parasita nos bovinos (WILLIAMS e TREES, 2006).

Os cistos teciduais podem persistir por toda a vida dos animais de sangue quente, sem causar manifestações clínicas significativas (DUBEY e LINDSAY., 1996; DUBEY et al., 2017). O ciclo é perpetuado quando há ingestão de cistos com bradizoítos pelo hospedeiro definitivo e produção de mais oocistos (DUBEY et al., 2007).

4.4 Transmissão

Em bovinos, há duas formas de transmissão bem descritas de infecção por *N. caninum*. São elas a transmissão vertical e a horizontal. A transmissão vertical ou congênita é caracterizada quando ocorre a transferência do parasita da matriz para o feto.

A transmissão vertical subdivide-se em transmissão transplacentária exógena e transmissão transplacentária endógena. A transmissão transplacentária exógena ocorre após uma infecção primária da matriz durante a gestação, através da ingestão de oocisto no alimento ou água, enquanto que a transmissão transplacentária endógena acontece após uma reativação da infecção por *N. caninum* em matrizes persistentemente infectadas (TREES e WILLIAMS, 2005).

N. caninum pode ser transmitido via transplacentária (transmissão vertical), das vacas para as suas descendências, por várias gerações. A transmissão vertical é a principal forma de infecção em bovinos e contribui para a manutenção da infecção no rebanho (ANDERSON et al., 2000; INNES, 2007).

O parasita *N. caninum* pode ser transmitido em gestações consecutivas (FIORETTI et al., 2003) ou intermitentes (DUBEY et al., 2007). Transmissão vertical mostrou-se mais eficiente em novilhas do que em vacas mais velhas (DIJKSTRA et al., 2003). Vacas em idade mais avançada tendem a ter níveis de anticorpos mais estáveis devido à estimulação antigênica prolongada depois de repetidas reativações da infecção (JENSEN et al., 1999).

As fontes de infecção para os cães precisam ainda ser determinadas, mas as placentas, os fetos abortados de bovinos e as carcaças de bezerros infectados via congênita, podem conter cistos viáveis de *N. caninum* e infectar os cães, assim como a ingestão de pequenos roedores infectados (DUBEY et al., 2007).

O DNA de *N. caninum* foi encontrado em 5 de 7 placentas de neonatos oriundos de vacas soropositivas em um rebanho no Iran (SALEHI et al., 2009). A transmissão horizontal ocorre pela ingestão de oocistos esporulados no alimento ou na água e ingestão de cistos teciduais por carnívoros (MCALLISTER et al., 1998; DIJKSTRA et al., 2001).

Os cães se infectam com a ingestão de cistos de *N. caninum* dos tecidos do hospedeiro intermediário e eliminam os oocistos nas fezes. O processo de infecção dos hospedeiros intermediários ocorre através da ingestão dos oocistos no meio ambiente (BARR, 1998).

A ingestão de oocistos esporulados presentes em água ou alimentos contaminados é o único modo natural de transmissão horizontal, demonstrado em bovinos ou herbívoros em geral. Foi demonstrado que apenas 300 oocistos de *N. caninum* foram suficientes para causar infecção em bezerros (GONDIM et al., 2002).

A transmissão horizontal entre vacas não foi ainda observada e não existem evidências de que o *N. caninum* esteja presente nas excreções ou secreções de bovinos adultos, assintomáticos (DUBEY et al., 2007).

No primeiro trimestre da gestação, o feto bovino é incapaz de responder imunologicamente contra *N. caninum* e por esta razão ele é vulnerável à infecção pelo parasita e sua sobrevivência pode tornar improvável (DUBEY et al., 2006).

Contudo, em torno de 100-150 dias, o feto começa a desenvolver a capacidade de reconhecer antígenos e produzir uma resposta imunológica contra *N. caninum*, mas, esta

resposta pode não ser efetiva contra o parasita e o feto pode morrer durante a infecção, resultando em abortamento neste período (GONZALES et al., 1999; INNES et al., 2005).

Somente no terceiro trimestre da gestação o feto é capaz de produzir uma resposta efetiva contra o parasita. Diante destas características no desenvolvimento imunológico fetal, a maioria das transmissões neste período resulta no nascimento de bezerros clinicamente saudáveis, porém, persistentemente infectados. Mesmo diante dessas características fisiopatológicas, ainda há possibilidade da matriz vir a abortar após esse período (GONZALES et al., 1999; INNES et al., 2005).

O DNA de *N. caninum* foi detectado no leite, incluindo colostro de vacas, no entanto, não há provas conclusivas de que a transmissão lactogênica de *N. caninum* ocorra na natureza (DIJKSTRA et al., 2001). Embora a presença do parasita tenha sido detectada no sêmen pelo método de PCR (ORTEGA-MORA et al., 2003) não há evidências de sua transmissão venérea naturalmente em bovinos, por ser uma via remota, doses muito altas de taquizoítos são necessárias para infecção intra-vaginal. (DUBEY et al., 2017).

4.5 Patogenia do Aborto por *Neospora caninum*.

A neosporose bovina é uma enfermidade que afeta a placenta e o feto, podendo resultar tanto de uma infecção primária como de uma infecção persistente associada à reativação do agente (DUBEY et al., 2006), possivelmente causada por uma modulação negativa da imunidade celular que ocorre durante a gestação (INNES et al., 2005; ALMERIA et al., 2017).

As lesões no feto podem ocorrer devido a lesões primárias nos tecidos causadas pela multiplicação local de *N. caninum* ou devido ao comprometimento dos mecanismos de oxigenação e/ou nutrição, secundárias a lesões na placenta (BUXTON et al., 2002; DUBEY e SCHARES, 2011). Os danos gerados pela multiplicação de *N. caninum* nos órgãos vitais do feto podem causar diretamente a sua morte (GIBNEY et al., 2008).

Uma oxigenação insuficiente do feto devido a uma insuficiência placentária na fase terminal da gestação pode provocar abortamento tardio ou um parto prematuro. Esta insuficiência da placenta leva à liberação de ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) pelo feto, originando uma estimulação adrenal fetal precoce, com aumento concomitante das concentrações de cortisol fetal, que podem induzir a secreção de estrogênios e de prostaglandinas pela placenta, causando luteólise e regressão do corpo lúteo, decréscimo da secreção de progesterona e, conseqüentemente, abortamento (em fases tardias da gestação) ou partos prematuros de bezerros infectados por *N. caninum* (BUXTON et al., 2002; DUBEY et al., 2006).

Os mecanismos de abortamento acima citados podem interagir entre si e ter especial importância em um determinado período da gestação, sendo influenciados pela fase em que a mesma se encontra (DUBEY et al., 2006; GIBNEY et al., 2008).

Fatores que provavelmente afetam o desenvolvimento da doença e a evolução da gestação, incluem o momento da infecção, a duração da parasitemia na gestação, a dinâmica da resposta imune materna durante a prenhez, e a capacidade imunológica do feto (INNES et al., 2005; INNES., 2007; ALMERIA et al., 2017).

A conseqüência e gravidade das lesões no feto dependem principalmente da sua idade e a fase imunológica que se encontra, sendo mais severa quanto mais precoce for à infecção fetal (INNES et al., 2005; INNES., 2007, ALMERIA et al., 2017). Durante o primeiro terço da gestação o feto está vulnerável à infecção por *N. caninum* ainda que seja menos provável de ocorrer neste período, quando ocorre é, na maioria dos casos, letal (DUBEY et al., 2006).

A maioria das transmissões transplacentárias resulta no nascimento de bezerros infectados, contudo clinicamente normais. Por isso, foi proposto que a transmissão ocorra

provavelmente numa fase mais tardia da gestação (INNES et al., 2005), por sua vez, a taxa de transmissão transplacentária aumenta com o tempo de gestação (GONDIM et al., 2004).

4.6 Sinais Clínicos em Bovinos

O abortamento é o principal sinal clínico, podendo ocorrer a partir do terceiro mês de gestação até a termo em vacas de qualquer idade, tanto em vacas de leite como de corte.

Os abortamentos por neosporose ocorrem principalmente entre o quinto e sexto mês de gestação. É provável que o embrião que seja abortado antes dos 45 dias não seja recuperado, isso devido ao fato dele possivelmente ser absorvido (DUBEY; SCHARES, 2011; FORT et al., 2015).

Feto que morre antes dos cinco meses de gestação tem chance de mumificar e ficar retido no útero por vários meses, algo comum de acontecer na neosporose, no entanto, aqueles que morrerem no final da gestação usualmente são expelidos (FORT et al., 2015)

Ainda, os fetos podem ser macerados, morrer ao nascer, nascer com sinais clínicos neurológicos ou nascer clinicamente normais e infectados. A matriz pode apresentar repetição de cio após passar por biotécnicas da reprodução seguidas, repetição de cio após repasse com touro, absorção embrionária, retenção da placenta e metrites (DUBEY; SCHARES, 2011; FORT et al., 2015).

As vacas com neosporose apresentam com maior frequência um intervalo entre partos superior em comparação com animais soronegativos, o aborto resultante da infecção por *N. caninum* é uma causa direta do aumento do intervalo de partos nos animais soropositivos (TREES et al., 1999; VANLEEUEWEN et al., 2010b).

4.7 Abortamento

Abortamento refere-se à expulsão de um feto do útero vivo ou morto, entre 42 dias até aproximadamente 280 dias de gestação, quando este é incapaz de sobreviver sem auxílio em um ambiente extra-uterino (HUBBERT et al., 1971). Antecedendo este período, ocorre o período embrionário que se inicia na concepção e termina nos estágios finais da diferenciação sexual, por volta de 42 dias na espécie bovina (LÓPEZ-GATIUS et al., 2004).

À morte que ocorre no período embrionário acarreta na regressão funcional e estrutural do corpo lúteo esse evento fisiológico determina o começo de um novo ciclo estral, e o animal manifesta o cio novamente (MARQUES et al., 2007).

Somente 30% a 40% dos fetos bovinos abortados apresentam diagnóstico etiológico definitivo, devido às múltiplas causas envolvidas que podem levar a esse processo (KIRKBRIDE et al., 1990). Estudos baseados em diagnósticos etiológicos realizados em fetos bovinos abortados mostram que a maioria dos casos, com causa determinada é provocada por agentes infecciosos (ANDERSON et al., 1990; ANTONIASSI et al., 2013).

O abortamento por *N. caninum* pode ter um padrão epidêmico (quando mais de 10%, 12,5% ou 15% das vacas em risco abortarem em um período de quatro, seis ou oito semanas, respectivamente) ou endêmico (quando o risco de aborto nas vacas soropositivas é superior a 5% ao longo de vários anos (BASSO et al., 2010)

Os abortamentos epidêmicos são causados por infecção pós-natal das vacas soronegativas por via horizontal, ou seja, por ingestão de oocistos esporulados. Estes são menos comuns e são caracterizados por afetarem um grande número de vacas gestantes durante um curto período de tempo. Os abortamentos endêmicos estão associados a grupos de vacas cuja via principal de transmissão é a vertical, através da reativação da infecção pelo

N. caninum, ocorrendo em menor número e ao longo de vários anos (DUBEY e SCHARES, 2006; ANDERSON, 2007; BASSO et al., 2010; DUBEY e SCHARES, 2011).

4.8 Prevalência de *Neospora caninum*

A prevalência de *N. caninum* em bovinos varia consideravelmente entre países, mas também dentro de cada país e entre regiões diferentes. Os resultados diferentes de soroprevalência devem ser comparados com cautela, devido à utilização de diferentes métodos de análise sorológica e distintos valores para o ponto de corte aplicado (DUBEY et al., 2007).

A neosporose bovina ocorre em diversos países como Canadá, com soroprevalências de 5,6-7,0% no oeste e em Quebec e Ontario com prevalência de 7,5 e 8,2% respectivamente, nos EUA com soroprevalências de 16,7 %, Reino Unido com 12,9%, México com números variando entre 11,6 a 20,0% e Espanha com 22,5% (Tabela 1) (HADDAD et al 2005., DUBEY; SCHARES, 2011).

Na América Latina, a neosporose é considerada uma doença emergente em gado leiteiro e difundida por todo o continente, sendo relatada na Colômbia, Argentina e Venezuela com variações na soroprevalência de anticorpos anti-*N. caninum* (DARÍO, 2003; LISTA-ALVEZ, 2006; CAMPERO et al., 2009; PULIDO-MEDELLIN, et al., 2016).

No Brasil a neosporose bovina também se encontra difundida por vários Estados, tais como, Goiás com soroprevalências de 29,6-43,3%, Mato Grosso do Sul com 9,1-43,0%, Minas Gerais com 12,7-97,7%, Paraná com 14,3-34,8%, Rio de Janeiro com 6,7-23,2% (Tabela 2) (CERQUEIRA-CÉZAR et al., 2017).

Tabela 1 Pesquisa de anticorpos anti- *Neospora. caninum* em bovinos em diferentes países (adaptado de Dubey; Schares et al., 2011).

