

AVALIAÇÃO DA TRANSMISSÃO VERTICAL DE *NEOSPORA CANINUM* EM BOVINOS DAS RAÇAS CURRALEIRO E PANTANEIRO

BOMBONATE¹, Ludmylla Teles; **GUIMARÃES**, Marcelo Sales; **COSTA**, Rebeqa Cristine de Bastos; **MELO**², Débora Pereira Garcia; **CAETANO DA SILVA**, Andréa

Centro de Parasitologia Veterinária, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás. Campus Samambaia (Campus II). Caixa postal 131 - CEP: 74001-970 – Goiânia-GO, Brasil.

e-mail: ludmyllateles@hotmail.com, dpgvet@hotmail.com

Palavras-chave: *Neospora caninum*, bovinos, raças locais, sorologia.

1. Introdução

Raças locais brasileiras como o gado Curraleiro e Pantaneiro são raças de tamanho reduzido e fácil adaptação às condições adversas. Poucos estudos são encontrados sobre a caracterização de raças bovinas locais ou naturalizadas. (HALL & BRADLEY, 1995).

HEMPHILL et al. (2004) demonstraram a forte associação entre *N. caninum* e aborto bovino. MELO et al. (2006) afirmaram que a enfermidade está amplamente distribuída no rebanho bovino das microrregiões de Goiânia e Anápolis com uma prevalência variando entre 10,3 e 89,7%, tanto em gado de leite, corte e misto. A ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* foi relatada em 38,24% dos animais em rebanhos de Curraleiros em Goiás e Tocantins (JULIANO, 2006a).

Assumindo que infecções de rebanho pelo parasito são mantidas principalmente através de transmissão transplacentária (ROSYPAL & LINDSAY, 2005), e que é mais provável que ocorra abortos em vacas soropositivas para *N. caninum* do que em vacas soronegativas (DUBEY & SCHARES, 2006), o estudo do perfil sorológico e a avaliação da transmissão vertical da neosporose bovina nas raças locais brasileiras, permitirá avaliar a importância desta enfermidade para estes rebanhos.

Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de transmissão vertical da neosporose em rebanhos bovinos das raças Curraleiro e Pantaneiro.

2. Metodologia

Neste estudo foram utilizadas fêmeas em idade reprodutiva e suas crias, perfazendo um total de 358 animais das raças Curraleira e Pantaneira.

Da raça Curraleira foram acompanhados 249 animais, 198 fêmeas e 51 bezerros, provenientes de cinco propriedades, sendo a primeira localizada em Sobradinho-DF, com 16 animais, a segunda no Sítio Histórico e Patrimônio Cultural Kalunga em Cavalcante-GO, com 68 animais, a terceira localizada em Mimoso de Goiás-GO, com 83 animais, a quarta em Hidrolina-GO, com 41 animais e a última em Porangatu-GO, com 41 animais. A população de bovinos Pantaneiros proveio da propriedade Nhumirim, localizada na Embrapa – Centro de Pesquisa Avançada do Pantanal em Corumbá – MS, que dispõe de 62 fêmeas em idade reprodutiva. Destas, 47 crias foram obtidas e incluídas nas análises, totalizando 109 bovinos Pantaneiros.

Foram colhidas amostras individuais de sangue venoso, por punção da veia jugular ou coccígea média, em tubos com tampa (Vacutainer®) sem anticoagulante, para obtenção de soro, que foi separado por centrifugação. O soro foi identificado e mantido a -20°C até o momento do exame.

A detecção de anticorpos foi feita por meio das técnicas de ELISA utilizando kit comercial (*Neospora caninum* Antibody Test Kit – HerdChek® IDEXX Laboratories), e imunofluorescência indireta (IFI) de acordo com o descrito por ÁLVAREZ-GARCIA et al. (2002). Para IFI nove microlitros do soro a ser testado, foi diluído na proporção de 1:200 em solução salina fosfatada tamponada (PBS 1X). Em cada lâmina, foram utilizados controles positivos e negativos, constituídos por soros de animais previamente examinados. A leitura foi realizada em microscópio invertido equipado para fluorescência (Carl Zeiss® Axiovert 40 CFL), em objetiva de 40x. A reação foi considerada positiva quando se observou fluorescência em toda a superfície do parasito, em uma diluição do soro $\geq 1:200$. As amostras positivas nesta diluição foram submetidas à titulação, em diluições ao dobro, até que fosse obtido resultado negativo.

