

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

Murilo de Oliveira Bôa-Morte

**NEOSPOROSE EM VACAS E FETOS, PROCEDENTES DA MESORREGIÃO
NORTE FLUMINENSE, DESTINADAS AO ABATE**

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

2009

Murilo de Oliveira Bôa-Morte

**NEOSPOROSE EM VACAS E FETOS, PROCEDENTES DA MESORREGIÃO
NORTE FLUMINENSE, DESTINADAS AO ABATE**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2009

MURILO DE OLIVEIRA BÔA-MORTE

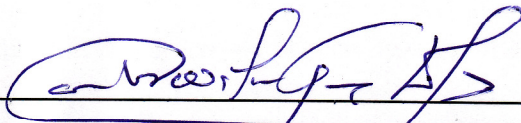
NEOSPOROSE EM VACAS E FETOS, PROCEDENTES DA MESORREGIÃO
NORTE FLUMINENSE, DESTINADAS AO ABATE

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de Sanidade Animal.

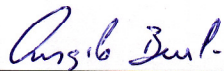
Manoel José ... Bôa Morte e Maria Célia Marques de Oliveira Bôa Morte

Aprovada em 16 de fevereiro de 2009

BANCA EXAMINADORA



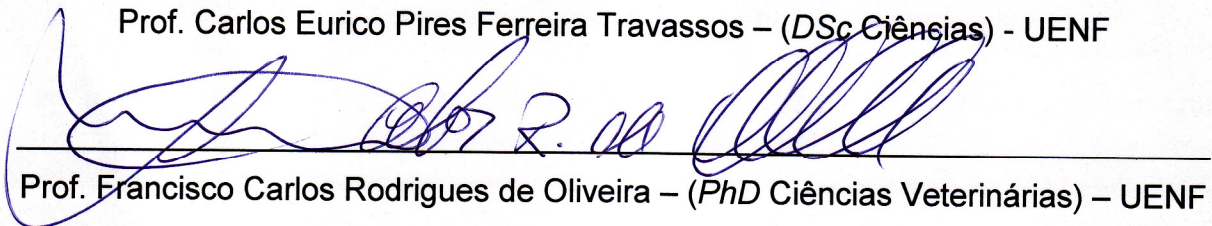
Prof. Carlos Wilson Gomes Lopes – (PhD Patologia) – UFRRJ



Prof. Ângelo José Burla Dias – (DSc. Biociências e Biotecnologia) - UENF



Prof. Carlos Eurico Pires Ferreira Travassos – (DSc Ciências) - UENF



Prof. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira – (PhD Ciências Veterinárias) – UENF

Orientador

Aos meus pais

Manoel José de Souza Bôa Morte e Maria Célia Marques de Oliveira Bôa Morte

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que sempre iluminou os meus passos em todos os momentos de minha vida;

A Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro pela oportunidade de aprendizado;

A Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela disponibilidade material para a realização desta pesquisa;

Aos meus pais pelo amor incondicional e abdicação dos seus prazeres em prol do meu aprimoramento;

Aos meus irmãos Marcelo Freitas Bôa Morte e Maurício de Oliveira Bôa Morte pelos conselhos e amizade sempre existente;

À minha namorada Thais Correa Nogueira Cruz pelo carinho, amor e compreensão em todos os momentos;

Aos amigos do Culto Pedro, que são pessoas mais do que especiais em minha vida;

Aos amigos do laboratório de Sanidade Animal pelo apoio em diversos momentos;

Ao amigo Edward Frazão Teixeira pelo auxílio nas coletas e na elucidação de diversos problemas;

A Nicole Brand Ederli por tornar fáceis tarefas que pareciam tão difíceis;

Aos professores Drs. Antonio Peixoto Albernaz e Lilian Maria Garcia Bahia de Oliveira por disponibilizarem os seus laboratórios, assim como auxiliarem com suas experiências;

Aos técnicos Liliani de Souza Elias, Josias Alves Machado e Orlando Melo, que se colocaram a disposição fazendo muito mais do que simplesmente os seus trabalhos;

À aluna Patrícia Alves de Pinho Machado Silva pelo auxílio nesta pesquisa;

Em especial ao meu amigo e orientador, prof. Dr. Francisco Carlos Rodrigues de Oliveira por lutar por todos os seus alunos, disponibilizar o seu tempo, me encorajar a continuar e ainda me contagiar com sua alegria de ser pesquisador.

"Posso ter defeitos, viver ansioso e ficar irritado algumas vezes, mas não esqueço de que minha vida é a maior empresa do mundo e que posso evitar que ela vá à falência. Ser feliz é reconhecer que vale a pena viver, apesar de todos os desafios, incompreensões e períodos de crise; Ser feliz é deixar de ser vítima dos problemas e se tornar um autor da própria história; É atravessar desertos fora de si, mas ser capaz de encontrar um oásis no recôndito da sua alma; É agradecer a Deus a cada manhã pelo milagre da vida; É ser feliz e não ter medo dos próprios sentimentos; É saber falar de si mesmo; É ter coragem para ouvir um "não"; É ter segurança para receber uma crítica mesmo que injusta; Pedras no caminho? Guardo todas, um dia vou construir um castelo..."

(Fernando Pessoa)

RESUMO

Bôa-Morte, Murilo de Oliveira. Neosporose em vacas e fetos, procedentes da mesorregião Norte Fluminense, destinadas ao abate. 2009. 54p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal, Sanidade Animal). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Neosporose é uma doença parasitária de animais silvestres, de produção e de companhia causada pelo coccídio *Neospora caninum*. O objetivo desta pesquisa foi determinar a freqüência da neosporose em vacas e respectivos fetos verificando a taxa de transmissão vertical para a região Norte Fluminense. Para tanto, amostras de sangue de vacas vazias e prenhes e seus respectivos fetos foram coletadas em um frigorífico no Município de Campos dos Goytacazes, RJ, sendo estes animais caracterizados em animais de corte e leiteiros, divididos em animais com até três anos e com mais de três anos. O tempo de gestação foi determinado de acordo com a idade fetal. Para determinação e titulação de anticorpos anti-*N. caninum* foi utilizado o teste de ELISA ("kit" Herdcheck anti *Neospora* da IDEXX). Para verificar a associação entre as variáveis foi utilizado o teste estatístico do χ^2 e o de Fisher com intervalo de confiança de 95%. Verificou-se uma freqüência de 19% dos animais abatidos, sendo esta variável entre os municípios de origem, não havendo diferenças quanto à aptidão, idade, estado gestacional, nem no tempo de gestação. Foi verificada uma taxa de 67% de transmissão vertical, a partir de animais altamente positivos, o que permitiu concluir que a neosporose está presente de forma enzoótica na região Norte Fluminense e que vacas consideradas altamente positivas são mais importantes na manutenção do agente etiológico da doença por causa da alta taxa de transmissão vertical.

PALAVRAS-CHAVE: Neosporose; ELISA; transmissão vertical; bovinos.

ABSTRACT

Bôa-Morte, Murilo de Oliveira. Neosporosis in cows and fetus, derived from the North Fluminense region, destined to slaughter. 2009. 54p. Dissertation (Master Science in Animal Science, Animal Sanitary). Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, 2009.

Neosporosis is a parasitic disease of wild, production and pet animals caused by the coccidian *Neospora caninum*. The aim of this research was to determine the frequency of neosporosis in cows and respective fetuses verifying the rate of vertical transmission for the North Fluminense area. To this, blood samples of empty and pregnant cows and their respective fetuses were collected in a slaughterhouse at the city by of Campos of Goytacazes, RJ, being animals characterized in beef and dairy cattle. Animals were divided in until three years and more than three years of age. The time of gestation was determined in agreement with the fetal age. For detection and titer of the antibodies anti-*N. caninum* ELISA test was used (kit Herdcheck anti Neospora of IDEXX). To verify the association among the variables were used χ^2 and Fisher tests with 95% interval of confidence. A frequency of 19% was verified among the municipal districts, differences were not observed as the aptitude, age, gestational state and gestational period. A tax of 67% of vertical transmission was verified, from animals strongly positive. So these results allowed to conclude that neosporosis is present as an enzootic form in the North Fluminense region and cows considered strongly positive are more important in the maintenance of the epidemic chain of neosporosis in this region due to the high rate of vertical transmission.