Países	Nº Animais	% de positivos	Teste	Referência
Argentina	4190	14,2	RIFI	Moore et al. (2009)
	1042	25,5	RIFI	Moore et al. (2008)
	173	80,9	RIFI	Moré et al. (2009)
Alemanha	1950	1,0	ELISA	Schares et al. (2009)
Austrália	266	24	RIFI	Atkinson et al. (2000)
Canada	2425	20	ELISA	VanLeeuwen et al. (2010)
EUA	900	16,7	ELISA	Hoar et al. (2007)
Espanha	37090	22,5	ELISA	Eiras et al. (2011)
Portugal	1237	46	ELISA	Canada et al. (2004a)
Suécia	120	16	ELISA	Bartels et al. (2006)
México	813	11,6	ELISA	Segura-Correa et al (2010)
	863	26,0	ELISA	Romero Sales et al. (2010)
Colômbia	1000	45	ELISA	Medellin et al. (2017)
Itália	1140	11	ELISA	Otranto et al. (2013)
Holanda	100	76	ELISA	Bartels et al. (2006)
Reino Unido	15736	12,9	ELISA	Woodbine et al. (2008)

Tabela 2 Pesquisa de anticorpos anti- *Neospora. caninum* em bovinos no Brasil (adaptado de Cerqueira-Cézar et al., 2017).

Estado	No. Animais	% positivos	Teste	Referência
Bahia	447	14,0	RIFI	Gondim et al. (1999a)
Goiás	30	43,3	RIFI	Melo et al. (2006)
Goiás	456	29,6	RIFI	Melo et al.(2006)
Mato Grosso	932	53,5	RIFI	Benetti et al. (2009)
Mato Grosso do Sul	197	33,5	ELISA	Chahan et al. (2003)
Mato Grosso do Sul	60	30,0	ELISA	Andreotti et al. (2004)
Mato Grosso do Sul	2448	14,9	RIFI	Oshiro et al. (2007)
Mato Grosso do Sul	392	9,1	RIFI	Mello et al. (2008)
Mato Grosso do Sul	1098	62,5	RIFI	Andreotti et al. (2010)
Minas Gerais	559	91,2	RIFI	Guedes et al. (2008)
Minas Gerais	575	97,2	RIFI	Guedes et al. (2008)
Minas Gerais	503	12,7	RIFI	Guedes et al. (2008)
Minas Gerais	1,204	21,6	RIFI	Bruhn et al. (2013)
Pará	500	52	ELISA	Silva et al. (2017)
Paraná	172	34,8	RIFI	Locatelli-Dittrich et al. (2001)
Paraná	159	15,1	ELISA	Marques et al. (2011)
Paraná	309	20,4	RIFI	Martins et al. (2012)
Paraná	94	24	RIFI	Langoni et al.(2013)
Paraná	76	30,3	ELISA	Nascimento et al.(2014)
Pernambuco	469	31,7	RIFI	Silva et al. (2008)
Rio de Janeiro	75	22,7	RIFI	Ragozo et al. (2003)
Rio de Janeiro	75	6,7	RIFI	Ragozo et al. (2003)
Rio de Janeiro	563	23,2	ELISA	Munhoz et al. (2006, 2009)
Rio de janeiro	80	19	ELISA	Boa-Morte et al.(2009)
Rio Grande do Sul	70	21,4	RIFI	Ragozo et al. (2003)
Rio Grande do Sul	1,549	17,8	RIFI	Corbellini et al. (2006)
Rio Grande do Sul	781	11,4	ELISA	Vogel et al. (2006)
Rondônia	621	10,6	RIFI	Boas et al. (2015)
Santa Catarina	1518	30,6	RIFI	Fávero et al. (2017)
Santa Catarina	130	43,8	RIFI	Klauck et al. (2016)
São Paulo	505	20,0	ELISA	Sartor et al. (2005)
São Paulo	408	35,5	ELISA	Sartor et al. (2005)
São Paulo	1027	10,4	RIFI	Cardoso et al. (2012a)
Tocantins	192	25,0	RIFI	Martins et al. (2011)

Ao observar a tabela 2, podemos notar que o Estado com maior prevalência é o de Minas Gerais, isso provavelmente devido ser uma região de grande importância na pecuária leiteira, ao tipo de exploração e o grande rebanho bovino. Outro estado com prevalência elevada é Mato Grosso do Sul.

Um dos estados com menor prevalência é o Rio de Janeiro, isso possivelmente por não apresentar uma pecuária leiteira e de corte de grande expressão, além dos poucos estudos epidemiológicos realizados nas diferentes regiões do mesmo. Estas observações estão de acordo com o estudo feito por Ragozo et al. (2003), realizado em 6 estados diferentes.

4.9 Diagnóstico

O diagnóstico de neosporose bovina pode ser realizado pelas técnicas que revelam a presença do parasito, como histologia, imunohistoquímica e reação em cadeia da polimerase (PCR), ou por técnicas que evidenciam a presença de anticorpos, como reação de imunofluorescência indireta (RIFI), métodos imunoenzimáticos (ELISA) e sorologia, por de amostras de soro materno e fetal (JOURNEL e PITEL, 2001).

A confirmação laboratorial é realizada pelo diagnóstico parasitológico, com o exame histopatológico e imuno-histoquímico, a reação em cadeia da polimerase (PCR), e o isolamento dos parasitas mediante a inoculação do material suspeito em cultivo celular ou em animais de laboratório (DUBEY e LINDSAY, 1996).

4.9.1 Sorologia

A sorologia é utilizada como método diagnóstico nos estudos epidemiológicos de abortamentos causados por *N. caninum*. O sorodiagnóstico é uma técnica utilizada mais para avaliar a exposição e o risco de infecção por *N. caninum* de um rebanho, do que para o diagnóstico etiológico de abortamento em um animal, sendo assim uma importante ferramenta para monitoramento, controle da doença nos rebanhos bovinos e prevenção, no que diz respeito à introdução de novos animais no rebanho (DUBEY e LINDSAY, 1996, CORANTHS e SCHARES, 2006).

A detecção de anticorpos circulantes contra o *N. caninum* no soro da vaca representa apenas um indicador de exposição ao agente, sendo necessária a análise do feto abortado para um diagnóstico definitivo (JENKINS et al., 2002; HALL et al., 2005). Apesar da semelhança entre *N. caninum* e *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis* spp e outros protozoários do filo Apicomplexa, não existe reação cruzada na maior parte dos testes sorológicos (CANADA et al., 2004b).

Nos bovinos jovens e adultos, anticorpos específicos contra *N. caninum* começam a aparecer na circulação alguns dias após a infecção primária e a obtenção de resultados positivos pode ocorrer 14 dias após à exposição ao agente (BARTLEY et al., 2004). Os títulos de anticorpos específicos podem persistir ao longo de toda a vida do animal infectado, mas não são constantes e flutuam ao longo do tempo, estando, por vezes, abaixo do limiar de positividade dos testes sorológicos (HALL et al., 2005; DUBEY e SCHARES, 2006).

Foi desenvolvido um grande número de testes ELISA para detectar anticorpos específicos contra *N. caninum* no soro de animais infectados, podendo alguns destes testes ser também utilizados na medição das concentrações de anticorpos no leite (BARTLES et al., 2006).

Os testes ELISA podem ser modificados para aumentar a sensibilidade ou a especificidade e apresentar um valor destes dois parâmetros superior ao do teste de imunofluorescência indireta. Todavia, no ELISA pode-se encontrar reação cruzada com outros protozoários do filo Apicomplexa (DUBEY; SCHARES, 2011).

O método de RIFI foi o primeiro teste empregado no diagnóstico sorológico da neosporose, por Dubey et al (1988). A RIFI é a metodologia de referência para pesquisa de anticorpos de *N. caninum*, considerada como padrão ouro, um teste para calibração e comparação com os novos testes (MOORE et al., 2002).

O princípio do método da RIFI é a detecção de anticorpos direcionados aos antígenos da superfície celular dos taquizoítas. O ponto de corte “cut-off” indicativo de infecção em bovinos ainda não foi totalmente padronizado, porém em revisão sobre o *N. caninum*, foi considerado como específico o ponto discriminativo de 1:200 (DUBEY ; LINDSAY, 1996). Packham et al. (1998) relataram 98% de sensibilidade e 99% de especificidade no teste RIFI usando um título de corte de 1: 160.

4.9.2 PCR (Reação em Cadeia da Polimerase)

A detecção direta de *N. caninum* no animal infectado, em detrimento da detecção de anticorpos indicativos de exposição ao agente, inclui a PCR (WESTON et al., 2012). A PCR é um meio de diagnóstico importante na detecção de DNA de *N. caninum* nos tecidos de fetos

abortados, em particular quando estes se encontram bastante autolisados, na procura de outros hospedeiros intermediários, bem como na análise de líquido amniótico, de fluido espinhal e de fezes de hospedeiros definitivos contaminadas com oocistos (DUBEY e SCHARES, 2006). Esta técnica ainda pode ser utilizada na pesquisa de DNA de *N. caninum* no sangue, no sêmen, no leite e no colostro (FERRE et al., 2005; MOSKWA et al., 2007).

O cérebro dos fetos abortados aparenta ser a melhor amostra para detecção de *N. caninum* por PCR na investigação de casos de abortamento, mas o coração, os pulmões, os rins e a placenta apresentam, também, resultados interessantes (BASZLER et al., 1999; CORANTHS e SCHARES, 2006).

É um método muito seguro, com alta especificidade e sensibilidade quando comparado com os outros métodos, porém esta alta sensibilidade também é uma desvantagem ao mesmo tempo, devido à chance de ocorrerem reações cruzadas com outros protozoários, gerando assim falsos positivos, se não for eficientemente controlado, por isso a importância da escolha do laboratório que irá realizar o teste (DUBEY e SCHARES, 2006).

A PCR é uma ferramenta largamente utilizada na detecção do DNA do parasito, entretanto sua eficiência depende das condições do laboratório que realizará a técnica e da manipulação da amostra (DUBEY et al., 2003; DUBEY et al 2017).

4.9.3 Histopatologia e Imunohistoquímica

O exame histopatológico de fetos abortados é essencial na busca de evidências da infecção por *N. caninum*, sendo o cérebro considerado o órgão de eleição para análise, ainda que outros tecidos como os do coração, do fígado, dos pulmões e da placenta possam ser utilizados e ter um papel significativo no aumento da probabilidade de diagnosticar a infecção (DUBEY e LINDSAY, 2006; ANDERSON, 2007).

Contudo, muitos fetos abortados, e em particular os seus cérebros, encontram-se autolisados, o que reduz a sensibilidade do exame e dificulta o diagnóstico (DUBEY e SCHARES, 2006; PESCADOR et al., 2007). Histologicamente o *N.caninum* não foi demonstrado em tecidos de bezerros mais velhos que oito semanas de idade (REGIDOR-CERRILLO et al., 2008).

As lesões de carácter degenerativo ou inflamatório encontradas no feto localizam-se com maior frequência no sistema nervoso central, no coração, no fígado e nos pulmões (DUBEY et al., 2006).

As lesões macroscópicas são raras, mas podem ser encontradas no coração, no músculo esquelético e no cérebro; podem ainda ser observados focos de descoloração nos cotilédones. Nos músculos esqueléticos e no coração podem ser observados focos esbranquiçados, enquanto que no cérebro pode observar-se hidrocefalia associada a pequenos focos de necrose (DUBEY et al., 1998; FIORRETI et al., 2003).

As lesões microscópicas presentes no cérebro consistem em áreas multifocais de encefalomielite não supurativa, com ou sem necrose multifocal e infiltrado leucocitário não supurativo, que pode apresentar-se de forma multifocal a difusa. Ainda pode-se observar infiltrados de células mononucleares em torno de uma área central de necrose onde se encontram formas infectantes de *N. caninum*, o que constitui o tipo de lesão característica da neosporose no sistema nervoso central (DUBEY e LINDSAY, 1996; BARR et al., 1990; CORBELLINI et al., 2002; PESCADOR et al., 2007).

No miocárdio as lesões consistem em miocardite não supurativa com infiltração focal de células mononucleares e necrose mínima. As lesões no fígado, por sua vez, compreendem hepatite periportal com infiltração de células mononucleares e necrose hepatocelular multifocal associada a trombos de fibrina (BARR et al., 1990; WOUDA et al., 1997). As

lesões na placenta estão localizadas nos cotilédones e consistem na presença de áreas focais de necrose associadas à placentite não supurativa (MALEY et al., 2003).

A gravidade das lesões e quantidade de *N. caninum* presentes nos vários órgãos do feto são superiores nos fetos provenientes de abortamentos ocorridos durante o primeiro e segundo trimestres da gestação (COLLANTES-FERNANDES et al., 2005, 2006).