Nas reações de ELISA, todo o protocolo foi conduzido segundo as recomendações do fabricante, utilizando-se os controles fornecidos pelo kit. O resultado da reação foi obtido através da leitura da densidade óptica (DO) das amostras em teste em leitora própria (BIOTEK® ELx800 *Absorbance Microplate Reader*), com base na DO dos controles positivo e negativo. Considerou-se positiva a amostra que apresentou razão S/P maior ou igual a 0,50. Para a avaliação da transmissão vertical de *N. caninum* as fêmeas em estado de prenhez, soropositivas ou não, foram acompanhadas e amostras de sangue de suas crias foram colhidas, sendo posteriormente analisadas para a detecção de anticorpos frente ao parasito. O momento de colheita destas amostras foi determinado de acordo com a característica de manejo que a propriedade em questão apresenta. Assim sendo, nas propriedades criadoras de Curraleiro

onde foi possível o acompanhamento dos nascimentos, foram colhidas amostras de sangue das crias antes da ingestão de colostro, para a verificação da ocorrência de transmissão vertical de *N. caninum*. Na impossibilidade de realizar a colheita antes da ingestão do colostro devido ao manejo extensivo dos animais, como ocorreu na população de Pantaneiros, foram colhidas amostras de sangue dos bezerros logo após o nascimento (em média três dias depois), seguidas de quatro colheitas sucessivas até os dez meses de idade, totalizando cinco colheitas. Assim, foi possível verificar a cinética da resposta imune frente ao parasito e comprovar ou não a transmissão vertical (CARDOSO et al., 2008).

A probabilidade de ocorrência de transmissão vertical foi verificada através da seguinte fórmula, na qual X corresponde à frequência de bezerros positivos nascidos de vacas positivas e Y corresponde à frequência de bezerros negativos nascidos de vacas positivas:

$$P=X/(X + Y).$$

O intervalo de confiança foi medido através da fórmula: $P \pm 1,96 \sqrt{p(1-p)/(x+y)}$

A existência de relações entre o título da mãe e a transmissão vertical de *N. caninum* foi avaliada pelo teste do Qui-quadrado (X²) (SAMPAIO, 2007), aplicando-se a correção de Yates quando necessário. A existência e grau de associação entre raça e ocorrência de transmissão vertical foi verificada através do cálculo do intervalo de Odds Ratio (OR).

3. Resultados e discussão

Dos 358 animais analisados, 249 eram pertencentes a rebanho Curraleiro e 109 a rebanho Pantaneiro. A ocorrência total de anticorpos anti-*N. caninum*, nas duas raças, foi de 47,76% (171/358). Os valores de soropositividade individuais de cada raça foram 51% (127/249) para o gado Curraleiro e 40,37% (44/109) para o gado Pantaneiro. Ao analisar a ocorrência por propriedade envolvida, observou-se que 100% (6/6) das fazendas apresentaram animais positivos. Os valores por raça e por propriedade obtidos estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Esses valores confirmam que o *N. caninum* está amplamente distribuído nos rebanhos da raça Curraleira e Pantaneira. A soroprevalência de anticorpos anti- *N.caninum* encontrada nas duas raças neste estudo de 47, 7% é superior às obtidas por VAZQUES et al. (2009), (11,6%) e FURTADO et al (2011), (28,8 %), e inferior ao valor obtido por EIRAS et al. (2011) que encontrou uma prevalência total em rebanhos bovinos de 80,6%. KAMGAWALADJO AR et al. (2010) no Senegal em um estudo realizado em uma raça local, foram os que mais se aproximaram de nosso resultado.

Quanto aos valores obtidos no Brasil, a prevalência de 47% encontrada nesse estudo foi superior às encontradas por MARQUES et. al. (2010) (15,1%), LOCATELLI-DITTRICH

TABELA 1 – Ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos Curraleiros e Pantaneiros, provenientes de unidades de criação em Goiás e Mato Grosso do Sul, respectivamente, realizada por imunofluorescência indireta (título $\geq 1:200$) e ELISA (S/P $\geq 0,50$), 2011.

