

**GIDEÃO DA SILVA GALVÃO**

**FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM BOVINOS  
LEITEIROS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS E ITABUNA, ESTADO DA BAHIA**

Dissertação apresentada, para obtenção do título  
de Mestre em Ciência Animal, à Universidade  
Estadual de Santa Cruz

Área de concentração: Ciência Animal

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Dias Munhoz

**ILHÉUS-BAHIA  
2010**

G182

Galvão, Gideão da Silva.

Fatores associados à infecção por neospora caninum em bovinos leiteiros da Microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia / Gideão da Silva Galvão. – Ilhéus, BA : UESC, 2010.  
xi, 81f. : il.

Orientador: Alexandre Dias Munhoz.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

Referências: f. 80-81.

1. Bovino de leite – Doenças. 2. Bovino – Neosporose. 3. Epidemiologia. 4. Neospora caninum. I. Título.

CDD 636.20896

GIDEÃO DA SILVA GALVÃO

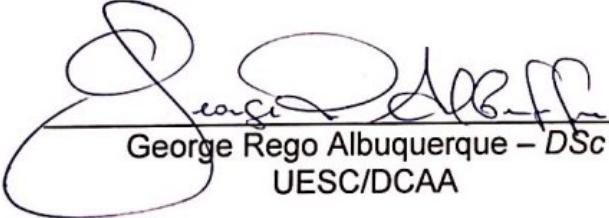
FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM BOVINOS  
LEITEIROS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS E ITABUNA, ESTADO DA BAHIA

Ilhéus – BA, 25/02/2010



---

Alexandre Dias Munhoz – DSc  
UESC/DCAA  
(Orientador)



---

George Rego Albuquerque – DSc  
UESC/DCAA



---

Walter Flausino – PhD  
UFRRJ/DPA

## **DEDICATÓRIA**

Dedico esse trabalho a minha minha mãe Gessí e a meu pai Antônio (*in memorian*).

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, criador de tudo.

A minha mãe Gessí pelo exemplo de vida, e por todo carinho e incentivo durante a minha jornada acadêmica, e a meus irmãos Gidelvan, Geilton, Marlêde, Manoel e respectivas famílias. Todos foram importantes, contribuindo cada um à sua maneira, permitindo que este momento fosse possível.

A minha companheira Ana Karla Neves pelo carinho, amor, presença, conselhos e ajuda durante todo o processo de construção e condução destas atividades, dando-me força nos momentos difíceis, me incentivando e contagiando com sua alegria e presença.

A minha segunda família os meus colegas de república (Leonardo Mendes, George Amaral, Sânzio Santana e Gustavo Piccoli) pela amizade e os meus animais de estimação (Júlia, Lua e Sun) pela companhia fiel nas madrugadas de estudo.

Ao meu amigo, professor e orientador Alexandre Dias Munhoz a qual agradeço pelos ensinamentos, conversas, conselhos, confiança e pelas oportunidades a mim concedidas. Por dividir comigo seus conhecimentos e projetos, possibilitando-me conhecer outras instituições e pesquisadores.

A meus colegas de turma do CPGCA e aos agregados, pelos momentos em sala de aula, laboratórios, pelas resenhas e amizade.

Agradeço a Elza Muniz pelos ensinamentos quando fui aluno de IC, mostrando-me a importância da pesquisa e o quanto se faziam necessários os cuidados em relação à biossegurança e de ser criterioso no momento das análises, dando início assim a minha vida de pesquisador.

Aos colegas do laboratório de Análises Clínicas, em especial a Ricardo Rossi e Uillians Volkart fiéis escudeiros nas coletas e a Luciana Carvalho pelas ajudas iniciais.

A colega Patricia Sicupira pela companhia, e ajuda nos primeiros processamentos de amostras, bem como no esclarecimento de algumas dúvidas.

Aos professores George Rego Albuquerque pela atenção, prestatividade e pelos ensinamentos, colaborando comigo sempre no esclarecendo de algumas dúvidas, e a Roberto Paixão pela atenção e prestatividade. E aos demais docentes do CPGCA, deixo meu muito obrigado pelos ensinamentos.

A instituição UESC, a todos os funcionários do HV em especial (Karen, Joíra e Givaldo), ao pessoal do DCAA (Fernanda e Silvana), ao setor de transportes e a todos os motoristas que me conduziram sempre com bom humor e profissionalismo às propriedades.

Aos proprietários das fazendas, por disponibilizarem seus animais e propriedades para participação no estudo, bem como os vaqueiros, que auxiliaram na contenção dos animais.

Ao professor da Universidade Federal da Bahia, Luis Fernando Pita Gondim por seus ensinamentos, considerações e sugestões, bem como a toda sua equipe do Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses nos Animais da UFBA, que me receberam com muito profissionalismo e atenção, permitindo assim a realização de parte deste trabalho.

A família Sales Pereira (Kattson, Kaline e Kailon), pela estadia em Salvador, e pela amizade presente desde a época do colegial. Deixo aqui também meu muito obrigado.

Agradeço ao PROCAD – Novas Fronteiras, fomentado pela CAPES, que tornou possível a parceria UESC-UFRRJ, permitindo-me novos conhecimentos, bem como a FAPESB e CNPq no auxílio financeiro, para execução desta pesquisa.

Em nome do professor Carlos Wilson Lopes, agradeço também a todos do Laboratório de Coccídeos e Coccidioses da UFRRJ pelos ensinamentos e receptividade durante as atividades do PROCAD, bem como a Bruno Berto e toda galera do alojamento da pós-graduação pela prestatividade e atenção.

## FATORES ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM BOVINOS LEITEIROS DA MICRORREGIÃO DE ILHÉUS - ITABUNA, ESTADO DA BAHIA.

### RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar a dinâmica e fatores epidemiológicos associados a neosporose bovina, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia e prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos leiteiros provenientes de 19 propriedades selecionadas por conveniência. Foram coletadas 20% de cada categoria (vaca, novilha e bezerro) dos rebanhos, totalizando 760 amostras de soro bovino com idade superior a quatro meses de idade, e dos cães presentes nas propriedades sempre que possível. Antes das colheitas foi aplicada uma entrevista semi-estruturada aos responsáveis pelas propriedades. As amostras foram avaliadas pela reação de imunofluorescência indireta com ponto de corte de 1:200 nos bovinos e 1:50 nos cães e na análise estatística o teste do Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) com correção de Yates. As associações estatísticas entre o sorologia do rebanho e as possíveis variáveis ligadas ao ambiente e manejo, bem como a análise de regressão logística foram realizadas através do pacote estatístico EPI INFO (EPI INFO 3.5.1). A prevalência nos rebanhos foi de 94,74% (18/19), variando de 1,1 a 66,7%, com positividade nos animais de 13,6% (103/760) com títulos variando de 1:200 a 1:3200. A freqüência dos bovinos positivos por município com anticorpos contra *N. caninum* foi de 12,9% (45/303) em Ilhéus e 14,1% (58/354) em Itabuna, apresentando 27,69 (18/65) cães positivos em 9 de 13 propriedades analisadas. O modelo final de regressão logística demonstrou a influência da variável faixa etária com a soropositividade dos bovinos nos rebanhos analisados. Não foi observada associação entre a soropositividade dos cães em relação aos bovinos no presente estudo. A presença de cães nas propriedades e criação de ovinos no mesmo ambiente serviu como fator de proteção contra a infecção de *N. caninum* nos rebanhos analisados. *N. caninum* acomete bovinos leiteiros no Sul da Bahia, sendo a transmissão transplacentária a principal rota de infecção.

**Palavras-chave:** Bovinocultura, epidemiologia, neosporose, RIFI.

**FACTORS ASSOCIATED WITH *Neospora caninum* INFECTION IN DAIRY CATTLE OF THE MICROREGION OF ILHÉUS – ITABUNA, STATE OF BAHIA.**

**ABSTRACT**

This study aimed to determine the dynamics and epidemiological factors associated with bovine neosporosis in microrregion Ilhéus-Itabuna, State of Bahia and prevalence of antibodies against *Neospora caninum* in dairy cattle from 19 properties selected for convenience. We collected 20% of each category (cow, heifer and calf) of the herds, totaling 760 serum samples over the age of four months, and dogs present in the properties when possible. Before the harvest was applied a semi-structured interviews with owners. The samples were evaluated by indirect immunofluorescence with a cut-off 1:200 and 1:50 in cattle and dogs and in the statistical analysis the chi-square ( $\chi^2$ ) with Yates correction. The statistical associations between herd serology and the possible variables related to the environment and management, as well logistic regression analysis was conducted using the statistical package EPI INFO (EPI INFO 3.5.1). The prevalence in herds was 94.74% (18/19), ranging from 1,1 to 66,7%, with positive results in animals of 13.6% (103/760) with titers ranging from 1:200 to 1:3200. The frequency of positive cattle per municipality with antibodies against *N. caninum* was 12,9% (45/303) in Ilhéus and 14,1% (58/354) in Itabuna, with 27,69% (18/65) positive dogs in 9 of 13 properties analyzed. The final model of logistic regression showed the influence of the ages in the seropositivity in cattle in the herds analyzed. There was no association between seropositivity of dogs in relation to cattle in this study. The presence of dogs in the farms and sheep in the same environment served as a protective factor against infection of *N. caninum* in the herds examined. *N. caninum* affects dairy cattle in southern Bahia and transplacental transmission is the main route of infection.

**Keywords:** Cattle, epidemiology, neosporosis, IFAT.

## LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Foto das amostras sorológicas identificadas e acondicionadas em criotubos.....	31
2. Correlação entre o número de cães e freqüência de infecção por <i>Neospora caninum</i> nos rebanhos leiteiros da microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.....	38
3. Presença de cães nas instalações das propriedades leiteiras da microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia. A- Presença de cães no mesmo ambiente que bovinos; B e C- Cães em contato com local de colocação do alimento e D- Cães em contato direto com o alimento dos bovinos.....	47

## LISTA DE TABELAS

	Página
1. Soroprevalência de <i>N. caninum</i> em rebanhos bovinos de diferentes países e tipo de produção.....	8
2. Soroprevalência de <i>N. caninum</i> em rebanhos bovinos de diferentes estados e tipos de produção no Brasil.....	9
3. Freqüência de bovinos soropositivos para <i>Neospora caninum</i> , distribuídos por propriedades, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.....	36
4. Freqüência de bovinos soropositivos na região estudada, segundo o título de anticorpos para <i>N. caninum</i> .....	37
5. Freqüência de bovinos soropositivos para <i>Neospora caninum</i> , segundo o Município, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.....	37
6. Distribuição de positividade nos bovinos em função da faixa etária.....	37
7. Freqüência de cães soropositivos para <i>Neospora caninum</i> , distribuídos por propriedades, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.....	39
8. Modelo inicial da análise multivariada, para determinação dos fatores de risco e de proteção, associados a infecção por <i>Neospora caninum</i> , na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.....	40
9. Modelo final da análise multivariada, para determinação dos fatores de risco e de proteção associados a infecção por <i>Neospora caninum</i> , na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.....	40
10 Número de bovinos segundo diagnóstico para <i>Neospora caninum</i> e histórico de aborto nos bovinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia.....	41
11 Número de bovinos segundo diagnóstico para <i>Neospora caninum</i> e histórico de natimortos nos bovinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia.....	41
12 Número de bovinos segundo diagnóstico para <i>Neospora caninum</i> e status reprodutivo de vacas na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia.....	42

**SUMÁRIO**

	Pag.
Resumo .....	vii
Abstract.....	viii
Lista de figuras.....	ix
Lista de tabelas.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
4. RESULTADOS.....	35
5. DISCUSSÃO.....	42
6. CONCLUSÕES.....	51
7. REFERÊNCIAS.....	52
8. ANEXOS.....	70

## 1. INTRODUÇÃO

A microrregião Ilhéus-Itabuna sempre foi marcada pela monocultura do cacau, contudo na década de 80 após a crise cacaueira, esta característica tem sido mudada forçando agricultores a buscar diversificação produtiva, procurando assim o consorciamento de cultivos bem como a inserção de outras atividades pecuárias como a bovinocultura e a ovinocultura.

Pela forma de exploração territorial e o manejo empregado, associado a precárias condições de manejo sanitário e pouca organização zootécnica na região, pode-se destacar a possibilidade de dispersão e manutenção de diversos agentes patogênicos responsáveis pela promoção de prejuízos econômicos na bovinocultura leiteira.

Neste contexto, pode-se destacar a neosporose, doença causada pelo protozoário *Neospora caninum* que é apontado como importante patógeno, em bovinos e cães, considerado como uma das mais importantes causas de abortamento bovino em todo o mundo.

Ainda não existem formas efetivas por meios de fármacos ou vacinas para controle da infecção, fazendo-se necessário buscar informações que permitam elucidar a relação parasita-hospedeiro em diversos tipos de ambientes e climas, com vistas à indução de medidas de controle e profilaxia.

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Geral**

Determinar a dinâmica e fatores epidemiológicos associados à neosporose bovina, nos Municípios de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia.

### **1.1.2. Específicos**

- Determinar a frequência do parasitismo nos rebanhos e bovinos da região do estudo;
- Determinar a frequência do parasitismo em cães pertencentes a propriedades rurais;
- Determinar os fatores de risco associados ao parasitismo em bovinos;
- Determinar a associação do parasitismo com os casos de abortamento, e outros sinais relacionados ou não a distúrbios reprodutivos.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. *Neospora caninum*

*Neospora caninum* é um protozoário intracelular obrigatório, e importante patógeno, principalmente de bovinos e cães que infecta naturalmente diversos mamíferos tais como: cavalos, búfalos, caprinos, ovinos, suínos, lhamas, alpacas, camelos, cervídeos e rinocerontes (DUBEY, 2003; DUBEY et al., 2007), sendo apontado como uma das mais importantes causas de abortamento bovino em todo o mundo (DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY, 2003).

Teve o seu primeiro relato em cães na Noruega por Bjerkas et al. (1984), tendo sido inicialmente diagnosticado como *Toxoplasma gondii*, pela semelhança biológica e estrutural entre eles, contudo pela diferença antigenica, foi descrito e identificado como novo gênero e espécie por Dubey et al. (1988a). Em bovinos Thilsted e Dubey (1989), historicamente foram os primeiros a relatar a presença de *N. caninum*, em um rebanho com histórico de aborto persistente no Novo México, EUA. Estes encontraram focos de necrose no cérebro de dois fetos e, no rim de um terceiro estrutura semelhante a cistos de *Toxoplasma*, sendo o diagnóstico, confirmado como *N. caninum* através da imuno-histoquímica (LINDSAY; DUBEY, 1989).

A classificação taxonômica proposta para o parasito é a seguinte: protozoário pertencente ao reino Protista, filo Apicomplexa, classe Sporozoa, ordem Eucoccidiida, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae, gênero *Neospora*,

espécie *N. caninum* (LEVINE et al., 1980; DUBEY et al., 1988a, CAVALIER-SMITH, 1993).

## 2.2. Ciclo biológico e formas infectantes

*Neospora caninum* é um coccídio, que de forma geral, é bastante semelhante em estrutura e ciclo de vida ao *T. gondii*, com duas diferenças importantes: neosporose é primariamente uma doença do gado, possuindo canídeos como hospedeiros definitivos, enquanto que a toxoplasmose é primariamente uma doença dos seres humanos, ovelhas e cabras, tendo os felídeos como únicos hospedeiros definitivos do *T. gondii* (DUBEY et al., 2007). *Neospora caninum* apresenta um ciclo heteroxeno obrigatório possuindo cães (*Canis familiars*) e coiotes (*Canis latrans*) como únicos hospedeiros definitivos conhecidos (McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004a).

Existem três formas infectantes do parasita: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Taquizoítos e bradizoítos possuem proliferação assexuada, e ocorrem nos tecidos dos hospedeiros infectados (intermediário e definitivo), enquanto os esporozoítos estão presentes nos oocistos esporulados no ambiente (DUBEY; LINDSAY, 1996; HEMPHILL, 1999; DUBEY et al., 2002).

Os taquizoítos de *N. caninum* são ovóides, de formato semilunar ou globular e medem 3-7 x 1-5 µm a depender do estágio de divisão, os que ainda não sofreram divisão são de aproximadamente 7 x 2 µm e podem estar presentes em muitos tipos celulares (DUBEY et al., 2002), geralmente se localizam no citoplasma da célula

hospedeira, formando um vacúolo parasitóforo (HEMPHILL; GOTTSSTEIN, 1996). Sem uma resposta imunológica efetiva estas estruturas pelo processo de endodiogenia começam a se proliferar, podendo se espalhar por todo o corpo através da corrente sanguínea, podendo ocorrer transmissão transplacentária para o feto (WOUUDA, 2007). Com o início de uma resposta imune do hospedeiro, os taquizoitas diferenciam-se em bradizoítas estabelecendo-se no hospedeiro como um cisto tecidual persistente (BUXTON et al., 2002).

Cistos teciduais são redondos ou ovalados podendo ter até 100 µm de diâmetro, possuindo uma parede de 1-4 µm de espessura (DUBEY et al., 2002) A parede dos cistos é responsável pela proteção do parasita das reações imunológicas provenientes do hospedeiro e a espessura da mesma depende do tempo em que a infecção esteja presente (JARDINE, 1996).

Os bradizoítos localizados no interior dos cistos são alongados e medem cerca de 7 - 8 x 2 µm; podendo estes estágios serem encontrados em outros tecidos especialmente na musculatura esquelética (DUBEY et al., 2004a, PETERS, et al., 2001).