KEY-WORDS: Neosporosis; ELISA; vertical transmission; bovines.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1.** Fetos bovinos em diferentes tempos de gestação. As setas indicam o local de medida para avaliação da idade fetal. (A) feto no terço inicial de gestação. (B,C e D) fetos no terço médio de gestação..... 25
- Figura 2.** “Kit” ELISA (Herdcheck®, IDEXX Laboratories Inc. EUA), para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em ruminantes 27

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> de acordo com a aptidão dos animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.....	29
Tabela 2	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em vacas abatidas de acordo com a procedência da mesorregião Norte Fluminense.....	30
Tabela 3	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em soros de animais em abates de diferentes propriedades do Município de Campos dos Goytacazes, RJ.....	31
Tabela 4	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em soros de animais em abates de diferentes propriedades do Município de Cardoso Moreira, RJ.....	32
Tabela 5	Pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em soros de animais em abates de diferentes propriedades do Município de Conceição de Macabú, RJ.....	33
Tabela 6	Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> de acordo com a idade dos animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.....	34
Tabela 7	Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> de acordo com o estado gestacional de animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.....	35

Tabela 8	Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> de acordo com o tempo de gestação dos animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.....	35
Tabela 9	Regressão Linear Múltipla dos valores do Teste de ELISA (HerdChek® anti-Neospora - Laboratório IDEXX), de vacas prenhes positivas, seus respectivos fetos e idade dos mesmos	36

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1.	HISTÓRICO	15
2.2.	<i>Neospora caninum</i>	15
2.2.1.	Classificação	16
2.2.2.	Biologia	17
2.3.	NEOSPOROSE EM CÃES	18
2.4.	NEOSPOROSE EM BOVINOS	18
2.5.	PERDA ECONÔMICA	19
2.6.	DIAGNÓSTICO	19
2.7.	EPIDEMIOLOGIA	21
2.8.	CONTROLE E PROFILAXIA	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1.	LOCAL DO EXPERIMENTO	24
3.2.	ANIMAIS UTILIZADOS E ORIGEM	24
3.3.	CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS	24
3.4.	COLETA DE SANGUE	26
3.5.	PROCESSAMENTO DO SANGUE	26
3.5.1.	Obtenção do soro	26
3.5.2.	Sorologia	26
3.5.3.	Transmissão vertical de <i>Neospora caninum</i>	28
3.6.	ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
4.	RESULTADOS	29
4.1.	FREQÜÊNCIA DE NEOSPOROSE NO NORTE FLUMINENSE	29
4.1.1.	Freqüência de neosporose nos municípios	30
4.1.1.1.	Campos dos Goytacazes	31
4.1.1.2.	Cardoso Moreira	32
4.1.1.3.	Conceição de Macabú	33
4.1.2.	Frequência da neosporose relacionada à idade das vacas	34

4.1.3.	Freqüência de neosporose em diferentes estágios reprodutivos .	34
4.2.	CORRELAÇÃO DA TRANSMISSÃO VERTICAL	36
5	DISCUSSÃO	37
6	CONCLUSAO	40
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1. INTRODUÇÃO

Neosporose é uma doença parasitária de animais silvestres, de produção e de companhia causada pelo coccídeo *Neospora caninum*. Assim como o *Toxoplasma gondii*, este agente pode infectar células de animais de sangue quente e apresenta distribuição cosmopolita, porém até o momento não foi relatado nenhum caso de neosporose em humanos.

O agente e a doença têm despertado grande interesse, fazendo com que pesquisadores do mundo inteiro trabalhem com intuito de elucidar e conhecer melhor os mecanismos de dispersão do parasito.

O principal efeito das infecções por *N. caninum* em gado, principalmente o leiteiro, é o abortamento, e em algumas regiões geográficas 42,5% dos casos de aborto são atribuídos à neosporose. O impacto econômico é dependente de custos indiretos, bem como do valor do feto perdido. Custos indiretos incluem ajuda profissional e custos associados com o estabelecimento do diagnóstico, aumento do intervalo entre partos, possível perda na produção leiteira, nascimento de filhotes fracos ou doentes e com a reposição de animais após o descarte de vacas que abortam.

Estima-se que na Califórnia, nos EUA a neosporose, em gado leiteiro, é responsável por gerar perdas em torno de 35 milhões de dólares/ano, enquanto que na Austrália essas perdas estariam estimadas em 85 milhões de dólares/ano para a indústria leiteira e 25 milhões de dólares/ano para a indústria de carne bovina.

A ausência de informações no que diz respeito ao diagnóstico, à patologia e aspectos morfobiológicos, a possível presença de *N. caninum* como causador de abortamentos e o impacto da doença na mesorregião Norte Fluminense, motivaram a realização do presente estudo, objetivando, portanto, melhorias nas condições de diagnóstico da neosporose bovina e determinar a frequência da infecção natural por *N. caninum* em vacas e respectivos fetos verificando a taxa de transmissão vertical para a região.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. HISTÓRICO

Em 1984 uma doença neurológica foi reconhecida em três ninhadas de cães da raça boxer, na Noruega (BJERKAS et al., 1984), com sintomas similares aos causados pela infecção por *T. gondii*, sendo responsável por lesões no cérebro e músculos. Entretanto, anticorpos anti-*T. gondii* não foram observados no soro desses cães e nem foi possível o isolamento do parasito dos animais infectados em camundongos. Em 1988, um parasita morfológicamente similar ao *T. gondii* foi evidenciado em cães nos EUA, no entanto características próprias deste parasita puderam classificá-lo como uma nova espécie, sendo então denominado *N. caninum* (DUBEY et al., 1988).

Historicamente, Thilsted e Dubey (1989) foram os primeiros a reportarem a presença de *N. caninum* em cérebro de fetos de um rebanho bovino com abortamentos persistentes no Novo México. Inicialmente, o diagnóstico presuntivo foi feito baseado em achados de alguns cistos de um suposto *T. gondii* e a ineficácia de achar qualquer outra causa de aborto. Toxoplasmose foi excluída porque nenhum anticorpo anti-*T. gondii* foi verificado nas vacas que abortaram e *T. gondii* até então não havia sido responsável por causar aborto em vacas. Finalmente o diagnóstico de neosporose foi confirmado quando o soro específico de *N. caninum* ficou disponível (LINDSAY; DUBEY, 1989a) e mais tarde Anderson et al., 1991 e Barr et al., 1991 descreveram este protozoário como responsável pela maior causa de abortamento de bovinos leiteiros da Califórnia.

2.2. *Neospora caninum*

Neospora caninum é um parasito intracelular obrigatório que é estruturalmente e biologicamente muito similar ao *T. gondii*, sendo confundido com este até 1988 (HEMPHILL et al., 1996). Este parasito foi isolado pela primeira vez

em um cão que apresentava problemas neurológicos, paralisia seguida de morte (DUBEY et al., 1988).

Com base na sua análise de DNA, o parasito foi colocado no filo Apicomplexa, dentro da família Sarcocystidae (ELLIS et al., 1994). O cão foi comprovadamente caracterizado como hospedeiro definitivo, com eliminação de oocistos não esporulados em suas fezes de 8 a 27 dias após ingestão de cistos (Mc ALLISTER et al., 1998). Heteroxeno obrigatório o parasito tem como hospedeiros intermediários o próprio cão, eqüinos, ovinos, caprinos, bovinos e outros mamíferos (HEMPHILL et al., 1996; DUBEY, 1999a; GONDIM et al., 2004).

2.2.1. Classificação

De acordo com Current et al. (1990) e Cavalier-Smith (1993) a classificação taxonômica proposta para o parasito é a seguinte:

Império Eukariota, Cavalier-Smith, 1993;

Reino Protozoa Owen, 1858;

Filo Apicomplexa Levine, 1970;

Classe Sporozoasida Leukart, 1879;

Subclasse Coccidiasina Leukart, 1879;

Ordem Eucoccidiorida Léger; Doboscq, 1910;

Subordem Eimeriorina Léger, 1911;

Família Sarcocystidae Poche, 1913;

Subfamília Toxoplasmatinae Bioca, 1956;

Gênero *Neospora* Dubey, Carpenter, Speer, Topper e Uggla, 1988;

Espécie *N. caninum* Dubey, Carpenter, Speer, Topper e Uggla, 1988.

Contudo, existe uma discussão envolvendo a aceitação ou não deste novo gênero com base no Código de Nomenclatura Zoológica (DUBEY et al., 2002; HEYDORN; MEHLHORN, 2002).