Anticorpos Anti – <i>Neospora caninum</i>			
Raça	Positivos (%)	Negativos (%)	Total
Curraleiro	127 (51%)	122 (49%)	249
Pantaneiro	44 (40,37%)	65 (59,63%)	109
TOTAL	171 (47,75%)	187 (52,24%)	358

TABELA 2 – Ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* por propriedade avaliada, em bovinos Curraleiros e Pantaneiros, provenientes de unidades de criação em Goiás e Mato Grosso do Sul, respectivamente, realizada por imunofluorescência indireta (título $\geq 1:200$) e ELISA (S/P $\geq 0,50$), 2011.

Anticorpos Anti – <i>Neospora caninum</i>			
Propriedade	Positivos (%)	Negativos (%)	Total
Mimoso	31 (37,35%)	52 (61,11%)	83
Hidrolina	18 (43,9%)	23 (56,1%)	41
Porangatu	19 (46,34%)	22 (53,66%)	41
Sobradinho	5 (31,25%)	11 (68,75%)	16
Cavalcante-GO	54 (79,41%)	14 (20,58%)	68
Corumbá- MS	44 (40,37%)	65 (59,63%)	109
TOTAL	171 (47,76%)	187 (52,24%)	358

et al. (2008) (33%), CAMILLO et al. (2010) (24,2 %), PAZ et al. (2007) (29,5%) e OSHIRO et al. (2007) (14,9%) e inferior à encontrada por BENETTI et al. (2009), (53, 5%), aproximando-se ao valor obtido por TEIXEIRA et al. (2010) no Maranhão (50,74%).

Em relação aos resultados obtidos em Goiás, MELO et al. (2006) verificaram uma prevalência de 30,43%, OLIVEIRA et al. (2010) de 32, 6% e SHULZE (2008) de 42, 2 % .

Os rebanhos Curraleiro não têm aptidão específica, sendo utilizados para muitos fins, inclusive cultural (festas de carro de boi) e turístico (prática de ecoturismo). Entretanto, devido até mesmo às características da exploração destes animais, os mesmos se enquadram em rebanho de aptidão mista, fornecendo carne e leite, dentro de suas características produtivas particulares.

A soroprevalência encontrada na raça Curraleira de 51%, foi semelhante à obtida em rebanhos de raças locais estudados por KAMGA-WALADJO AR et al. (2010) em Dakar, Senegal (53,3%), porém foi superior a prevalência em rebanhos leiteiros (17, 9%) avaliados neste mesmo estudo. EIRAS et al. (2011) verificaram em rebanhos de aptidão mista na Galícia, Espanha uma prevalência de 78,4% e VAZQUEZ et al. (2009) encontraram uma prevalência de 28% em rebanhos de corte.

No estado de Goiás, MELO et al. (2006) encontraram prevalência de 43,33% e 29,61% em rebanhos mistos e leiteiros. OLIVEIRA et al. (2010) encontraram 32, 67% de prevalência para *N. caninum* em animais cruzados (Zebu/Holandês). Contudo SHULZE et al. (2008) encontrou 90,7% de prevalência em rebanhos de leite, e 87,4% em rebanhos mistos. JULIANO et al. (2006 a) nos estados de Goiás e Tocantins obtiveram prevalência de anticorpos *N. caninum*, de 38,24% nos 468 animais avaliados através de ELISA que foi inferior às encontradas em nossa pesquisa.

O rebanho Pantaneiro, devido ao tipo de criação extensiva ao qual é submetido, e para fins de comparação, aproxima-se de um rebanho de aptidão corte, embora não haja exploração comercial no momento por se tratar de um rebanho de unidade de conservação da raça. A prevalência frente à *N. caninum* de 40,37% que foi inferior a obtida por EIRAS et al. (2011) em rebanhos de corte na Espanha (76,7%), e superior a encontrada por VAZQUES et al. (2008 em bovinos destinados à produção de carne (11,6%). Quando comparamos à valores encontrados em com rebanhos de corte no Brasil PAZ et al. (2007) obtiveram 29,5% de animais positivos para o *N. caninum*.

Quanto aos valores referentes à Goiás, em rebanhos de corte MELO et al. (2006) encontraram 30,5% de animais positivos para *N. caninum*, e OLIVEIRA et al. (2010) 26,22%,

entretanto SHULZE et al. (2008), encontraram 70,2% de animais positivos, pertencentes à rebanho de corte.

Para o rebanho Pantaneiro, o único registro de soroprevalência até o momento para *N. caninum* foi publicado por JULIANO (2006b), que encontrou 26,51% e 40,87% em duas populações distintas.