Muito importante para realização da histopatologia é que o examinador tenha muita experiência e se questione quanto à gravidade das lesões associadas com *N. caninum* nos cérebros e nos corações dos fetos abortados e se tais lesões podem matar o feto. Para estabelecer uma relação de causa e efeito é importante usar uma abordagem diagnóstica abrangente utilizando sorologia, imuno-histoquímica e outros métodos para demonstrar a infecção no feto abortado. Para alcançar este objetivo, importante demonstrar taquizoítos *N. caninum* em lesões, e excluir outras causas de abortamento (ANDERSON et al., 1991; BARR et al., 1991a; WOUDA et al. 1997).

Devido à dificuldade de se observar taquizoítos de *N. caninum* nos cortes histológicos é recomendado o uso da técnica de imuno-histoquímica, especialmente se encontrarmos a presença de lesões compatíveis com a neosporose (DUBEY e SCHARES, 2006).

Esta técnica consiste no uso de anticorpos primários que se ligam aos antígenos de *N. caninum* presentes nos tecidos dos cortes histológicos, sendo a reação visualizada pela aplicação de reagentes que localizam e coram o complexo antígeno-anticorpo (WOUDA e BUXTON, 2007; PESCADOR et al., 2007).

Esta técnica tem permitido a localização mais frequente do *N. caninum* no cérebro e no coração, sendo o primeiro o órgão de eleição para este exame, apesar de outros tecidos como o coração, o fígado e a placenta poderem, também, ser utilizados (WOUDA et al., 1997).

4.9.4 Prova Biológica em Camundongos e Cultivo Celular

Culturas celulares e inoculações de camundongos também podem ser usadas para recuperar *N. caninum* de tecidos de animais (DUBEY e LINDSAY., 1996). O sucesso do isolamento depende do número de organismos presentes e o estado de autólise.

O isolamento e cultivo *in vitro* de *N. caninum* é difícil como técnica de diagnóstico. Primeiramente cultivado em monócitos e células do endotélio de artéria cardiopulmonar de bovinos, os taquizoítos cultivados em outros tipos de células, tais como células Vero, rim de bovino, fibroblasto humano, cérebro de feto de camundongo e uma série de outras linhagens de células estabelecidas em laboratório (DUBEY e LINDSAY., 1996). Apenas taquizoítos foram identificados em cultivos celulares para animais. Alguns isolados de *N. caninum* multiplicam-se mais rapidamente que outros taquizoítos (INNES et al., 1995).

Em 2001, Gondim et al. comprovaram a eficiência dos gerbilos em desenvolver a infecção após inoculação do parasito, além de produzir grande número de cistos teciduais sem que fossem necessariamente imunossuprimidos.

Os camundongos são comumente usados como modelos laboratoriais para estudo da neosporose, isolamento das formas do parasito em diferentes hospedeiros ou desenvolvimento de vacinas (DUBEY et al., 2006) Normalmente, os animais usados são imunodeficientes ou imunossuprimidos em decorrência da ausência de patogenicidade do parasito em roedores de laboratório (RETTINGER et al., 2004).

4.10 Diagnósticos Diferenciais

Nos casos de abortamento e morte perinatal, além da neosporose, as doenças com maior destaque são brucelose e leptospirose. *Staphylococcus*, campilobacteriose, tricomoníase, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD), clamidiose, fungos e leveduras devem ser pesquisadas, assim como causas não infecciosas, tais como, traumas, plantas tóxicas, estresse.

4.11 Fatores de Risco de Infecção e Abortamento

O conhecimento dos fatores de risco associados à infecção por *N. caninum* é de extrema importância no estudo epidemiológico da neosporose bovina. Na análise dos fatores de risco associados a abortamentos por *N. caninum* é importante mencionar a existência de dois tipos de risco: o risco de uma vaca se infectar com o parasita e o risco de uma vaca infectada abortar (HEMPHILL et al., 2000). Apesar destes dois tipos diferentes de fatores de risco estarem positivamente associados, são influenciados por fatores diferentes (DUBEY et al., 2007).

O cão doméstico é um hospedeiro definitivo de *N. caninum*. Por haver a possibilidade da infecção de bovinos pela ingestão de oocistos excretados nas fezes (HEMPHILL et al., 2000), a presença de cães nas explorações de bovinos de leite (BLUMRODER et al., 2006), bem como o seu número, representam um fator de risco para os rebanhos (SCHARES et al., 2004).

Os cães podem excretar oocistos após a ingestão de tecidos de bovinos contaminados, como o tecido nervoso, muscular, visceral, membranas fetais e placenta (DIJKSTRA et al., 2001; DUBEY et al., 2007).

A presença de fezes de cão nos comedouros, bebedouros, nos silos ou em outros locais de estocagem de alimento encontra-se mais frequentemente associada a rebanhos com evidências de transmissão horizontal (DIJKSTRA et al., 2001). Outro fator potencial de risco de infecção poderá ser a presença de cães nos arredores da exploração (SCHARES et al., 2004).

O risco de uma vaca se tornar soropositiva para *N. caninum* pode aumentar com a idade, quanto mais tempo as vacas vivem, maiores as chances de se infectarem no ambiente ou com o número de gestações, isso devido às alterações fisiológicas decorrentes desse processo (DYER et al., 2000). Quanto mais tempo os animais vivem, maior a probabilidade e as oportunidades de se infectarem (DUBEY et al., 2007).

Os bovinos de leite apresentam maior probabilidade de serem soropositivos para *N. caninum*, por estar relacionado ao manejo mais intensivo deste tipo de exploração e ao fato da longevidade das vacas de leite ser maior que das vacas de corte (BARTELS et al., 2006).

Um estudo demonstrou que o risco de infecção fetal é afetado por pelo menos 2 fatores importantes: o número de oocistos e o tempo de gestação quando os oocistos são consumidos. Neste estudo, o risco de transmissão transplacentária aumentou no período final da gestação e com doses maiores de oocistos, a dose mínima para gerar infecção transplacentária foi de 1500 oocistos (GONDIM et al., 2004b).

O risco de soropositividade dos animais tende a ser diretamente proporcional ao tamanho das explorações e/ou população de animais no ambiente geográfico das mesmas (OTRANTO et al., 2003). Outra explicação para qualificar o tamanho da exploração como fator de risco está na dificuldade em aplicar medidas de higiene adequadas nas grandes explorações, para prevenir o contato dos cães com material infeccioso (SCHARES et al., 2004).

Outros fatores tais como a fonte de água ofertada, local e forma de armazenamento do alimento, acesso a pastagem e forma de alimentação devem ser considerados (MCALLISTER et al., 2016; FÁVERO et al., 2017). Temperaturas altas podem constituir um fator de risco de infecção em potencial (SCHARES et al., 2004; LOPEZ-GATIUS et al., 2005a), porque podem favorecer uma esporulação mais rápida dos oocistos de *N. caninum*, presentes nos alimentos e no ambiente.

Avaliando o risco de abortamento, Lopez-Gatius et al. (2004) concluíram que as vacas soropositivas para *N. caninum* podem apresentar 12 a 19 vezes mais chances de abortamento em comparação com animais soronegativos.

Vários estudos demonstram que vacas soropositivas cronicamente infectadas possuem cerca de duas a três vezes mais chances de abortar em comparação com vacas soronegativas (PARE et al., 1997; WOUDA et al., 1998a). Efetivamente, vários estudos relacionaram um aumento do risco de aborto ao aumento dos níveis de anticorpos contra *N. caninum* (LOPEZ-GATIUS et al., 2005; ALMERIA et al., 2009).

Em um estudo recente Fávero et al. (2017), encontraram uma associação significativa entre a presença de problemas reprodutivos e neosporose, vacas com histórico de problemas reprodutivos foram 25% mais prováveis de serem positivas para *N. caninum*.

Um menor risco de abortamento foi observado em vacas de corte infectadas em comparação com vacas leiteiras, assim como em rebanhos predominantemente compostos por animais zebuínos ou mestiços, quando comparados com rebanhos de animais puramente de sangue taurino (DE MEERSCHMAN et al., 2000; GUIMARÃES-JUNIOR et al., 2004; LOPEZ-GATIUS et al., 2005c; MUNHOZ et al., 2009).

4.12 Controle e Profilaxia

A influência de vários fatores de risco de infecção e/ou abortamento associados à neosporose varia consideravelmente entre tipos de explorações e produções. Assim, as estratégias de controle devem ser adequadas a cada exploração e sempre tendo em vista a análise dos custos e benefícios de cada protocolo a ser aplicado.

A adoção de medidas de controle depende da localização geográfica, tipo de manejo da exploração, da soroprevalência observada na propriedade, do principal tipo de transmissão identificado, diagnósticos de animais soropositivos, da existência ou não de um programa de biossegurança e da avaliação dos efeitos da infecção no desempenho reprodutivo e produtivo dos animais e, conseqüentemente, no desempenho econômico da exploração (TREES e WILLIAMS, 2005; DUBEY et al., 2007; MCALLISTER et al., 2016; GUIDO et al., 2016).

Nos rebanhos negativos para *N. caninum* o principal objetivo é prevenir a introdução do agente na exploração pela implementação de medidas de biossegurança (HADDAD et al., 2005), enquanto que nas explorações com neosporose, devem-se adotar programas de controle focados no decréscimo da transmissão vertical, pela redução de animais soropositivos, e/ou da transmissão horizontal, e pelo controle dos hospedeiros definitivos.

Apesar do descarte dos animais infectados por *N. caninum* ser uma medida de controle, nem sempre é vantajosa do ponto de vista econômico, pois o descarte das vacas soropositivas que apresentam distúrbios reprodutivos como o abortamento ou a não utilização para reprodução destas vacas não é economicamente compensatório (HALL et al., 2005; DUBEY et al., 2007).

Deve-se levar em consideração que esta estratégia é recomendada apenas em explorações com predominância da transmissão vertical de *N. caninum*. As vacas descartadas ou excluídas da reprodução devem ser substituídas apenas por vacas soronegativas (DUBEY et al., 2007).

Todas as explorações devem testar todos os animais que adquirem para reposição do efetivo, mantendo-os em quarentena até confirmação da soronegatividade, e optar por explorações livres de neosporose ou com registros de bom desempenho reprodutivo (DUBEY et al., 2007; GUIDO et al., 2016).

A presença de cães deve ser evitada. Se não for possível, deve-se criar condições que impeçam o seu acesso ao estábulo, a zonas de armazenamento de alimentos e tecidos de hospedeiros intermediários infectados (fetos abortados, membranas fetais, entre outros) e, ainda adotar medidas de higiene adequadas para controlar a contaminação do ambiente com as fezes dos mesmos (GONDIM et al., 2004; MCALLISTER et al., 2016).

Medidas para o controle da qualidade da água e prevenção da sua contaminação com fezes de hospedeiros definitivos devem também ser implementadas e medidas que visem à eliminação dos roedores presentes, reduzindo o potencial risco de infecção dos hospedeiros definitivos (DUBEY et al., 2007; MCALLISTER et al., 2016).

Deve-se evitar ao máximo fatores que alterem o equilíbrio imunológico durante a gestação, tais como, o estresse e desequilíbrios na dieta (BARTELS et al., 1999), além de contextualizar o conforto ambiental e bem-estar animal (sombreamento, água de qualidade, movimentação adequada da população evitando estresse e higiene das instalações) no manejo da propriedade.

A vacinação dos bovinos contra a neosporose é uma eventual medida de controle ainda não disponível no mercado (DUBEY e SCHARES, 2011). A única vacina comercial contra o abortamento por *N. caninum* criada até hoje (Bovilis® Neoguard) mostrou baixa eficácia, provavelmente por não demonstrar proteção suficiente caso os animais já tenham sido infectados e também uma baixa eficácia, de 40% (WESTON et al., 2012).

4.13 Tratamento

Não existem vacinas ou quimioterapia seguras e eficazes contra a neosporose bovina até o momento, desta forma medidas de controle e profilaxia fundamentados nos aspectos epidemiológicos conhecidos até o momento devem ser realizadas com o intuito de evitar a disseminação da doença. (DIJKSTRA et al. 2002; HERNANDEZ et al., 2017).

4.14 Impacto econômico

O impacto econômico depende, além do valor dos fetos abortados, dos custos indiretos com assistência veterinária e testes diagnósticos, aumento do tempo de lactação e do intervalo de partos, queda na produção de leite e descarte de animais (HERNANDEZ et al., 2001; KAMGA-WALADJO et al., 2010; LUCCHESI et al., 2016).

A estimativa para o custo total médio das perdas econômicas que *N. caninum* causa no mundo superou 1,298 bilhão de dólares por ano, chegando a 2,380 bilhões dólares. Dois terços dos custos globais de 1,298 bilhões de dólares por ano são estimados que ocorram na América do Norte (852,4 milhões dólares (65,7%)), seguido pela América do Sul (239,7 milhões dólares (18,5%)) e Austrália, que corresponde a 10,6% das perdas globais em um valor médio de 137,5 milhões de dólares anuais. Quando o foco é voltado para as fazendas, a perda média por fazenda foi estimada como sendo de 1,600 dólares (faixa de 100 a 68,000 dólares) somente na indústria de laticínios, e 150 dólares para a indústria de carne bovina (faixa de 100 a 2,800 dólares) (REICHEL et al., 2013).