Os cistos podem permanecer viáveis nos hospedeiros infectados por vários anos sem causar significativas manifestações clínicas, contudo podem recrudescer, caso haja imunossupressão do hospedeiro como fator desencadeante do processo (WOUUDA et al., 1999a e ATKINSON et al., 2000).

Os carnívoros podem adquirir a infecção através da ingestão de tecidos contendo cistos (SCHARES et al., 2001, GONDIM et al., 2004a; McALLISTER et al., 1998; LINDSAY et al., 1999) que pela resistência de sua parede à digestão pela

pepsina ácida no estômago, permite a liberação dos bradizolitos no intestino dos hospedeiros (WOUUDA, 2007).

Cadelas quando infectadas podem transmitir o parasita aos seus descendentes e sucessivas ninhadas podem ser infectadas, mas isoladamente a transmissão vertical não é capaz de manter o parasita nesta espécie, sendo assim a transmissão horizontal a principal via de infecção em cães (BARBER; TRES, 1998).

Os oocistos são formas de resistência, mas pouco se sabe sobre a sobrevivência, bem como, sua resistência no ambiente; mas devido a sua estreita relação com o *T. gondii*, presume-se que a resistência dos oocistos de *N. caninum* seja semelhante aos de *T. gondii* (DUBEY, 2004b). Eles são excretados nas fezes de cães e coiotes na forma não esporulada (GONDIM et al., 2004a; LINDSAY et al., 1999; McALLISTER et al., 1998), medindo cerca de 10 a 12 µm, esporulando no ambiente em 24h (LINDSAY et al., 1999), com formação de dois esporocistos, cada qual contendo quatro esporozoítos (McALLISTER et al., 1998). A esquizogônia e gametogônia, fases que precedem a formação de oocistos no intestino de cães ainda não foram documentados (WOUUDA, 2007).

### **2.3. Prevalência em bovinos no mundo e no Brasil**

Neosporose bovina é um problema comum em muitos países com produção leiteira intensiva, contudo pode afetar tanto o gado de leite quanto o de corte (DUBEY, 2003). Achados sorológicos recentes indicam que a infecção por *N.*

*caninum* no gado leiteiro é de ocorrência em todos os continentes (DUBEY et al., 2007).

Nos Estados Unidos encontrou-se prevalências de 24,4 e 45% (ANDERSON et al., 1991; ANDERSON et al., 1995) sendo considerada a maior causa de aborto no gado leiteiro, assim como na Holanda (WOUUDA, 1998a) e Japão (KOIWAI et al., 2005).

Na América Latina Venturini et al. (1995) foram os primeiros a relatar a infecção por *N. caninum* em vacas leiteiras com histórico de abortamento na Argentina observando uma soroprevalência de 51,5. No Brasil a neosporose está amplamente distribuída em bovinos e cães como demonstrado por Dubey et al. (2007) em sua revisão.

Nas tabelas 1 e 2, encontram-se um resumo de levantamentos sorológicos, evidenciando a presença de *N. caninum* em diferentes países e estados do Brasil.

**Tabela 1. Soroprevalência de *N. caninum* em rebanhos bovinos de diferentes países e tipo de produção**

País	Nº de animais	Nº de rebanhos	Positivos %	Técnica	Referência
Alemanha	4261 2022	100 (leite) 106(corte)	3,1% 4,9%	ELISA ELISA	BARTELS et al., 2006 BARTELS et al., 2006
Argentina	1048 400	52 (leite) 17 (corte)	16,6% 4,7%	RIFI RIFI	MOORE et al., 2002 MOORE et al., 2002
Colômbia	196	27	10,2%	ELISA	OVIDO et al., 2007
Costa Rica	3002	20 (leite)	39,7%	ELISA	ROMERO; FRAKENA, 2003
Chile	173 198	1 (leite) 1 (leite)	30,2% 15,7%	RIFI RIFI	PATTIUCCI et al., 2000 PATTIUCCI et al., 2000
Espanha	3360 2407	291 (leite) 372(corte)	16,5% 16%	ELISA ELISA	BARTELS et al., 2006 BARTELS et al., 2006
Holanda	2430	18 (leite)	39,4%	ELISA	DIJKSTRA et al., 2001a
	6910	108 (leite)	76%	ELISA	BARTELS et al., 2006
	1601	85 (corte)	13%	ELISA	BARTELS et al., 2006
Iran	237	155 (corte) 82 (leite)	25,8% 43,9%	ELISA ELISA	YOUSSEFI et al., 2009 YOUSSEFI et al., 2009
Itália	1140	111 (misto)	11%	ELISA	OTRANTO et al., 2003
México	187 813	13 (leite) 20 (leite)	59% 42%	ELISA ELISA	GARCIA-VÁSQUEZ et al., 2002 GARCIA-VÁSQUEZ et al., 2005
Paraguai	297 582	6 (leite) 5 (corte)	36,03% 26,63%	ELISA ELISA	OSAWA et al., 2002 OSAWA et al., 2002
Peru	347	7 (leite)	13,2%	RIFI	PURAY et al., 2006
Portugal	114 1237	49 (leite) 36 (leite)	28% 46%	NAT NAT	CANADA et al., 2004 CANADA et al., 2004
Senegal	196	4 (leite)	17,9%	ELISA	KAMGA-WALADJO et al., 2009
Suécia	4252	112 (leite)	1,3%	ELISA	BARTELS et al., 2006
Uruguai	4444	229 (corte)	13,25%	ELISA	BANÁLES et al., 2006
Venezuela	459	15 (misto)	11,3%	ELISA	LISTA-ALVEZ et al., 2006

Tabela 2. Soroprevalência de *N. caninum* em rebanhos bovinos de diferentes estados e tipos de produção no Brasil

Estado	Animais	Rebanhos	Positivos %	Técnica	Referência
Bahia	447 230	14 (leite) 13 (leite)	14,9% 36,52%	RIFI RIFI	GONDIM et al., 1999 GALVÃO et al., 2009
Espírito Santo	40	4	17,5%	RIFI	FANTI et al., 2009
Goiás	444 456 30	11 (leite) 9 (corte) 1 (misto)	30,4 29,6% 43,3	RIFI RIFI RIFI	MELO et al., 2006 MELO et al., 2006 MELO et al., 2006
Mato Grosso do Sul	23 87 241 2448 341	(corte) (leite) (corte) 205 (misto) 4 (leite)	29,9% 21,7% 26,14% 14,9% 9,17%	RIFI RIFI ELISA RIFI RIFI	RAGOZO et al., 2003 RAGOZO et al., 2003 ANDREOTTI et al., 2004 OSHIRO et al., 2007 MELLO et al., 2008
Minas Gerais	584 36 126 243 534	18 (leite) (corte) (leite) 2 (leite) 18 (leite)	18,66% 29% 34,4% 16,87% 46,25%	ELISA RIFI RIFI ELISA RIFI	MELO et al., 2001 RAGOZO et al., 2003 RAGOZO et al., 2003 MINEO et al., 2006 SANTOS et al., 2009
Pará	120 40 2236	12 (corte) 4 (leite) 171 (misto)	19,2% 17,5% 17,1%	RIFI RIFI RIFI	MINERVINO et al., 2008 MINERVINO et al., 2008 VALADAS et al., 2008
Paraná	172 15 75 623	1 (leite) (corte) (leite) 23 (leite)	34,8% 26,7% 21,3% 14,3%	ELISA RIFI RIFI RIFI	LOCATELLI-DITTRICH et al., 2001 RAGOZO et al., 2003 RAGOZO et al., 2003 GUIMARÃES JUNIOR et al., 2004

**Tabela 2. Continuação**

Estado	Animais	Rebanhos	Positivos %	Técnica	Referência
Pernambuco	469	20 (leite) (corte)	31,7%	RIFI	SILVA et al., 2008
Rio de Janeiro	75	6,7%	RIFI	RAGOZO et al., 2003	
	75	(leite)	RIFI	RAGOZO et al., 2003	
	303	29(leite)	22,7%	MUNHOZ et al., 2006	
	260	28(leite)	25,74	MUNHOZ et al., 2006	
Rio Grande do Sul	70	(corte)	21,4%	RIFI	RAGOZO et al., 2003
	70	(leite)	18,6%	RIFI	RAGOZO et al., 2003
	1549	60 (leite)	17,8%	RIFI	CORBELLINI et al., 2006
	781	55 (misto)	11,4%	ELISA	VOGUEL et al., 2006
Rondônia	2109	86	8,8%	RIFI	AGUIAR et al., 2006
São Paulo	150	(leite)	27,3%	RIFI	RAGOZO et al., 2003
	521	(leite)	15,9%	RIFI	SARTOR et al., 2003
	521	(leite)	30,5%	ELISA	SARTOR et al., 2003
	408	(leite)	35,5%	ELISA	SARTOR et al., 2005
	505	(corte)	20%	ELISA	SARTOR et al., 2005

## **2.4. Transmissão e fatores de risco em bovinos**

Existem dois meios possíveis de transmissão da infecção por *N. caninum* nos bovinos. A primeira e mais importante rota é usualmente chamada de transmissão vertical ou transmissão congênita, atualmente denominada transmissão transplacentária endógena (TREES; WILLIAMS, 2005). Ela refere-se à passagem transplacentária do parasito de uma vaca com infecção persistente para seu bezerro ainda no útero. Esta tem origem na reativação de bradizoítos presentes nos cistos teciduais (recrudescência da infecção), em função da diminuição da imunidade mediada por células (ENTRICAN, 2002).

A segunda rota é denominada transmissão horizontal ou transmissão pós-natal, ocorrendo pela via oral, através da ingestão de oocistos esporulados (DIJKSTRA et al., 2001a; SCHARES et al., 2002; DE MAREZ et al., 1999; TREES et al., 2002; GONDIM et al., 2004b).

Em um destes estudos experimentais, De Marez et al. (1999) administraram aproximadamente  $10^4$ - $10^5$  oocistos de *N. caninum* observando no período de 2 a 4 semanas respostas específicas IgG1 e IgG2 através de RIFI e ELISA nos bezerros infectados. Em outro estudo Trees et al. (2002) desafiou três vacas prenhas com 10 semanas de gestação com 600 oocistos esporulados, não verificando abortamento, mas constatando persistência da infecção no cérebro de vacas 4 meses após o parto através de PCR, concluindo que o limiar para indução de aborto seja superior a 600 oocistos. Gondim et al. (2004b) ao administrarem de 1.500 a 115.000 oocistos verificaram que 17 das 19 (89%) vacas tornaram-se soropositivas para *N. caninum*,

com infecção transplacentária em 6 dos 17 bezerros (35%) destas, sendo que uma das vacas abortou e outra vaca deu a luz a um bezerro natimorto.

Recentemente, os termos transmissão transplacentária endógena e transmissão transplacentária exógena têm sido propostos para descrever mais precisamente a origem da rota de infecção do *Neospora caninum* para o feto; sendo que a transmissão transplacentaria endógena ocorre em vacas com infecção persistente após recrudescência da infecção durante a gestação, enquanto que a transmissão transplacentária exógena ocorre após uma infecção primária, após ingestão de oocistos no período de gestação (TRESS; WILLIANS, 2005).

A probabilidade de vacas infectadas passarem a infecção para suas crias durante a gestação é muito alta, com valores variando de 66 a 95% (PARÉ et al. 1996; DAVISON et al., 1999; DIJKSTRA et al., 2003). Vacas podem permanecer infectadas por toda a vida (TREES et al., 1999) podendo transmitir a infecção a seus descendentes em várias gestações consecutivas (FIORETTI et al., 2003) ou de forma intermitente (WOUUDA, 1998a).

Apesar da eficiência na transmissão vertical, fica evidente a partir de modelos matemáticos que a infecção pelo *N. caninum* não pode ser sustentada em rebanhos sem a transmissão horizontal (FRENCH et al., 1999). Além disso, estudos epidemiológicos e observações a campo demonstram a ocorrência de infecção horizontal em bovinos, com transmissão transplacentária exógena particularmente em rebanhos com surtos de aborto epidêmico, sendo este padrão associado à transmissão horizontal de *N. caninum* (McALLISTER et al., 1996,2000; THURMOND et al., 1997; DIJKSTRA et al., 2001b).

Dois estudos evidenciaram que a taxa de infecção congênita diminui conforme o número de gestações, estes resultados sugerem que vacas podem em algum momento desenvolver um grau de imunidade capaz de prevenir a transmissão transplacentária (ROMERO et al., 2002; DIJKSTRA et al., 2003). No primeiro estudo Romero et al. (2002) em 20 rebanhos leiteiro da Costa Rica mostrou que bezerros nascidos de vacas com seis ou mais partos mostraram menor probabilidade de nascerem infectadas quando comparadas com vacas primíparas com um OR=0,6, enquanto Dijkstra et al. (2003) sugeriu infecção congênita com taxa de 80% na primeira parição, 71% na segunda e 67% na terceira e 66% a partir da quarta.

Em estudo retrospectivo na Argentina Moore et al., (2009) constatou que a probabilidade de um animal ser positivo para *N. caninum* foi de 85% (OR = 1,85) em animais com histórico de abortamento quando comparados aos animais sem relato de aborto.

Consumo de placenta, material de fetos abortados ou descargas uterinas por cães em fazenda em combinação com a defecação no cocho de alimentação, nos locais de armazenamento de feno, ração, capim ou de silagem foi observada em 19% das fazendas estudadas e em 75% das fazendas com infecção pós natal (DIJKSTRA et al., 2002a), tendo também a ingestão de carcaças de animais silvestres infectadas com cistos teciduais a hipótese da existência de um ciclo silvestre do *N. caninum* (DUBEY, 2003).

Dijkstra et al. (2001a) relataram o sucesso na transmissão do *N. caninum* para cães após serem alimentados por placenta de vacas naturalmente infectadas. Outra forma de infecção pode ser através da ingestão de carcaças (TREES;

WILLIAMS, 2000), ou carne crua (BASSO et al., 2001), sendo que a ingestão de fetos abortados pareça ser uma fonte menos provável de infecção (BERGERON et al., 2001).

Cães, coiotes e possivelmente outros canídeos selvagens podem desempenhar um papel importante em um ciclo silvestre, pois quando animais silvestres são caçados, a evisceração geralmente ocorre a campo, deixando as vísceras no ambiente. Além disso, existe a predação natural de animais silvestres por canídeos selvagens. Desta forma as vísceras ou a carcaça estariam disponíveis para o consumo de canídeos silvestres e de cães domésticos, o que poderia aumentar o risco de transmissão de *N. caninum* para os bovinos (GONDIM et al., 2004c).

A presença de cães em uma fazenda tem se mostrado um fator de risco para infecção do gado (PARÉ et al., 1998; BARTELS et al., 1999; WOUDA et al., 1999b, MAINAR-JAIME et al. 1999), e a introdução de um novo cão em uma exploração bovina com neosporose endêmica parece ser um fator de risco para transmissão horizontal no rebanho (DIJKSTRA et al. 2002b) A presença de *N. caninum* no sêmen bovino pode ser uma nova via de transmissão, contudo parece ser improvável, pois a freqüência de detecção do DNA de *N. caninum* foi baixa nos estudos (FERRE et al., 2005; ORTEGA-MORA et al., 2003), sugerindo que organismos viáveis presentes são poucos e raros.

Mondry et al. (2001) levantaram a hipótese de transmissão de *N. caninum* através da placentofagia de fêmeas bovinas no pós-parto, o que segundo os autores explicaria a alta prevalência da infecção nos rebanhos que são mantidos sem contato direto com os cães potencialmente infectados, contudo Schares e Conraths

(2001) mencionam a possibilidade de que cães de outras propriedades, assim como cães selvagens ou outros canídeos que ainda não foram identificados como hospedeiros definitivos, poderiam explicar a contaminação das forragens bem como das aguadas, indicando que a placentofagia por si só, não poderia sustentar e explicar as altas prevalências nos rebanhos. Além disso, falhas neste tipo de transmissão também foram relatadas por Davison et al. (2001).

O período em que ocorre a infecção durante a gestação mediante a dose infectante, é determinante para o sucesso da doença como demonstrado por Gondim et al. (2004b), onde a taxa de transmissão vertical foi maior nas vacas infectadas até 160 dias de gestação. E também foi maior nas vacas recebendo 41.000 oocistos, no entanto nesta avaliação, a transmissão transplacentária ocorreu em uma de duas vacas que receberam a menor dose testada de oocistos (1.500), após 160 dias de gestação. Esta associação dupla de transmissão transplacentária com ambas as doses de oocistos e tempo de infecção permite o desenvolvimento de curvas de probabilidade para prever resultados de combinações da dose de oocistos ingeridas e dias de gestação na primeira exposição (GONDIM et al., 2004b)

O conhecimento dos fatores de risco que favoreçam os rebanhos bovinos de adquirir a infecção por *N. caninum* e sua associação com o aborto, se faz importante para o desenvolvimento e implementação de medidas de controle da neosporose bovina. Grande parte dos conhecimentos quanto ao risco de infecção ou dos fatores de proteção se baseia nos estudos retrospectivos, caso-controle e experimentais. Sendo assim a identificação repetida de um fator de risco ou de proteção nos diversos estudos realizados evidencia que determinada característica encontrada é

um risco ou fator de proteção verdadeiro para disseminação ou controle da infecção (DUBEY et al., 2007).