Um fato que pode ajudar a explicar as altas taxas de soroprevalências obtidas é a reposição de animais ser praticamente apenas com animais do próprio rebanho. ÁLVAREZ-GARCIA (2003) destaca esta prática como fator importante na manutenção da enfermidade no rebanho, perpetuando-se pela via transplacentária e contribuindo para altas taxas de positividade.

Ao se realizar comparações entre trabalhos de soroprevalência devemos fazê-las com cautela devido à diferenças tais como região estudada, técnica de diagnóstico empregada, ponto de corte utilizado, tipo de exploração e presença de antecedentes de aborto (GUIMARÃES JR. et al., 2004), diferenças existentes entre os laboratórios, e oscilações dos níveis de anticorpos específicos produzidos nos animais infectados, que podem influir consideravelmente na sensibilidade da técnica utilizada (CONRAD et al., 1993).

Numa análise referente ao título de anticorpos observados nos animais positivos para IFI obteve-se, entre os Curraleiros, a maioria dos positivos com título 1:200 (43 animais), sendo que o maior título encontrado foi 1:6400 (5 animais). Entre os animais Pantaneiros, dois títulos detiveram a maioria dos animais soropositivos: 1:200 (9 animais) e 1:3200 (9 animais).

O maior título encontrado neste rebanho foi de 1:25600 (2 animais). A Figura 1 traz um gráfico com a apresentação dos títulos encontrados e o número de animais em cada nível de titulação, separados por raça e também somados.

Variados títulos são descritos na literatura, de acordo com o ponto de corte adotado em cada estudo. A partir de 1:100 e 1:200 (ponto de corte mais comumente utilizado), foram relatados títulos tão altos quanto 1:1600, 1:6400 e 1:12800 (SARTOR et al., 2003; CARDOSO et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2010). Não é freqüente a observação de título tão alto quanto o aqui obtido no rebanho Pantaneiro, em infecção natural, sendo encontrado apenas um relato na literatura consultada (FIORETTI et al., 2003).

A taxa de transmissão vertical geral observada nos rebanhos foi de 46% (95%, IC 32%-60%). Separando por raça, temos que no gado Curraleiro esta taxa foi de 40%. Na população de Pantaneiros, este valor foi superior, ficando em 52%. O nascimento de crias positivas, filhos de vacas também positivas foi estatisticamente maior ($p < 0,001$) na análise

geral e no rebanho Pantaneiro, não apresentando diferença estatisticamente significativa no rebanho Curraleiro ($p > 0,001$). Os valores de transmissão obtidos estão expostos nas Tabelas 3, 4 e 5, para taxa geral, rebanho Curraleiro e rebanho Pantaneiro, respectivamente.

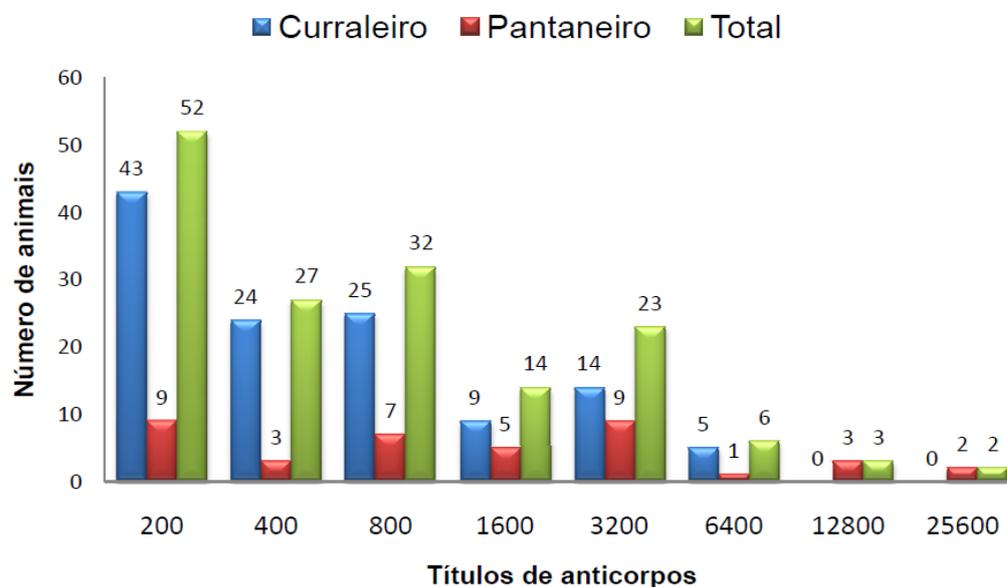


FIGURA 1 – Títulos de anticorpos anti-*Neospora caninum* obtidos por imunofluorescência indireta (título $\geq 1:200$) em bovinos das raças Curraleira e Pantaneira, provenientes de unidades de criação em Goiás e Mato Grosso do Sul, respectivamente, 2011.