Nos EUA, as perdas médias anuais devido ao *N. caninum* foram estimadas em torno de 546,3 milhões dólares na indústria de laticínios (faixa de 165,8 milhões a 721,9 milhões dólares), enquanto na fazenda os custos médios foram 12,200 dólares (faixa, 3,700 a 16,100 dólares). Na indústria de carne bovina, as perdas médias anuais foram estimadas em 111,4 milhões de dólares (64,3 milhões a 205,7 milhões) (REICHAL et al., 2013).

Na Argentina, o impacto econômico gerado em todo o país foi estimado em 87,4 milhões de dólares por ano, com 38,5 milhões vindos da indústria de laticínios e 48,9 milhões pela indústria de carne bovina. No nível da fazenda, produtores de leite tinham em média uma perda de 4,000 dólares causada pelo *N. caninum*. No Brasil, estima-se que os produtores de leite tenham prejuízos de 51,3 milhões de dólares por ano a nível nacional (variando em média de 35,8 milhões a 111,3 milhões), enquanto as perdas no nível da fazenda giram em torno de 100 dólares. Na indústria de carne bovina brasileira, as perdas causadas pela infecção por *N. caninum* estão em 101 milhões de dólares ano (variando de 63,6 milhões a 111,7 milhões) (MOORE et al., 2013, REICHAL et al., 2013)

5. METODOLOGIA

5.1 Tipo de estudo e aspectos éticos

Trata-se de um estudo transversal tendo sido avaliado causa e efeito simultaneamente, considerando-se as fêmeas expostas (soropositivas) e não expostas (soronegativas) como causa e os distúrbios reprodutivos como efeito da exposição ao agente etiológico.

Este estudo foi aprovado no uso de animais em experimentação pela Comissão de Ética na Pesquisa da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da UFRRJ no processo número 23083003045/2014-72 em 30/11/2014.

5.2 Local do Estudo

Este estudo foi desenvolvido no Setor de Bovinocultura de Leite da UFRRJ (Figura 2), localizado no município de Seropédica-RJ (latitude: 22° 46'56. S; longitude: 43° 39'41.O).

Arquivo pessoal



Figura 2: Setor de bovinocultura de leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

5.3 População estudada e Critério de Seleção

O Setor possui um rebanho total de 130 bovinos (vacas, bezerras, novilhas, touros). Amostras de sangue de 40 vacas leiteiras, todas da raça Girolando, em fase reprodutiva, múltiparas, secas ou em lactação, criação semi-intensiva com idade entre 4 a 8 anos, foram coletadas para avaliação sorológica de anticorpos anti-*Neospora caninum* (Figura 3).

Procurou-se observar durante as coletas das amostras e as demais visitas no Setor se havia a presença de cães errantes, tanto no Setor, como nos arredores. O abortamento ou distúrbios reprodutivos não foram utilizados como critérios de seleção.

O rebanho possui controle de Brucelose e Tuberculose como preconizado pelo Programa Nacional de Controle e Erradicação da Brucelose e Tuberculose (PNCEBT), com imunização com a vacina B19 para fêmeas de 3 a 8 meses de idade e animais com mais de 24 meses testados para Brucelose e Tuberculose. Também eram realizadas vacinação para prevenção de Febre Aftosa, Leptospirose e Raiva.

O controle de endoparasitas e ectoparasitas (helmintos, carrapatos e berne) além da Mastite foi realizado de forma estratégica de acordo com os protocolos planejados pelo Médico Veterinário Servidor da UFRRJ, responsável pelo Setor.

Arquivo pessoal



Figura 3: População de animais do Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, avaliada do estudo.

5.4 Amostras

As amostras de sangue foram coletadas todas no mesmo dia, no mês de Outubro de 2017 pela veia epigástrica superficial cranial por meio de tubo Vacutainer[®] sem coagulante de 5 mL, identificadas e ao término das coletas, rapidamente transportadas no isopor com gelo reciclável até o Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC), onde foram armazenadas na geladeira.

Esperou-se um dia para retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 5.000 rpm por 10 minutos na centrífuga de bancada (Nova, NI1811), no LCC para obtenção dos soros. Estes foram acondicionados em microtubos de plástico de 1,5 mL em duplicata, sob a temperatura de -20°C até o momento da realização da técnica de RIFI, selecionando assim os animais soropositivos e soronegativos para os anticorpos anti-*N. caninum*.

5.5 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos foi realizada no Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC) do Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ. Todo o procedimento foi realizado segundo as orientações do fabricante do kit (Imunoteste[®], *Neospora caninum* (IFAT) – Bovino, Immunodot, Jaboticabal, SP, Brazil) para detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos.

Inicialmente preparou-se tampão fosfato salino (PBS) []x10, 450 mL de água destilada mais 50 mL de PBS []x10, em seguida centrifugou-se o soro das amostras coletadas por 10 minutos a 5.000 rpm na centrífuga de bancada (Nova, NI1811). O soro foi diluído em PBS na proporção de 1:200 sendo adicionado 10 microlitros dos soros testes diluídos nas suas respectivas cavidades da lâmina do kit e 10 microlitros do soro positivo e negativo nas suas cavidades receptivas (Figura 4A). Posteriormente, a lâmina foi colocada na câmara úmida e levada à estufa a 37°C por 30 minutos. As lâminas foram lavadas na cuba de vidro para lâminas, com PBS e levadas ao agitador por 5 minutos, com posterior retirada do excesso de PBS por agitação manual, repetindo-se por 3 vezes esse procedimento, deixando secar na estufa por 4 minutos a 37 °C.

A partir desse momento, todo o procedimento foi realizado no escuro, preparando o conjugado, microtubo envolto por papel alumínio, pipetando-se 140 microlitros do conjugado com 14 microlitros do Azul de Evans. Em seguida, adicionou-se 10 microlitros do conjugado nas cavidades da lâmina, incubando-se em câmara escura na estufa por 30 minutos, lavando novamente com PBS 3 vezes com posterior secagem na estufa por 5 minutos a 37 °C.

Procedeu-se à montagem da lâmina com lamínula e glicerina, observando em microscópio com sistema de epifluorescência da marca (Zeiss Axio[®] Lab a1) na objetiva de 400x (Figura 4B). As amostras foram consideradas positivas quando apresentaram nítida fluorescência esverdeada na periferia total dos taquizoítos. Reações parciais ou apicais foram interpretadas como negativas (Figura 5).



Figura 4: A) Em A, preparo das amostras para sorologia; Em B, microscópio equipado com sistema de epifluorescência, Laboratório de Coccídios e Coccidioses da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

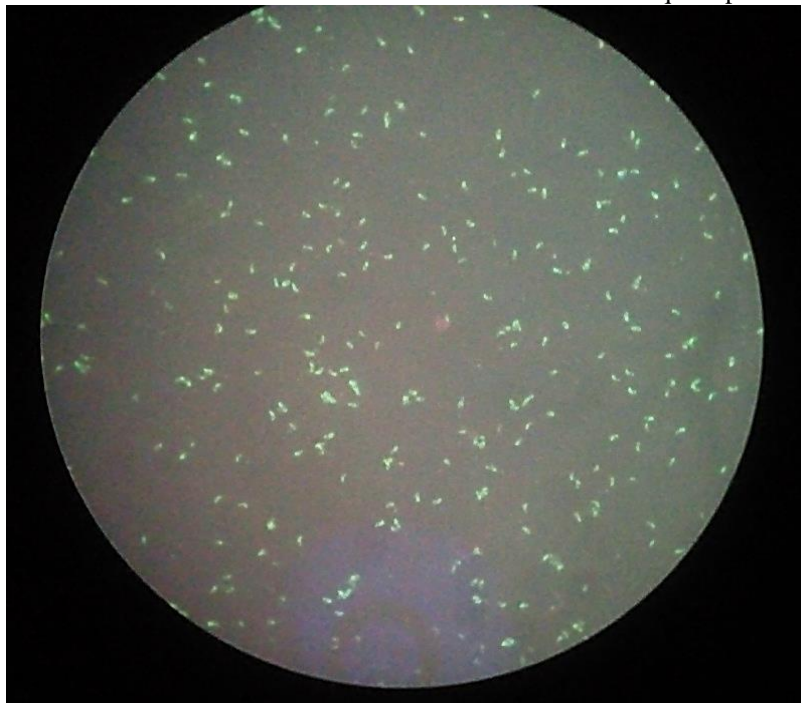


Figura 5: Taquizoitos com fluorescência periférica total 400x.

5.6 Associação de Anticorpos *anti-Neospora caninum* x Distúrbios Reprodutivos

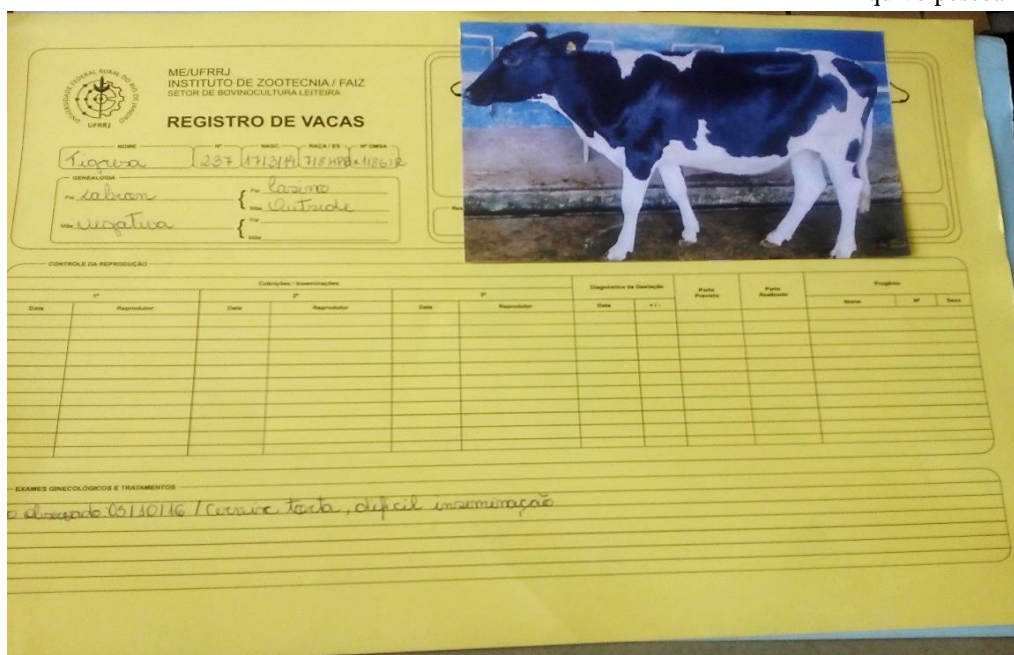
A partir dos resultados sorológicos se verificou a existência de associação ou não com manifestação de distúrbios reprodutivos por meio da análise e avaliação do histórico reprodutivo das vacas nos últimos dois anos (Outubro 2017 até Outubro 2018) e o acompanhamento dos animais durante o decorrer do estudo.

A pesquisa do histórico se deu por meio da avaliação de fichas técnicas com informações zootécnicas e sanitárias das vacas do Setor de Bovinocultura de Leite da UFRRJ, no período de Outubro de 2017 até Outubro de 2018 (Figura 6).

As alterações reprodutivas avaliadas foram:

- Volta ao estro com longo período de serviço e intervalo de partos;
- Repetição de cio após 3 IA ou IATF;
- Retorno ao cio após repasse por touro;
- Abortamentos em qualquer fase da gestação;
- Retenção da placenta;
- Infecções uterinas inespecíficas;
- Fetos mumificados e macerados;
- Absorção embrionária;
- Natimortos;

Arquivo pessoal



A imagem mostra uma ficha zootécnica de uma vaca, intitulada "REGISTRO DE VACAS", emitida pelo ME/UFRRJ - Instituto de Zootecnia / FAIZ - Setor de Bovinocultura Leiteira. A ficha contém campos para nome ("Luciana"), número de identificação ("237 1713/14 71EHPX18018"), geração ("1ª geração"), e informações sobre o pai ("Luzia") e a mãe ("Luzia"). Há uma fotografia de uma vaca preta e branca. Abaixo, há uma tabela para controle da reprodução com colunas para data, nome do reprodutor, e outros dados. Na parte inferior, há um campo para exames ginecológicos e tratamentos, com a seguinte anotação: "diagnóstico 05/10/16 / Curva curta, difícil inseminação".

Figura 6: Ficha zootécnica do Setor da Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

5.7 Análises Estatísticas

O Teste de Qui-quadrado foi utilizado para verificar a existência de associação entre vacas soropositivas com e sem distúrbios reprodutivos e vacas soronegativas com e sem distúrbios reprodutivos, adotando um nível de significância de 5%, confiabilidade de 95%.

