

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E HUMANAS
COORDENAÇÃO DO CURSO DE ZOOTECNIA

PAMELLA REBECA JESUS SANTOS

**SOROPREVÂLENCIA DE *Neospora caninum* EM BOVINOS NA REGIÃO
SUDOESTE DO MATO GROSSO**

PONTES E LACERDA-MT
NOVEMBRO/2018

PAMELLA REBECA JESUS SANTOS

**SOROPREVÂLENCIA DE *Neospora caninum* EM BOVINOS NA REGIÃO
SUDOESTE DO MATO GROSSO**

" Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado a Coordenação do Curso de Graduação em Zootecnia da Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências para obtenção do título de BACHAREL EM ZOOTECNIA”.

Orientador: Prof. Dr. Gregory Duarte Juffo

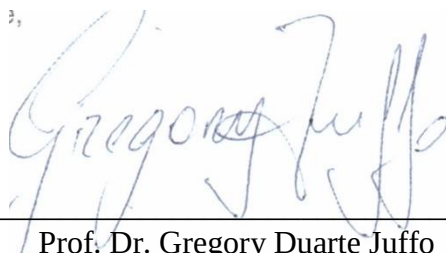
PONTES E LACERDA-MT
NOVEMBRO/2018

PAMELLA REBECA JESUS SANTOS

**SOROPREVÂLENCIA DE *Neospora caninum* EM BOVINOS NA REGIÃO
SUDOESTE DO MATO GROSSO**

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado
a Coordenação do Curso de Graduação em
Zootecnia da Universidade do Estado de Mato
Grosso, como parte das exigências para
obtenção do título de Bacharel em Zootecnia.

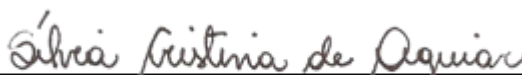
APROVADO EM:



Prof. Dr. Gregory Duarte Juffo
Orientador/UNEMAT-Pontes e Lacerda



Profa. Ma. Giselde Marques Angreves Silva
Membro/UNEMAT-Pontes e Lacerda



Profa. Dra. Sílvia Cristina de Aguiar
Membro/UNEMAT-Pontes e Lacerda

A minha família, a qual sempre estiveram presentes em todos os momentos da minha vida,
me incentivaram, me fizeram acreditar na realização dos meus sonhos, trabalharam muito
para que eu pudesse realiza-los;

A Armenia Maria de Jesus, minha mãe;

Ao Paulo Gervanio dos Santos, meu pai de coração;

A Hozana Maria de Oliveira, minha avó;

Ao Arinelson de Andrade Dourado, meu amor;

As minhas irmãs Paula Giovana Jesus Santos e Paolla Gabriely de Jesus Santos;

Dedico-lhes de coração.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado saúde e por permitir-me vencer mais esta jornada, família e amigos a qual sempre estiveram presente para me ajudando e apoiando.

À Universidade do Estado de Mato Grosso, por ter possibilitado a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Gregory Duarte Juffo por ter participado da minha formação acadêmica, orientar e auxiliar no desenvolvimento do meu conhecimento científico e profissional e pela confiança em mim depositada durante o período de convívio.

A banca examinadora, composta pelas professora que adquirei, Ma. Giselde Marques Angreves Silva e Dra. Sílvia Cristina de Aguiar

Ao Departamento de Zootecnia e aos professores do Curso de Zootecnia pelos valiosos ensinamento, em especial a professora Dra. Adriana Fernandes de Barros e a professora Dra. Jocilaine Garcia.

Aos funcionários do Departamento de Zootecnia, Secretaria Supervisão de Apoio Acadêmico (SAA) e Biblioteca.

Ao produtores rurais, por ceder sua propriedade para realização das coletas, e pelo apoio e disposição em ajudar na minha capacitação.

Setor de Patologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande (SPV/UFRGS) por realizar as análises.

Aos meus e amigos (as), que me acolheram e “adotarem” fora de casa, me proporcionando momentos de humor, amizade e companheirismo: Vanessa (piaçava), minha companheira e amiga de república, que sempre esteve do meu lado, nos momentos de alegria, tristeza, desespero, tpm; ao Anderson e Tatielle, meu casal favorito e “filhos adotivos”, que sempre torceram por mim e esteve presente em minha vida em todos os momentos; o nosso grupo Facção da faculdade, Welison (Desprovido), Moises (Carça), Leandro (Dick), José Dener (Ratinho), sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando com carinho e dedicação e aos meus amigos e companheiros de coleta Alessandro, Camila, Gustavo e Paulo Henrique, pelos momentos que passamos juntos nas estradas, pelas histórias e momentos incríveis que vivemos.