2.2.2. Biologia

Estudos experimentais verificaram que o cão pode agir como hospedeiro definitivo (McALLISTER et al., 1998; LINDSAY et al., 1999a), após a ingestão de cistos teciduais, eliminando oocistos não esporulados em suas fezes. Assim sendo, *N. caninum* passou a ser considerado um parasito que tem seu ciclo biológico heteroxeno obrigatório, possuindo uma grande variedade de hospedeiros intermediários demonstrados, tanto experimental, quanto naturalmente, tais como: bovinos, eqüinos, cães, camundongos, gerbils, ovinos, suínos, coiotes, raposas, búfalos (DUBEY, 1999b).

Três tipos celulares são reconhecidos, os taquizoítos, os bradizoítos e os esporozoítos. Os taquizoítos são encontrados livres ou em colônias em células do sistema nervoso central (SNC), macrófagos, células endoteliais vasculares, miócitos, células epiteliais tubulares renais, hepatócitos, coração, pulmões, rins, placenta e líquido amniótico e em outras células do corpo (DUBEY, 1999b; LINDSAY; DUBEY, 2000).

Analogamente ao que ocorre com *T. gondii*, com o desenvolvimento da resposta do hospedeiro e a presença de outros fatores fisiológicos, os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos e uma infecção persistente com presença de cistos teciduais é estabelecida (LYONS et al., 2002), principalmente no SNC (DUBEY, 1999b).

Os bradizoítos freqüentemente observados em cistos teciduais podem estar presentes, tanto nos hospedeiros intermediários quanto nos definitivos e foram encontrados, até o momento, somente nos tecidos do sistema nervoso central (cérebro, cordão espinhal e retina).

A localização dos estádios endógenos de *N. caninum* que dão origem à eliminação de oocistos. O período pré-patente é de cinco dias ou mais a partir da ingestão de cistos teciduais (LINDSAY et al., 1999a). Oocistos deste parasito são eliminados não esporulados nas fezes (McALLISTER et al., 1998) e esporulam dentro de 24 horas a 37°C, apresentando-se com dois esporocistos com quatro esporozoítas cada (LINDSAY et al., 1999a), tornando-se infectantes para hospedeiros definitivos e intermediários, como no caso dos bovinos que podem se

infectar por via oral, através de oocistos esporulados eliminados por cães (De MAREZ et al., 1999).

2.3. NEOSPOROSE EM CÃES

De acordo com a literatura, a maioria dos casos de neosporose clínica em cães, ocorre em filhotes infectados no útero materno (DUBEY et al., 1998; PASQUALI et al., 1998). Os principais sintomas clínicos encontrados nessa enfermidade em cães são: a encefalite, polimiosite, poliradiculoneurite e paralisia anscendente (DUBEY et al., 1998). Uma forma incomum de neosporose encontrada em cães adultos é a dermatite (DUBEY, 2003).

A importância da neosporose em cães decorre de que a presença destes quando soropositivos para *N. caninum* em fazendas estão correlacionados com as altas soroprevalências do parasito no rebanho bovino, dessa forma o cão parece ter um importante papel epidemiológico na rota da transmissão horizontal da infecção em rebanhos bovinos (DUBEY, 1999b; WOUDA et al., 1999), o que foi comprovado no México por Sánchez et al. (2003). Entretanto, estudos epidemiológicos realizados indicam que a infecção pós-natal tem menor importância, ocorrendo em níveis inferiores aos verificados para a via transplacentária, que varia entre 50 e 95%, sendo considerado o principal modo de transmissão em bovinos, responsável pela propagação e manutenção da infecção nos rebanhos (SCHARES et al., 1998; HALL et al., 2005).

2.4. NEOSPOROSE EM BOVINOS

Tanto o gado de corte, quanto o leiteiro em todo o mundo tem sido relatado como portador de *N. caninum*, sendo que em algumas regiões a prevalência chega a ser de 100% (DUBEY, 1999b). O abortamento tem sido o único sinal clínico observado em vacas adultas, ocorrendo em sua maioria entre o 5º e o 6º mês de gestação (ANDERSON et al., 1991). Dentro do rebanho o abortamento pode ocorrer

de forma enzoótica ou em surtos epizooticos. Os fetos podem morrer no útero, sendo estes reabsorvidos, mumificados ou autolizados; nascerem mortos; vivos, porém doentes ou clinicamente normais e portadores da infecção (YAEGER et al., 1994).

Outros sinais clínicos associados à neosporose, tais como: flexão ou hiperextensão dos membros; ataxia; diminuição do reflexo patelar e perda da propriocepção consciente; perda de peso e incapacidade para se levantar, têm sido descritos somente em bezerros com menos de 2 meses de idade, ou que nascem infectados (DUBEY; LINDSAY, 1996; BARR et al., 1993).

2.5. PERDA ECONÔMICA

O impacto econômico gerado pela enfermidade pode ser caracterizado pelos custos decorrentes de abortos, principalmente com perda de fetos de alto valor genético, perda do cio, aumento do tempo de lactação, menor produção de leite e tempo na substituição de animais produtores, porém portadores da enfermidade que devem ser sacrificados (THURMOND; HIETALA, 1996; 1997a; HADDAD et al., 2005).

Além dos prejuízos, acima citados, há os custos com o diagnóstico e com Médicos Veterinários. Embora seja difícil obter valores precisos sobre perdas econômicas, na pecuária bovina, atribuídas à neosporose, Dubey (1999b) calculou para Califórnia, custos diretos devido aos abortamentos causados por *N. caninum* na faixa de US\$ 35 milhões por ano. Kasari et al. (1999) simularam as perdas totais relativas à neosporose em torno de US\$ 7,6 milhões a US\$ 24 milhões em rebanhos de corte no Texas, EUA.

2.6. DIAGNÓSTICO

A presença de anticorpos específicos no soro de vacas que abortaram e de cães é somente um indicativo da exposição dos animais para o *N. caninum*, assim

como, um resultado negativo pode sugerir que o parasito não está envolvido no abortamento, contudo flutuações de títulos em vacas soropositivas podem ser observadas (DANNATT, 1997; SCHARES et al., 1999). Portanto, os resultados da sorologia em vacas devem ser confrontados com os do soro do feto ou ainda com o isolamento do parasito no feto abortado (Munhoz,2004). Vários testes sorológicos têm sido usados para detectar anticorpos deste parasito, incluindo o teste de ELISA (BJORKMAM et al., 1999; ATKINSON et al., 2000), a imunofluorescência indireta (RIFI), e o teste de aglutinação direta (DUBEY et al., 1997; PACKHAM et al., 1998; ROMAND et al., 1998; WOUDA et al., 1998) e o “Western Blots” (ATKINSON et al., 2000).

Schares et al. (2002) registraram uma alta sensibilidade do ELISA utilizado no estudo frente a RIFI. Os soros positivos no ELISA, também reagiram especificamente com o “Imuno Blots”, indicando que a discrepância entre o ELISA e a RIFI, não foi em virtude de uma pobre especificidade do ELISA.

Uma das técnicas mais utilizadas no diagnóstico de aborto em bovinos, bem como em estudos epidemiológicos e filogenéticos é a reação em cadeia da polimerase (PCR) para a detecção do DNA genômico do parasito nos tecidos fetais, devido à sua rapidez e facilidade de execução, além da tolerância com relação à qualidade da amostra enviada (BASZLER et al., 1999; SCHOCK et al., 2000; COLLANTES-FERNÁNDEZ et al., 2002).

O exame do feto se faz necessário para um diagnóstico definitivo da neosporose. O ideal seria que todo o feto fosse analisado, porém caso não seja possível, amostras de cérebro, coração e fígado devem ser coletadas e enviadas para avaliação histopatológica (DE MEERSCHAM et al., 2002) e imunohistoquímica (BASZLER et al., 1999; DUBEY, 1999a), além da avaliação sorológica de fluídos corporais e do soro sanguíneo (DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY, 2003).

A presença de anticorpos no soro de fetos abortados confirma a infecção, contudo resultados negativos não podem descartar a presença do parasito, pois a síntese de anticorpos pelo feto é dependente do período da gestação, nível de exposição, e tempo entre a infecção e o abortamento (BARR et al., 1995; WOUDA et al., 1997). Além disso, o tempo de autólise fetal pode acelerar a degradação das imunoglobulinas, gerando com isso resultados falso-negativos (WOUDA et al., 1997).