Animais mais velhos possuem um risco maior de se tornarem infectadas (RINALDI et al., 2005). No caso de transmissão vertical, animais soropositivos estão distribuídos igualmente entre os diferentes grupos de idade, e bezerros soropositivos possuem vacas soropositivas. Mas quando a transmissão horizontal está presente ocorre aglomeração de soropositivos em uma determinada categoria, juntamente com a falta de associação entre o status sorológico da vaca e bezerro (DIJKSTRA et al., 2001b).

Existem indicações em muitos países que a soroprevalência entre os bovinos difere conforme o tipo de raça (BARTELS et al., 2006), porém o sistema de produção também deve ser levado em consideração por exercer maior pressão de produção sobre os animais, levando-os a um maior estresse (MELO et al., 2001) implicando em maiores chances de recrudescimento da infecção pelo rompimento dos cistos do parasita nos animais positivos como especulado por Wouda et al. (1999a) e Atkinson et al. (2000). Já Aguiar et al. (2006), não encontrou diferenças significativas entre os diferentes tipos de produção, possivelmente por se tratar de animais com baixa produção pecuária.

Hässig e Gottstein (2002) na Suíça observaram que a proximidade das fazendas a cidades ou vilarejos representa um fator de risco ao aborto associado a *Neospora caninum*, achados semelhantes foram encontrados na Alemanha por Schares et al. (2003) quando propriedades que se encontravam em distritos ou cidades com alta densidade populacional, favoreciam uma maior taxa de soroprevalências nos rebanhos. Este incremento populacional da densidade, estaria

segundo Schares et al. (2003) correlacionado a altas densidades de cães, que podem levar a um elevado risco de infecção nos rebanhos localizados próximos a cidades ou vilarejos.

Altas taxas de lotação também foram associadas na Itália onde o risco individual do gado se tornar soropositivo aumenta conforme o tamanho do rebanho, interagindo também a este fator uma maior presença de cães nas propriedades com maiores rebanhos (OTRANTO et al., 2003) e na Alemanha rebanhos maiores tiveram um maior risco de positividade quando analisadas amostras de leite através de ELISA (SCHARES et al., 2003). O aumento da densidade, associada a diferentes manejos (BARLING et al., 2001) e medidas sanitárias ruins poderiam estar contribuindo para evidenciar tais diferenças (SCHARES et al., 2003).

O fator clima em dois estudos na Europa avaliando os riscos de soropositividade individual e no rebanho revelaram que a temperatura média na primavera foi determinante como fator de risco para maior proporção de soropositividade (SCHARES et al., 2004; RINALDI et al., 2005). Sendo tal observação justificada pela ação do clima na esporulação e sobrevivência dos oocistos no ambiente (DUBEY et al., 2007), da mesma forma que regiões mais úmidas estão mais propensas a animais soropositivos (ANDREOTTI et al., 2004).

Vários são os estudos realizados através de técnicas sorológicas, porém grande variação dos resultados é evidenciada, possivelmente pela adoção de diferentes pontos de corte (BJORKMAN; UGGLA, 1999) e por diferenças regionais, o que dificulta uma comparação direta dos resultados encontrados (DUBEY et al., 2007). Tais diferenças quando encontradas só podem ser levadas em consideração quando há uma padronização das análises e dos desenhos experimentais como

realizado por Bartels et al. (2006), sugerindo assim diferenças reais no risco de infecção entre diferentes regiões, dentro de uma determinada região, e entre os diferentes sistemas de produção e manejo. Portanto cautela deve ser tomada ao transferir resultados de análise de fator de risco em um determinado sistema de gestão ou região para outra (DUBEY et al., 2007).

## 2.5. Patogenia da neosporose na gestação

Durante a gestação as interações entre o feto e a mãe são bi-direcionais: O feto estando na placenta necessita de nutrição e um ambiente adequado em condições homeostáticas, considerando que a mãe influenciada pelos fatores placentários adapta seu metabolismo e sistema imunológico, permitindo assim a vida fetal (THELLIN; HEINEN, 2003), tendo ação de hormônios esteróides que agem sistematicamente na preparação do endométrio para a implantação do embrião (PICCINI et al., 2000).

Acredita-se que a resposta imune mediada por células seja importante na proteção contra *N. caninum* (INNES et al., 2002), e a característica da resposta imunológica durante a gestação pode ser importante para determinar se uma infecção por *Neospora caninum* resultará em morte fetal, ou sobrevivência do feto e transmissão de infecção congênita (INNES et al., 2002; QUINN et al., 2002).

Mediante altos níveis de progesterona, a resposta imune Th2 (Linfócitos T helper tipo 2) mantém a gestação mediante produção de IL4 (interleucina 4), IL5, IL6, IL9 e IL10 e redução da produção de moléculas pró-inflamatórias como a IL12 e

IFN- $\gamma$  (interferon gama), que são prejudiciais a vida fetal. O equilíbrio das respostas Th1/Th2 é muito importante para que não haja rejeição do feto, já que respostas do tipo Th1 promovem produção de IFN- $\gamma$  e outras citocinas, que promovem a rejeição fetal, e consequentemente ocorrendo o aborto (RAGHUPATHY, 1997).

A resistência a muitos parasitas protozoários intracelulares é dependente de células T helper 1 (Th1) e da ação de algumas citocinas inflamatórias. Isto tem repercussões importantes para fêmeas no período de gestação, pois forte resposta celular do tipo Th1 permite o controle de infecções provocadas por protozoários, mas tais respostas são nocivas para a sobrevivência do feto. Quando uma resposta do tipo Th2 é predominante, citocinas pró-gestação são produzidas, apoiando assim o desenvolvimento do feto (MAKHSEED et al., 2001), contudo estas citocinas não são capazes de controlar adequadamente a infecção, causando aumento da carga parasitária na mãe (QUIN et al., 2002).

Citocinas promovidas por resposta Th1 podem ativar macrófagos inflamatórios e células NK (natural killer) que exercem capacidade citolítica. Citocinas Th1 podem também agir diretamente sobre as células trofoblásticas, reduzindo a produção da glicoproteína OX-2 (que é responsável pelo equilíbrio Th1/Th2 a favor do Th2) e aumentando a produção de FgL2 (pró-trombinase). A FgL2 pode induzir a coagulação do sangue, que impede a circulação do sangue materno da placenta por trombose, assim as trocas vitais entre os sanguess materno e fetal ficam bloqueadas, levando a morte de tecidos fetais. Consequentemente uma resposta endotelial pode promover ativação de neutrófilos que ativados atacam estruturas do feto e placenta. As citocinas Th1 também estimulam a produção de

imunoglobulinas capazes de ativar a cascata do complemento, e a falha em reduzir esta resposta contribui para o processo de abortamento (THELLIN; HEINEN, 2003).

As alterações patológicas em função da neosporose a campo (DUBEY; LINDSAY, 1996; WOUDA, 1997) e as experimentais possuem ação semelhante na infecção do feto e da placenta (BARR et al., 1994; MALEY et al., 2003; MACALDOWIE et al., 2004). As infecções experimentais no início da gestação podem causar mudanças patológicas severas em áreas fetais ou maternais da placenta resultando em morte fetal (MACALDOWIE et al., 2004), enquanto infecções experimentais no meio da gestação provocam alterações placentárias mais leves com resolução das lesões, levando a infecções fetais e sobrevivência do feto (MALEY et al., 2003).

A ocorrência de destruição das células e consequente estabelecimento da doença, vai depender de um equilíbrio entre a capacidade de penetração e multiplicação dos taquizoítos em células do hospedeiro, mediante a capacidade do hospedeiro inibir a multiplicação do parasita (BUXTON et al., 2002).

A infecção pode acontecer pela reativação de bradizoítos presentes no interior dos cistos localizados nos tecidos de vacas infectadas durante o período de recrudescência, que mediante a diminuição da imunidade mediada por células durante a gestação, permite a parasitemia (ENTRICAN, 2002), estando assim a transmissão congênita e a ocorrência do aborto diretamente relacionada com o período da gestação em que a vaca foi infectada (WILLIAMS et al., 2000), onde o maior risco de morte fetal é observado entre 98 e 105 dias de gestação e a idade média de morte fetal variando de 99 a 105 dias (PETER, 2000).

## 2.6. Diagnóstico sorológico

A detecção de anticorpos contra *N. caninum* em animais suspeitos indica a exposição dos mesmos ao parasita. A técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) foi a primeira prova imunológica usada para detecção de anticorpos contra *N. caninum* (DUBEY et al., 1988b) e tem sido considerada como uma prova de referência frente as outras técnicas. Os testes sorológicos são considerados ferramentas essenciais para a detecção da infecção sendo importante apoio para exames clínicos, e indispensáveis em estudos epidemiológicos (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999; DUBEY et al., 2006).

Uma variedade de testes de detecção de anticorpos, além da RIFI, tais como: ensaios imunoenzimáticos (ELISA), immuno blotting (IB) e testes de aglutinação direta (NAT) foram desenvolvidos ao longo dos anos (ATKINSON et al. 2000; BJÖRKMAN; UGGLA, 1999; JENKINS et al., 2002). No mundo vários trabalhos são realizados empregando-se o uso de técnicas sorológicas, porém grande variação dos resultados é evidenciada, e tais diferenças podem ser esclarecidas pelo uso de diferentes técnicas sorológicas ou pela adoção de diferentes pontos de corte, o que dificulta uma comparação direta dos resultados encontrados (BJORKMAN; UGGLA, 1999).

Em contraste, com a detecção direta ou indireta em tecidos fetais, métodos sorológicos podem ser utilizados para analisar animais *in vivo* e assim dar informações sobre a rota e estágio de infecção. A presença de anticorpos específicos de *N. caninum* nos fluidos fetais ou em soros de vacas pode não ser só útil no diagnóstico de infecção, mas podem também evidenciar infecção congênita,

deixando claro o possível papel que um animal pode desempenhar no ciclo de vida ou na epidemiologia do *N. caninum* no rebanho (JENKINS et al., 2002).

Os testes sorológicos podem ser utilizados para inferir a ausência de infecção em animais. Nesta circunstância é importante destacar que anticorpos podem flutuar substancialmente em animais sem histórico de abortamento, atingindo valores abaixo do ponto de corte, sendo necessário adotar testes mais sensíveis ou ajustar o ponto de corte (ÁLVAREZ-GARCIA et al., 2003).

Vários kits de ELISA baseados em diferentes preparações antigênicas, kits de teste de aglutinação e reagentes para testes de imunofluorescência já estão disponíveis comercialmente. Cada sistema oferece vantagens e desvantagens, que devem ser cuidadosamente consideradas, quando escolhidos para diferentes aplicações (ÁLVAREZ-GARCIA et al., 2007).

A sorologia também pode ser usada com finalidades diagnóstica em fetos abortados, já que o feto bovino começa a desenvolver a capacidade de produzir anticorpos no meio da gestação, com aproximadamente cinco meses (OSBURN, 1988), desta forma a sorologia pode ser empregada preferencialmente em fetos de cinco meses ou com idade superior, e os fluidos da cavidade abdominal ou torácica podem ser usados para realizar a detecção de anticorpos (DUBEY; LINDSAY, 1996). Todavia a sensibilidade da sorologia fetal pode ser baixa, devido a baixos títulos de anticorpos presentes nos fluidos e pela degradação post-mortem das imunoglobulinas (ÁLVAREZ-GARCIA et al., 2007).

A seleção de pontos de corte, diferentes dos que são adotados em bovinos adultos devem ser considerados para sorologia fetal. Um ponto de corte para RIFI

entre os valores de 1:16 (ALVAREZ-GARCIA et al., 2003) e 1:25 (WOUUDA et al., 1997) seria apropriado nesta circunstância.

Para determinação de infecção transplacentária, uma amostra de soro pré-colostral deve ser realizada a fim de evitar falsos positivos em função de anticorpos colostrais. Desta forma, a ausência de anticorpos específicos em bezerros recém-nascidos, torna a infecção por *N. caninum* improvável, pois, a concentração de anticorpos pré-colostrais em bezerros congenitamente infectados são elevados (WOUUDA et al., 1998b).

Em animais adultos a detecção de anticorpos específicos é normalmente realizada com soro, mas amostras de leite também podem ser avaliadas (SCHARES et al., 2003). Vacas recém abortadas possuem geralmente altos títulos de anticorpos, portanto a sorologia se torna útil para auxílio no diagnóstico da neosporose como causa de abortamento em vacas (WOUUDA et al., 1998a), contudo a simples presença de anticorpos não prova que a infecção causou o aborto, pois muitas vacas cronicamente infectadas são sorologicamente positivas (ALVAREZ-GARCIA et al., 2007).

## 2.7. Sinais clínicos em bovinos

A principal manifestação clínica da neosporose bovina é o abortamento, ocorrendo tanto em rebanhos leiteiros, quanto nos de corte, causando consideráveis perdas econômicas (TREES et al., 1999). Fetos morrem no útero entre o terceiro e o oitavo mês de gestação (DUBEY, 2003), com maior freqüência entre o 5-6º mês

(DUBEY; LINDSAY, 1996) sendo normalmente expulsos com autólise moderada, contudo pode haver também morte fetal antes dos cinco meses, seguido de mumificação, reabsorção, natimortos e posterior repetição de cio como consequência (SAGER et al., 2001; MOORE, et al., 2002). Na maioria dos casos, vacas soropositivas, têm bezerros clinicamente normais, porém cronicamente infectados, embora os mesmos possam nascer vivos, mas doentes, ou natimortos (DUBEY; LINDSAY, 1996).

Os bezerros doentes, oriundos de uma infecção congênita tendem a apresentar disfunções neurológicas e baixo peso ao nascer. Raramente estas infecções congênitas com sintomatologia nervosa são aparentes, e quando visualizadas variam de uma leve ataxia a tetraparalisia (DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY, 2003).

Em algumas situações membros anteriores e posteriores de bezerros ao nascer podem apresentar-se flexionados ou hiper estendidos, e ocasionalmente achados de anormalidades congênitas como escoliose, hidrocefalia e estreitamento da medula espinhal são relatados (DUBEY, 1999).

## **2.8. Importância econômica**

As perdas econômicas provocadas pela neosporose em animais produtores de carne e de leite estão especialmente relacionados a problemas reprodutivos como perda fetal precoce, natimortos e mortalidade neonatal (TREES et al., 1999).

Apesar do aborto ser considerado o maior prejuízo, as despesas indiretas devem estar incluídas tais como ajuda de profissionais, estabelecimento de diagnóstico, recria de animais que abortaram, reposição de animais descartados, eventuais perdas na produção leiteira e o valor do feto perdido (DUBEY et al., 2006, PETER, 2000).

Reduções significativas no ganho de peso pós-desmama, peso de carcaça, e retorno econômico foi associada com a detecção de anticorpos anti-*N caninum* em bezerros de corte em confinamento (BARLING et al., 2000).

Ao quantificar os efeitos da neosporose o essencial é diferenciar a demonstração da infecção em si das diversas causas que podem levar ao abortamento, havendo uma necessidade de mais estimativas e parâmetros epidemiológicos relacionados à perda fetal precoce, natimortos e mortalidade neonatal, sendo estes dados possivelmente utilizados para quantificar plenamente o impacto da neosporose através de análise econômica (TREES et al., 1999).

Segundo Eicker e Fetrow (2003) o custo de um aborto pode variar de U\$600 a U\$ 800 dólares, valores próximos do que foi sugerido por De Vries (2006). Já Pfeiffer et al. (1997) estimou que o custo de um aborto induzido pela infecção por *Neospora caninum* na Nova Zelândia seria de US\$ 975 dólares. A médio e longo prazo Peter (2000) determinou que os prejuízos com um aborto pudessem ser de U\$600 a 1.000 dólares enquanto que no Canadá o custo de um aborto incluindo as perdas de reprodução e redução da produção leiteira chegariam a casa dos U\$1.286 dólares.

A variação destas análises econômicas para cálculos de prejuízos por conta dos abortamentos são ilustrações de casos especiais, não sendo avaliadas no

rebanho ou na média do grupo, e os métodos utilizados para a obtenção destes valores não foram plenamente descritos ou poderiam ser melhorados, justificando assim tais diferenças (DE VRIES, 2006).

## **2.9. Prevenção e controle**

Uma estratégia geral para o controle da neosporose em todo o mundo não é aplicável por conta de diferenças regionais na epidemiologia da neosporose bovina, sendo prudente fazer estudos epidemiológicos regionais antes de se adotar um programa de controle (DUBEY et al., 2007).

As diferenças encontradas no estudo da neosporose, possivelmente podem ser justificadas pelas diferenças peculiares de cada país, região, rebanho (leite ou corte), das categorias estudadas e das raças avaliadas (BARTELS et al., 2006); acompanhando estas diferenças, as opções de controle também se modificam em vários países, que vão desde estratégias de vacinação, manejo reprodutivo, estratégias para descarte de animais e ações tomadas em relação às medidas de higiene (CONRATHS et al., 2007).

Em fazendas não infectadas, prevenir a introdução do parasita através de medidas de biossegurança é o foco principal. O melhor método para se garantir a ausência do parasita em uma propriedade, seria manter o rebanho fechado, mas pela dificuldade de realizar tal procedimento, recomenda-se que os animais sejam obtidos somente a partir de rebanhos que foram testados e reconhecidos como

negativos, de preferência com mais de uma prova do teste para evitar falsos-negativos (HADDAD et al., 2005).

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. 2002b; CONRATHS et al., 2007). No entanto resultados experimentais têm sido observados, e que podem resultar em uma opção de controle quimioterápico em um futuro próximo (KRITZNER et al., 2002; HAERDI et al., 2006; STROHBUSCH et al., 2009).