O cálculo para avaliação da exposição ao *N. caninum* como fator de risco para ocorrência distúrbios reprodutivos foi realizado pela matriz proposta por Pereira (1995) para análise *odds ratio* (OR) em estudos transversais, com nível de confiança de 95% (0,34-6,55), como descrito a seguir na tabela de matriz.

Exposição Ao fator	Doença		Total	Taxa Prevalência da doença (%)
	Sim	Não		
Sim	a	b	a + b	$a / (a+b) \cdot 100$
Não	c	d	c + d	$c / (c+d) \cdot 100$
Total	a + c	b + d	N	$a+c / N$

a = número de indivíduos expostos e doentes

b = número de indivíduos expostos e sadios

c = número de indivíduos não expostos e doentes

d = número de indivíduos não expostos e sadios

N = número total de indivíduos

6. RESULTADOS

6.1 Sorologia e associação com distúrbios reprodutivos

Após análise das 40 amostras de soro bovino, foi encontrada soropositividade de 27% (11/40) de anticorpos anti-*N. caninum* no rebanho (Figura 7). Do total de vacas analisadas, (4/11) das soropositivas e (8/29) das soronegativas apresentaram algum tipo de distúrbio reprodutivo (Tabela 3). O distúrbio mais frequente observado nas fêmeas bovinas foi repetição do cio após 3 IATF.

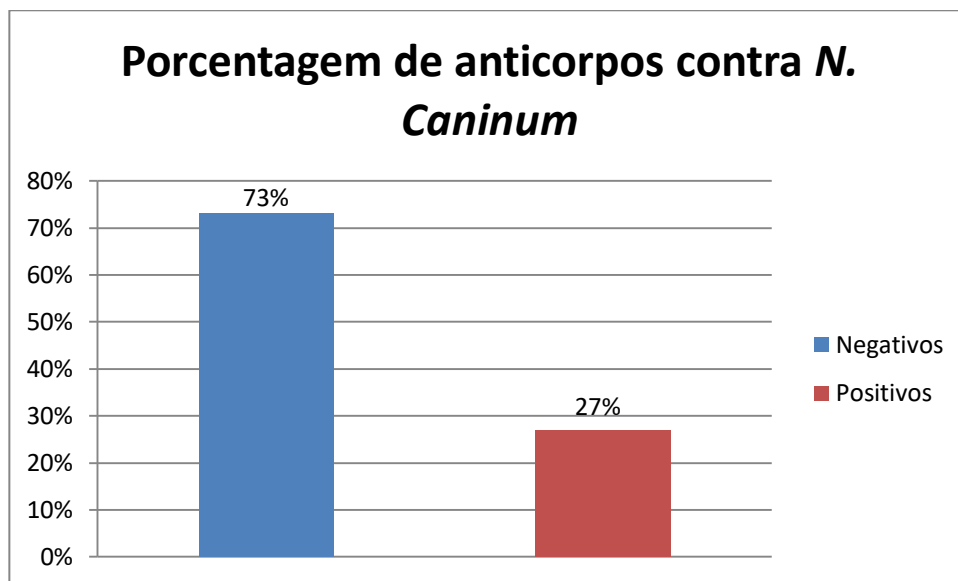


Figura 7: Presença de anticorpos anti- *Neospora.caninum* em vacas Girolandos pertencentes ao Setor de bovinocultura de Leita da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Tabela 3 Distúrbios reprodutivos em vacas soropositivas e soronegativas para *Neospora caninum* pertencentes ao Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Vaca	Sorologia	Idade em meses	Distúrbio Reprodutivo
1	-	145	S/A
2	-	138	S/A
3	+	134	S/A
4	+	131	S/A
5	-	117	S/A
6	+	117	S/A
7	-	117	S/A
8	-	115	VELP 210 dias
9	-	110	AB
10	-	109	RC após 3 IATF
11	-	109	VELP382 dias
12	-	109	S/A
13	-	103	RC após 3 IATF
14	-	101	S/A
15	+	93	S/A
16	-	93	VELP 286 dias
17	-	90	S/A
18	-	79	S/A
19	-	77	S/A
20	-	77	S/A
21	-	76	S/A
22	+	74	AB
23	-	73	S/A
24	-	72	S/A
25	-	71	S/A
26	-	68	S/A
27	+	62	S/A
28	+	60	S/A
29	-	60	S/A
30	+	58	AB
31	-	54	S/A
32	-	54	RC após 3 IATF
33	+	53	S/A
34	+	53	RC após 3 IATF
35	-	52	S/A
36	+	50	RC após 3 IATF
37	-	125	S/A
38	-	127	S/A
39	-	120	AB
40	-	122	S/A

S/A = Sem Alteração; IATF= Inseminação Artificial em Tempo Fixo; AB=Abortamento; VELP=Volta ao Estro com Longo Período de Serviço; RC=Repetição de Cio; (-) Resultado Sorológico Negativo; (+) Resultado Sorológico Positivo.

O rebanho estudado do setor de Bovinocultura de Leite da UFRRJ apresentou um escore de condição corporal (ECC) médio de 2,5 (escala de 1 a 5) na época da seca, que no estado do Rio de Janeiro vai de Maio até Setembro e de 3,5 na época das águas, de Outubro até Abril. Durante as visitas foi confirmada a presença de cães no Setor e nos arredores. Atualmente o rebanho apresenta resultados negativos para Brucelose e Tuberculose, estando controlado e monitorado para estas doenças.

6.2 Análise Estatística

Teste qui-quadrado com uma confiança de 95% foi realizado para determinar se havia associação entre a presença de anticorpos anti-*N. caninum* e as diferentes variáveis reprodutivas. Nenhuma relação significativa foi encontrada entre soropositividade e distúrbios reprodutivos ($P > 0,05$) (Tabela 4). Os distúrbios reprodutivos observados neste estudo estão dentro dos valores considerados normais e esperados em um rebanho leiteiro.

O cálculo para avaliação da exposição ao *N. caninum* como fator de risco para ocorrência de distúrbios reprodutivos através da análise *odds ratio* com valor de OR = 1,5 apresentou a exposição (soropositivos) ao agente etilógico como um fator de risco uma vez e meia maior para a ocorrência de distúrbios reprodutivos quando comparado ao grupo não exposto (soronegativo), como apresentado na matriz de cálculo (Tabela 5).

Tabela 4 Associação dos resultados sorológicos de vacas com anticorpos anti-*Nesospora caninum* que apresentaram ou não distúrbios reprodutivos no Setor de Bovinocultura de Leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

	Vacas soropositivas	Vacas soronegativas	Total
Com distúrbios reprodutivos	4	8	12
Sem distúrbios reprodutivos	7	21	28
Total	11	29	40

Tabela 5 Avaliação da exposição ao *Neospora caninum* como fator de risco para distúrbios reprodutivos em vacas Girolandos pertencentes ao Setor de Bovinocultura de leite da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Exposição ao fator	Distúrbios Reprodutivos		Total	Prevalência dos distúrbios (%)
	Sim	Não		
Soropositivos	4	7	11	36,36
Soronegativos	8	21	29	27,58
Total	12	28	40	30

Cálculo de risco: Razão das prevalências = $36,36/27,58 = 1,3$

OR = $(4 \times 21) / (7 \times 8) = 1,5$

Nível de confiança de 95% (0,34-6,55)

7. DISCUSSÃO

O resultado da soroprevalência de 27% observado nesse estudo realizado com a população de animais do Setor de Bovinocultura de leite da UFRRJ, Seropédica, Rio de Janeiro encontra-se na média dos valores descritos na literatura para o Brasil.

Estudos tem demonstrado uma soroprevalência em vacas no Brasil variando de 9,1% até 91,2% (GONDIM et al.,1999; LOCATELLI-DITTRICH et al.,2001; COSTA et al., 2001 SARTOR et al., 2005; CORBELLINI et al., 2006; MELO et al., 2006; GUEDES et al., 2008; ANDREOTTI et al., 2010; BRUHN et al .,2013; LANGONI et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2014; KLAUCK et al 2016; FAVERO et al; 2017; SILVA et al., 2017, AQUINO-DINIZ et al., 2019). Essa ampla variação se deve provavelmente ao uso de diferentes métodos de diagnóstico e pontos de corte empregado nos estudos, além do uso de vacas de diferentes idades, aptidões e raças.

Uma pesquisa realizada por Munhoz et al., (2006) no Estado do Rio de Janeiro, nas cidades de Resende e Rio Claro, cidades próximas da região pesquisada neste estudo, com rebanhos leiteiros, obteve resultado de soroprevalência de 23%. Outro estudo feito no estado do Rio de Janeiro obteve uma soroprevalência de 22,7% (RAGOZO et al., 2003).

Resultados bem próximos da soropositividade observada em nosso estudo, reforçando assim o nosso achado e demonstrando a importância desse estudo, já que nosso estado apresenta uma escassez de dados sobre soroprevalência da neosporose bovina.

Vale ressaltar que no presente estudo e nos demais estudos citados acima, foram observadas diferentes prevalências, algumas inclusive altas em rebanhos leiteiros, superiores a 90%, demonstrando uma ampla e variada distribuição deste parasita nos rebanhos brasileiros.

Em outros países a prevalência para *N. caninum* está entre 1,0% até 80,1%, mais uma vez o valor de 27% encontrado em nosso estudo está em valores intermediários (BARTELS et al., 2006; MOORE et al., 2009; MORÉ et al 2009; SHARES et al., 2009; EIRAS et al., 2011).

Na América Latina, a neosporose é considerada uma doença emergente em gado leiteiro sendo responsável por perdas econômicas relacionadas a distúrbios reprodutivos com diferenças na soroprevalência de *N. caninum* de 11,3% na Venezuela e 45% na Colômbia, utilizando método de diagnóstico RIFI e ELISA repctivamente (LISTA-ALVEZ et al., 2006; MEDELLIN et al., 2017).

Nesse estudo, utilizou-se a RIFI para detectar a presença de anticorpos para *N. caninum* em vacas leiteiras, pois estudos epidemiológicos em diversos hospedeiros tem demonstrado que este teste apresenta uma sensibilidade alta para *N. caninum* e uma baixa ocorrência de reação cruzada entre *N. caninum* e *T. gondii* (HADDAD et al., 2005).

As características da região, do sistema de manejo e tipo de produção das propriedades e a forma de escolha dos animais e rebanhos, nem sempre são bem detalhados nos estudos realizados no Brasil.

Além disto, padrões diferentes de propriedades, manejo, animais, fatores de risco, métodos de diagnóstico e ponto de corte, tendem a dificultar qualquer tipo de comparação entre estudos, tanto no âmbito nacional quanto no internacional.

Outro fator importante a ser mencionado é a escolha das propriedades por conveniência, tendo o abortamento como critério, o que pode superestimar os resultados em relação às propriedades selecionadas de forma aleatória.

Estes fatores estão de acordo com os estudos de Schares et al. (1999b) e Dubey e Schares, (2006), onde verificaram que a sensibilidade do teste sorológico para animais escolhidos ao acaso é menor do que para animais que acabaram de abortar, podendo gerar resultados falso-negativos, subestimando os estudos de soroprevalência.

Uma possível explicação para a soroprevalência neste estudo é a presença de cães tanto na propriedade, como nas redondezas da mesma. Estudos anteriores já demonstraram uma estreita relação entre a presença de cães e a soropositividade de um rebanho bovino (BARTELS et al., 1999; WOUDA et al., 1999b; DJSKTRA et al., 2001; SHARES et al., 2004; DUBEY et al., 2007 BASSO et al., 2010 ; BRUHN et al., 2012; ASMERA et al., 2013). Em contraste, outros estudos demonstraram ausência de associação entre a presença de cães e soropositividade (AGUIAR et al., 2006; FIGUEROA et al., 2012).

Outro fator é que neste estudo só foram utilizadas vacas adultas, que quando comparadas com vacas mais jovens, que tem maior risco de serem soropositivas devido ao maior tempo de exposição ao ambiente, aumentando a chance de se infectarem através da transmissão horizontal (DYER et al., 2000; DUBEY et al., 2007). Na Etiópia e Croácia estudos demonstraram associação entre animais mais idosos e a presença de anticorpos anti-*N. caninum* (BECK et al., 2010; ASMARE et al., 2013). Os bovinos de leite apresentam maior probabilidade de serem soropositivos para *N. caninum*, devido às condições de manejo favoráveis dessas explorações para a transmissão da infecção: maior longevidade das vacas de leite comparadas às de corte e reposição do rebanho leiteiro com animais da propriedade, já que a infecção se transmite, principalmente, por via transplacentária (ALVAREZ-GARCIA et al., 2003; BARTELS et al., 2006; EIRAS et al., 2011).