Além dos métodos já descritos há ainda o isolamento do parasito em cultivo celular ou em animais de laboratório (LINDSAY; DUBEY, 1989b).

O diagnóstico da neosporose por meio de ensaio biológico era difícil de ser realizado, pois não havia um modelo satisfatório utilizando roedores, visto que *N. caninum* não era patogênico para diversas linhagens de camundongo (LINDSAY; DUBEY, 1989b; 1990), somente certas linhagens imunodeficientes ou quimicamente imunossuprimidos eram susceptíveis com a inoculação parenteral de taquizoítos (LINDSAY et al., 1995; DUBEY et al., 1998), não sendo vista susceptibilidade para inoculação oral com oocistos de *N. caninum* (LINDSAY et al., 1999b).

Hoje se sabe que gerbils (*Meriones unguiculatus*) são susceptíveis para taquizoítos (GONDIM et al., 1999a) e oocistos (DUBEY; LINDSAY, 2000), sendo utilizados como modelos em bioensaio para o isolamento de *N. caninum*.

2.7. EPIDEMIOLOGIA

Neospora caninum é transmitido verticalmente de forma eficiente em bovinos, provavelmente por várias gerações. Vacas que abortam uma vez podem abortar de novo, não ocorrendo a transmissão vertical do parasito (ANDERSON et al., 1997).

Um melhor entendimento da dinâmica de transmissão deste protozoário dentro da população bovina faz-se necessário para adoção de estratégias de controle adequadas. Estudos nos EUA e no Reino Unido têm mostrado uma alta probabilidade (81-100%) das vacas infectadas transmitirem *N. caninum* aos fetos durante a gestação (PARÉ et al., 1995; THURMOND; HIETALA, 1997b; DAVISON et al., 1999), pois os estádios assexuados de *N. caninum* são transmitidos verticalmente em bovinos por várias gerações (DUBEY, 1999a). Em contraste, poucas taxas de transmissão horizontal (como indicativo de soroconversão) tinham sido registradas até 1999 (HIETALA; THURMOND, 1999; DAVISON et al., 1999). Contudo, modelos matemáticos sobre a infecção por *N. caninum* dentro de fazendas leiteiras, sugerem que as baixas taxas de transmissão horizontal podem ser importantes para a manutenção da infecção dentro dos rebanhos (FRENCH et al., 1999), a menos que animais soropositivos sejam selecionados, para a reprodução (BJORKMAN et al., 1996).

Embora a transmissão vertical possa contribuir significativamente para a persistência da infecção na fazenda, a infecção horizontal em bovinos tem sido também documentada (THURMOND et al., 1997; DIJKSTRA et al., 2001a) e hoje caracterizada em vários estudos como um importante modo de infecção (McALLISTER; LATHAM, 2002).

Em propriedades onde a transmissão vertical é a rota dominante de infecção, os soropositivos encontram-se uniformemente distribuídos entre as diferentes faixas etárias e pertencentes às mesmas linhagens de família (WOUDA et al., 1999; DIJKSTRA et al., 2001a). A evidência de uma infecção horizontal ou pós-natal é observada, quando existe uma falta de associação entre o status sorológico das vacas em relação a suas filhas (THURMOND et al., 1997), diferença no número de animais soropositivos de acordo com a faixa etária (DIJKSTRA et al., 2001a), presença de uma curva epidêmica durante surtos de abortamentos associados à *N. caninum* (McALLISTER et al., 1996; 2000), infecção aguda baseada nos resultados do ELISA por avidéz (BJORKMAN et al., 1999; JENKINS et al., 2000) e por observação da soroconversão em estudos longitudinais (DAVISON et al., 1999; HIETALA; THURMOND, 1999).

2.8. CONTROLE E PROFILAXIA

Não existe um tratamento contra a neosporose, 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. Recomenda-se que cães, principais hospedeiros definitivos domésticos, até o momento, não devam ter acesso às instalações, à água ou comida das vacas, para evitar uma possível contaminação, com suas fezes (DIJKSTRA et al., 2002). Assim como, deve ser evitado o consumo de placentas, carcaças, descargas uterinas das vacas e alimentação com carne crua (HEMPHILL; GOTTSTEIN, 2000; BASSO et al., 2001; DIJKSTRA et al., 2001b). Embora, a transmissão horizontal, entre vacas, ainda não tenha sido provada, alguns autores têm recomendado o descarte do animal, devido à eficiência da transmissão vertical (TRESS et al., 1999).

Embora pouco se saiba sobre o tempo de eliminação e a resistência dos oocistos no ambiente, é prudente evitar a contaminação de água e alimentos, com fezes de cães, além de se evitar a ingestão por cães de fetos abortados, membranas fetais e bezerros mortos. Vacinas não são eficazes para prevenção do abortamento bovino por neosporose ou para evitar eliminação dos oocistos do parasita pelos cães, sendo o descarte dos bovinos acometidos o único caminho, para prevenção da transmissão vaca-feto (DUBEY, 1999a).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. LOCAL DO EXPERIMENTO

As amostras para este estudo foram coletadas na linha de abate de um frigorífico, com Serviço de Inspeção Estadual (SIE), no Município de Campos dos Goytacazes, RJ.

O processamento do material foi realizado no Hospital Veterinário da UENF no Setor de Clínica Médica dos Grandes Animais Domésticos, do Laboratório de Sanidade Animal (LSA).

3.2. ANIMAIS UTILIZADOS E SUAS ORIGENS

Foram utilizadas um total de 80 vacas divididas por conveniência em 35 vacas vazias e 45 prenhes, além dos respectivos fetos destas vacas, oriundas de 10 propriedades de bovinos de corte e leiteiros dos municípios de Campos dos Goytacazes, Cardoso Moreira e Conceição de Macabú, todos da mesorregião Norte Fluminense.

A origem dos animais foi obtida através da Guia de Transito Animal (GTA), emitido pela Defesa Sanitária Animal.

3.3. CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS

A aptidão das vacas foi determinada pela observação fenotípica dos animais caracterizando-as em vacas de corte ou leiteiras.

Através de inspeção visual das mudas dentárias, as vacas foram caracterizadas quanto à idade (DIRKSEN, et al. 1993). Desta forma, vacas com erupção da dentição permanente dos incisivos centrais e mediais foram

caracterizadas com idade de até 3 anos e vacas com erupção dos incisivos laterais e cantos com idade acima de três anos.

A determinação da idade fetal (Figura 1) e conseqüentemente o período de gestação da vaca, foi calculada de acordo com a fórmula adaptada de Noakes (1986), citado por Collantes-Fernández (2003) a seguir:

$$\text{Idade fetal} = \sqrt{\frac{2 \times \text{distância entre a região occipital e a base da cauda}}{2,54}}$$

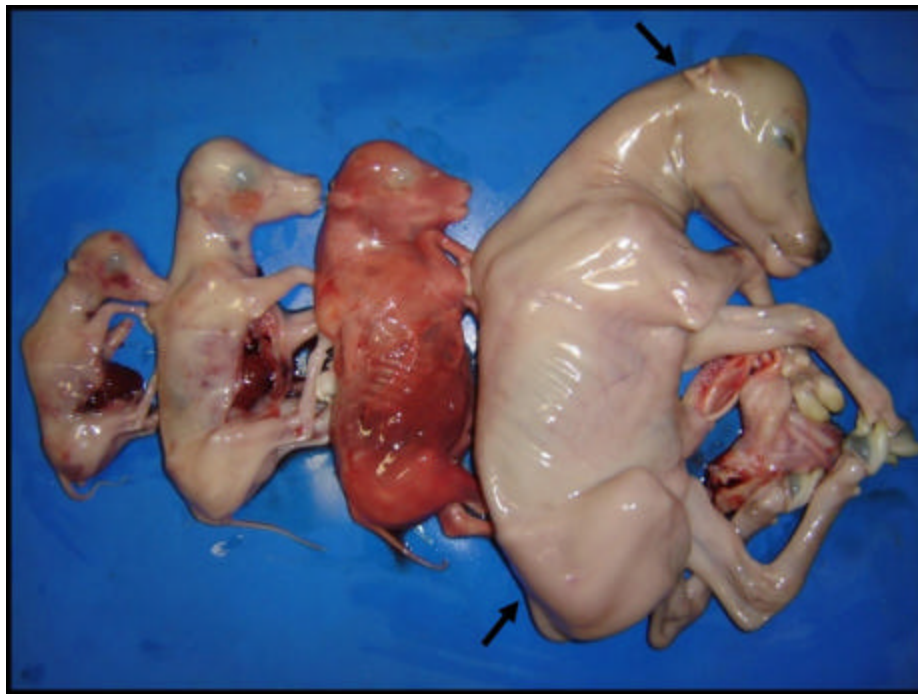


Figura 1- Fetos bovinos em diferentes tempos de gestação. As setas indicam o local de medida para avaliação da idade fetal. (A) feto no terço inicial de gestação. (B,C e D) fetos no terço médio de gestação

3.4 COLETA DE SANGUE

Foram colhidos 8 ml de sangue da veia jugular das vacas após assepsia local com solução de álcool iodado a 2% utilizando-se agulhas descartáveis de dimensão 40x12. Nos fetos a coleta das amostras de sangue foi feita nos vasos sanguíneos do cordão umbilical utilizando-se escalpe 21G acoplado à seringa descartável de 10 ml.