TABELA 3 – Ocorrência de transmissão vertical de *N. caninum* em bovinos Curraleiros e Pantaneiros, provenientes de unidades de criação em Goiás e Mato Grosso do Sul, respectivamente, 2011.

Animais	Bezerros positivos	Bezerros negativos	Total
Filhos de vacas positivas	22	26	48
Filhos de vacas negativas	5	45	50
Total	27	71	98

$\chi^2 = 15,754$ ($p < 0,001$).

TABELA 4 – Ocorrência de transmissão vertical de *N. caninum* em bovinos Curraleiros, provenientes de unidades de criação em Goiás, 2011.

Animais	Bezerros positivos	Bezerros negativos	Total
Filhos de vacas positivas	10	15	25
Filhos de vacas negativas	4	22	26
Total	14	37	51

$\chi^2=3,878$; Yates=2,74 ($p > 0,001$).

TABELA 5 – Ocorrência de transmissão vertical de *N. caninum* em bovinos Pantaneiros, provenientes de unidade de criação em Mato Grosso do Sul, 2011.

Animais	Bezerros positivos	Bezerros negativos	Total
Filhos de vacas positivas	12	11	23
Filhos de vacas negativas	1	23	24
Total	13	34	47

$\chi^2=13,528$; Yates=11,235 ($p > 0,001$)

Como se pode observar, os valores encontrados nesta pesquisa foram superiores aos encontrados por GONDIM et al. (2004) de 35 %, MORÉ et al. (2009) de 37,1% e OLIVEIRA et al. (2010) que encontrou uma taxa de transmissão vertical de 24%, em Nerópolis, Goiás, contudo, foi inferior aos resultados obtidos por HALL et al. (2004) na Austrália de 75%, e de MELO et al. (2006), que encontrou em microrregiões de Anápolis e Goiânia, Goiás, uma taxa de transmissão vertical de 62,5% . Esses resultados indicam que a transmissão congênita é um aspecto muito importante a ser considerado no ciclo de vida de *N. caninum*, que ajuda a manter a prevalência desse protozoário da população bovina. (MELO et al., 2006).

Pode-se observar a ocorrência rara de nascimento de bezerros positivos de mães negativas, e isto pode ser devido à infecção ter acontecido há algum tempo e o nível de anticorpos desce a um nível indetectável (CONRARD et al. 1993; FRÖSSLING et al. 2005; LÓPEZ-GATTIUS et al. 2004; SAGER et al. 2001.) condição observada também por FRÖSSLING et al. (2003) e LÓPEZ-GATTIUS et al. (2004).

TABELA 6 – Associação entre título de anticorpos maternos anti-*N. caninum* e ocorrência de transmissão vertical em bovinos Curraleiros e Pantaneiros, provenientes de unidades de criação em Goiás e Mato Grosso do Sul, respectivamente, 2011.

Título materno	Bezerros positivos	Bezerros negativos	Total
1:200	8	6	14
≥ 1:400	14	20	34
Total	22	26	48

$\chi^2=1,018$; Yates=0,477 (p> 0,001)

4. Conclusão

Os resultados aqui obtidos permitem as seguintes conclusões: o *N. caninum* está presente nos rebanhos de raças naturalizadas brasileiras Curraleira e Pantaneira, estando amplamente distribuído nas propriedades avaliadas. Os animais apresentam uma amplitude de títulos, que vão desde o ponto de corte adotado (1:200) até títulos de 1:25600. A transmissão vertical está presente em ambos os rebanhos estudados, em taxas consideravelmente altas, sendo possivelmente o principal modo de transmissão encontrado nestas populações. Não há associação entre a título das mães e a ocorrência de transmissão vertical. Esta pode ocorrer independentemente do título de anticorpos que as fêmeas estejam apresentando.