Cães mantidos em contato com o rebanho são identificados como fatores de risco para o aparecimento da neosporose bovina (PARE et al., 1998; SCHARES et al., 2003), pela infecção pós-natal do gado através da ingestão de oocistos, (McALLISTER et al., 2000; GONDIM et al., 2002); devendo-se evitar a presença dos mesmos nas instalações pela possibilidade de contaminação do ambiente pelos oocistos presentes nas fezes (DIJKSTRA et al. 2002a).

Sendo assim a contaminação de alimento e da água fornecida para o gado deve ser também evitada. A idéia destas medidas é impedir o acesso de cães e outros potenciais hospedeiros definitivos aos tecidos infectados do hospedeiro intermediário (fetos bovinos, placenta e carcaças de bovinos à campo) (CONRATHS et al., 2007).

A transmissão horizontal da neosporose entre os bovinos não está comprovada, mas parece possível, uma vez que bezerros recém-nascidos podem ser infectados como demonstrado por Uggla et al. (1998) adicionado taquizoítos de

*N. caninum* ao colostro. Não está claro se esta rota tem potencial de transmissão ou qualquer relevância epidemiológica, mas, como medida de precaução, o acesso do gado aos tecidos infectados deve ser evitado (CONRATHS et al., 2007).

A transferência de embriões de vacas infectadas para receptoras não infectadas pode prevenir a transmissão endógena transplacentária (CAMPERO et al., 2003). Em contraste quando embriões provenientes de doadoras soropositivas ou soronegativas são transferidas para receptoras soropositivas resultam em progênie soropositiva ao nascimento, como demonstrado por Baillargeon et al. (2001) onde 5 de 6 animais nascidos de receptoras positivas nasceram infectados por *Neospora caninum*.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local de realização do estudo**

O estudo foi realizado nos Municípios de Ilhéus e Itabuna inseridos na Microrregião Ilhéus-Itabuna (Altitude de 47 m; Latitude Sul 14°70' e Longitude Oeste 39°03'), no Estado da Bahia.

Segundo a pesquisa Pecuária Municipal realizada em 2008 (IBGE, 2009) em Ilhéus há um efetivo bovino de 15.808 cabeças, sendo 6.736 vacas ordenhadas com produção de 2.348 mil litros, e no município de Itabuna há um efetivo de 15.100 cabeças, sendo 2.000 vacas ordenhadas e produção de 1.080 mil litros.

### **3.2. Tamanho da amostra e seleção dos participantes do estudo**

#### **3.2.1. Propriedades**

As propriedades foram selecionadas por conveniência utilizando-se o cadastro da Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB). O critério de seleção das propriedades foi de a mesma possuir característica leiteira. O estudo foi desenvolvido entre março de 2008 a outubro de 2009, tendo ao final um número de 19 propriedades, sendo 11 pertencentes à Ilhéus e oito à Itabuna. O número total de propriedades foi estipulado, em função da viabilidade de tempo para execução de todas as etapas do projeto, conforme cronograma de atividades.

#### **3.2.2. Animais**

Os animais foram categorizados em três estratos: animais de cinco meses a um ano (bezerros); animais com idade superior a um e até três anos (novilhas) e vacas. Em cada propriedade foram colhidos pelos menos 20% de cada estrato, para garantir a representatividade amostral (WOUDE et al. 1999a). Fizeram parte do estudo um total 760 animais, selecionados por conveniência, sendo 348 provenientes de Ilhéus e 412 de Itabuna. Critérios como histórico de abortamento ou problemas reprodutivos, não foram utilizados na seleção dos animais.

Em relação aos cães de fazendas, foram colhidas amostras de sangue sempre que possível nas propriedades visitadas.

### **3.3. Entrevistas**

Durante a visita e antes do momento da colheita, foi realizada uma entrevista semi-estruturada (Anexo 1) com o intuito de caracterizar o perfil de produção, manejo da propriedade e obter informações dos animais, assim como verificar os prováveis fatores de risco associados à infecção, de forma a possibilitar a análise dos resultados obtidos da entrevista, como os encontrados na sorologia.

As propriedades foram categorizadas segundo a forma de organização da produção em Empresarial, Pré-empresarial e Familiar segundo Astudillo et al. (1990) e classificadas como de ocorrência esporádica, endêmica e epidêmica frente a presença de casos de aborto de acordo com os estudos de Thurmond et al. (1997); Davison et al. (1999); Wouda et al., (1999a).

### **3.4. Colheita e obtenção das amostras**

O sangue foi obtido por punção das veias jugular ou coccígea, utilizando sistema Vacutainer® com vidro siliconizado, sem anticoagulante, com capacidade de 10mL. As amostras foram acondicionadas em recipiente isotérmico, com gelo reciclável até seu processamento.

Após a retração do coágulo as amostras foram centrifugadas a 350g por 10 minutos, no Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), para obtenção do soro, estes foram acondicionados em criotubos

plásticos de 2,0 mL em duplicata, sob a temperatura de -20°C até o momento da realização da sorologia. (figura 1).



(Fotos: Arquivo pessoal)

Figura 1. Amostras sorológicas identificadas e acondicionadas em criotubos.

### 3.5. Sorologia

Todos os procedimentos da sorologia foram realizados no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses nos Animais da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

### **3.5.1. Produção de antígeno de *Neospora caninum***

Taquizoítos da cepa NC-BA (GONDIM et al., 2001) foram mantidos em monocamadas de células VERO cultivadas em meio RPMI com L-glutamina contendo 5% de soro equino e antibióticos (penicilina e estreptomicina), de acordo com os métodos descritos por Yamane et al. (1997).

Um frasco de cultivo celular de 25cm<sup>2</sup>, contendo células VERO infectadas com taquizoítos de *N. caninum*, foi utilizado para infectar frascos de culturas puras de células VERO. O frasco infectado com os taquizoítos era submetido a raspagens e 1/10 do volume era passado para outro frasco com células VERO, sendo o meio de crescimento das culturas de células VERO trocado a cada três dias e o meio das células VERO infectadas com taquizoítos substituído a cada dois dias.

Quando cerca de 80% das células se encontravam infectadas, todo o conteúdo do frasco de cultivo foi removido por raspagem com auxílio de uma espátula cell scraper. O material foi retirado com auxílio de uma pipeta e centrifugado a 350g por 10 minutos a 4°C, desprezando-se o sobrenadante ressuspensendo o sedimento em 1mL de PBS filtrando em seguida em membrana de Millipore® (0,22μm ).

Em seguida o material foi passado em seringa de 3mL com agulha de 23G x 11/4 (0,65 x 32 mm) por cinco vezes, para ruptura das células e liberação dos taquizoítos, filtrando-se em seguida em millex 5μm e centrifugando o filtrado a 350g por 10 minutos. O sobrenadante novamente foi desprezado e resuspendeu-se duas vezes em 1mL de PBS filtrado em membrana de Millipore® (0,22μm). Após estas etapas examinou-se os sedimentos na câmera de Neubauer, observando o número

de taquizoítos e possível presença de resíduo, que se encontrado nova filtragem se faria necessário.

### **3.5.2. Preparo das lâminas para reação de imunofluorescência indireta (RIFI)**

Taquizoítos da cepa NC-BA (GONDIM et al., 2001), foram usados para sensibilizar lâminas de vidro com teflon, contendo 12 poços de 4mm de diâmetro cada. Em cada poço adicionou-se 10 $\mu$ L de uma solução de PBS, pH 7,2 contendo de 500 a 1000 taquizoítos/ $\mu$ L, contados em câmara de Neubauer.

As lâminas foram secas em estufa a 37°C por uma hora, posteriormente fixadas em formol a 10% por 10 minutos, novamente levadas à estufa até secar e depois mantidas em freezer a -40°C.

### **3.5.3. Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos contra *N. caninum***

As lâminas sensibilizadas foram retiradas do freezer e lavadas em (PBS) por 5 minutos, deixando-as secar em estufa por 5 minutos.

A RIFI foi realizada de acordo com Yamane et al. (1997). O ponto de corte utilizado foi de 1:200 nos bovinos (DUBEY et al., 1996) e 1:50 nos cães (DUBEY et al., 1988b), onde cada soro foi diluído em PBS pH 7,2. Em cada poço adicionou-se 10 $\mu$ L de soro diluído. Os controles negativo e positivo empregados na sorologia dos

bovinos consistiam de soros pré e pós infecção de bezerros infectados com taquizoítos para produção de oocistos em cães (GONDIM et al., 2004b), enquanto que para a sorologia canina os controles negativo e positivo, que consistiram de soros pré e pós-infecção de um cão que recebeu tecido bovino contendo cistos de *N. caninum* (GONDIM et al., 2005).

O material foi incubado a 37°C por 30 minutos, submetendo-os depois a duas lavagens, com PBS por 5 minutos sob leve agitação. Após secagem, foi adicionado 10µL de conjugado anti-IgG bovino (Sigma®-Aldrich F4387 inc., USA) e conjugado anti-IgG canino (Sigma®-Aldrich F4012 inc., USA), para bovinos e cães, respectivamente e diluídos conforme especificação do fabricante, adicionando-se 0,5% de azul de Evans a solução. A lâmina foi incubada em câmara úmida e escura a 37°C por 30 minutos e lavada posteriormente como descrito anteriormente, porém com a cuba coberta ou envolta com papel alumínio para evitar propagação da luz. Retirou-se as lâminas do PBS, secou-se a temperatura ambiente ou em estufa por cinco minutos e em seguida realizou-se a montagem da lâmina com lamínula e glicerina tamponada (90% de glicerol e 10% PBS).

A leitura foi realizada em microscópio Binocular BX 51 (Olympus<sup>TM</sup>) com sistema de epifluorescência e aumento de 400x, considerando-se as reações positivas quando a fluorescência periférica total for observada em mais de 50% dos taquizoítos. Reações parciais ou apicais foram interpretadas como negativas. Para as amostras de soro positivas de bovinos e cães realizaram-se diluições dobradas a fim de determinar o título de anticorpos.

### **3.6. Análise estatística e sistema de unidades**

Os dados foram tabulados no pacote estatístico EPI INFO 3.5.1 (DEAN; ARNET 2008) e analisados utilizando o teste estatístico do qui-quadrado com correção de Yates ou teste exato de Fisher (SAMPAIO 1998). Foi calculado o *odds ratio* da análise bivariada com medidas de associação e intervalo de confiança de 95%. Ao final realizou-se uma análise multivariada de regressão logística não-condicional, sendo o modelo inicial constituído pelas análises bivariadas com "p" inferior a 20% e plausibilidade biológica, e o final construído pela retirada das variáveis (modelo *backward*) de acordo com os valores de "p" ajustado pelo teste de Hosmer & Lemshow. O nível de significância para uma variável permanecer no modelo final foi estabelecido em 5%. A utilização dos símbolos para o sistema de unidades está de acordo com o Sistema Internacional de Unidades (INMETRO, 2003).

## **4. RESULTADOS**

### **4.1. Prevalência de *Neospora caninum* em rebanhos, bovinos e faixa etária**

A presença de pelo menos um bovino soropositivo foi observada em 94,74% (18/19) das propriedades, com uma positividade variando de 1,1% a 66,7% (Tabela 3). Nos bovinos observou-se, que 13,6% (103/760) apresentaram sorologia positiva,

com títulos variando de 200 a 3200 (Tabela 4). A distribuição por município foi de 12,9% (45/348) em Ilhéus e 14,1% (58/412) em Itabuna (Tabela 5),

A positividade de acordo com a faixa etária dos animais foi de 15,2% (67/441) nos adultos, 4,5% (5/110) nas novilhas e 14,8% (31/209) nos bezerros, com  $p=0,011$  (Tabela 6). Em sete (36,84%) das propriedades não se colheu o sangue das novilhas, em função das ausências destas ou as mesmas serem manejadas em outro local o que justificou o menor número de animais amostrados neste estrato.

Tabela 3. Freqüência de bovinos soropositivos para *Neospora caninum*, distribuídos por propriedades, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

Fazenda	Animais colhidos	Positivos	Porcentagem	IC 95%
1	12	8	66,7	34,9 - 90,1%
2	45	14	31,1	18,2 - 46,6%
3	55	7	12,7	5,3 – 24,5
4	94	1	1,1	0 – 5,8%
5	23	4	17,4	5 – 38,8%
6	24	2	8,3	1 – 27%
7	27	4	14,8	4,2 – 33,7%
8	12	2	16,7	2,1 – 48,4%
9	88	7	8	3,3 – 15,7%
10	73	16	21,9	11,1 – 33,1%
11	35	6	17,14	6,6 – 33,6%
12	47	4	8,5	2,4 – 20,4%
13	14	3	21,4	4,7 – 50,8%
14	29	2	6,9	0,8 – 22,8%
15	129	15	11,6	6,7 – 18,5%
16	14	5	35,7	12,8 – 64,4%
17	4	1	25	0,6 – 80,6%
18	18	0	0	0 – 18,5%
19	17	2	11,8	1,5 – 36,4%
<b>Total</b>	<b>760</b>	<b>103</b>	<b>13,6</b>	<b>11,2-16,2%</b>

Tabela 4. Freqüência de bovinos soropositivos, segundo o título de anticorpos contra *N. caninum*, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

Título	Nº de animais positivos (%)	Categoria		
		Vaca(%)	Novilha(%)	Bezerro(%)
200	36 (34,95)	27 (75)	3 (8,33)	6 (16,66)
400	33 (32,04)	18 (54,54)	1 (3,03)	14 (42,42)
800	21 (20,39)	15 (71,43)	0 (0)	6 (28,57)
1600	6 (5,83)	4 (66,67)	0 (0)	2 (33,33)
3200	7 (6,80)	3 (42,86)	1 (14,29)	3 (42,86)
<b>TOTAL</b>	<b>103 (100)</b>	<b>67 (65,05)</b>	<b>5 (4,85)</b>	<b>31 (30,1)</b>

Tabela 5. Freqüência de bovinos soropositivos para *Neospora caninum*, segundo o Município, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.

Município	Total de animais	Total de animais positivos	Freqüência de animais positivos (%)	Total de propriedades	Prevalência nas propriedades (%)
Ilhéus	348	45	12,9	11	1,1-66,7
Itabuna	412	58	14,1	8	8-35,7
<b>TOTAL</b>	<b>760</b>	<b>103</b>	<b>13,6</b>	<b>19</b>	<b>1,1-66,7</b>

p=0,72

Tabela 6. Distribuição de positividade nos bovinos em função da faixa etária

Faixa etária	Total de animais (%)	Total positivos (%)	Total negativos (%)
Vaca	441 (58%)	67 (15,2%)	374 (84,8%)
Novilha	110 (14,5%)	5 (4,5%)	105 (95,5%)
Bezerro	209 (27,5%)	31 (14,8%)	178 (85,2%)
<b>Total</b>	<b>760 (100)</b>	<b>103 (13,6)</b>	<b>657 (86,4)</b>

p=0,011

#### 4.2. Presença dos cães

A presença de cães foi observada em 94,74% (18/19) das propriedades (tabela 7), contudo verificou-se uma correlação negativa ( $p=-0,44$ ) entre a presença destes e freqüência de infecção nos bovinos (Figura 2). Foi possível a colheita de sangue de apenas 65 cães de 13 propriedades, destes 27,69% (18/65) foram soropositivos (níveis de 50 a 800), pertencentes a nove propriedades (Tabela 7). Não houve associação de cães soropositivos em relação aos bovinos soropositivos ( $p>0,05$ ), assim como para praticamente todas as variáveis associadas aos cães; a exceção da variável “presença de cães na propriedade” que apresentou  $p<0,05$ .

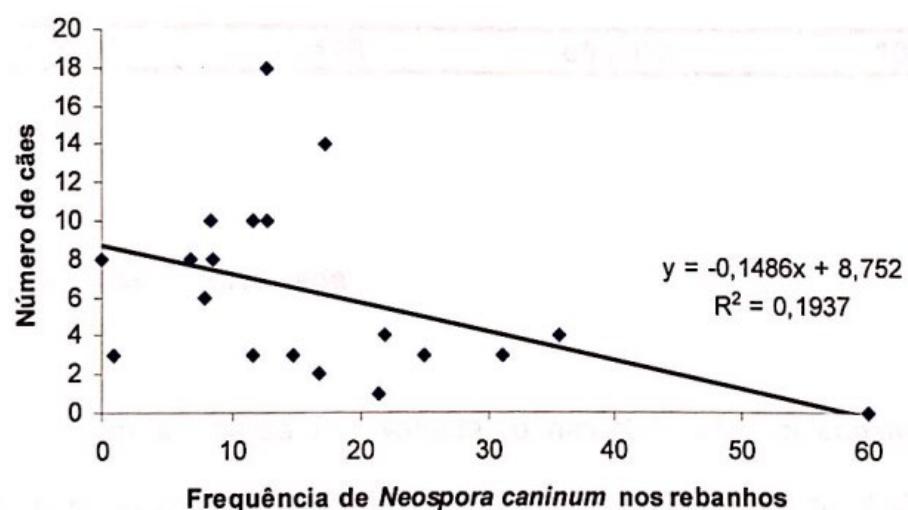


Figura 2. Correlação entre o número de cães e freqüência de infecção por *Neospora caninum* nos rebanhos leiteiros da microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

**Tabela 7.** Freqüência de cães soropositivos para *Neospora caninum*, distribuídos por propriedades, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

Propriedades	Total de cães	Total de cães colhidos (%)	Total de cães positivos (%)
1	0	-	-
2	3	-	-
3	10	-	-
4	3	1 (1,54)	0 (0)
5	18	18 (27,69)	2 (11,11)
6	10	4 (6,15)	1 (1,11)
7	3	2 (3,08)	0
8	2	-	-
9	6	4 (6,15)	1 (1,11)
10	4	2 (3,08)	0
11	14	8 (12,31)	2 (11,11)
12	8	2 (3,08)	1 (1,11)
13	1	-	-
14	8	5 (7,69)	2 (11,11)
15	10	10 (15,38)	6 (33,33)
16	4	3 (4,61)	2 (11,11)
17	3	3 (4,61)	0 (0)
18	8	3 (4,61)	1 (1,11)
19	3	-	-
<b>TOTAL</b>	<b>118</b>	<b>65 (100)</b>	<b>18 (27,69)</b>

#### 4.3. Análise multivariada

Para a análise multivariada, o modelo inicial foi construído utilizando as variáveis: A água é colocada em reservatório próprio, as condições de higiene são ótimas/boas, Bovinos alimentam-se de concentrado, Há criação de galinha, Há criação de ovino, A mediana do tamanho da propriedade é inferior a 120 Ha, O manejo dos animais é ótimo/bom, A propriedade tem cães, A mediana da taxa de lotação é inferior a 0,35 UA/Ha, Na propriedade há inseminação ou transferência e faixa etária dos animais (Tabela 8).