A turma 2014/1 de zootecnia e a todos os meus amigos e amigas que estiveram presentes em minha via e pelo grande apoio e amizade desenvolvidos ao longo desses anos.

Aos meus pais, Armenia Maria e Paula Gervanio, minha avó querida, Hozana Maria, as minhas irmãs, Paula Giovana e Paolla Gabrielly, aos meus cunhados, Dihonnattas e Luiz Carlos, aos meus tios Ester, Romeu, Arminda, Losa, Maria, Antônio, meus amigos Seilaine, Elismar, Yasmin e a todos da família Oliveira e Santos, pelas lições de vida e animo que tanto me renovam, por me incentivarem a estudar, me apoiando em todas as minhas escolhas e não mediram esforços para realizar o meu sonho.

Ao Arinelson por compartilhar comigo seu amor, seu carinho, seu tempo, sua fortaleza, sua paciência. A minha sogra, Ana, ao meu sogro Arilson e a minha cunhada Adna, obrigada pelo carinho e por acreditar na nossa família.

Meus sinceros agradecimentos....

*“Faça o teu melhor, na condição que você tem, enquanto você não tem condições melhores,
para fazer melhor ainda!”*

(Mario Sergio Cortella)

RESUMO

Neosporose é uma doença causada por um protozoário denominado de *Neospora caninum*, é considerada uma das principais causas de aborto em bovinos. Além de causar vários prejuízos, desde a diminuição da produção de leite até o descarte prematuro de animais soropositivos, retenção de placenta, repetição do cio, o que compromete a produção animal. A identificação da neosporose é fundamental para tomar medidas de controle e evitando perdas oriundas a partir dessa infecção. O objetivo do estudo foi determinar a soroprevalência e fatores associados a infecção de *Neospora caninum* em vacas leiteiras na região sudoeste do Mato Grosso. As 23 propriedades participaram de maneira espontânea e tiveram como requisito a presença de, no mínimo, dez vacas em produção (secas e em lactação) e produção média de pelo menos 40 litros de leite por dia. Foi aplicado um questionário no dia da coleta de sangue para obter informações sobre dados socioeconômicos e zootécnicos dos proprietários e para verificar os fatores de risco associados à ocorrência da neosporose. O diagnóstico, baseado no teste de reação de imunofluorescência indireta, foi realizado no Setor de Patologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A prevalência encontrada nesse estudo foi de 14,2% dos animais (45/317) e que das 23 propriedades, 17 apresentaram pelo menos um animal positivo, enquanto 24 amostras soropositivas pertenciam a propriedades com histórico de nascimento de animais fracos ou com natimortalidade. Conclui-se, dessa forma que apesar de uma prevalência considerada não houve distinção dos principais fatores associado a ocorrência de *Neospora caninum* nessas propriedades.

Palavras-chave: Aborto. Imunofluorescência. Neosporose. Saúde Animal.

ABSTRACT

Neosporosis is a disease caused by a protozoan called *Neospora caninum*, it is considered a major cause of abortion in cattle. In addition to causing several losses, from the decrease of milk production to the premature discard of seropositive animals, retention of placenta, repetition of estrus, which compromises animal production. The identification of neosporosis is essential to take control measures and avoid losses from this infection. The objective of the study was to determine the seroprevalence and factors associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows in the southwest region of Mato Grosso. The 23 farms spontaneously participated and were required to have at least ten cows in production (dry and lactating) and average production of at least 40 liters of milk per day. A questionnaire was applied on the day of blood collection to obtain information on socioeconomic and zootechnical data of the owners and to verify the risk factors associated with the occurrence of neosporosis. The diagnosis, based on the indirect immunofluorescence reaction, was performed in the Animal Pathology Sector of the Faculty of Veterinary Medicine of the Federal University of Rio Grande do Sul. The prevalence found in this study was 14.2% of the animals (45/317) and that of the 23 properties, 17 had at least one positive animal, while 24 seropositive samples belonged to properties with a history of birth of weak or non - native animals. It was concluded that, despite a prevalence considered, there was no distinction of the main factors associated with the occurrence of *Neospora caninum* in these properties.