5. Referências

1. ÁLVAREZ-GARCIA, G., PEREIRA-BUENO, J., GÓMES-BAUTISTA, M., ORTEGA-MORA, L.M. Pattern of recognition of *Neospora caninum* tachyzoite antigens by naturally infected pregnant cattle and aborted fetuses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 107, p. 15-27, 2002.
2. ÁLVAREZ-GARCIA, G. Identificación y caracterización de antígenos de *Neospora caninum* con interés inmunodiagnóstico en bovinos. 301f. Tese (Doutorado) – Departamanto de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Madrid. 2003.
3. CAMILLO, G., CADORE, G., CEZAR, A.S., TOSCAN, G., BRÄUNIG P., SANGIONI L.A., VOGEL. F.S.F. Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de leite do sudoeste do estado do Paraná. **Arquivo. Brasileiro de Medicina. Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n.6, p.1511-1513, 2010.
4. CARDOSO, J. M.; FUNADA, M. R.; SOARES, R. M.; GENNARI, S. M. Perfil sorológico dos anticorpos colostrais para *Neospora caninum* em bezerros livres da infecção. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 45, n. 5, p. 379-384, 2008.
5. CARDOSO, J. M. S.; NISHI, S. M.; FUNADA, M. R.; AMAKU, M.; GUIMARÃES JÚNIOR, J. S.; GENNARI, S. M. Antibody dynamics during gestation in cows naturally infected with *Neospora caninum* from four dairy herds in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 46, n. 5, p. 395-399, set. 2009.
6. CONRAD, P.A., SVERLOW, K., ANDERSON, M., ROWE, J., BONDURANT, R., TUTER, G., BREITMEYER, R., PALMER, C., THURMOND, M., ARDANS, A., DUBEY, J.P., DUHAMEL, G., BARR, B. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. **Journal of Veterinary. Diagnostic. Investigation**, v. 5, p. 572–578, 1993.
7. DUBEY, J.P., SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 140, p. 1–34, 2006.
8. EIRAS C., ARNAIZ, I, ÁLVAREZ-GARCÍA, G., ORTEGA-MORA, L.M., SANJUÁN, M.L., YUS, E., DIÉGUEZ, F.J.. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy and beef cattle from the northwest region of Spain, Galicia, **Preventive Veterinary Medicine**, v. 98, p.128–132, 2011.

9. FIORETTI, D. P.; PASQUAI, P.; DIAFERIA, M., ROSIGNOLI, L. *Neospora caninum* infection and congenital transmission: serological and parasitological study of cows up to the fourth gestation. **Journal of Veterinary Medicine B**, Berlim, v. 50, n. 8, p. 399-404, out. 2003.
10. FRÖSSLING, J.; BONNETT, B.; LINDBERG, A.; BJÖRKMAN, C. Validation of *Neospora caninum* iscom ELISA without a gold standard. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdã, v. 57, n. 3, p. 141-153, mar. 2003.
11. FRÖSSLING, J.; UGGLA, A.; BJÖRKMAN, C. Prevalence and transmission of *Neospora caninum* within infected Swedish dairy herds. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 128, n. 3-4, p. 209-218, mar. 2005.
12. FURTADO A., DIEGO ROSADILLA, D., CATTÁNEO M., BERMÚDEZ J., PUENTES, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em pequenas propriedades leiteiras do Uruguai. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.4, abr, 2011.
13. GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; ANDERSON-SPRECHER, R. C.; BJÖRKMAN, C.; LOCK, T. F.; FIRKINS, L. D.; GAO, L.; FISCHER, W. R. Transplacental transmission and abortion in cows administered *Neospora caninum* oocysts. **The Journal of Parasitology**, Lincoln/NE, v. 90, n. 6, p. 1394-1400. dez. 2004.
14. GUIMARÃES JR., 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**, Amsterdã, v. 124, n. 1-2, p. 1-8, set. 2004.
15. . HALL, S.J.G.; BRADLEY, D.G. Conserving livestock breed biodiversity. **Trends in Ecology and Evolution**, London, v.10, p.267-270, 1995.
16. HALL, C. A.; REICHEL, M. P.; ELLIS, J. T. *Neospora* abortions in dairy cattle: diagnosis, mode of transmission and control. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 128, n. 3-4, p. 231-241, mar. 2005.
17. HEMPHILL, A., VONLAUFEN, N., NAGULESWARAN, A., KELLER, N., RIESEN, M., GUETG, N., SRINIVASAN, S., ALEADDINE, F., Tissue culture and explant to studying and visualizing *Neospora caninum* and its interection with the hoast cell. **Microscopy and Microanalysis**, v. 10, p.602-620, 2004.
18. JULIANO, R. S. Aspectos sanitários e do sistema de fagócitos de bovinos da raça Curraleiro. 125f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2006 a.