**Tabela 8.** Modelo inicial da análise multivariada, para determinação dos fatores de risco e de proteção, associados a infecção por *Neospora caninum*, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

Variáveis	Odds ratio	CI	95%	p
A água é colocada em reservatório próprio?	1,29	4,8216	0,3472	0,7012
As condições de higiene são ótimas/boas?	0,06	0,5689	0,0069	0,0138
Bovinos alimentam-se de concentrado?	1,57	7,0437	0,3481	0,5588
Há criação de galinha?	0,90	2,3997	0,3394	0,8371
Há criação de ovino?	0,48	1,3319	0,1698	0,1572
A mediana do tamanho da propriedade é inferior a 120 Ha	1,22	0,6178	0,6178	0,5621
O manejo dos animais é ótimo/bom?	5,85	54,3739	0,6301	0,1202
A propriedade tem cães?	0,06	0,3645	0,0108	0,0020
A mediana da taxa de lotação é inferior a 0,35 UA/Ha	1,17	2,1913	1,1721	0,6188
Na propriedade tem inseminação ou transferência?	0,65	1,6313	0,2611	0,3612
Faixa etária (bezerro/novilha)	3,54	10,2345	1,2286	0,0192
Faixa etária (vaca/novilha)	4,32	11,9384	1,5639	0,0048

Escore p: 0,0001

Likelihood p: 0,0001

O modelo final revelou a existência de uma associação entre o resultado sorológico e a variável faixa etária como fator de risco; tendo as variáveis: condições de higiene, criação de ovino e a presença de cães servindo como fator de proteção contra a infecção de *N. caninum* nos rebanhos analisados (tabela 9).

**Tabela 9.** Modelo final da análise multivariada, para determinação dos fatores de risco e de proteção associados a infecção por *Neospora caninum*, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

Variáveis	Odds ratio	CI	95%	p
As condições de higiene são ótimas/boas?	0,46	0,7611	0,2752	0,0026
Há criação de ovino?	0,30	0,5965	0,1508	0,0006
Propriedade tem cães	0,09	0,3356	0,0246	0,0003
Faixa etária (bezerro/novilha)	3,27	9,3682	1,1418	0,0273
Faixa etária (vaca/novilha)	3,94	10,8253	1,4379	0,0077

Escore p: 0,0001

Likelihood p: 0,0001

#### **4.4. Associação com abortamento e outros distúrbios reprodutivos**

Foi possível a obtenção do registro de 418 vacas, com relação ao histórico de abortamentos, sendo o mesmo relatado em apenas 4,78% (20/418) dos animais analisados. Observou-se uma associação significativa entre a exposição ao agente e a presença de abortos ( $p=0,004$ ), com chances 4 vezes maior de abortamento em um animal soropositivo (tabela 10). Associação significativa foi observada também em relação ao nascimento de bezerros natimortos (tabela 11).

Tabela 10. Número de bovinos segundo diagnóstico para *Neospora caninum* e histórico de aborto nos bovinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia

O animal já apresentou aborto?	<i>Neospora caninum</i>		
	Positivos	Negativos	Total
Sim	8 (40%)	12 (60%)	20 (4,8%)
Não	55 (13,8%)	343 (86,2%)	398 (95,2%)
<b>Total</b>	<b>63 (15,1%)</b>	<b>355 (84,9%)</b>	<b>418 (100)</b>

$p=0,004$  OR: 4,16 (1,63 <OR<10,63)

Tabela 11. Número de bovinos segundo diagnóstico para *Neospora caninum* e histórico de natimortos nos bovinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia

O animal já apresentou natimorto?	<i>Neospora caninum</i>		
	Positivos	Negativos	Total
Sim	4 (6,45%)	58 (93,55%)	62 (15,2%)
Não	3 (0,87%)	343 (99,13%)	346 (84,8%)
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>401</b>	<b>408</b>

$p=0,012$

#### **4.5. Associação com status reprodutivo**

Foi possível a obtenção do registro de 301 vacas, com relação ao status reprodutivo o que impossibilitou inserir esta variável na análise multivariada. Deste total a positividade foi de 36,6% (92/301), onde 55% (22/40) das vacas gestantes e 26,8% (70/191) das não gestantes apresentaram-se soropositivas, observando-se uma associação significativa entre a detecção de exposição ao agente e status reprodutivo de prenhes ( $p=0,0006$ ), com chances 3 vezes maior de soropositividade em vaca gestante, quando comparado a não gestante (tabela 12).

Tabela 12. Número de bovinos segundo diagnóstico para *Neospora caninum* e status reprodutivo de vacas na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia

Status reprodutivo	<i>Neospora caninum</i>		
	Positivos	Negativos	Total
Gestante	22 (55%)	18 (45%)	40 (13,3%)
Não gestante	70 (26,8%)	191 (73,2%)	261 (86,7%)
<b>Total</b>	<b>92 (30,6%)</b>	<b>209 (69,4%)</b>	<b>301 (100)</b>

$p=0,0006$  OR: 3,33 (1,69 <OR<6,59)

#### **5. DISCUSSÃO**

O resultado da prevalência de rebanhos e animais corroboram com os resultados encontrados por Gondim et al. (1999) e Guimarães Júnior et al. (2004), encontrando 14,09% e 14,3% respectivamente também no Brasil.

No presente estudo em apenas um dos rebanhos estudados não foi evidenciada a presença sorológica da neosporose, semelhante a outros estudos no

Brasil que demonstram alta prevalência nos rebanhos (GONDIM et al., 1999; MELO et al., 2001; COBERLLINI et al., 2002; GUIMARÃES JÚNIOR, 2004; AGUIAR et al., 2006; COBERLLINI et al., 2006; MUNHOZ et al., 2006; OSHIRO et al., 2007; SILVA et al., 2008; VALADAS et al., 2008; SANTOS et al., 2009), indicando que a maioria dos rebanhos leiteiros das regiões estudadas possuem pelo menos um animal infectado.

As prevalências encontradas nos rebanhos leiteiros no Brasil e no mundo variam de 8,8 a 76% (GONDIM et al., 1999; DIJKSTRA et al. 2001b; MOORE et al., 2002; CANADA et al., 2004; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004; GARCIA-VÁZQUEZ et al., 2005; AGUIAR et al., 2006; BARTELS et al., 2006; MELLO et al. 2008). No presente estudo a prevalência foi de 94,74%, indicando que o parasito está amplamente distribuído na microrregião estudada.

Diferenças nos padrões raciais, no manejo e sistema de criação, diferenças regionais e climáticas, interferem diretamente na dinâmica da infecção por *N. caninum*, o que dificulta uma comparação direta dos estudos (DUBEY et al., 2007).

Tal afirmativa justifica o fato de estudos com prevalência maior em relação a este, como demonstrado na Holanda por Dijkstra et al. (2001b) com 39,4% e por Bartels et al. (2006) na Alemanha 49%, Espanha 63% e na Holanda 76% e na Califórnia 45% por Anderson et al. (1995). Todos estes estudos foram realizados em propriedades com maior nível de tecnificação, com animais de maior produtividade e que sofrem maior pressão produtiva, estando estes propensos ao recrudescimento da infecção.

O presente estudo se assemelha bastante aos descritos por Aguiar et al. (2006) e Mello et al. (2008), onde avaliaram animais de baixa produtividade, baixo

nível de tecnificação, com características de produção mais voltadas ao nível familiar, justificando assim os menores índices de positividade.

Além disso, o tipo e a escolha da amostra, proveniente de rebanhos com histórico de abortamento, certamente influenciam nos resultados de prevalência, como verificado por Locatelli-Dittrich et al. (2001), ao avaliar um rebanho leiteiro com histórico de abortamento, encontrou uma prevalência de 34%. Desta forma a escolha das amostras, pode estar direcionando alguns resultados a terem maiores índices de positividade.

A diferença estatística observada entre vacas e bezerros em relação a novilhas, pode ter como hipótese o fato que em sete propriedades este grupo não foi amostrado, onde a positividade média destas propriedades foi de 17%, contudo a menor proporção de novilhas soropositivas pode estar relacionada com a diminuição de anticorpos em animais congenitamente infectados que não sofreram recrudescimento da infecção (WILLIAMS et al., 2000), logo as novilhas podem ter sido infectadas congenitamente, mas por conta de flutuações de anticorpos, e por não serem submetidas ao estresse produtivo seus títulos podem não ter alcançado o ponto de corte do teste sorológico. Em contrapartida vacas mais velhas tendem a obter níveis mais estáveis de anticorpos, devido uma estimulação antigênica prolongada após repetidas reativações da infecção (JENSEN et al., 1999), em virtude de uma diminuição da imunidade mediada por células (ENTRICAN, 2002) em função da gestação, estresse produtivo e manejo constante de ordenha.

Na Inglaterra resultados semelhantes foram observados por Davison et al. (1999), No Brasil, os estudos de Melo et al. (2001) e Corbellini et al. (2006) não encontraram associação entre a presença de *N. caninum* e as diferentes faixas

etárias, envolvendo animais jovens e adultos. Já Guimarães Júnior et al. (2004), encontraram uma soropositividade maior nos animais com idade superior a 24 meses, sendo estas diferenças significativas ( $p=0,017$ ) apontando a idade como fator de risco, contudo as faixas etárias foram constituídas em 12-24 e 24-161 meses, e ao compararmos este com o nosso estudo e o de Davison et al., (1999), observa-se que não é possível, utilizando apenas novilhas e vacas caracterizar a idade como um fator de risco.

A semelhança nos resultados da soropositividade entre bezerros e vacas, sugere a transmissão vertical, como principal forma de propagação do agente nos rebanhos estudados, como observado por Bjorkman et al. (1996); Anderson et al. (1997); Schares et al. (1998); Wouda et al. (1998a) e Dijkstra et al. (2001).

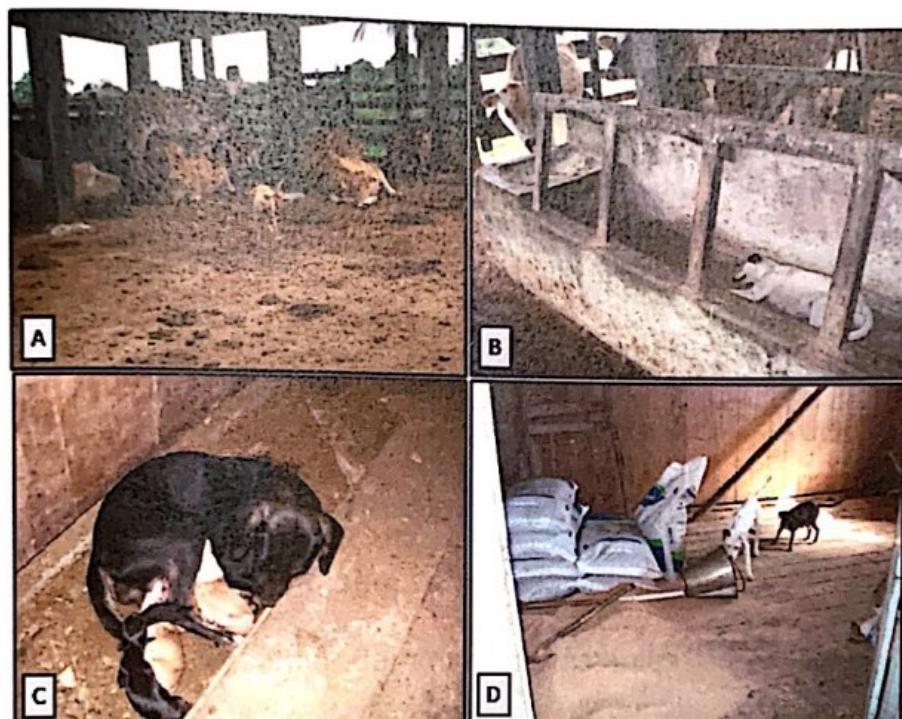
Cães no presente estudo aparentemente não desenvolveram papel importante para a transmissão do *N. caninum* nos bovinos leiteiros da região. As variáveis relacionadas a estes não influenciaram, na soropositividade dos bovinos, servindo o cão no presente estudo, como fator de proteção. Contudo, algumas evidências apontam para certa influência da transmissão horizontal, 1º: O resultados da análise multivariada, uma vez que em condições de higiene ruim existe maior probabilidade de existir oocistos no ambiente ou nas instalações, o que pode contribuir para uma maior possibilidade de infecção horizontal, por outro lado a criação de ovinos nas propriedades visitadas, foi um fator de proteção em relação ao não aparecimento de bovinos soropositivos, provavelmente pelo hábito alimentar dos pequenos ruminantes, de pastejar mais próximo ao solo o que pode favorecer a retirada de possíveis oocistos dos pastos. 2º: Nas propriedades visitadas, somente em uma não houve relatos de cães na propriedade, contudo foram observados cães

em sua proximidade. Schares et al. (2003), evidenciaram, que cães da vizinhança representam fator de risco para as fazendas, pois estes podem translocar fetos abortados e restos de placenta. Estes materiais poderiam servir de alimento a outros cães ou canídeos silvestres da região, podendo assim existir um outro hospedeiro definitivo em potencial, como observado recentemente na Austrália (KING et al., 2010) já que não se tem relato de canídeos silvestres da região, com sorologia positiva, ou até mesmo por estar relativamente próximo das propriedades e, contaminar aguadas ou instalações e por fim, 3º: a impossibilidade de análise sorológica de todos os cães em todas as propriedades, o que impediu uma correlação mais precisa, ou mesmo de que cães residentes nas fazendas próximas, ou os que morreram antes da realização do estudo e que poderiam ter contribuído na transmissão horizontal (GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004). Além dos cães eliminar oocistos e permanecer com a sorologia negativa (LINDSAY et al., 1999).

Por outro lado, cães podem atuar como fator de proteção como evidenciado por Barling et al. (2001), semelhante achado foi encontrado neste estudo pelo como evidenciado no modelo final da análise multivariada. Isso acontece em virtude dos cães das propriedades não permitirem a aproximação de outros cães e/ou até de canídeos selvagens.

Embora, a ausência de associação seja relatada (AGUIAR et al., 2006; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2008), vários são os relatos de que cães são fatores de risco para a disseminação da neosporose nos rebanhos (PARÉ et al., 1998; WOUDA et al., 1999b; BARTELS et al., 1999; DIJKSTRA et al., 2001ab; OTRANTO et al., 2003, GUIMARÃES JUNIOR et al., 2004; COBERLLINI et al. 2006). Logo, em função das evidências observadas neste estudo, não devem ser descartadas

medidas de controle da presença dos mesmos nas instalações, ou que tenham contato com a fonte de água ou alimentos. Uma vez que tais cuidados não foram observados nas propriedades, onde o cão se fazia presente, visualizando cães em cochos, depósitos de alimentos e transitando muitas vezes pelas instalações (Figuras 3).



(Fotos: Arquivo pessoal)

Figura 3. Presença de cães nas instalações das propriedades leiteiras da microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia. A- Presença de cães no mesmo ambiente que bovinos; B e C- Cães em contato com local de colocação do alimento e D- Cães em contato direto com o alimento dos bovinos.

A neosporose bovina possui na infecção horizontal uma transmissão fecal-oral e aplicar medidas rigorosas de higiene, são fundamentais para evitar a contaminação de alimentos ou da água potável através de possíveis oocistos que por acaso possam estar no ambiente. Gestão básica no controle das condições higiênico sanitárias reduzem a possibilidade de infecção pelo *N. caninum*, como demonstrado no modelo final de fatores de risco no respectivo estudo, onde as propriedades em que apresentavam piores condições higiênico sanitárias revelaram maior exposição ao parasita. Achados semelhantes a este são relatados por Silva et al. (2008), verificando associação significativa com vários aspectos ligados às condições higiênico sanitárias.

A infecção por *N. caninum* pode acontecer pela reativação de bradizoítos presentes no interior dos cistos localizados nos tecidos de vacas infectadas durante o período de recrudescência, que mediante a diminuição da imunidade mediada por células durante a gestação, permite a parasitemia (ENTRICAN, 2002). Tal afirmação justifica a maior presença de animais gestantes soropositivos na microrregião estudada, onde animais congenitamente infectados que pudessem ter flutuações de anticorpos, após a recrudescência da infecção teriam maior possibilidade de sorologia positiva.