Key words: Abortion. Immunofluorescence. Neosporosis. Animal health.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
2.1 AGENTE ETIOLÓGICO	13
2.2 CICLO BIOLÓGICO	13
2.3 VIAS DE TRANSMISSÃO	16
2.4 IMPACTO ECONÔMICO NA BOVINOCULTURA	17
2.5 PATOLOGIA E SINAIS CLÍNICOS.....	18
2.6 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	19
2.6.1 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).....	20
2.6.2 O ensaio imunoenzimático (ELISA)	21
2.6.3 Imuno-histoquímica	21
2.6.4 Reação de Polimerase (PCR).....	22
2.6.5 Isolamento	22
2.6.6 Teste de aglutinação Neospora (NAT).....	23
2.6.7 “Western blot”	23
2.7 DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS	24
2.7.1 Herpesvírus Bovino tipo 1 (HVB-1).....	24
2.7.2 Diarreia viral bovina (DVB)	25
2.7.3 Brucelose	25
2.7.4 Leptospirose	25
2.7.5 <i>Tritrichomonas foetus</i> e <i>Campylobacter foetus</i> var. <i>venerealis</i>	26
2.7.6 Toxoplasmose	26
2.8 CONTROLE E PREVENÇÃO	26
3 MATERIAL E MÉTODOS	29
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5 CONCLUSÃO.....	35
REFERÊNCIAS	36
APÊNDICE- Questionário aplicado aos produtores.....	46

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é referência na agropecuária mundial, com um dos maiores rebanhos bovinos, constituído por cerca de 218,23 milhões cabeça no ano de 2016, aumento de 1,4% em comparação com o ano anterior. Já a produção leiteira foi de 33,62 bilhões de litros de leite em 2016, retração de 2,9% em relação ao ano anterior. Entretanto a produção média foi de 1 709 litros/vaca/ano, aumento de 4,2% em relação ano anterior (BRASIL, 2016).

O grande desafio a ser enfrentado no Brasil, para que se continue com esse destaque na produção agropecuária é a sanidade dos rebanhos. O manejo sanitário é responsável pelo controle de diversas doenças na criação dos rebanhos bovinos leiteiros (BRUHN, 2012).

No rebanhos bovinos existem muitas causas de perdas fetais e de recém-nascidos, causa diversos prejuízos econômicos significativos. A identificação dessas causas é muito importante para tomar medidas de prevenção e de controle e evitar perdas (NEGRÃO, 2006). Segundo Del Fava, Pituco e Genovez (2007), em rebanhos bovinos, as causas infecciosas representam 30% das mortes embrionárias, tendo papel principal de doenças virais, como rinotraqueíte bovina (IBR) e diarreia viral bovina (BVD), doenças bacterianas, como leptospirose, brucelose, listeriose, campilobacteriose, tricomonose, estafilococose, colibacilose, dentre outras, além da neosporose causada por protozoário. De acordo com Junqueira e Alfieri (2006), independentemente da causa ou da origem do distúrbio reprodutivo, se infeccioso ou não, o resultado final será sempre o menor número de nascimentos e o maior intervalo de partos. Essas duas consequências acarretarão redução na receita e aumento dos custos da atividade.

A neosporose é uma doença parasitária causada por um protozoário denominado *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988a). Em diversos países, a neosporose é a principal causa de abortos em bovinos, causa perdas com problemas reprodutivos, custos indiretos com diagnóstico, reposições de animais, entre outros (DUBEY, 1999).

A ocorrência de *Neospora caninum* nos rebanhos brasileiros pode ser considerada significativa, e pode chegar em níveis superiores aos encontrados em outros países (GONDIM; SARTOR, 1997). Na Califórnia 42,5% dos abortos foram causados por *Neospora caninum* (ANDERSON et al., 1991), o que resultou em um prejuízo estimado US\$ 35 milhões, apenas na pecuária leiteira (LINDSAY, 1998).

No Brasil a informação sobre a neosporose ainda é escassa. São necessários mais estudos sobre a epidemiologia da doença, o que permite saber sobre a prevalência, os fatores de riscos, a sua importância, tanto econômica quanto sanitária, dessa enfermidade (DUBEY, 1999).

Desta forma, devido à falta de informação e pesquisas em alguns Estados, o objetivo do estudo foi determinar a soroprevalência e fatores associados a infecção de *Neospora caninum* em vacas leiteiras na região sudoeste do Mato Grosso.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Existem várias enfermidades que acometem o rebanho bovino, o que ocasiona grandes prejuízos econômicos. A identificação dessas enfermidades é fundamental para tomar medidas de prevenção e de controle e com isso evitar as perdas (NEGRÃO, 2006).

A neosporose é uma doença causada por um protozoário denominado de *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988a), é considerada uma das principais causas de aborto em bovinos em vários países (DUBEY; LINDSAY, 1996).

2.1 AGENTE ETIOLÓGICO

Na Noruega, em 1984, Bjerkas, Mohn e Presthus (1984), ao examinarem cérebros de filhotes da raça Boxer com meningoencefalite, miosite, encefalomielite, quadro de paralisia com a presença de cistos no cérebro e tecido muscular. Identificaram um protozoário semelhante ao *Toxoplasma gondii*, entretanto não foram detectados anticorpos no soro desses animais.