O sangue foi colocado em tubos de 8,5 ml (BD Vacutainer®) com gel separador, identificados e mantidos em refrigeração até seu processamento.

3.5. PROCESSAMENTO DO SANGUE

3.5.1. Obtenção do soro

As amostras de sangue foram centrifugadas a 350g por 10 minutos para a separação do soro e este foi acondicionado em tubo plástico tipo “Eppendorf” de 2,0 ml, em duplicata, identificados e armazenados à temperatura de $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da realização dos exames.

3.5.2. Sorologia

Para detecção e titulação de anticorpos anti-*N. caninum* em vacas e fetos foi utilizado o teste de ELISA indireto, obedecendo aos procedimentos do “kit” Herdcheck anti-*Neospora* da IDEXX para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em ruminantes (Herdcheck®, IDEXX Laboratories Inc. EUA) (Figura 2). Os valores de absorbâncias foram aferidos utilizando-se leitor de ELISA multiskan EX (Labisystems) com filtro de 620nm, onde se obteve a razão S/P como a seguir:

$$S/P = \frac{(\text{Valores médios de absorbância da amostra}) - (\text{Valor médio do controle negativo})}{(\text{Valor médio do controle positivo}) - (\text{Valor médio do controle negativo})}$$

De acordo com protocolo do kit amostras com razão S/P igual ou superior a 0,5 foram consideradas positivas.



Figura 2 – “Kit” ELISA (Herdcheck®, IDEXX Laboratories Inc. EUA), para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em ruminantes.

3.5.3. Transmissão vertical de *Neospora caninum*

A frequência da transmissão vertical foi estimada em porcentagem, obtida pela razão do número de fetos soropositivos sobre o número de vacas prenhes positivas, multiplicado por 100.

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar a associação entre as variáveis municípios (Campos dos Goytacazes, Cardoso Moreira e Conceição de Macabú), foi utilizado o teste estatístico do Qui-quadrado com intervalo de confiança de 95%. Para a variável aptidão na região e por município utilizou-se o Teste de Fisher, com intervalo de confiança de 95%. Para avaliar a correlação da transmissão vertical (vaca x feto, feto x idade fetal e vaca x idade fetal) utilizou-se a regressão linear múltipla e como variável a razão S/P das vacas positivas e respectivos fetos, além da idade desses fetos.

Para auxílio nos cálculos estatísticos foi utilizado o software Sistema para Análise Estatística (SAEG 9.1).

4. RESULTADOS

4.1. FREQUÊNCIA DE NEOSPOROSE NO NORTE FLUMINENSE

Das amostras de soros recolhidas de 80 vacas , encaminhadas para o abate, procedentes da mesorregião Norte Fluminense, verificou-se que 19% dos animais tiveram anticorpos anti-*N. caninum*, em que oito (14,5%) tinham características fenotípicas de animais para corte e sete (28%) de aptidão leiteira, não se observando diferença significativa ($p= 0,2160$) quanto a aptidão dos animais (Tabela1).

Tabela 1 - Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* de acordo com a aptidão dos animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.

Variável (Aptidão)	Animais			Valor de P ¹
	Positivo	Negativo	Total	
Corte	8	47	55 (69%)	0,2160
Leite	7	18	25 (31%)	
Total	15 (19%)	65 (81%)	80 (100%)	

¹ Para o Teste de Fisher

4.1.1. Frequência de neosporose nos municípios

Observou-se também uma soroprevalência variável de acordo com os municípios de origem dos animais abatidos, com diferença estatística para os municípios de Cardoso Moreira e Conceição de Macabú (Tabela 2).

Tabela 2- Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas abatidas de acordo com a procedência da mesorregião Norte Fluminense.

Municípios	Animais			Frequência
	Positivo	Negativo	Total	%
Campos dos Goytacazes	5 (6,25%)	24 (30%)	29 (36,25%)	17,2 (AB)
Cardoso Moreira	1 (1,25%)	25 (31,25%)	26 (32,5%)	3,8 (A)
Conceição de Macabú	9 (11,25%)	16 (20%)	25 (31,25%)	36,0 (B)
Total	15 (18,75 %)	65 (81,25%)	80 (100%)	

Letras diferentes na coluna diferem significativamente ($p= 0,0128$) pelo Teste χ^2 com 95% de intervalo de confiança

4.1.1.1. Campos dos Goytacazes

Foram avaliados 29 animais oriundos de quatro propriedades localizadas no Município de Campos dos Goytacazes e destes cinco (17%) apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* (Tabelas 2 e 3). Verificou-se também que das quatro propriedades, duas (50%) tinham pelo menos um animal soropositivo, encontrando-se prevalência de 20% e 33% nas propriedades em questão (Tabela 3).

Com relação à prevalência nas vacas de corte e leiteiras no município verificou-se 14% e 25% de animais soropositivos, respectivamente (Tabela 3), não havendo diferença estatística ($p=0,5968$) quanto a aptidão.

Tabela 3 - Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de animais em abates de diferentes propriedades do Município de Campos dos Goytacazes, RJ.

Propriedades	Frequência nas vacas					
	Corte		Leiteiras		Total	
	P ¹ /N ²	%	P/N	%	P/N	%
1	1/5	20	0/0	0	1/5	20
2	2/5	40	2/7	29	4/12	33
3	0/3	0	0/1	0	0/4	0
4	0/8	0	0/0	0	0/5	0
TOTAL	3/21	14	2/8	25	5/29	17

¹Animais soropositivos para anticorpos anti-*N. caninum*

²Número de animais avaliados

4.1.1.2. Cardoso Moreira

Do total de 26 animais oriundos de três propriedades de Cardoso Moreira, todos os que tinham características fenotípicas de raças leiteiras estavam sorologicamente negativos. Das 19 vacas de corte analisadas somente uma foi positiva para anticorpos anti-*N. caninum*, o que determinou prevalência de 25% nesta propriedade (Tabela 4) e 3,8 no município (Tabela 2).

Tabela 4- Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de animais em abates de diferentes propriedades do Município de Cardoso Moreira, RJ.

Propriedades	Frequência nas vacas					
	Corte		Leiteiras		Total	
	P ¹ /N ²	%	P/N	%	P/N	%
1	1/4	25	0/0	0	1/4	25
2	0/0	0	0/7	0	0/7	0
3	0/15	0	0/0	0	0/15	0
TOTAL	1/19	5	0/7	0	1/26	4

¹Animais soropositivos para anticorpos anti-*N. caninum*

²Número de animais avaliados

4.1.1.3. Conceição de Macabú

Das três propriedades avaliadas em Conceição de Macabú, totalizando 25 animais, todas tinham animais soropositivos, com prevalência de 14% e 50%, com média de 33% nos rebanhos de corte e 40% no rebanho de aptidão leiteira (Tabela 5). Não se observou diferença estatística ($p=1,0$) quanto à positividade em relação à aptidão dos animais.

Tabela 5- Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de animais em abates de diferentes propriedades do Município de Conceição de Macabú, RJ.

Propriedades	Frequência nas vacas					
	Corte		Leiteiras		Total	
	P ¹ /N ²	%	P/N	%	P/N	%
1	1/7	14	0/0	0	1/7	14
2	4/8	50	0/0	0	4/8	50
3	0/0	0	4/10	40	4/10	40
TOTAL	5/15	33	4/10	40	9/25	36

¹ Animais soropositivos para anticorpos anti-*N. caninum*

² Número de animais avaliados

4.1.2. Frequência da neosporose relacionada à idade das vacas

Quanto à idade dos animais avaliados verificou-se que os animais com idade superior a três anos foram mais susceptíveis ao parasitismo com sete animais positivos (17%) contra dois (13%) dos animais mais jovens, até três anos, no entanto, não ocorreu diferença significativa ($p= 0,7778$) quanto a idade dos animais (Tabela 6).