Desta forma o sistema de produção também deve ser levado em consideração por exercer maior pressão de produção sobre os animais, levando-os a um maior estresse (MELO et al., 2001). Novilhas não sofrem tal estresse metabólico, pois não são exigidas biologicamente para a produção de leite, não sendo obrigadas a vir ao curral todos os dias, possivelmente por estas características as novilhas estariam apresentando baixa soropositividade.

Por outro lado, não se pode descartar a possibilidade de remanescência de anticorpos nos bezerros por uma resposta colostral, bem como o maior período de exposição das vacas à oocistos do ambiente.

Abortamentos foram relatados na microrregião, apesar do número pequeno de animais com este tipo de relato, pode-se constatar que animais com tal distúrbio no presente estudo possuem 4,16 mais chances de abortar em relação aos animais sem histórico de abortamento. Estes achados são semelhantes aos de outros estudos indicando que vacas infectadas possuem de três a sete vezes mais chance de abortar quando comparadas com vacas não infectadas (WOUDA et al., 1998a, PARÉ et al., 1997), semelhante também ao que foi proposto por Moore et al. (2009), verificando também aumento na probabilidade de animais com histórico de abortamento, apresentar uma soropositividade, tendo 85% mais chances e um OR de 1,85.

Embora a neosporose seja apontada como uma das maiores causas de abortamento em todo o mundo (DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY, 2003), a simples presença de anticorpos não prova que a infecção causou o aborto, pois muitas vacas cronicamente infectadas são sorologicamente positivas (ALVAREZ-GARCIA et al., 2007) e não abortam, o que foi evidenciado no presente estudo, onde animais positivos, não tinham histórico de abortamento, devendo-se assim ter cautela em relação a este tipo de análise.

Canada et al. (2004) sugerem que o alto percentual de fetos abortados positivos para *N. caninum* bem como o alto percentual de soropositividade em vacas nos rebanhos leiteiros, onde ocorreram focos de aborto, indica claramente que o diagnóstico diferencial para neosporose deve ser sempre considerada nos casos do

aborto esporádico ou epidemia. Em contraste no presente estudo, o percentual de animais abortados apesar de pequeno, sugere também a necessidade de um diagnóstico diferencial na região.

Abortos e ocorrência de natimortos é uma consequência da neosporose, contudo ao quantificar os efeitos da neosporose o essencial é diferenciar a demonstração da infecção em si das diversas causas que podem levar ao abortamento, havendo uma necessidade de mais estimativas e parâmetros epidemiológicos relacionados à perda fetal precoce, natimortos e mortalidade neonatal (TREES et al., 1999), para assegurar que o aborto e aparecimento de natimortos tenham sido realmente consequência da infecção pelo *N. caninum*, o que ainda não é realizado na região.

## 6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, relacionados com as informações contidas na literatura consultada é possível concluir que:

- Há uma exposição de bovinos ao parasitismo por *Neospora caninum*, com ampla distribuição nas propriedades leiteiras da microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.
- Nos rebanhos estudados, os cães atuaram como fator de proteção, contudo não devem ser descartadas medidas de controle da presença dos mesmos nas instalações.
- Melhores condições de higiene são medidas necessárias para prevenção da neosporose na região.
- A associação positiva da exposição de bovinos com *Neospora caninum* e a presença de abortamentos, remete a necessidade de inclusão do parasito no diagnóstico diferencial deste fenômeno.

## Referências

- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; RODRIGUES, A.A.R.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; CAMARGO, E.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. *Veterinary Parasitology*, v.142, n. 1-2, p.71-77, 2006.
- ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; COSTAS, E.; REBORDOSA, X.; ORTEGA-MORA, L.M. Influence of age and purpose for testing on the cut-off selection of serological methods in bovine neosporosis. *Veterinary Research*, v. 34, n.3, p.341–352, 2003.
- ALVAREZ-GARCIA, G.; ORTEGA-MORA, L.M.; DIJKSTRA, Th.; WOUDA, W. In: Ortega-Mora, L.M.; Gottstein, B.; Conraths, F.J.; Buxton, D. In: **Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control**. Wallingford, England: CAB International, p. 46-53. 2007.
- ANDERSON, M.L., BLANCHARD, P.C., BARR, B.C., DUBEY, J.P., HOFFMAN, R.L.; CONRAD, P.A. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.198, n.2, p.241–244, 1991.
- ANDERSON, M. L.; PALMER, C. W.; THURMOND, M. C.; PICANSO, J. P.; BLANCHARD, P. C.; BREITMEYER, R. E.; LAYTON, A. W.; McALLISTER, M. M.; DAFT, B. M.; KINDE, H.; READ, D. H.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A.; BARR, B. C. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 207, n. 9, p. 1206-1210, 1995.
- ANDERSON, M. L.; REYNOLDS, J. P.; ROWE, J. D.; SVERLOW, K. W.; PACKHAM, A. E.; BARR, B. C.; CONRAD, P. A. Evidence of vertical transmission of *Neospora* sp. infection in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 210, n. 8, p. 1169-1172. 1997.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R. D.; PIRES, P.P; SILVA, E. A. E. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, center-western region, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 13, n. 3, p. 129-131, 2004.

ASTUDILLO, V.; ROSENBERG, F. J.; ZOTTELE, A.; OLASCOAGA, R. C.  
Considerações sobre a saúde animal na América Latina. **Hora Veterinária**, v. 9, n.  
54 p. 37-43, 1990.

ATKINSON, R.; HARPER, P.A.W.; REICHEL, M.P.; ELLIS, J.T. Progress in the  
serodiagnosis of *Neospora caninum* infections of cattle. **Parasitology Today**, v.16,  
n.3, p.110-114, 2000.

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

BAÑALES, P.; FERNANDEZ, L.; REPISO, M.V.; GIL, A.; DARGATZ, D.A.; OSAWA,  
T. A nationwide survey on seroprevalence of *Neospora caninum* infection in beef  
cattle in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v.139, n.1-3, p.15-20, 2006.

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

BARLING, K.S.; MCNEILL, J.W.; PASCHAL, J. C.; MCCOLLUM III, F.T.; CRAIG,  
T.M.; ADAMS, L.G.; THOMPSON, J.A. Ranch-management factors associated with  
antibody seropositivity for *Neospora caninum* in consignments of beef calves in  
Texas, USA. **Preventive Veterinary Medicine**, v.52, n.1-2, p.53-61, 2001.

BARLING, K.S.; MCNEILL, J.W.; THOMPSON, J.A.; PASCHAL, J.C.; MCCOLLUM,  
F.T. 3RD; CRAIG, T.M.; ADAMS, L.G. Association of serologic status for *Neospora*  
*caninum* with postweaning weight gain and carcass measurements in beef calves.  
**Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.217, n.9, p.1356-  
1360, 2000.

BARR, B.C.; ROWE, J.D.; SVERLOW, K.W.; BONDURANT, R.H.; ARDANS, A.A.;  
OLIVER, M.N.; CONRAD, P.A. Experimental reproduction of bovine fetal *Neospora*  
infection and death with a bovine *Neospora* isolate. **Journal of Veterinary**  
**Diagnostic Investigation**, v.6, n.2, p.207-215, 1994.

BARTELS, C.J.M.; RUIZ-SANTA-QUITERA, J.A.; ARNAIZ-SECO, I.; BJÖRCKMAN, C.; FRÖSSLING, J.; VON BLUMRÖDER, D.; CONRATHS, F.J.; SCHARES, G.; VAN MAANEN, C.; WOUDA, W.; ORTEGA-MORA, L.M.. Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. **Veterinary Parasitology**, v.137, n. 1-2, p. 17-27, 2006.

BARTELS, C.J.; WOUDA, W.; SCHUKKEN, Y.H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995-1997). **Theriogenology**, v.52, n.2, p.247–257, 1999.

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

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

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zentralblat für Parasitenkunde**, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984.

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

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

CAMPERO, C.M.; MOORE, D.P.; LAGOMARSINO, H.; ODEON, A.C.; CASTRO, M.; VISCA, H. Serological status and abortion rate in progeny obtained by natural service or embryo transfer from *Neospora caninum*-seropositive cows. **Journal of Veterinary Medicine B: Infectious Diseases and Veterinary Public Health**, v.50, n.9, p.458–460, 2003.

CANADA, N.; CARVALHEIRA, J.; MEIRELES, C.S.; CORREIA DA COSTA, J.M.; ROCHA, A. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. **Theriogenology**, v.62, n.7, p.1229-1235, 2004.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Protozoa and Its 18 Phyla. **Microbiology Review**, v. 57, n. 3, p. 953-994, 1993.

CONRATHS, F.J.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M.; GOTTSSTEIN, B. Control Measures. In: Ortega-Mora LM, Gottstein B, Conraths FJ, Buxton D, editors. In: **Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control**. Wallingford, England: CAB International, p. 276-284. 2007.

CORBELLINI, L. G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C. F. E.; GONDIM, L. F. P.; WALD, V. Neosporosis as cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.103, n.3, p. 195-202, 2002.

CORBELLINI, L.G.; SMITH, D.R.; PESCADOR, C.A.; SCHMITZ, M.; CORREA, A.; STEFFEN, D.J.; DRIEMEIER, D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v.74, n.2-3, p.130-141, 2006.

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

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

DEAN, A.G., ARNER,T. Epi Info: Epidemiology of program office. Capturado em 20 de agosto. 2008. Online. Disponível em: <http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>.

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

DE VRIES, A. Economic value of pregnancy in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.10, p.3876-3885, 2006.

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

DIJKSTRA, Th.; BARKEMA, H.W.; HESSELINK, J.W.; WOUDA, W. Point source exposure of cattle to *Neospora caninum* consistent with periods of common housing and feeding and related to the introduction of a dog. **Veterinary Parasitology**, v.105, n.2, p.89-98, 2002b.

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

DIJKSTRA, Th.; BARKEMA, H. W.; EYSKER, M.; WOUDA, W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, v.31, n.2, p. 209-215, 2001a.

DIJKSTRA, Th.; 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**, v.110, n.3-4, p.161–169, 2003.

DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999.

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

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n.1-2, p.57–72. 2004b.

DUBEY, J.P.; BARR, B.C.; BARTA, J.R.; BJERKÅS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B.L.; BOWMAN, D.D.; BUXTON, D.; ELLIS, J.T.; GOTTSSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D.E.; HOWE, D.K.; JENKINS, M.C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A.E.; MATTSSON, J.G.; McALLISTER, M.M.; MODRÝ, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L.D.; SPEER, C.A.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; UPTON, S.J.; WILLIAMS, D.J.L.; LINDSAY, D.S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n.8, p.929–946, 2002.

DUBEY J. P.; BUXTON, D.; WOUDA, W. Pathogenesis of Bovine Neosporosis. **Journal of Comparative Pathology**, v.134, n.4, p.267-289, 2006.

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

DUBEY, J.P.; HATTEL, A.L.; LINDSAY, D.S.; TOPPER, M.J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.193, n.10, p.1259-1263, 1988b.

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

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

DUBEY, J. P.; SREEKUMAR, C.; KNICKMAN, E.; MISKA, K. B.; VIANNA, M.C.B.; KWOK, O.C.H.; HILL, D. E.; JENKINS, M.C., LINDSAY, D.S., GREENE, C.E. Biologic, morphologic, and molecular characterization of *Neospora caninum* isolates from littermate dogs. **International Journal for Parasitology**, v.34, n.10, p.1157–1167, 2004a.

EICKER, S.; FETROW, J. New tools for deciding when to replace used dairy cows. In: **Proceedings From Kentucky Dairy Conference**, Cave City, KY. Univ. Kentucky, Lexington. p.33-46, 2003.

ENTRICAN, G. Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. **Journal of Comparative Pathology**, v.126, n.2-3, p.79-94, 2002.

FANTI, J.H.N.; BARIONI, G.; BELTRAME, M.A. Soroprevalência de *neospora caninum* em propriedades do município de Barra de São Francisco, Espírito Santo, Brasil. Ciência Animal Brasileira – Suplemento 1, 2009 – Anais do VIII Congresso Brasileiro de Buiatria, p.637-641, 2009.

FERRE, I.; ADURIZ, G.; DEL-POZO, I.; REGIDOR-CERRILLO, J.; ATXAERANDIO, R.; COLLANTES-FERNANDEZ, E.; HURTADO, A.; UGARTE-GARAGALZA, C.; ORTEGA-MORA, L.M. Detection of *Neospora caninum* in the semen and blood of naturally infected bulls. **Theriogenology**, v.63, n.5, p.1504–1518, 2005.

FIORETTI, D.P.; PASQUAI, P.; DIAFERIA, M.; MANGILI, V.; ROSIGNOLI, L. *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. **Journal of Veterinary Medicine B**, v.50, n.8, p.399–404, 2003.

FRENCH, N. P.; CLANCY, D.; DAVISON, H. C.; TREES, A. J. Mathematical models of *Neospora caninum* infection in dairy cattle: Transmission and options for control. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1691-1704, 1999.

GALVÃO, G. S.; RODRIGUES, R.R.; GONDIM, L.F.P.; MUNHOZ, A.D. Anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros dos municípios de Ilhéus e Itabuna, Bahia: dados preliminares. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 2009, Porto Seguro. Anais CD Rom, 2009.

GARCIA-VÁZQUEZ, Z.; CRUZ-VÁZQUEZ, C.; MEDINA-ESPINOZA, L.; GARCÍA-TAPIA, D.; CHAVARRIA-MARTINEZ, B. Serological survey of *Neospora caninum* infection in dairy cattle herds in Aguascalientes, México. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n.2, p. 115-120, 2002.

GARCIA-VAZQUEZ, Z.; ROSARIO-CRUZ, R.; RAMOS-ARAGON A.; CRUZ-VAZQUEZ, C.; MAPES-SANCHEZ, G. *Neospora caninum* seropositivity and association with abortions in dairy cows in Mexico. **Veterinary Parasitology**, v.134, n.1-2, p.61–65, 2005.

GONDIM, L.F.P.; GAO, L.; McALLISTER, M.M. Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. **Journal of Parasitology**, v. 88, n.6, p.1159-1163, 2002.

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 of Parasitology**, v. 90, n.6, p.1394-1400, 2004b.

GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v.134, n.1-2, p.33–39,2005.

GONDIM, L.F.P.; McALLISTER, M.M.; MATEUS-PINILLA, N.E.; PITTS, W.L.; MECH, L.D.; NELSON, M.E. Transmission of *Neospora caninum* between wild and domestic animals. **Journal of Parasitology**, v.90, n.6, p.1361–1365, 2004c.

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

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

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

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, Brazil. **Veterinary Parasitology**, 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. **The Canadian Veterinary Journal**, v.46, n.3, p. 230-243, 2005.

HAERDI, C.; HAESSIG, M.; SAGER, H.; GREIF, G.; STAUBLI, D.; GOTTSSTEIN, B. Humoral immune reaction of newborn calves congenitally infected with *Neospora caninum* and experimentally treated with toltrazuril. **Parasitology Research**, v.99, n.5, p. 534-540, 2006.

HÄSSIG, M; GOTTSSTEIN, B. Epidemiological investigations of abortions due to *Neospora caninum* on Swiss dairy farms. **The Veterinary Record**, v.150, n.17, p.538-542, 2002.

HEMPHILL, A.; FUCHS, N.; SONDA, S.; HEHL, A. .The antigenic composition of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 8, p.1175-1188, 1999.

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

INMETRO, Sistema Internacional de Unidades, 8<sup>a</sup> Ed. Rio de Janeiro: Inmetro, 2003, 115 p.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Produção da Pecuária Municipal, 2009.** < <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>>; acessado em 09 de novembro de 2009.

JARDINE, J.E. The ultrastructure of bradyzoites and tissue cysts of *Neospora caninum* in dogs: absence of distinguishing morphological features between parasites of canine and bovine origin. **Veterinary Parasitology**, v.62, n.3-4, p.231-240, 1996.

JENKINS, M.; BASZLER, T.; BJÖRKMAN, C.; SCHARES, G.; WILLIAMS, D. Diagnosis and seroepidemiology of *Neospora caninum*-associated bovine abortion. **International Journal for Parasitology**, v.32, n.5, p.631–636, 2002.

JENSEN, A. M.; BJORKMAN, C.; KJELDSEN, 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.

KAMGA-WALADJO, A.R.; GBATI, O.B.; KONE, P.; LAPO, R.A.; CHATAGNON, G.; BAKOU, S.N.; PANGUI, L.J.; DIOP, P.E.H.; AKAKPO, J.A.; TAINTURIER, D. Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from Dakar-Senegal, West Africa. **Tropical Animal Health and Production**, v.42, n.5, p.1-7, 2009.

KING, J.S; SLAPETA, J; JENKINS, D.J; AL-QASSAB, S.E; ELLIS, J.T; WINDSOR, P.A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v.40, n.8, p.945-950, 2010.

KOIWAI, M.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; SHIMIZU, S.; KIMURA, K.; YAMANE, I. Proportion of abortions due Neosporosis among dairy cattle in Japan. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.67, n.11, p. 1173-1175, 2005.

KRITZNER, S.; SAGER, H.; BLUM, J.; KREBBER, R.; GREIF, G.; GOTTSSTEIN, B. An explorative study to assess the efficacy of Toltrazuril-sulfone (Ponazuril) in calves experimentally infected with *Neospora caninum*. **Annals of Clinical Microbiology and antimicribials**, v.1, n.4, p.1-10, 2002.