Neste estudo não foi observada associação entre soropositividade e distúrbios reprodutivos, o que difere de inúmeros outros trabalhos (GONZALEZ et al., 1999; COBERLLINE et al., 2002; MORE et al., 2009; ANDRIOTTE et al., 2010; BASSO et al., 2010; BRUHN et al., 2013; LANGONI et al., 2013; FAVERO et al., 2017), onde foram observadas associações. Porém, este resultado está de acordo com uma pesquisa semelhante à nossa, realizada na Colômbia por Medellín et al. (2017), onde foram analisadas 1000 vacas adultas, de produção leiteira, de diferentes raças. O método de diagnóstico utilizado foi o ELISA e não foi observada associação entre soropositividade com distúrbios reprodutivos. Em outro estudo realizado por Paz et al. (2005) com o objetivo de estudar a ocorrência de anticorpos anti *N. caninum* em um rebanho de vacas de corte receptoras de embrião, criadas em sistema extensivo no estado do Mato Grosso do Sul, avaliar a taxa de prenhez das receptoras soropositivas para *N. caninum*, essa associação com a soropositividade também não foi observada. Outras pesquisas também vão ao encontro dos resultados desta, como Pare et al. (1998), Ogawa et al. (2005) e Lopes-Gatius et al. (2005a) em que a soropositividade não esteve relacionada a distúrbios reprodutivos.

A não associação pode ser explicada por alguns fatores. Como relatado na metodologia do presente trabalho o mesmo foi realizado em vacas adultas, que de acordo com Jensen et al. (1999), tendem a obter níveis de anticorpos mais estáveis devido à prolongada estimulação antigênica depois de repetidas reativações da infecção e com isso elas se tornam resistentes ao *N. caninum*.

Em estudo com abordagem de fatores de risco para abortamento em vacas leiteiras soropositivas para *N. caninum*, o número de lactações foi identificado como um fator de resistência ao *N. caninum* (THURMOND et al., 1997), contudo, estudo realizado por Jensen et al. (1999) aponta para o oposto, concluindo que o aumento da idade constitui um fator de risco para o abortamento de fêmeas bovinas.

Os animais do rebanho estudado são mestiços, Girolando, outro fator que confere resistência à infecção pelo *N. caninum*, como foi reportado por Guimarães Junior et al. (2004), Lopez-Gatius et al. (2005c), Munhoz et al. (2009), Moore et al. (2009) e Sala et al. (2018), cujos resultados destes estudos apoiam a hipótese de que existe uma estreita associação entre essa raça bovina e a frequência de infecção por *N. caninum*. Asmera et al. (2013) relataram

que animais puros são mais suscetíveis à neosporose que animais cruzados. Outro fator a ser considerado aqui, é o fato da população estudada (SBL-UFRRJ) passar por manejo sanitário de acordo com as suas demandas epidemiológicas, evitando-se ao máximo que os indivíduos que compõem essa população passem por fatores que alterem o equilíbrio imunológico durante a gestação, tais como o estresse e a desnutrição, como apontados por Bartels et al., (1999) e Lopez-Gatius et al. (2005b) como sendo fatores de risco. Um estudo realizado no Canadá revelou que uma baixa condição corpórea (menor que 2,5) incrementa, junto com o aumento dos níveis de anticorpos específicos para *N. caninum*, as chances de vacas de corte apresentarem falhas reprodutivas (WALDNER et al., 2005).

Vale a pena ressaltar que a soroprevalência de um rebanho pode se alterar ao longo dos anos, observando-se uma flutuação nos resultados tanto em direção a um aumento como para diminuição e o fato de não ter sido observada associação com distúrbios reprodutivos nesse rebanho estudado neste momento temporal, no futuro esta situação pode se inverter, já que é sabido que a neosporose causa problemas reprodutivos em bovinos. Na ocorrência de fatores estressantes que possam deprimir o estado imunológico das vacas em risco (vacas prenhes com idade gestacional entre 100 e 260 dias), aumenta a probabilidade de ocorrência de um surto de abortamentos endêmicos, através da reativação do *N. caninum* e a reinfeção da matriz e infecção do feto através da transmissão transplacentária endógena (WOUDA et al., 1999a; DUBEY e SHARES., 2006). Alguns autores sugerem que outras infecções, ao causarem imunossupressão, podem favorecer a infecção e a reativação do *N. caninum*. Vanleeuwen et al. (2010), demonstraram associação positiva entre animais soropositivos com diarreia viral bovina.

Para trabalhos futuros podemos sugerir o uso de técnicas de diagnóstico definitivas, como imuno-histoquímica e PCR, associado com a sorologia e fazer o controle baseado na prevenção da transmissão horizontal como fator importante para evitar o aumento da prevalência no rebanho, além da realização de mais estudos sobre soroprevalência para *Neospora caninum*, isso devido ao pouco número de estudos no estado.

8. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que os distúrbios reprodutivos na população de bovinos estudada, não tiveram associação à presença de anticorpos para *Neospora caninum*.

9 BIBLIOGRAFIA

- ALMERIA, S; LOPEZ-GATIUS, F; GARCIA-ISPIERTO, I; NOGAREDA, C; SERRANO, B; SANTOLARIA, P; YANIS, J.L. Effects of crossbreed pregnancies on the abortion risk of *Neospora caninum*-infected dairy cows. **Veterinary Parasitology** 163, 323–329, 2009.
- ALMERIA, S; ARAUJO, R; TUO, W; LOPEZ-GATIUS, F; DUBEY, J.P; GASBARRE, L.C. Fetal death in cows experimentally infected with *N. caninum* at 110 days of gestation, **Veterinary Parasitology** 169, 304–311, 2010.
- ALMERIA, S; SERRANO-PEREZ, B; LOPEZ-GATIUS, F. Immune response in bovine neosporosis: protection or contribution to the pathogenesis of abortion. **Microbial Pathogenesis** 109, 177–182, 2017.
- ÁLVAREZ-GARCIA, G. Identificación y caracterización de antígenos de *Neospora caninum* con interés inmunodiagnóstico en bovinos. **Veterinary Parasitology** 107, 1-2, 15-27, 2003.
- AGUIAR, D.M; CAVALCANTE, G.T; RODRIGUES, A.A.R; LABRUNA, M.B; CAMARGO, L.M.A; CARNARGO, E.P; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology** 142, 71-77, 2006.
- ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C.; HOFFMAN, R.L. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.2, p.283-287, 1990.
- ANDERSON, M.L; ANDRIANARIVO, A.G; CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science** 60–61, 417–431, 2000.
- ANDERSON, M.L. Infectious causes of bovine abortion during mid- to late-gestation. **Theriogenology** 68, 474-486, 2007.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.; GOMES, A. Diagnóstico sorológico de *Neospora caninum* em rebanho bovino de corte do Mato Grosso do Sul. In: **Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 11. Salvador-BA. Anais. Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, p.226, 1999.
- ANDREOTTI, R; PINCKNEY, R.D; PIRES, P.P; SILVA, E.A.E. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, center-western region, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** 13, 129-131, 2004.
- ANDREOTTI, R; BARROS, J.C; PEREIRA, A.R; OSHIRO, L.M; CUNHA, R.C; FIGUEREDO, L.F. Association between seropositivity for *Neospora caninum* and reproductive performance of beef heifers in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** 19, 119-123, 2010.
- ANTONIASSI, N.A.B; JUFFO, G.D; SANTOS, A.S; PESCADOR, C.A; CORBELLINI, L.G. Causas de aborto bovino diagnosticadas no Setor de Patologia Veterinária da UFRGS de 2003 a 2011. **Pesquisa Veterinária Brasileira** 33, 155-160, 2013.

AQUINO-DINIZ, L.V; MINUTTI, A.F; SOUZA, L.N.B; COSTA, L.R; BOSCULO, M.R.M; ALMEIDA, B.F.M; GARCIA, J.L; BARROS, L.D. Vertical transmission of *Neospora caninum* in bovine fetuses from a slaughterhouse in Brazil. **Tropical Animal Health Production**, 2019. doi: 10.1007/s11250-019-01828.

ASMARE, K; REGASSA, F; ROBERTSON, L. J; SKJERVE, E. Seroprevalence of *Neospora caninum* and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. **Veterinary Parasitology** 193, 85–94, 2013.

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

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

BARR, B.C. Question: What is neosporosis? **Veterinary Exchange**, v.20, n.11, p.4, 1998.

BARROS, L.D; MIURA, A.C; MINUTTI, A.F; VIDOTTO, O; GARCIA, J.L. *Neospora caninum* in birds: A review. **Parasitology International** 67, 397–402, 2018.

BARTELS, C. J. M; WOUDA, W; SCHUKKEN, Y. H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology** 52, 247–57, 1999.

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

BARTLEY, P. M; KIRVAR, E; WRIGHT, S; SWALES, C; ESTEBAN-REDONDO, I; BUXTON, D; MALEY, S.W; SCHOCK, A; RAE, A. G; HAMILTON, C; INNES, E. A. Maternal and fetal immune responses of cattle inoculated with *Neospora caninum* at mid-gestation. **Journal of Comparative Pathology** 130, 81-91, 2004.

BASSO, W; SCHARES, S; MINKE, L; BARWALD, A; MAKSIMOV, A; PETERS, M; SCHULZE, C; MULLER, M; CONRATHS, F.J; SCHARES, G. Microsatellite typing and avidity analysis suggest a common source of infection in herds with epidemic *N. caninum*-associated bovine abortion, **Veterinary Parasitology** 173, 24–31, 2010.

BASZLER, V.T; LAWRENCE, J.C.G; LONG, T.M; MATHISON, B.A. Detection by PCR of *Neospora caninum* in Fetal Tissues from Spontaneous Bovine Abortions. **Journal of clinical microbiology** 37, 12, 4059–4064, 1999.

BECK, R; MARINCULIĆ, A; MIHALJEVIĆ, Ž; BENIĆ, M; MARTINKOVIĆ, F. Seroprevalence and potential risk factors of *Neospora caninum* infection in dairy cattle in Croatia. **Veterinarski Arhiv** 80, 163-171, 2010.

BENETTI, A.H; SCHEN, F.B; SANTOS, T.R; TONIOLLO, G.H; COSTA, A.J. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** 18, 29-33, 2009.

BJERKÅS, I; MOHN, S.F; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fur Parasitenkunde** 70, 271-4, 1984.

BOA-MORTE, M.O; OLIVEIRA, F.C.R. Frequency of neosporosis in slaughtered cows from North Fluminense region, state of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária** 31, 13-18, 2009.

BOAS, R.V; PACHECO, T.A; MELO, A.L.T; OLIVEIRA, A.C.S; AGUIAR, D.M. Infection by *Neospora caninum* in dairy cattle belonging to family farmers in the northern region of Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** 24, 204-208, 2015.

BRUHN, F.R.P; DAHER, D.O; LOPES, E; BARBIERI, J.M; ROCHA, C.M.B.M; GUIMARAES, A.M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. **Tropical Animal Health Production**. 45, 1093-1098, 2013.

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

BLUMRODER, D; STAMBUSH, R; LABOHN, R; KLAWONN, W; DRAGER, K; FASEN, W; CONRATHS, F.J; SCHARES, G. Potential risk factors for the serological detection of *Neospora caninum*-infections in cattle herds in Rhineland- Palatinate (Germany). **Tieraerztliche Praxis Ausgabe Grosstiere Nutztiere** 34, 141-147, 2006.

CAMPERO, L.M; VENTURINE, M.C; MOORE, D.P; MASSOLA, L; LAGOMARSINO, H., GARCIA, B; BACIGALUPE, D; SCHARES, G; CAMPERO, C.M. Isolation and molecular characterization of a new *Neospora caninum* isolate from cattle in Argentina, **Exchange Parasitology**. 155, 8-12, 2009.

CANADA, N; CARVALHEIRA, J; MEIRELES, C. S; COSTA, J. M. C; ROCHA, A. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. **Theriogenology** 62, 1229-1235, 2004a.

CANADA, N; MEIRELES, C.S; CARVALHEIRA, J; ROCHA, A; SOUSA, S; CORREIA da COSTA, J.M. Determination of an optimized cut-off value for the *Neospora* agglutination test for serodiagnosis in cattle. **Veterinary Parasitology** 121, 225-231, 2004b.

CARDOSO, J.M.S; AMAKU, M; ARAUJO, A.J.U.S; GENNARI, S.M. A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on three dairy farms in Brazil. **Veterinary Parasitology** 187, 553-557, 2012a.