Tabela 6 - Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* de acordo com a idade dos animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.

Idade em anos	Animais			Valor de P ¹
	Positivo	Negativo	Total	
Até 3	2	14	16 (27%)	1,00
>3	7	35	42 (73%)	
Total	9 (16%)	49 (84%)	58 (100%)	

¹ Para o Teste de Fisher

4.1.3. Frequência da neosporose em diferentes estágios reprodutivos

Das 45 vacas prenhes avaliadas, 11 (24%) tiveram anticorpos anti-*N. caninum* e com relação às vacas vazias apenas 4 (11%) estavam soropositivas o que não foi suficiente para determinar diferença estatística (Tabela 7).

Com relação ao período gestacional também não se verificou diferenças estatísticas ($p=0,6697$) entre o primeiro, segundo e terceiro trimestres de gestação das vacas (Tabela 8).

Tabela 7 - Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* de acordo com o estado gestacional de animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.

Vacas	Animais			Valor de P ¹
	Positivo	Negativo	Total	
Prenhes	11	34	45 (56%)	0,1611
Vazia	4	31	35 (44%)	
Total	15 (19%)	65 (81%)	80 (100%)	

¹ Para o Teste de Fisher

Tabela 8 - Frequência de vacas sorologicamente positivas para pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* de acordo com o tempo de gestação dos animais destinados ao abate na mesorregião Norte Fluminense.

Trimestre de Gestação	Animais			Valor de P ¹
	Positivo	Negativo	Total	
1º	1	1	2 (4%)	0,6697
2º	5	15	20 (45%)	
3º	5	18	23 (51%)	
Total	11 (24%)	34 (76%)	45 (100%)	

¹ Para o Teste de Fisher

4.2. CORRELAÇÃO DA TRANSMISSÃO VERTICAL

Foi observada uma taxa de 18% de transmissão vertical e uma correlação positiva ($p = 0,0142$) nos valores da razão S/P entre as vacas e os fetos, no entanto, esta correlação não ocorreu quando se comparou a idade dos fetos com a razão (S/P) das vacas e dos fetos (Tabela 8).

Constatou-se também que as vacas com razão (S/P) mais elevada foram capazes de transmitir infecção aos fetos (Tabela 8).

Tabela 9- Regressão Linear Múltipla dos valores do Teste de ELISA (HerdChek® anti-*Neospora* - Laboratório IDEXX), de vacas prenhes positivas, seus respectivos fetos e idade dos mesmos.

Amostras	Razão (S/P) ¹		Idade fetal em meses
	Vacas positivas	Respectivos fetos	
1	0,561	0,032	2,5
2	0,659	0,032	7,3
3	1,424	0	4,4
4	1,240	0,029	5,6
5	1,545	0,032	7,5
6	0,797	0,033	6,6
7	0,654	0,020	4,5
8	1,016	0,032	7,0
9	1,409	0,030	3,8
10	1,942	1,459*	4,9
11	1,861	1,590*	7,3

Vaca x Feto ($R^2 = 0,50\%$ onde $Y = -0,7510 + 0,8811X$ e $p = 0,0142$)

Feto x Idade fetal ($R^2 = 2,97\%$ onde $Y = -0,04755 + 0,06209X$ e $p = 0,6125$)

Vaca x Idade fetal ($R^2 = 3,84\%$ onde $Y = -0,8736 + 0,05697X$ e $p = 0,5638$)

$$^1 \text{ S/P} = \frac{(\text{Valores médios de absorvância da amostra}) - (\text{Valor médio do controle negativo})}{(\text{Valor médio do controle positivo}) - (\text{Valor médio do controle negativo})}$$

* Fetos sorologicamente positivos ($\text{S/P} \geq 0,5$)

5. DISCUSSÃO

A confiabilidade do “kit” de ELISA Herdcheck da idexx laboratories utilizado na pesquisa sobre a frequência da neosporose na mesorregião Norte Fluminense foi testada por Caetano-da-Silva et al. (2004), que compararam o mesmo “kit” utilizado nos bovinos desta pesquisa com outro “kit” comercial (ELISA civtest – laboratório Hipra, S.A.) e o teste de imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* (IFAT), não observando diferenças nos resultados .

A frequência de neosporose observada em bovinos do Norte Fluminense abatidos em Campos dos Goytacazes (19%), foi semelhante ao observado por Caetano-da-Silva et al. (2004) para bovinos na Espanha (13,3%), inclusive, a frequência relacionada à aptidão de corte (16,3%) contra 14,5% desta pesquisa. No entanto, para os animais de aptidão leiteira, Caetano-da-Silva et al. (2004) obtiveram resultados inferiores (7%) dos 28% encontrados no trabalho no Norte Fluminense. Este se aproxima mais dos 30,4% verificados por Melo et al. (2006), que também não observaram diferença quanto à aptidão dos bovinos no estado de Goiás.

Resultados semelhantes à frequência da neosporose no Norte Fluminense (Tabela 1) foram constatados em outras regiões do Brasil. Os resultados do Norte Fluminense foram superiores aos 12% encontrados no Norte do Paraná (OGAWA et al., 2008) e inferiores aos observados nas microrregiões de Anápolis e Goiânia em Goiás com 30,4% (MELO et al., 2006) e no Sul do estado do Rio de Janeiro com 23,3% (MUNHOZ et al., 2006). Na América do Sul foram verificados valores muito superiores, com frequência de 80,9 % na Argentina (MORÉ et al., 2008). Já na Europa foram encontradas frequências bem próximas ao Norte Fluminense, como os 20,1 % na Eslováquia (REITEROVÁ et al., 2009), assim como valores superiores, 46,5 % na Turquia (KUL et al., 2009). Esta variabilidade da frequência de anticorpos anti-*N. caninum* pode ser atribuída aos diferentes tipos de manejos nas diferentes regiões e países como já citado por Dubey et al. (2007).

A variabilidade citada por Dubey et al. (2007), pôde ser verificada mais significativamente nos municípios do Norte Fluminense com frequência de infecção variando de 3,8% até 36% (Tabela 2). Resultados semelhantes com variação um pouco menor (5% até 27%), foi observada por Ogawa et al. (2008) no Norte do Paraná e dentro destas margens, porém com menor variabilidade (20,4% a 25,7%),

estão os resultados de Munhoz et al. (2006), verificados no sul do estado do Rio de Janeiro.

Embora de distribuição enzoótica na mesorregião Norte Fluminense, foi observado quatro propriedades sem qualquer animal soropositivo, duas em Campos dos Goytacazes e duas em Cardoso Moreira, no entanto, no Município de Conceição de Macabú, todas as propriedades foram consideradas positivas. Considerando os valores de 50% de propriedades positivas obtidos em Campos dos Goytacazes e 33% em Cardoso Moreira, estes percentuais foram baixos em comparação com outros autores (GONDIM et al., 1999b; MELO et al., 2001; COBERLLINI et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2004; MUNHOZ et al., 2006). Com relação à Conceição de Macabú, 100% de propriedades positivas também foram encontradas por Melo et al. (2006) em Goiás.

Animais com idade superior a três anos tiveram uma soroprevalência maior, no entanto, Melo et al. (2006) encontraram 30,2% de vacas soropositivas contra 35,7% em novilhas. Assim como nos resultados observados nesta pesquisa (13% e 17%) para o Norte Fluminense, não foi suficiente para se determinar diferença estatística nas faixas etárias, concordando também com a pesquisa feita por Pabón et al. (2007).

Pabón et al. (2007) verificaram taxa de soropositividade de 22,3% em vacas prenhes, resultado este próximo ao verificado no Norte Fluminense (24%). Para esta região a condição gestacional não é fator determinante quanto à taxa de infecção por *N. caninum* uma vez que não foi observada diferença estatística quanto ao estado de prenhes ou não das vacas.

Foi observado um número maior de vacas positivas nos terços médio e final de gestação do que no inicial, apesar de não ter havido diferenças estatísticas entre os trimestres avaliados. Em infecção natural Corbellini et al. (2006), verificaram uma diferença significativa no número de animais positivos no terço médio de gestação, no entanto, em infecção experimental não foram observadas diferenças quanto ao período gestacional (McCANN et al., 2007), concordando com os resultados do Norte Fluminense.