LEVINE, N.D.; CORLISS, J.O.; COX, F.E.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B.M.; LEEDALE, G.F.; LOEBLICH, A.R. 3RD; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFELD, E.G.; PAGE, F.C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F.G. A newly revised classification of the protozoa. **The Journal of Protozoology**, v.27, n.1, p.37-58, 1980.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal Veterinary Research**, v.50, n.11, p.1981-1983, 1989.

LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v.82, n.4, p.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**, v.136, n.3-4, p. 347-349, 2006.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; MACHADO JR, P.C.; FRIDLUND-PLUGGE, N.; RICHARTZ, R.R.T.B.; MONTIANI-FERREIRA, F.; PATRÍCIO, L.F.L.; PATRÍCIO, M.A.C.; JOINEAU, M.G.; PIEPPE, M. Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n. 1, p.191-196, 2008.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V. T.; RICHARTZ, R. R. GASINO-JOINEAU, M. E.; VINNE, R.; PINCKNEY, R. D. Serological diagnosis of neosporosis in a dairy herd of dairy cattle in southern Brazil. **Journal of Parasitology**, v.87, n.6, p. 1493-1494, 2001.

MAINAR-JAIME, R.C., THURMOND, M.C., BERZAL-HERRANZ, B.; HIETALA, S.K. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. **Veterinary Record**, v.145, n.3, p.72-75, 1999.

MAKHSEED, M.; RAGHUPATHY, R.; AZIZIEH, F.; OMU, A.; AL-SHAMALI, E.; ASHKANANI, L. Th1 and Th2 cytokine profiles in recurrent aborters with successful pregnancy and with subsequent abortions. **Human Reproduction**, v.16, n.10, p.2219-2226, 2001.

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. Pathogenesis of Neosporosis in Pregnant Cattle: Inoculation at Mid-gestation. **Journal of Comparative Pathology**, v.129, n.2-3, p.186-195, 2003.

McALLISTER, M. M.; BJORKMAN, C.; ANDERSON-SPRECHER, R.; ROGER, D. Evidence of a point source outbreak to *Neospora caninum* and protective immunity in a herd of beef cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 6, p. 881-887, 2000.

McALLISTER, M.; DUBEY, J. P.; LINDSAY, D.; JOLLEY, W.; WILLS, R.; McGUIRE, A.; Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n.9, p. 1473-1478, 1998.

McALLISTER, M. M.; HUFFMAN, E. M.; HIETALA, S. K.; CONRAD, P. A.; ANDERSON, M. L.; SALMAN, M. O. Evidence suggesting a point source exposure in an outbreak of bovine abortion due to neosporosis. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v.8, n.3, p. 355-357, 1996.

MACALDOWIE, C.; MALEY, S.W.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D.; INNES, E.A. Placental pathology associated with foetal death in cattle experimentally infected with *Neospora caninum* by two different challenge routes in early pregnancy. **Journal of Comparative Pathology**, v.131, n.2-3, p.142–156, 2004.

MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N.; LEITE, R.C. Freqüência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em Bovinos Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.10, n.2, p. 67-74, 2001.

MELO, D.P.G.; SILVA, A.C. da; ORTEGA-MORA, L.M.; BASTOS, S.A.; BOAVENTURA, C.M. Prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.3, p.105-109, 2006.

MELLO, R. C.; ANDREOTTI, R.; BARROS, J. C.; TOMICH, R. G. P.; MELLO, A. K.M.; CAMPOLIM, A. I.; PELLEGRIN, A. O. Levantamento epidemiológico de *Neospora caninum* em bovinos de assentamentos rurais em Corumbá, MS. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.1, p. 311-316, 2008.

MINEO, T.W.P.; ALENIUS, S.; NÄSLUND, K.; MONTASSIER, H.J.; BJÖRKMAN, C. Distribution of antibodies against *Neospora caninum*, BVDV and BHV-1 among cows in brazilian dairy herds with reproductive disorders. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.15, n.4, p.188-192, 2006.

MINERVINO, A.H.; RAGOZO, A.M.; MONTEIRO, R.M.; ORTOLANI E.L.; GENNARI S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.84, n.2, p. 254-256, 2008.

MODRÝ, D; VÁCLAVEK, P; KOUDELA, B; SLAPETA, JR. Placentophagia--an alternative way for horizontal transmission of *Neospora caninum* in cattle? **Trends in Parasitology**, v.17, n.12, p.573, 2001.

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**, v.107, n.4, p.303–316, 2002.

MOORE, D.P.; PÉREZ A.; AGLIANO, S.; BRACE, M.; CANTÓN, G.; CANO, D.; LEUNDA, M.R.; ODEÓN, A.C.; ODRIozOLA, E.; CAMPERO, C.M. Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. **Veterinary Parasitology**, v.161, n.1-2, p.122-125, 2009.

MUNHOZ, A.D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R.; 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 de Parasitologia Veterinária**, v.15,n.3, p.101-104, 2006.

ORTEGA-MORA, L.M.; FERRE, I.; DEL POZO, I.; CAETANO DA SILVA, A.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; REGIDOR-CERRILLO, J.; UGARTE-GARAGALZA, C; ADURIZ, G. Detection of *Neospora caninum* in semen of bulls. **Veterinary Parasitology**, v.117, n.4, p.301–308, 2003.

OSBURN, W.I. Ontogeny of immune responses in cattle. In: Morrison,W. I. **The Ruminant Immune System in Health and Disease**, 2<sup>o</sup>ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK, cap. 14, p. 252–260, 1988.

OSAWA, T.; WASTLING, J.; ACOSTA, L.; ORTELLADO, C.; IBARRA, J.; INNES, E. A. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Paraguay. **Veterinary Parasitology**, v.110, n.1-2, p.17-23, 2002.

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

OTRANTO, D.; LLAZARI, A.; TESTINI, G.; TRAVERSA, D.; DI REGALBONO A.F.; BANDAN, M.; CAPELLI, G. Seroprevalence and associated risk factors of neosporosis in beef and dairy cattle in Italy. **Veterinary Parasitology**, v.118, n.1-2, p.7-18, 2003.

OVIEDO, T.; BETANCUR, C.; MESTRA, A.; GONZÁLEZ, M.; REZA, L.; CALONGE, K. Estudio serológico sobre neosporosis en bovinos con problemas reproductivos en Montería, Córdoba, Colombia / Serological study about neosporosis in cattle with reproductive disorders in Monteria, Cordoba, Colombia. **Revista MVZ Córdoba**, v.12, n.1, p.929-933, 2007.

PARÉ, J.; FECTEAU, G.; FORTIN, M.; MARSOLAIS, G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.213, n.11, p. 1595-1598, 1998.

PARÉ, J.; THURMOND, M. C.; HIETALLA, S. K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.60, n.2, p.133-139, 1996.

PARÉ, J.; THURMOND, M. C.; HIETALLA, S. K. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortions. **The Journal of Parasitology**, v.83, n.1, p. 82-87, 1997.

PATITUCCI, A.N., PÉREZ, M.J., ISRAEL, K.F., ROZAS, M.A. Prevalence of *Neospora caninum* in two dairy herds of the IX Region of Chile. **Archivos de Medicina Veterinaria**, v.32, n.2, p.209–214, 2000.

PETER, A.T. Abortions in dairy cows: New insights and economic impact. **Advances in Dairy Technology**, v.12, n.12, p.233, 2000.

PETERS, M.; E. LUÈTKEFELS; A.R. HECKEROTH, A.R.; SCHARES, G. Immunohistochemical and ultrastructural evidence for *Neospora caninum* tissue cysts in skeletal muscles of naturally infected dogs and cattle. **International Journal for Parasitology**, v.31, n.10, p.1144-1148, 2001.

PFEIFFER, D. U.; WILLIAMSON, N. B.; THORNTON, R.N. A simple spreadsheet simulation model of the economic effects of *Neospora caninum* abortions in dairy cattle. In: **New Zealand. Proceedings 8th Symposium of the international society for veterinary epidemiology and economics (ISVEE)**, Paris, France, July, 1997. Epidemiologie et santé animale. 31-32, 10.12.1-3. (Special issue), 1997.

PICCINI, M.; SCALETTI, C.; MAGGI, E.; ROMAGNANI, S. Role of hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines in successful pregnancy. **Journal of neuroimmunology**, v.109, n.1, p.30-33, 2000.

PURAY, N.CH.; CHÁVEZ, V. A.; CASAS, E.A.; FALCÓN. N.P.; CASAS, G.C. Prevalencia de *Neospora caninum* en bovinos de una empresa ganadera de la sierra central del Peru. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru**, v.17, n.2, p.189-194, 2006.

QUINN, H.E.; ELLIS, J.T.; SMITH, N.C. *Neospora caninum*: a cause of immunemediated failure of pregnancy? **Trends in Parasitology**, v.18, n.9, p.391-394, 2002.

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

RAGHUPATHY, R. Th I-type immunity is incompatible with successful pregnancy. **Immunology Today**, v.18, n.10, p.478-482, 1997.

RINALDI, L.; FUSCO, G.; MUSELLA, V.; VENEZIANO, V.; GUARINO, A.; TADDEI, R.; CRINGOLI, G. *Neospora caninum* in pastured cattle: determination of climatic, environmental, farm management and individual animal risk factors using remote sensing and geographical information systems. **Veterinary Parasitology**, v.128, n.3-4, p.219-230, 2005.

ROMERO, J.J.; FRANKENA, K. The effect of the dam-calf relationship on serostatus to *Neospora caninum* on 20 Costa Rican dairy farms. **Veterinary Parasitology**, v.114, n.3, p.159-171, 2003.

ROMERO, J.J.; PEREZ, E., DOLZ; G.; FRANKENA, K. Factors associated with *Neospora caninum* serostatus in cattle of 20 specialised Costa Rican dairy herds. **Preventive Veterinary Medicine**, v.53, n.4, p. 263–273, 2002.

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

SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.

SANDERSON, M. W.; GAY, J. M.; BASZLER, T. V. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. **Veterinary Parasitology**, v. 90, n. 1-2, p.15-24, 2000.

SANTOS, R. R. D.; GUIMARES, A. M. ; ROCHA, C. M. B. M. DA; HIRSCH, C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bezerras e novilhas de rebanhos leiteiros na microrregião de Lavras, Minas Gerais. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.1, p.271-280, 2009.

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

SARTOR, I. F.; HASEGAWA, M. Y.; CANAVESSI, A. M. O.; PINCKNEY, R. D. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelos métodos de ELISA e RIFI no município de Avaré, SP. **Semina Ciências Agrárias**, v.24, n.1, p.3-10, 2003.

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

SCHARES, G.; A.; BÄRWALD, A.; STAUBACH, C.; ZILLER, M.; KLÖSS; D.; SCHRODER, R.; LABOHM, R.; DRÄGER, 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**, v.129, n.3, p.:301–309, 2004.

SCHARES, G.; BÄRWALD, A.; STAUBACH, C.; ZILLER, M.; KLÖSS, D.; WURM, R.; RAUSER, M.; LABOHM, R.; DRÄGER, K.; FASEN, W.; HESS, R.G.; CONRATHS, F.J. Regional distribution of bovine *Neospora caninum* infection in the German state of Rhineland-Palatinate modelled by Logistic regression. **International Journal for Parasitology**, v.33, n. 14, p.1631–1640, 2003.

SCHARES, G.; CONRATHS, F.J. Placentophagia--an alternative way for horizontal transmission of *Neospora caninum* in cattle? **Trends in Parasitology**, v.17, n.12, p.574-575, 2001.

SCHARES, G.; PETERS, M.; WURM, R.; BARWALD, A.; CONRATHS, F. J. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analyzed by serological techniques. **Veterinary Parasitology**, v.80, n.2, p.87-98, 1998.

SCHARES, G.; WENZEL, U.; MÜLLER, T.; CONRATHS, F.J. Serological evidence for naturally occurring transmission of *Neospora caninum* among foxes (*Vulpes vulpes*). **International Journal for Parasitology**, v.31, n.4, p.418-423, 2001.

SILVA, M. I. S.; ALMEIDA, M. A. O.; MOTA, R. A.; JÚNIOR, J. W. P.; RABELO, S. S. DE A. Fatores de riscos associados à infecção por *Neospora caninum* em matrizes bovinas leiteiras em Pernambuco. **Ciência Animal Brasileira**, v.9, n.2, p.455-461, 2008.

STROHBUSCH, M.; MÜLLER, N.; HEMPHILL, A.; KREBBER , R.; GREIF, G.; GOTTSSTEIN, B. Toltrazuril treatment of congenitally acquired *Neospora caninum* infection in newborn mice. **Parasitology Research**, v.104, n.6, p. 1335-1343, 2009.

THELLIN, O.; HEINEN, E. Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection. **Toxicology**, v.185, n.3, p.179-184, 2003.

THILSTED, J.P.; DUBEY, J.P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of veterinary Diagnosticians Investigation**. v.1, n. 3, p. 205-209, 1989.

THURMOND, M. C.; HIETALLA, S. K.; BLANCHARD, P. C. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. **Journal Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, n. 1, p. 44-49, 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**, v.29, n.8, p.1195-1200, 1999.

TREES, A.; McALLISTER, M.M.; GUY, C.S.; MCGARRY, J.; SMITH, R; WILLIAMS, D. *Neospora caninum*: oocyst challenge of pregnant cows. **Veterinary Parasitology**, v.109, n.1-2, p.147–154, 2002.

TREES, A.J.; WILLIAMS, D.J. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, v.21, n.12, p.558–561, 2005.

TREES, A. J.; WILLIANS, D. J. L. Neosporosis in United Kingdom. In: A European Perspective on *Neospora caninum*. Eds: Hemphill, A.; Gottstein, B. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n.8, p. 891-893, 2000.

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

VALADAS, S.Y.O.B.; GENNARI, S.M.; MINERVINO, A.H.H.; SOARES, R.M. Prevalência de anticorpos anti – *Neospora caninum* em bovinos do estado do Pará, Amazônia, Brasil: Resultados preliminares. In: **16º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP**, 2008.

VENTURINI, L.; Di LORENZO, C.; VENTURINI, C.; ROMERO, J. Anticuerpos anti-*Neospora* sp. en vacas que abortaron. **Veterinaria Argentina**, v. 12, n. 113, p. 167-170, 1995.

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

WILLIAMS, D.J.L.; GUY, C.S.; MCGARRY, J.W.; GUY, F.; TASKER, L.; SMITH, R.F.; MACEACHERN, K.; CRIPPS, P.J.; KELLY, D.F.; TREES, A.J. *Neospora caninum*-associated abortion in cattle the time of experimentally-induced parasitaemia during gestation determines fetal survival. *Parasitology*, v.121, n.4, p.347-358, 2000.

WOUDA, W. Biology, Transmission and Clinical Signs. In: Ortega-Mora LM, Gottstein B, Conraths FJ, Buxton D, editors. In: **Protozoal Abortion in Farm Ruminants: Guidelines for Diagnosis and Control**. Wallingford, England: CAB International, p. 46-53. 2007.

WOUDA, W.; BARTELS, C. J. M.; DE MOEN, A. R. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995-1997). *Theriogenology*, v. 52, n. 2, p. 233-245, 1999a.

WOUDA, W; BRINKHOF, J.; VAN MAANEN, C.; DE GEE, A. L. W; MOEN, A. R. Serodiagnosis of Neosporosis in Individual Cows and Dairy Herds: A Comparative Study of Three Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, n. 5, p. 711-716, 1998b.

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

WOUDA, W.; DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. *Journal of Parasitology*, v.83, n.3, p. 545–547, 1997.

WOUDA, W.; MOEN, A. R.; SCHUKKEN, Y. H. Abortion risk in progeny of cows that experienced a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*, v.49, n.7, p. 1311-1316, 1998a.

YAMANE, I; KOKUHO, T; SHIMURA, K; ETO, M.; SHIBAHARA, T.; HARITANI, M. In vitro isolation and characterization of a bovine *Neospora* species in Japan. *Research in Veterinary Science*, v.63, n.1, p.77–80, 1997.

YOUSSEFI, M.R.; ARABKHAZAEI, F.; HASSAN, A.T.M. Seroprevalence of *Neospora caninum* Infection in Rural and Industrial Cattle in Northern Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, v.4, n.1, p.15-18, 2009.

## 7. ANEXOS

**Anexo1.** Roteiro de Entrevista realizada com os responsáveis pelos rebanhos, durante as visitas às propriedades da microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia.

### IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE Nº \_\_\_\_

1. Nome: \_\_\_\_\_

2. Proprietário: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_ email: \_\_\_\_\_

3. Município: \_\_\_\_\_

4. Localização em coordenadas: \_\_\_\_\_

### 5. PARTE FÍSICA

5.1. Tamanho em hectares: \_\_\_\_\_

5.2 Apresenta benfeitorias?

(  ) Sim. Quais? \_\_\_\_\_

(  ) Não

5.3 Material utilizado na construção: \_\_\_\_\_

5.4 Apresenta residência(s)?

(  ) Sim. Quantas? \_\_\_\_\_

(  ) Não

5.5 Apresenta funcionário(s) remunerado(s)?

(  ) Sim. Quantos? \_\_\_\_\_

(  ) Não

5.6 Apresenta morador(es)?

(  ) Sim. Quantos? \_\_\_\_\_

(  ) Não

## 6. MANEJO

6.1 Número total de bovinos: \_\_\_\_\_

6.2 Número de vaca(s): \_\_\_\_\_ Em lactação: \_\_\_\_\_ Secas: \_\_\_\_\_

6.3 Número total de novilha(s): \_\_\_\_\_

6.4 Número total de bezerro(s): \_\_\_\_\_

6.5 Número total de reprodutor(es): \_\_\_\_\_

6.6 Possui Veterinário responsável?

( ) Sim ( ) Não

6.7 Qual o sistema de criação?

( ) Extensivo ( ) Semi-intensivo ( ) Intensivo

6.8 Qual o sistema de produção?

( ) Familiar ( ) Empresarial ( ) Pré-empresarial

6.9 Qual a produção leiteira (Kg/dia)? \_\_\_\_\_ E em períodos de seca? \_\_\_\_\_

6.10 Qual a média por animal? \_\_\_\_\_

6.11 Qual raça predominante no rebanho?

( ) Europeu ( ) Zebu ( ) Mestiço-Europeu ( ) Mestiço-Zebú

6.12 Realiza beneficiamento do leite?

( ) Sim. Qual(is)? \_\_\_\_\_

( ) Não

6.13 Qual o tipo de ordenha?

( ) Manual ( ) Mecanizada-aberta ( ) Mecanizada-fechada

6.14 Os animais da propriedade são vacinados contra:

( ) Raiva ( ) Leptospirose ( ) Outra. Qual? \_\_\_\_\_

( ) Aftosa

( ) Manqueira (carbúnculo) ( ) BVDV

( ) Brucelose ( ) IBR

**6.15 Os animais se alimentam de:**

( ) Pastagem ( ) Silagem ( ) Feno ( ) Forragem ( ) Concentrado

**6.16 Os animais se alimentam em determinadas épocas do ano de:**

( ) Silagem ( ) Feno ( ) Forragem ( ) Concentrado

**6.17 Qual o tipo de suplementação mineral?**

( ) Sal mineral ( ) Sal comum ( ) Ambos

**6.18 Como é o manejo dos animais?**

( ) Excelente/bom ( ) Satisfatório/ruim

**6.19 Como são as condições higiênico-sanitárias?**

( ) Excelente/boa ( ) Satisfatória/ruim

**6.20 Existe criação de outros animais no mesmo ambiente?**

( ) Sim. Quais? \_\_\_\_\_

( ) Não

**6.21. Qual a origem da água dos bovinos? É natural ou Tratada?**

( ) Rio ( ) Açude ( ) Nascente ( ) Encanada tratada ( ) Outras. Quais?

**6.22. A água é colocada em reservatório próprio?**

( ) Sim ( ) Não

**6.23. Quantas ordenhas são realizadas no dia?**

( ) 1 ( ) 2 ou mais

**6.24. Qual o tipo de reprodução (monta)?**

( ) Natural ( ) Inseminação artificial ( ) Ambas

( ) Transferência de embriões

**6.25 Existe controle de helmintos? Existe algum critério para escolha?**

( ) Sim ( ) Não

**6.26. Como é realizado**

Frequência de uso: \_\_\_\_\_

Produto/Via de aplicação/Quantidade: \_\_\_\_\_

**6.27. Existe controle de Carapatos/berne? Existe algum critério para escolha do carrapaticida:**

(  ) Sim (  ) Não

**6.28 Como é realizado**

Frequência de uso: \_\_\_\_\_

Produto/Via de aplicação/Quantidade: \_\_\_\_\_

Existem moscas na propriedade?

(  ) Sim (  ) Não

Quais?

(  ) Do estábulo (  ) Do chifre (  ) Doméstica

**6.29 Cuidados na ordenha**

Como é realizada a higiene antes da ordenha? \_\_\_\_\_

Como é realizada a higiene após a ordenha? \_\_\_\_\_

Como é identificada a mastite? \_\_\_\_\_

Como é realizada a linha de ordenha? \_\_\_\_\_

Que medidas são adotadas ao identificar um caso clínico? \_\_\_\_\_

**6.30 Limpeza e desinfecção das instalações**

Qual é a frequência e forma de higienização? \_\_\_\_\_

Qual é o destino dos resíduos orgânicos? \_\_\_\_\_

Qual é o destino dos animais mortos? \_\_\_\_\_

## **7. PERGUNTAS REFERENTES A NEOSPOROSE**

**7.1 Propriedade apresenta bovinos com presença de anticorpos anti-*Neospora-caninum*?**

(  ) Sim (  ) Não

**7.2 Propriedade apresenta cães**

(  ) Sim. Quantos? \_\_\_\_\_

(  ) Não

**7.3 Tem contato com a fonte de água?**

(  ) Sim (  ) Não

**7.4 Tem contato com os bovinos?**

Sim  Não

7.5 Tem contato com a alimentação dos bovinos?

Sim  Não

7.6 Qual o tipo de alimentação é dada aos cães?

Ração comercial  comida caseira  Ambas

7.7 Já observou o cão comendo placenta e ou restos fetais?

Sim  Não

7.8 Já forneceu colostro ou leite aos cães?

Sim  Não

7.9 Proprietário já observou a presença de canídeos selvagens?

Sim  Não

7.10 Quais?

Cachorro do mato  Lobo guará  Ambos

Outros. Qual(is)? \_\_\_\_\_

7.11 Propriedade apresenta aborto?

Sim  Não

7.12 Em caso afirmativo, qual a intensidade?

Esporádico  Endêmico  Epidêmico

7.13 Propriedade tem problemas com repetição de cio?

Sim  Não

7.14 Os bezerros nascem normais?

Sim  Não

7.15 Existe comércio de compra e venda entre os bovinos?

Sim. Qual: \_\_\_\_\_

Não

**1.1.2. IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL Nº \_\_\_\_\_**

8. Nome: \_\_\_\_\_

9. Idade: \_\_\_\_\_

10. Raça:

( ) Holandês ( ) Gir-Holanda ( ) Jersey ( ) Mestiço-Europeu ( ) Mestiço-Zebú

( ) Outras. Qual? \_\_\_\_\_

11. Procedência

( ) Propriedade ( ) Vizinhança ( ) Município ( ) Outros Quais? -  
\_\_\_\_\_

12. Produção de leite Kg / dia: \_\_\_\_\_

13. Animal já apresentou aborto?

( ) Sim. Quantos? \_\_\_\_\_

( ) Não

14. Animal já apresentou repetição de cio?

( ) Sim ( ) Não

15. O animal é vacinado contra:

( ) Raiva                                    ( ) Leptospirose ( ) Outra. Qual? \_\_\_\_\_

( ) Aftosa

( ) Manqueira (carbúnculo) ( ) BVDV

( ) Brucelose                                    ( ) IBR

16. Apresenta indicativo de anticorpos anti-*Neospora caninum*?

( ) Sim ( ) Não

17. Já apresentou bezerros natimortos?

( ) Sim ( ) Não

18. Vaca está cheia ou vazia?

**Anexo 2.** Valores de "p" observados nas variáveis relacionadas a epidemiologia da neosporose bovina na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia.

Variáveis (p<0,05)	OR	Valor de p
A mediana do tamanho da propriedade é inferior a 120Ha	1,91	0,0087
A mediana da taxa de lotação é inferior a 0,35 UA/Ha	1,80	0,0001
Propriedade possui veterinário responsável?	0,37	0,0000
O sistema de produção é empresarial ou pré-empresarial?	0,41	0,0002
Mediana da produção de leite da propriedade	2,32	0,0002
A ordenha na propriedade é mecânica?	0,40	0,0003
As condições de higiene são ótimas/boas?	0,38	0,0002
A água dos bovinos é colocada em reservatório próprio?	0,57	0,0133
O tipo de monta nos rebanhos é natural?	1,76	0,0102
A propriedade faz inseminação ou transferência de embriões?	0,41	0,0001
A propriedade tem cães?	0,07	0,0001
Cão tem contato com fonte de água?	1,58	0,0496
Os cães alimentam-se de placenta ou restos fetais?	0,44	0,0004
A vaca já apresentou abortos?	4,15	0,0040
A vaca já apresentou bezerros natimortos?	7,88	0,0097
A vaca está cheia ou vazia?	3,33	0,0006
Há criação de ovino	0,24	0,0001
Há criação de galinhas	2,88	0,0023
Na propriedade tem mosca doméstica	2,54	0,0000
Na propriedade tem mosca do chifre	0,34	0,0019
Os cães da propriedade alimentam-se apenas de ração	2,26	0,0018
Vacas já apresentaram repetição de cio?	0,46	0,0184

Variáveis (0,05<p<0,20)	OR	Valor de p
O manejo dos animais é ótimo/bom?	0,68	0,1773
Bovinos alimentam-se de concentrado?	0,58	0,1160
Faixa etária		0,0116
Há criação de equino	1,53	0,1777

Continuação anexo 2.

Valores de "p" observados nas variáveis relacionadas a epidemiologia da neosporose bovina na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

Variáveis (>0,20)	Valor de p
Existe mosca na propriedade?	0,3923
Número de ordenhas	0,9335
O sistema de criação é intensivo/semi-intensivo?	0,2062
Existe criação de animais no mesmo ambiente?	0,9256
A água recebe algum tipo de tratamento?	0,4742
Realiza algum beneficiamento do leite?	0,9273
Cão tem contato com bovinos?	0,4247
Cão tem contato com a alimentação dos bovinos?	0,7109
O proprietário já observou presença de canídeos selvagens?	0,3774
Já forneceu colostro ou leite direto das vacas aos cães?	0,7904
A propriedade apresenta abortos?	0,3485
A Propriedade tem repetição de cio?	0,5318
Existe comércio de compra e venda de bovinos?	0,4412
A Propriedade tem cães positivos para neospora?	0,9565
Quantos cães positivos II	0,3473
Raça dos bovinos é européia?	0,9961
O animal nasceu na propriedade?	0,2119
Município	0,7235
Alimentam-se de silo ou feno?	0,5888
Alimentam-se de forragem?	0,8615
Criação de animais no mesmo ambiente?	0,9256
Quantos cães?	0,5783
Tem mosca do estábulo?	0,3995

### Anexo 3. Resumo apresentado no XXXVI CONBRAVET



### XXXVI Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária Código do resumo: 2576

Área: Produção e saúde animal

**Anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros dos municípios de Ilhéus e Itabuna, Bahia.**

**Gideão da Silva Galvão<sup>1</sup>; Ricardo Rossi Rodrigues<sup>2</sup>; Luís Fernando Pita Gondim<sup>3</sup>; Alexandre Dias Munhoz<sup>4</sup>.**

#### RESUMO

A realização deste estudo teve como objetivo determinar a presença de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros pertencentes à microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia. Foram analisadas 230 amostras de soro provenientes de 13 propriedades selecionadas por conveniência, com a coleta de pelo menos 20% de cada rebanho. As amostras foram testadas pela técnica de Imunofluorescência indireta com ponto de corte de 1:200, e na análise estatística, empregado o teste do qui-quadrado com correção de Yates. Do total, 84/230 (36,52%) animais apresentaram-se soropositivos. Em todas as propriedades houve pelo menos um animal soropositivo, sendo que as freqüências de animais reagentes nos rebanhos variaram de 7,41 a 72,73%, indicando a ampla distribuição do parasito na região. Até a realização do presente trabalho, não havia relatos de anticorpos contra o parasito no sul do Estado da Bahia.

**PALAVRAS-CHAVE:** Bovinos, neosporose, prevalência.

#### INTRODUÇÃO

*Neospora caninum* é um protozoário intracelular obrigatório e importante patógeno, principalmente de bovinos e cães, que infecta naturalmente diversos mamíferos, sendo apontado

como uma das mais importantes causas de abortamento bovino em todo o mundo (DUBEY, 2003). Bovinos infectam-se por ingestão de oocistos esporulados no ambiente ou por passagem transplacentária de taquizoítos da mãe para o feto (BASSO et al., 2001), tendo cães (McALLISTER et al., 1998) e coiotes (GONDIM et al., 2004) como os hospedeiros definitivos do parasita.

A transmissão vertical é uma importante rota de transmissão de *N. caninum*, contribuindo assim para a manutenção da doença nos rebanhos (PARE et al., 1996). A presença de cães infectados em fazendas constitui um importante fator de risco para a transmissão horizontal do parasita e disseminação da enfermidade nos rebanhos bovinos (WOUADA et al., 1999).

Este estudo teve como objetivo determinar a frequência de anticorpos contra *N. caninum* em bovinos na região, em levantamento preliminar de 13 propriedades leiteiras nos municípios de Ilhéus e Itabuna, Bahia.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas amostras de soro bovino proveniente de 13 propriedades leiteiras localizadas nos Municípios de Ilhéus e Itabuna, inseridos na Microrregião Ilhéus-Itabuna (Altitude de 47 m; Latitude Sul 14°70'0" e Longitude Oeste 39°03'0"), no Estado da Bahia. As propriedades e os animais foram selecionados por conveniência utilizando-se o cadastro da Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB), onde se coletou pelo menos 20% de amostras de cada rebanho.

Foram colhidas 230 amostras de sangue, por punção das veias coccígeas utilizando sistema à vácuo e tubos de vidro siliconizados, sem anticoagulante, com capacidade de 10mL. O processamento das amostras e a análise dos dados obtidos foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) e no Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses nos Animais da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Após a retração do coágulo, o sangue foi centrifugado a 350g por 10 minutos para a separação do soro e acondicionado em criotubos de 2,0 mL, em duplicata, identificados e mantidos sob a temperatura de -20 °C até o momento da realização dos exames.

As amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses dos Animais da UFBA para a detecção dos anticorpos contra *N. caninum* por meio do teste de Imunofluorescência indireta de acordo com Yamane et al. (1998), com ponto de corte em 1:200, utilizando taquizoítos da cepa NC-BA. A leitura foi realizada em microscópio Binocular BX 51 (Olympus<sup>TM</sup>) com sistema de epifluorescência, considerando-se positivas as reações que apresentaram fluorescência periférica total em mais de 50% dos taquizoítos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência de anticorpos contra *N. caninum* em bovinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna foi de 36,52% (86/230), variando de 7,41 a 72,73% entre os rebanhos estudados. Em todas as propriedades avaliadas houve pelo menos um animal soropositivo. A frequência de animais positivos por município foi de 28,16% em Ilhéus e 42,64% em Itabuna ( $p=0,068$ ) (Tabela 1).

Os resultados deste estudo assemelham-se às freqüências de anticorpos encontradas por Melo et al. (2006) no estado de Goiás (microrregiões de Anápolis e Goiânia), e Sartor et al. (2005) no Estado de São Paulo (região de Presidente Prudente).

Gondim et al. (1999) na Bahia (microrregião de Feira de Santana) observaram uma freqüência de anticorpos anti-*N. caninum* de 14,09% em 447 bovinos, inferior ao resultado encontrado no estudo corrente, o que provavelmente se deve às diferenças climáticas entre as regiões, pois a microrregião de Ilhéus e Itabuna apresenta maior umidade o que favorece a permanência do parasito no ambiente por períodos mais longos.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos evidenciam a exposição de bovinos a *Neospora caninum* com ampla distribuição nos rebanhos da microrregião estudada, devendo o parasita ser incluído no diagnóstico diferencial nos casos de abortamento bovino, fazendo-se necessária a complementação de estudos que visem elucidar os aspectos relacionados à epidemiologia da neosporose na região.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB) e ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Científico Tecnológico (CNPq)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Basso, W.; Venturini, L.; Venturini, M. C.; Hill, D. E; Kwok, O. C. H.; Shen, S. K.; Dubey, J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J. Parasitol.*, v.87, n.3, p.612-618, 2001
- Dubey, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, v.41, n.1, p.1-16, 2003.
- Gondim, L.F.P.; Sartor, I.F.; Hasegawa, M.; Yamane, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.86, n.1, p.71-75, 1999.
- Gondim, L. F. P.; McAllister, Milton M.; Pitt, W. C.; Zemlicka,D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, v.34, n.2, p.159-161, 2004.
- McAllister, M. M. Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Jolley, W.R., Wills, R.A., McGuire, A.M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, v.28, n.9, p.1473-1478, 1998.
- Melo, D. P. G.; Silva, A. C. ; Mora, L. M. O.; Bastos, S. A.; Boaventura, C. M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.15, n.3, p.105-109, 2006.
- Paré, J; Thurmond, M C; Hietala, S K. Congenital *Neospora caninum* infection in dairy cattle and associated calfhood mortality. *Can. J. Vet. Res.*, v.60, n.2, p.133–139, 1996.
- Sartor, I.F.; Garcia Filho, A.; Vianna, L.C.; Pituco, E.M.; Dal Pai, V.; Sartor, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. *Arq. Inst. Biol.*, v.72, n.4, p.413-418, 2005.

Wouda W.; Dijkstra Th.; Kramer A.M.H.; Maanen C.; Brinkhof, J.M.A. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int. J. Parasitol.*, v.29, n.10, p.1677-1682, 1999.

Yamane I.; Shibahara T.; Kokuhoh T.; Shimura K.; Hamaoka T.; Haritani M.; Conrad P. A.; Park C.H.; Sawada M.; Umemura, T. An improved isolation technique for bovine *Neospora* species. *J. Vet. Diagn. Invest.*, v.10, n.4, p.364-368, 1998.

Tabela 1 – Distribuição de animais soropositivos e soronegativos para *Neospora caninum*, nos municípios de Ilhéus e Itabuna, estado da Bahia

Município	<i>Neospora caninum</i>		Total (%)
	Positivos (%)	Negativos (%)	
Ilhéus	29 (28,16)	72 (71,84)	101 (43,91)
Itabuna	55 (42,64)	74 (57,36)	129 (56,09)
Total	84 (36,52)	146 (63,48)	230 (100)

$\chi^2=3,33$  P=0,068