- CHAHAN, B; GATURAGA, I; HUANG, X; LIAO, M; FUKOMOTO, S. Serodiagnosis of *Neospora caninum* infection in cattle by enzyme-linked immunosorbent assay with recombinant truncated NcSAG1. **Veterinary Parasitology** 118, 177-185, 2003.
- CERQUEIRA-CÉZAR, K.C; BERNAL, R.C; DUBEY, J.P; GENNARI, S.M. All about neosporosis in Brazil. *Braz. J. Vet. Parasitol Jaboticabal*, v. 26, n. 3, p. 253-279, 2017.
- COLLANTES-FERNADEZ, E; PEREZ-ZABALOS, F.J; ORTEGA-MORA, L.M; ÁLVAREZ-GARCIA, G. Adapittion of *Neospora caninum* isoletes to cell-culture changes: an argument in favor of its clonal population structure. **Journal of Parasitology** 91, 3, 507-510, 2005.
- COLLANTES-FERNADEZ, E; ARNAIZ-SECO, I; BURGOS, B.M; RODRIGUES-BERTOS, A; ADURIZ, G; FERNADEZ-GARCIA, A; ORTEGA-MORA, L.M. Comparison of *Neospora caninum* distribution, parasite loads and lesions between epidemic and endemic bovine abortion cases. **Veterinary Parasitology** 142, 187-91, 2006.
- CORBELLINI, L.G; DRIEMEIER, D; CRUZ, C.F.E; GONDIM, L.F.P; WALD, V. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Veterinary Parasitology** 103, 195-202, 2002.
- CORBELLINI, L.G; SMITH, D.R; PESCADOR, C.A; SCHIMTS, M; CORREA, A; STEFFEN, D.J; DRIEMEIER, D; 2006. Herd-level risk factors for *N. caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil, **Preventive Veterinary Medicine** 74, 130–141, 2006.
- CORANTHS, F.J; SCHARES, G. Validation of molecular-diagnostic techniques in the parasitological laboratory. **Veterinary Parasitology** 136, 91-98, 2006.
- COSTA, G.H.N; CABRAL, D.D; VARANDAS, N.P; SOBRAL, E.A; BORGES, F.A; CASTAGNOLLI, K.C. Frequência de anticorpos *anti-N. caninum* e *anti-Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais, **Semina Ciências Agrárias** 22, 61–66, 2001.
- COSTA, K.S; SANTOS, S.L; UZEDA, R.S; PINHEIRO, A.M; ALMEIDA, M.A.O; ARAUJO, F.R; MCALLISTER, M.M; GONDIM, L.F.P. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology** 38, 157–159, 2008.
- DARÍO, C.Q; BENAVIDES, B.B. Seroprevalence and risk factors associated to *Neospora caninum* in dairy cattle herds in the municipality of Pasto, Colombia, **Revista Medicina Veterinária Zootecnia Cordoba** 18 3311-3316, 2013.
- DE MEERSCHMAN, F., FOCANT, C., BOREUX, R., LECLIPTEUX, T., LOSSON, B. Cattle neosporosis in Belgium: a case-control study in dairy and beef cattle. **International Journal for Parasitology** 30, 887–890, 2000.
- DIJKSTRA, T; BARKEMA, H.W; EYSKER, M; WOUDA, W. Evidence of postnatal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology** 31, 209-215, 2001.

- DIJKSTRA, T; BARKEMA, H.W; EYSKER, M; WOUDA, W. Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. **Veterinary Parasitology** 105, 99-104, 2002.
- DIJKSTRA, T; BARKEMA, H.W; EYSKER, M; BEIBOER, M.L; WOUDA, W. Evaluation of a single serological screening of dairy herds for *Neospora caninum* antibodies. **Veterinary Parasitology** 110, 161-169, 2003.
- DUBEY, J.P; CARPENTER, J.L; SPEER, C.A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **J Am Veterinary Medical Association**, v.192, p.1269-1285, 1988.
- DUBEY, J.P; PORTERFIELD, M.L. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in an aborted equine fetus. **Jorunal Parasitol** 76, 732-734, 1990.
- DUBEY, J.P; LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology** 67, 1-59, 1996.
- DUBEY, J.P; MORALES, J.A; VOLLALOBOS, P; LINDSAY, D.S; BLAGBURN, B.L; TOPPER, M.J. Neosporosis-associated abortion in a dairy goat. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 208, 263-265, 1996.
- DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 214, 1160-1163, 1999.
- DUBEY, J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean Journal of Parasitology** 41, 1-16, 2003.
- DUBEY, J. P; BUXTON, D; WOUDA, W. Pathogenesis of bovine neosporosis. **Journal of Comparative Pathology** 134, 267-289, 2006.
- DUBEY, J.P; LINDSAY, D.S. Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 22, 645-671, 2006.
- DUBEY, J.P; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology** 140, 1-34, 2006.
- DUBEY, J. P; SCHARES, G; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews** 20, 323-367, 2007.
- DUBEY, J. P; SCHARES, G. Neosporosis in animals-The last five years. **Veterinary Parasitology** 180, 90-108, 2011.
- DUBEY, J.P; JENKINS, M.C; FERREIRA, L.R; CHOUDHARY, S; VERMA, S.K; KWOK, O.C.H., FETTERER, R; BUTLER, E; CARSTENSEN, M. Isolation of viable *Neospora caninum* from brains of wild gray wolves (*Canis lupus*). **Veterinary parasitology** 201, 150-153, 2014.

DUBEY, J.P; HEMPHILL, A; CALERO-BERNAL, R; SCHARES, G. Neosporosis in Animals. 1st Edition ,**CRC Press**, 530p, 2017.

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

EIRAS, C; ARNAIZ, I; ALVAREZ-GARCIA, G; ORTEGA-MORA, L.M; SANJUAN, M.L; YUS, E; DIEGUES, F.J. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy and beef cattle from the northwest region of Spain, Galicia. **Prev. Veterinary Medicine** 98, 128–132, 2011.

FÁVERO, J.F; DA SILVA, A.S; CAMPIGOTTO, G; MACHADO, G. Risk factors for *Neospora caninum* infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. **Microbial Pathogenesis** 110, 202-207, 2017.

FERRE, I; Aduriz, G; Del-Pozo, I; Regidor-Cerrillo, J; Atxaerandio, R; Collantes-Fernández, E; Hurtado, A; Ugarte-Garagalza, C; Ortega-Mora, L.M. Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. **Theriogenology** 15, 63, 1504-18, 2005.

FIGUEROA, V. J; MORALES S. E; MARTINEZ, J.J. Risk factors associated with infection by *Neospora caninum* in dual- purpose cattle in the central region of Veracruz, Mexico.(Report). **The Internet Journal of Veterinary Medicine** 1, 2012.

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

FORT, M; EDELTSSEN, M; MALEY S; INNES, E. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in La Pampa, Argentina. **Acta Parasitology** 60(2): 275-282. doi: 10.1515/ap-2015-0039, 2015.

GIBNEY, E.H; Kipar, A; Rosbottom, A; Guy, C.S; Smith, R.F; Hetzel, U; Trees, A.J; Williams, D.J. The extent of parasite-associated necrosis in the placenta and foetal tissues of cattle following *Neospora caninum* infection in early and late gestation correlates with foetal death. **International Journal Parasitology**. 38, 579-88, 2008.

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

GONDIM, L.F.P., GAO, L., MCALLISTER, M.M. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. **Journal Parasitology**. 88, 1159–1163, 2002.

GONDIM, L.F.P; MCALLISTER, M.M; MATEUS-PINILLA, N.E; PITT, W.C; MECH, L.D; NELSON, M.E. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. **Journal of Parasitology** 90, 1361–1365, 2004.

- GONDIM, L.F.P; McALLISTER, M.M; ANDERSON-SPRECHER, R.C; BJORKMAN, C; LOCK, T.F; FIRKINS, L.D; GAO, L; FISCHER, W.R. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. **Journal Parasitology** 90, 1394–1400, 2004b.
- GONZALES, F; BUXTON, D; ATXAERANDIO, R; ADURIZ, G. Bovine abortion associated with *Neospora caninum* in northern Spain. **The Veterinary Record London** 144, 145-150, 1999.
- GOODSWEN, S.J; KENNIDY, P.J; ELLIS, J.T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. **Infection, Genetics and Evolution** 13, 133–150, 2013.
- GUEDES, M.H.P; GUIMARAES, A.M; ROCHA, C.M.B.M; HIRSCH, C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** 17, 189-194, 2008.
- GUIDO, S; KATZER, F; NAJIANI, I; MILNE, E; INNES, E.A. Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine Neosporosis. **Trends in Parasitology** 32, 131–143, 2016.
- GUIMARÃES JÚNIOR, J. S; SOUZA, S. L. P; BERGAMASCHI, D. P; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brasil. **Veterinary Parasitology Amsterdam**, v.124, n.1-2, p.1-8, 2004.
- HADDAD, J.P.A; DOHOO, I.R; VANLEEWEN, J.A. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle - a Canadian perspective. **Canada Veterinary Journal** 46, 230-243, 2005.
- HALL, C.A; REICHEI, M.P; ELLIS, J.T. Neospora abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. **Veterinary Parasitology** 128, 231-41, 2005.
- HERNANDEZ, J; RISCO, C; DONAVAN, A. Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. **Journal American Veterinary Medicine Association** 219, 632-5, 2001.
- HERNANDEZ, V et al. *Neospora caninum* and Bovine Neosporosis: Current Vaccine Research. **Journal of Comparative Pathology** 157, 2–3, 193-200, 2017.
- 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.M; UGGLA, A., WILLIAMS, D.J.L; WOUDA, W. A European perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology** 30, 877-924, 2000.
- HOAR, B.R; MCQUARRY, A.C; HIETALA, S.K. Prevalence of *Neospora caninum* and persistent infection with bovine viral diarrhoea virus in dairy-breed steers in a feedlot. **Journal American Veterinary Medicine Association** 230, 1038–1043, 2007

HUBBERT, W.T.; DENNIS, S.M.; ADAMS, C.J. Recommendations for standardizing bovine reproductive terms. p.217- 237, 1971.

INNES, E.A; WRIGHT, S; BARTLEY, P; MALEY, S; MACALDOWIE, C; ESTEBAN-REDONDO I, et al,. The host-parasite relationship in bovine neosporosis. **Veterinary Immunology Immunopathol** 108:29-36, 2005

INNES, E.A. The host-parasite relationship in pregnant cattle infected with *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology** 134, 1903-1910, 2007.

JENKINS, M; BASZLER, T; BJORKMAM, C; SCHARES, G; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology** 32, 631-636, 2002.

JENSEN, A.M.; BJORKMAN, C.; KJELDSSEN, A.M.; WEDDERKOPP, A.; WILLADSEN, C.; UGGLA, A.; LIND, P. Association of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, n. 3-4, p. 151-163, 1999.

JOURNEL, C; PITEL, P.H. Diagnóstico da neosporose em bovinos. **H Vet, Porto Alegre**, n.122, p.70-72, 2001.

KAMGA-WALADJO, A.R; GBATI, O.B; KONE, P; LAPO, R.A; CHATAGNON, G; BAKOU S.N; et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from Dakar-Senegal, **West Africa. Tropical Animal Health Production** 42, 953-9, 2010.

KIRKBRIDE, C.A. Viral agents and associated lesions detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.4, p.374- 379, 1992.

KING, J.S; SLAPETA, J; JENKIND, D.J; AL-QASSAB, S.E; ELLIS, J.T; WINDSOR, P.A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal Parasitology**. 40, 945-50, 2010.

KLAUCK, V; MACHADO, G; PAZINATO, R; RADAVELLI, W.M; SANTOS, D.S. Relation between *Neospora caninum* and abortion in dairy cows: Risk factors and pathogenesis of disease. **Microbial Pathogenesis** 92, 46-49, 2016.

LANGONI, H; SILVA, A.V. Avaliação sorológica para *Neospora caninum* em propriedades de bovinos leiteiros com alterações reprodutivas. **Veterinária Zootecnia** 20, 124-130, 2013.

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

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

LOCATELLI-DITTRICH, R; SOCCOL, V.T; RICHARTS, R.R.T.B; GASINO-JOINEUA, M.E; VINNE, R. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil. **Journal Parasitology** 87, 1493-1494, 2001.

LÓPEZ-GATIUS, F; PABÓN, M; ALMERÍA, S. Neospora caninum infection does not affect early pregnancy in dairy cattle. **Theriogenology** 662:606-13, 2004a.

LÓPEZ-GATIUS, F; LOPEZ-BEJAR, M; MURUGAVELI, K; PABON, M; FERRER, D; ALMERIA, S. Neospora-associated to an abortion episode over a 1-year period in a dairy herd in a north-east Spain, J. **Veterinary Medicine Series** 51, 348-352, 2004b.

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

LOPEZ-GATIUS, F; GARCIA-ISPIERTO, I; SANTOLARIA, P; YANIS, J.L; ALMERIA, S. Relationship between rainfall and *Neospora caninum* associated abortion in tow dairy herds in a dry environment. **Journal Veterinary Medicine** 52,147-152, 2005b.

LÓPEZ-GATIUS, F; SANTOLARIA, P; YANIZ, J.L; GARBAYO, J.M; ALMERIA, S. The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in Neospora seropositive dairy cows. **Journal of Veterinary Medicine Series** 52, 88–92, 2005c.

LUCCHESI, L. et al. Seroprevalence study of the main causes of abortion in dairy cattle in Morocco. **Veterinaria Italiana**, n. 52, p. 13–19, 2006.

MALEY, S.W; BUXTON, D; ERA, A.G; Wright, S.E; Schock, A; Bartley, P.M; Esteban-Redondo, I; Swales, C; Hamilton, C.M; Sales, J; Innes, E.A. The pathogenesis of neosporosis in pregnant cattle: inoculation at mid-gestation. **Journal of Comparative Pathology** 129, 186-95, 2003.