A taxa de 18% de transmissão vertical, observada nesta pesquisa, está próxima aos 23% observados por Corbellini et al. (2006) através da detecção do parasitismo fetal por imunistoquímica e bem abaixo dos 33,7%, 37,1% e 58% observados através de sorologia de vaca e feto por Kul et al. (2009), Moré et al.

(2008) e Dijkstra et al. (2008), respectivamente. A variação dos resultados através da sorologia pode ser atribuída à imaturidade imunológica dos fetos ou por terem estes sofrido infecções recentes onde não houve tempo hábil para produção de anticorpos (DUBEY; SCHARES, 2006).

Se for separado os animais positivos com razão S/P inferior a 1,5 como pouco positivo (80%) e animais com razão S/P superior a 1,5 como altamente positivos (20%) como fez Dijkstra et al. (2003), verificar-se-á que somente em vacas altamente positivas foi possível a transmissão vertical com uma taxa de transmissão de 67% para esta faixa. Dados esses inferiores aos 94,8% encontrados por Moré et al. (2008), para as vacas com razão S/P superior a 1,5. Levando-se em consideração que muitas vacas pouco positivas tendem a se tornarem negativas e que algumas vacas muito positivas tendem a se tornarem pouco positivas (DIJKSTRA et al., 2008), aliados ao fato da verificação de que somente as vacas altamente positivas apresentam altas taxas de transmissão vertical (67%), isto explicaria a presença da neosporose de forma enzoótica no Norte Fluminense, assim como, a não evidência de surtos de aborto atribuídos à neosporose na região.

6. CONCLUSÃO

Após análise e discussão dos dados relativos à pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* em soros de vacas destinadas ao abate e procedentes da mesorregião Norte Fluminense pode-se concluir que:

1. A mesorregião Norte Fluminense pode ser considerada enzoótica para neosporose, ocorrendo uma grande variação de animais portadores entre os municípios;
2. Vacas de corte e leiteiras, independentemente da idade, do estágio reprodutivo e tempo de gestação são igualmente acometidas de *N. caninum* no Norte Fluminense;
3. Vacas consideradas fortemente positivas para neosporose são mais importantes na manutenção do agente etiológico na cadeia epidemiológica se observar alta taxa de transmissão vertical na região.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

- ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; BARR, B. C. *Neospora*-like protozoan infection as 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.; REYNOLDS, J. P. ROWE, J. D. 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.
- ATKINSON, R. A.; 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.
- BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A. *Neospora*-like protozoal infections associated with bovine abortions. **Veterinary Pathology**, v. 28, n. 2, p. 110-116, 1991.
- BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; BREITMEYER, R. Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that previously aborted *Neospora*-infected fetuses: four cases (1990-1992). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 202, n. 1, p. 113-117, 1993.
- BARR, B. C.; ANDERSON, M. L.; SVERLOW, K. W.; CONRAD, P. A. Diagnosis of bovine fetal *Neospora* infection with an indirect fluorescent antibody test. **Veterinary Record**, v. 137, n. 24, p. 611-613, 1995.
- BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; HILL, D. E.; KWOK, O. C.; SHEN, S. K. DUBEY, J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal of Parasitology**, v. 87, n. 3, p. 612-618, 2001.

BASZLER, T. V.; LAWRENCE, J. C.; MAUREENT, T. L.; MATHISON, B. Detection by PCR of *Neospora caninum* in fetal tissues from spontaneous bovine abortion. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 37, n. 12, p. 4059-4064, 1999.

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

BJÖRKMAN, C; JOHANSSON, O.; STENLUND, S.; HOLMDAHL, O. J. M. UGGLA, A. *Neospora* species infection in a herd of dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 208, n. 9, p. 1441-1444, 1996.

BJÖRKMAN, C; NASLUND, K.; STENLUND, S.; MALEY, S. W.; BUXTON, D.; UGGLA, A. An IgG avidity ELISA to discriminate between recent and chronic *Neospora caninum* infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 11, n. 1, p. 41-44, 1999.

CAETANO-DA-SILVA, A., FERRE, I.; ADURIZ, G.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; DEL-POZO, I.; ATXAERANDIO, R.; REGIDOR-CERRILLO, J.; UGARTE-GARAGALZA, C.; ORTEGA-MORA, L. M. *Neospora caninum* infection in breeder bulls: seroprevalence and comparison of serological methods used for diagnosis. **Veterinary Parasitology**, v. 124, n. 1-2, p. 19-24, 2004.

CAVALIER-SMITH, T. Kingdom Protozoa and Its 18 Phyla. **Microbiology Review**, v. 57, n. 4, p. 953-994, 1993.

COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; ZABALLOS, A.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Quantitative detection of *Neospora caninum* in bovine aborted fetuses and experimentally infected mice by real time PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 4, p. 1194-1198, 2002.

- COLLANTES-FERNÁNDEZ, E. **Patogenia de la neosporosis en el feto bovino y en un modelo murino experimental**. 277p. Tese (Doutorado) – Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid. 2003.
- 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.; PESCADOR, C. A.; FRANTZ, F.; WUNDER, E.; STEFFEN, D.; SMITH, D. R.; DRIEMEIER, D. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 172, n. 1, p. 114-120, 2006.
- CURRENT, W. L.; UPTON, S. J.; LONG, P. L. Taxonomy and life cycles. In: **Coccidiosis of man and domestic animals**. LONG, P. L., Ed. Boca Raton: CRC Press, 1990, p. 2-16.
- DANNATT, T. *Neospora caninum* antibody levels in an endemically-infected dairy herd. **Cattle Practitioner**, v. 5, n. 4, p. 335-337, 1997
- 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.
- 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 celular immune responses. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1647-1657, 1999.

- DE MEERSCHMAN, F.; RETTIGNER, C.; FOCANT, C.; BOREUX, R.; PINSET, C.; LECLIPTEUX, T.; LOSSON, B. Use of a serum-free medium to produce in vitro *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* tachyzoites on Vero cells. **Veterinary Research**, v. 33, n. 2, p. 159-168, 2002.
- 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; 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 spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 8, p. 747-752, 2001b.
- 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, 2002.
- 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.
- DIJKSTRA, Th.; LAM, T. J. G. M.; BARTELS, C. J. M.; EYSKER, M.; WOUDA, W. Natural postnatal *Neospora caninum* infection in cattle can persist and lead to endogenous transplacental infection. **Veterinary Parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 220-225, 2008.
- DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H-D.; GRUNERT, E.; KRAUSE, D.; STÖBER, M. **Rosenberger. Exame Clínico dos Bovinos**, 3^a ed., Rio de Janeiro-RJ, Guanabara Koogan, p. 419, 1993.

- DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1988.
- 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.; JENKINS, M. C.; ADAMS, D. S.; McALLISTER, M. M.; ANDERSON-SPRECHER, R.; BASZLER, T. V.; KWOK, O. C. H. LALLY, N. C.; BJORKMAN, C.; UGGLA, A. Antibody responses of cows during an outbreak of neosporosis evaluated by indirect fluorescent antibody test and different enzyme-linked immunosorbent assays. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 6, p. 1063-1069, 1997.
- DUBEY, J. P.; DOROUGH, K. R.; JENKINS, M. C.; LIDDELL, S.; SPEER, C. A.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 8, p. 1293-1304, 1998.
- DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999a.
- DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 214, n. 8, p. 1160-1163, 1999b.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts. **Parasitology Research**, v. 86, n. 2, p. 165-168, 2000.

- DUBEY, J. P.; HILL, D. E.; LINDSAY, D. S.; JENKINS, M. C.; UGGLA, A.; SPEER, C. A. *Neospora caninum* and *Hammondia heydorni* are separate species. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 2, p. 66-69, 2002.
- 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.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 1-34, 2006.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Review**, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007.
- ELLIS, J.; LUTON, K.; BAVERSTOCK, P. R.; BRINDLEY, P. J.; NIMMO, K. A.; JOHNSON, A. M. The phylogeny of *Neospora caninum*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v. 64, n. 2, p. 303-311, 1994.
- 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.
- GONDIM, L. F. P.; SAEKI, S.; ONAGA, H.; HARITANI, M.; YAMANE, I. Maintenance of *Neospora caninum* tachyzoites using Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). **New Zealand Veterinary Journal**, v. 47, n. 1, p. 36, 1999a.
- 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, 1999b.