19. JULIANO, R. S.; FIORAVANTI, M. C. S.; SILVA, A. C.; ABREU, U. G. P.; SILVA, A. R. B.; SOUZA, S. N.; SERENO, J. R. B. Ocurrence de anticuerpos anti-*Neospora caninum* y anti-*Toxoplasma gondii* en rebanos bovinos de la raza pantaneira. Anais do VII Simpósio Iberoamericano sobre Conservación y Utilización de Recursos Zoogenéticos, 2006 b.
20. KAMGA-WALADJO, A. R., GBATI, O. B., KONE, P., LAPO, R. A., BAKOU, S. N., PANGUI, L. J., DIOP, P. E. H., AKAKPO, J. A., Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies and its consequences for reproductive parameters in dairy cows from Dakar-Senegal, West África,. **Tropical Animal Health and Production** n. 42: p. 953–959, 2010.
21. 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**, Jaboticabal, v. 17, suplemento 1 , p. 191-196, set. 2008.
22. LÓPEZ-GATIUS, F.; LÓPEZ-BÉJAR, M.; MURUGAVEL, K.; PABÓN, M.; FERRER, D.; ALMERÍA, S. *Neospora*-associated Abortion Episode over a 1-Year Period in a Dairy Herd in North-east Spain. **Journal of Veterinary Medicine B**, Berlin, v.51, n. 7, p.348-352, set. 2004.
23. MARQUES, F. A. C., HEADLY, A. S., PEREIRA, V. F., TARODA, A., BARROS, L. D., CUNHA, I. A. L., MUNHOZ, K., BUGNI, F. M., ZULPO, D. L., IGARASHI, M., VIDOTTO, O., JÚNIOR, J. S. G., GARCIA, J. L., *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered beef cows (*Bos indicus*). **Parasitology Research**, v. 108, p. 1015–1019, 2011.
24. 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**, Jaboticabal, v. 15, n. 3, p. 105-109, jul.-set. 2006.
25. 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**, Amsterdã, v.160, n. 1-2, p. 51-54, mar. 2009.

26. OLIVEIRA, V. S. F.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; ORTEGA-MORA, L. M.; BORGES, L. M. F.; SILVA, A. C. Abortions in bovines and *Neospora caninum* transmission in an embryo transfer center. **Veterinary Parasitology**, Amsterdã, v. 173, n. 3-4, p. 206-210, out. 2010.
27. OSHIRO, L. M.; MATOS, M. F. C.; OLIVEIRA, J. M.; MONTEIRO, L. A. R. C.; ANDREOTTI, R. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 16, n. 3, p. 133-138, jul./set. 2007.
28. PAZ, G.F., LEITE, R.C., ROCHA M.A. Associação entre sorologia para *Neospora caninum* e taxa de prenhez em vacas receptoras de embriões. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.59 , n.5, p.1323-1325, 2007.
29. ROSYPAL, A.C., LINDSAY, D.S. The sylvatic cycle of *Neospora caninum*: where do we go from here? *Trends in Parasitology*, London, v. 21, n.10, p. 439-440, 2005.
30. SAGER, H., FISCHER, I., FURRER, K., STRASSER, M., WALDVOGEL, A., BOERLIN, P., AUDIGE, L., GOTTSTEIN, B. A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 1–15, 2001.
31. SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada à experimentação animal. Belo Horizonte: Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia 3ed., 264 p. 2007.
32. 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 ELISA e RIFI no município de Avaré, SP. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 24, n. 1, p. 3-10, jan./jun. 2003.
33. SCHULZE, C. M. B. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em fêmeas bovinas do Estado de Goiás e fatores associados. 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.
34. TEIXEIRA, W. C.; UZÊDA, R. S.; GONDIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 30, n. 9, p. 729-734, set. 2010.

35. VAZQUEZ, Z. G., CRUZ, R. R., ESTRADA, F. M., VIVAS, I. R., SALAS, D. R., RUVALCABA, M. F., VAZQUEZ, C. C., Seroprevalence of *Neospora caninum* antibodies in beef cattle in three southern states of México, **Tropical Animal Health and Production** 41:749–753, 2009.