MARQUES, F.A.C; HEADLEY, A.S; FIGUEREDO-PEREIRA, V; TARODA, A; BARROS, L.D; CUNHA, I.A.L. *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered beef cows (*Bos indicus*). **Parasitology Research** 108, 1015-1019, 2011.

MARTINS, N.É.X; FRESCHI, C.R; BATISTA, F; MACHADO, R.Z; FREITAS, F.L.C; ALMEIDA, K.S. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas lactantes do município de Araguaína, estado do Tocantins, Brasil. **Revista Patologia Tropical** 40, 231-238, 2011.

MARTINS, A.A; ZAMPROGMA, T.O; LUCAS, T.M, CUNHA, I.A.L; GARCIA, J.L; SILVA, A.V. Frequency and risk factors for infection by *Neospora caninum* in dairy farms of Umuarama, PR, Brazil. **Arquivo Ciência Veterinária Zoológica** 15, 137-142, 2012.

MARSH, A. E. Neosporosis as a cause of equine protozoal myeloencephalitis. **Journal of the American Veterinary Medical Association** 209, 11, 1907-1913, 1996.

MEDELLIN, M.O.P; ANAYA, M.D.A; BECERRA, R.J.A. Association between reproductive variables and anti *Neospora caninum* antibodies in dairy cattle herds from a Colombian municipality. **Revista Mexicana Ciências Pecuárias** 8, 167-174, 2017.

MELLO, R.C; ANDREOTTI, R; BARROS, J.C, TOMICH, R.G.P; MELLO, A.K.M; CAMPOLIM, A.I. Levantamento epidemiológico de *Neospora caninum* em bovinos de assentamentos rurais em Corumbá, MS. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária** 17, 311-316, 2008.

MELO, D.P.G; 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 Parasitologia Veterinária** 15, 105-109, 2006.

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

MOORE, D.P; Regidor-Cerrillo, J; MORREL, E; POSO, M.A; CANO, D.B; LEUNDA, M.R; ODEON, A.C; ORTEGA-MORA, L.M., CAMPERO, C.M. The role of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in spontaneous bovine abortion in Argentina. **Veterinary Parasitology** 156, 163–167, 2008.

MOORE, D.P; PEREZ, A; AGLIANO, S; BRACE, M; CANTON, G; CAMPERO, C. Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. **Veterinary Parasitology** 175, 245-251, 2009.

MOORE, D.P, REICHEL, M., SPATH, E. CAMPERO, C. *Neospora caninum* causes severe economic losses in cattle in the humid pampa region of Argentina. **Tropical Animal Health and Production** 45, 1237-1241, 2013.

MOSKWA, B; Pastusiak, K; Bien, J; Cabaj, W. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. **Parasitology Research** 100, 3, 633–636, 2007.

MORE, G; BACIGALUPE, D; BASSO, W; BELTRAME, F., RAMIREZ, B; VENTURINI, M.C; VENTURINI, L. Frequency of horizontal and vertical transmission for *Sarcocystis cruzi* and *Neospora caninum* in dairy cattle. **Veterinary Parasitology** 160, 51–54, 2009.

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

MUNHOZ, D; MARIA JULIA, S; WALTER FLAUSINO; Lopes, C.W.G. Soropositividade para *Neospora caninum* e raças bovinas no vale do Paraíba sulfluminense, estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Animal** 27,643-646, 2009.

McALLISTER, M.M; JOLLEY, W.R; WILLS, R.A; LINDSAY, D.S; McGUIRE, A.M; TRANAS J.D. Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. **American Journal of Veterinary Research** 59, 441–444, 1998.

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

McALLISTER, M.M. Diagnosis and Control of Bovine Neosporosis. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice** 32, 2, 443-463, 2016.

NASCIMENTO, E.E; SAMMI, A.S; SANTOS, J.R; NINO, B.S.L; BOGADO, A.L.G; TARODA, A. Anti-*Neospora caninum* antibody detection and vertical transmission rate in pregnant zebu beef cows (*Bos indicus*): *Neospora caninum* in pregnant beef cows (*Bos indicus*). **Comp Immunol Microbiol Infect Dis** 37, 267-270, 2014.

OBANDO, C; BRACAMONTE, M; MONTOYA, A; CADENAS, V. *Neospora caninum* en un rebaño lechero y su asociación con el aborto. **Revista Ciencias FCV-LUZ** 20, 235-239, 2010.

OGAWA, L; FREIRE, R.L; VIDOTTO, O; GONDIM, L.F.P; NAVARRO, I.T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. **Arquivo Medicina Veterinária Zootecnia** 57, 312-6, 2005.

ORTEGA-MORA, L.M; FERRE, I; DEL-POZO, I; CAETANO-DA-SILVA, A; COLLANTES-FERNANDES, E; ADURIZ, G. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. **Veterinary Parasitology** 117, 301–318, 2003.

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

OTRANTO, D; LLAZARI, A; TESTINI, G; TRAVERSA, D; Di REGALBONO, A.F; BADAN, M; CAPELLI, G. Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. **Veterinary Parasitology** 118, 7–18, 2013.

PACKHAM, A.E., SVERLOW, K.W., CONRAD, P.A., LOOMIS, E.F., ROWE, J.D., ANDERSON, M.L., MARSH, A.E., CRAY, C., BARR, B. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent-antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology**. 5, 467–473, 1998.

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

PARE, J; FECTEAU, G; FORTIN, M. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal American Veterinary Medicine Association** 213, 1595-1598, 1998.

PAZ, G.F; LEITE, R.C; ROCHA, M.A. Associação entre sorologia para *Neospora caninum* e taxa de prenhez em vacas receptoras de embriões. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinaria Zootecnia** 59, 5, 1323-1325, 2007.

PEREIRA, M. G. Epidemiologia Teórica e Prática. 1ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 596 p, 1995.

PULIDO-MEDELLIN, M.O; GARCIA-CORREDOR, D.J; VARGAS-ABELLA, J.C. Seroprevalencia de *Neospora caninum* en un Hato Lechero de Boyaca, Colomb. **Revista Investigaciones Veterinaria Perú** 27, 355-362, 2016.

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

RETTINGER, C; LECLIPTEUX, T; DE MEERSCHAN, F; FOCANT, C; LOSSON, B. Survival, immune response and tissue cyst production in outbred (Swiss white) and inbred (CBA/Ca) strains of mice experimentally infected with *Neospora caninum* tachyzoites. **Veterinary Research**, 35, 225-232, 2004.

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

REGIDOR-CERILLO, J; GOMES-BAUTISTA, M; ADURIZ, G; NAVARRO-LOZANO, V; ORTEGA-MORA, L.M. Isolation and genetic characterization of *Neospora caninum* from asymptomatic calves in Spain. **Parasitology** 135, 1651-1659, 2008.

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

ROMERO-SALAS, D; GARCIA-VAZQUEZ, Z; Montiel-Palacios, F; Montiel-Pena, T; Aguilar-Dominguez, M; Medina-Esparza, L; Cruz-Vazquez, C. Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle in Veracruz, Mexico. **Journal Animal Veterinary Advances** 9, 1445–1451, 2010.

SALA, G; GAZZONIS, A; BOCCARDO, A; COPPOLETTA, E; GALASSO, C; PRAVETTONI, D. Using beef-breed semen in seropositive dams for the control of bovine neosporosis. **Preventive Veterinary Medicine Journal** 1, 161, 127-133, 2018.

SALEHI, N; HADDADZADEH, H.R; SHAYAN, P; ASHRAFIHELAN, J. Molecular and pathological study of bovine aborted fetus and placenta from *Neospora caninum* infected dairy cattle. **Iranian Journal Parasitology** 4, 60-63, 2009.

SANTANA, O; RAMOS, M; CRUZ, C; CASTELLANO, C; MEDINA, L; QUEZADA, D. *Neospora caninum*: Detección de ADN en sangre durante la primera gestación de vaquillas infectadas naturalmente. **Veterinaria México** 41, 131-137, 2010.

SANTOLARIA, P; ALMERIA, S; MARTINEZ-BELLO, D; NOGAREDA, C; MEZO, M; GONZALES-WARLETA, M; CASTRO-HEMIDA, J.A; PABON, M; YANIZ, J.L; LOPEZ-GATIUS, F. Different humoral mechanisms against *Neospora caninum* infection in purebred and crossbreed beef/dairy cattle pregnancies. **Veterinary Parasitology** 178, 70–76, 2011.

SARTOR I.F; GARCIA A; VIANNA L.C; PITUCO E.M; DAL PAI V; SARTOR R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. **Arquivo Instituto Biológico (Sao Paulo)** 72, 413-418, 2005.

SCHARES, G; RAUSER, M.; ZIMMER, K; PETERS, M; WURM, R; DUBEY, J.P; GRAAF, D.C; EDELHOFER, R.; MERTENS, C; HESS, G; CONRATHS, F.J. Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. **Journal of Parasitology**, v. 85, n. 4, p. 688-694, 1999b.

SCHARES, G; BARWALD, A; STAUBACH, C; ZILLER, M; KLOSS, D; SCHRODER, R; LABOHM, R; DRAGER, K; FASEN, W; HESS, R.G; CONRATHS F.J. Potential risk factors for bovine *Neospora caninum* infection in Germany are not under the control of the farmers. **Parasitology** 129, 301–309, 2004.

SCHARES, G; WILKING, H; BOLLN, M; CONRATHS, F.J; BAUER, C. *Neospora caninum* in dairy herds in Schleswig-Holstein, Germany. **Berl Munch Tierärztliche Wochenschrift** 122, 47–50, 2009.

SEGURA-CORREA, J.C; DOMINGUES-DIAS, D; ALVALOS-RAMIREZ, R; AEGEAS-SOSA, J. Intra-herd correlation coefficients and design effects for bovine viral diarrhoea, infectious bovine rhinotracheitis, leptospirosis and neosporosis in cow-calf system herds in North-eastern Mexico. **Preventive Veterinary Medicine** 96, 272–275, 2010.

SILVA, M.I.S; ALMEIDA, M.A.O; MOTA, R.A; PINHEIRO-JUNIOR, J.W; RABELO, S.S.A. Fatores de riscos associados à infecção por *Neospora caninum* em matrizes bovinas leiteiras em Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira** 9, 455-461, 2008.

SILVA, J.B; SANTOS, P.N; CASTRO, G.N.S; FONSECA, A.H, BARBOSA, J.D. Prevalence survey of selected bovine pathogens in water buffaloes in the north region of Brazil. **Journal Parasitology Research** 1-4, 2014.

SILVA J.B; NICOLINO R.R; FAGUNDES G.M; REIS A.S.B; LIMA D.H.S. Serological survey of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in cattle (*Bos indicus*) and water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in ten provinces of Brazil. **Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases** 52, 30- 35, 2017.

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

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

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

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

VANLEEUEWEN, J.A; KEEF, G.P; TIWARI, A. Seroprevalence and productivity effects of infection with bovine leucemia virus and *Neospora caninum* in Maritiman Canada dairy cattle. **Bovine Practice Journal** 36,86-91, 2002.

VANLEEUEWEN, J.A; HADDAD, J.P; DOHOO, I. R; KEEFE, G. P; TIWARI, A; SCOTT, H.M. Risk factors associated with *Neospora caninum* seropositivity in randomly sampled Canadian dairy cows and herds. **Preventive Veterinary Medicine** 93, 129-138, 2010.

VANLEEUEWEN, J.A; HADDAD, J.P; DOHOO, I.R; KEEFE, G.P; TIWARI, A; TREMBLEY, R. Associations between reproductive performance and seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral diarrhoea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and *Neospora caninum* in Canadian dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine** 94, 54-64, 2010b.

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

WALDNER, C.L Serological status for *Neospora caninum*, bovine viral diarrhoea virus, and infectious bovine rhinotracheitis virus at pregnancy testing and reproductive performance in beef herds. **Animal Reproduction Science** 90, 219-242, 2005.

WESTON, J.F; HEUER, C; PARKINSON T.J; WILLIAMSON, N.B. Causes of abortion on New Zealand dairy farms with a history of abortion associated with *Neospora caninum*. **New Zealand Veterinary Journal** 60, 1, 27-34, 2012.

WOODBINE, K.A; MEDLEY, G.F; MOORE, S.J; RAMIREZ, A; MASON, S; GREEN, L.E. A four year longitudinal sero-epidemiology study of *Neospora caninum* in adult cattle from 114 cattle herds in South west England: associations with age, herd and dam-offspring pairs. **BMC Veterinary Research** 4, 35, 2008.

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

WOUDA, W; BARTELS, C.J.M; MOEN, A.R. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995 to 1997). **Theriogenology** 52, 233-45, 1999a.

WOUDA, W; DIJKSTRA, TH; KRAMER, A.M.H; VAM MAANEM, C; BRINKHOF, J.M.A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. **International Journal Parasitology**. 29, 1677-82, 1999b.

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