GONDIM, L. F., MCALLISTER, M. M., PITT, W. C., ZEMLICKA D. E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 34, n. 2, p. 59-161, 2004.

GUIMARÃES Jr., J. S.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* 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.; DOHOO, I. R.; VANLEEWEN, J. A. A review of *Neospora caninum* in dairy and beef cattle – a Canadian perspective. **Canadian Veterinary Journal**, v. 46, n. 3, p. 230-243, 2005.

HALL, C. A.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T. *Neospora* Abortion in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 3-4, p. 231-241, 2005.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. **Parasitology**, v. 112, n. 2, p. 183-197, 1996.

HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B. A European Perspective on *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 8, p. 877-924, 2000.

HEYDORN, A. O.; MEHLHORN, H. A re-evaluation of *Neospora* and *Hammondia* spp. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 6, p. 246, 2002.

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

- JENKINS, M. C.; CAVER, J. A.; BJORKMAN, C.; ANDERSON, T. C.; ROMAND, S.; VINYARD, B.; UGLLA, A.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J. P. Serological Investigation of an outbreak of *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in southeastern United States. **Veterinary Parasitology**, v. 94, n. 1-2, p. 17-26, 2000.
- KASARI, T. R.; BARLING, K.; Mc GRANN, J. M. Estimated production and economic losses from *Neospora caninum* infection in Texas beef herds. **Bovine Practitioner**, v. 33, n. 2, p. 113-120, 1999.
- KUL, O.; KABAKCI, N.; YILDIZ, K.; ÖCAL, N.; KALENDER, H.; ILKME, N. A. *Neospora caninum* associated with epidemic abortions in dairy cattle: the first clinical neosporosis report in Turkey. **Veterinary Parasitology**, v. 159, n. 1, p. 69-72, 2009.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 11, p. 1981-1983, 1989a.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa) infections in mice. **Journal of Parasitology**, v. 75, n. 5, p. 772-779, 1989b.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). **Journal of Parasitology**, v. 76, n. 3, p. 410-413, 1990.
- LINDSAY, D. S.; LENZ, S. D.; COLE, R. A.; DUBEY, J. P.; BLAGBURN, B. L. Mouse model for central nervous system *Neospora caninum* infections. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 2, p. 313-315, 1995.

- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 327-333, 1999a.
- LINDSAY, D. S.; UPTON, S. J.; DUBEY, J. P. A structural study of the *Neospora caninum* oocysts. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1521-1523, 1999b.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Canine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 14, n. 1, p. 1-11, 2000.
- LYONS, R. E., McLEOD, R.; ROBERTS, C. W. *Toxoplasma gondii* tachyzoite-bradyzoite interconversion. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 5, p. 198-201, 2002.
- 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 of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 8, n. 3, p. 355-357, 1996.
- 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*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.
- 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, D.; LATHAM, S. *Neospora* 2001. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 1, p. 4-5, 2002.

- McCANN, C. M.; McALLISTER, M. M.; GONDIM, L. F. P.; SMITH, R. F.; CRIPPS, P. J.; KIPAR, A.; WILLIAMS, D. J. L.; TREES, A. J. *Neospora caninum* in cattle: experimental infection with oocysts can result in exogenous transplacental infection, but not endogenous transplacental infection in the subsequent pregnancy. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 14, p. 1631-1639, 2007.
- MELO, D. P. G.; LEITE, R. C.; SOUZA, G. N.; LEITE, R. C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.
- MELO, D.P.G.; SILVA, A.C.; ORTEGA-MORA, L.M.; BASTOS, S.A.; BOAVENTURA, C.M. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 3, p. 105-109, 2006.
- MORÉ, G.; BACIGALUPE, D.; BASSO, W.; RAMBEAUD, M.; BELTRAME, F.; RAMIREZ, B.; VENTURINI, M. C.; VENTURINI, L. Frequency of horizontal and vertical transmission for *Sarcocystis cruzi* and *Neospora caninum* in dairy cattle. **Veterinary Parasitology**, *In Press*. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.10.081. 2008.
- MUNHOZ, A. D. **Distribuição da Infecção por *Neospora caninum* em rebanhos bovinos dos Municípios de Rio Claro e Resende, Estado do Rio de Janeiro.** (Tese). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. 2004.
- MUNHOZ, A. D. ; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. . Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 3, :101-104, 2006.

- OGAWA, I.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; GONDIM, L. F. P.; , NAVARRO, I. T. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 3, p. 312-316, 2008.
- PABÓN, M.; LÓPES-GATIUS, F.; GARCÍA-ISPIERTO, I.; BECH-SÀBAT, G.; NOGAREDA, C.; ALMERÍA, S. Chronic *Neospora caninum* infection and repeat abortion in Dairy cows: a 3-year study. **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 1-2, p. 40-46, 2007.
- PACKHAM, A. E.; SVERLOW, K. W.; CONRAD, P. A.; LOOMIS, E. F.; ROWE, J. D.; ANDERSON, M. L.; MARSH, A. E.; CRAY, C.; BARR, B.C. A modified agglutination test for *Neospora caninum*: Development, optimization, and comparison to the indirect fluorescent antibody test, a comparison to the indirect fluorescent antibody test and enzyme linked immunosorbent assay. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 5, n. 4, p. 467-473, 1998.
- PARÉ, J., HIETALA, S. K., THURMOND, M. C. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 7, n. 3, p. 352-359, 1995.
- PASQUALI, P.; MANDARA, M. T.; ADAMO, F.; RICCI, G.; POLIDORI, G. A.; DUBEY, J. P. Neosporosis in a dog in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 77, n. 4, p. 297-299, 1998.
- REITEROVÁ, K.; SPILOVSKÁ, S.; ANTOLOVÁ, D.; DUBINSKÚ, P. *Neospora caninum* potential cause of antibodies in dairy cows: the current serological follow-up in Slovakia. **Veterinary Parasitology**, v. 159, n. 1, p. 1-6, 2009.
- ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J. P. Direct agglutination test for serologic diagnosis of *Neospora caninum* infection. **Parasitology Research**, v. 84, n. 1, p. 50-53, 1998.

- SANCHEZ, G. F., MORALES, S. E., MARTINEZ, M. J., TRIGO, J. F. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 2, p. 142-145, 2003.
- SCHARES, G., PETERS, M., WURM, R., BÄRWALD, A., CONRATHS, F. J. The efficiency of vertical transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle analysed by serological techniques. **Veterinary Parasitology**, v. 80, n. 2, p. 87-98, 1998.
- SCHARES, G.; RAUSER, M.; PETERS, M.; ZIMMER, K.; PETERS, M.; WURM, R.; DUBEY, J. P.; de GRAAF, D. C.; EDELHOFER, R.; MERTENS, C.; HESS, G.; CONRATHS, F. J. Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. **Journal of Parasitology**, v. 85, n. 4, p. 688-694, 1999.
- SCHARES, G.; BARWALD, A.; STAUBACH, C.; SONDGEM, P.; RAUSER, M.; 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.
- SCHOCK, A., BUXTON, D., SPENCE, J. A., LOW, J. C., BAIRD, A. Histopathological survey of aborted bovine fetuses in Scotland with special reference to *Neospora caninum*. **Veterinary Record**, v. 147, n. 24, p. 687-688, 2000.
- THILSTED, J. P., DUBEY, J. P. Neosporosis like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 1, n. 3, p. 205-209, 1989.

- THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. **American Journal of Veterinary Research**, v. 57, n. 11, p. 1559-1562, 1996.
- 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 of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, n. 1, p. 44-49, 1997.
- THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 210, n. 5, p. 672-674, 1997a.
- THURMOND, M. C.; HIETALLA, S. K. Effect of congenitally acquired *Neospora caninum* infection on risk of abortion and subsequent abortions in dairy cattle. **American Journal of Veterinary Research**, v. 58, n. 12, p. 1381-1385, 1997b.
- 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.
- WOUDA, W.; DUBEY, J. P.; JENKINS, M. C. Serological diagnosis of bovine fetal neosporosis. **Journal of Parasitology**, v. 83, n. 3, p. 45-547, 1997.
- 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, 1998.
- 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, 1999.

YAEGER, M. J.; SHAWD-WESSELS, S; LESLIE-STEEN, P. *Neospora* abortion storm in a Midwestern dairy. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 6, n. 4, p. 506-508, 1994.