Em 1988, nos Estados Unidos, Dubey et al. (1988a) observaram um quadro semelhante ao reportado pelos pesquisadores noruegueses, e sugeriram um novo gênero de espécie, denominado de *Neospora caninum*.

Neospora caninum pertence ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccidiasina, ordem Eucoccidiorida, família Sarcocystidae (DUBEY et al., 1988b). O ciclo de vida são semelhante entre *Neospora caninum* e *T. gondii*, porém com capacidade antigênica diferente (BJORKMAN et al., 1999).

2.2 CICLO BIOLÓGICO

Segundo McAllister et al. (1998), *Neospora caninum* possui ciclo de vida com três principais estágios, que são: oocistos, taquizóitos e bradizoóitos. Os oocistos no ambiente

esporulam entre 24 a 72 horas em condições ótimas (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999). Os taquizoítos e bradizoítos estão dentro do cisto, são as formas do parasita encontradas em hospedeiros intermediários (Figura 1) (DUBEY, 2003).

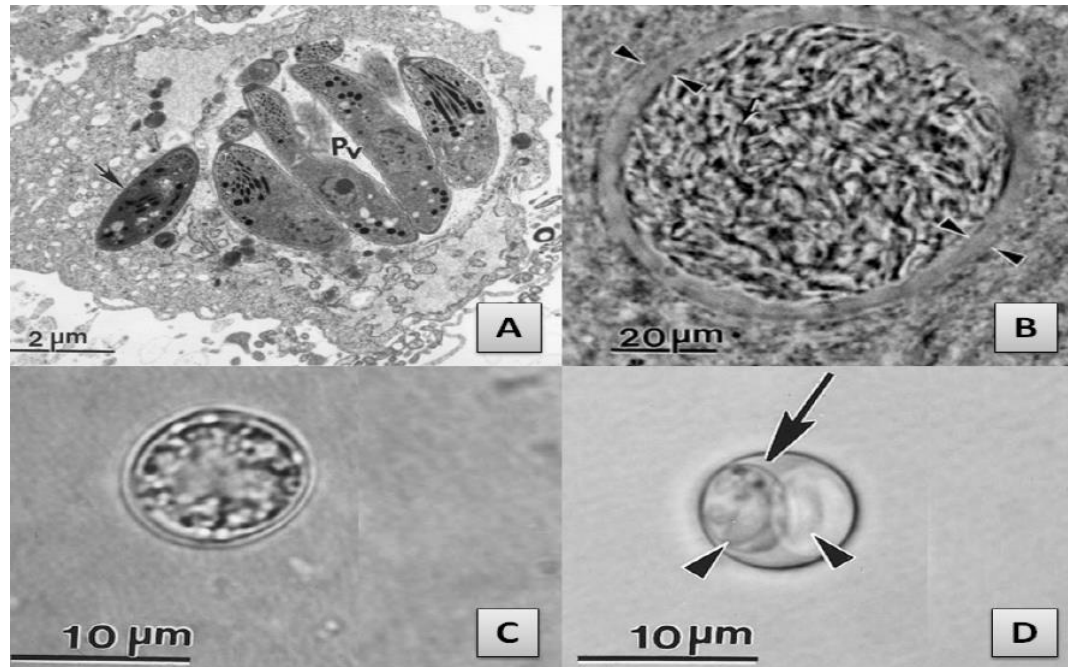


Figura 1 – Formas biológicas de *Neospora caninum*. (A) Taquizoítos no interior de vacúolo parasitóforo (Pv) em cultura de fibroblastos de pele humana. Taquizoíto no citoplasma da célula hospedeira sem vacúolo visível (seta). (B) Cisto tissular em cérebro de gerbil experimentalmente infectado, 99 dias p.i., com destaque para espessura da parede cística (cabeças de seta). (C) Oocisto não esporulado, com massa central. (D) Oocisto esporulado com dois esporocistos (seta), e contendo esporozoítos (cabeças de seta).

Fonte: McAllister et al. (1998).

De acordo com Dubey (2003), a *Neospora caninum* possui uma ampla gama de hospedeiros (Figura 2). Os cães e coiotes são considerados os hospedeiros definitivos, pois acontece tanto a fase assexuada como a fase sexuada do ciclo de vida do protozoário nesses hospedeiros. Enquanto os hospedeiros intermediários são os bovinos, caprinos, ovinos, cavalos e animais selvagens.

Os hospedeiros definitivos excretam oocistos não esporulados nas fezes, após a ingestão de cistos teciduais contaminados de hospedeiros (GONDIM et al., 2004). Os cistos teciduais são ovais, com aproximadamente 107 micrômetros de comprimento encontrados principalmente nos sistema nervoso, músculos estriado esquelético e músculo estriado cardíaco (DUBEY; LINDSAY, 1996).

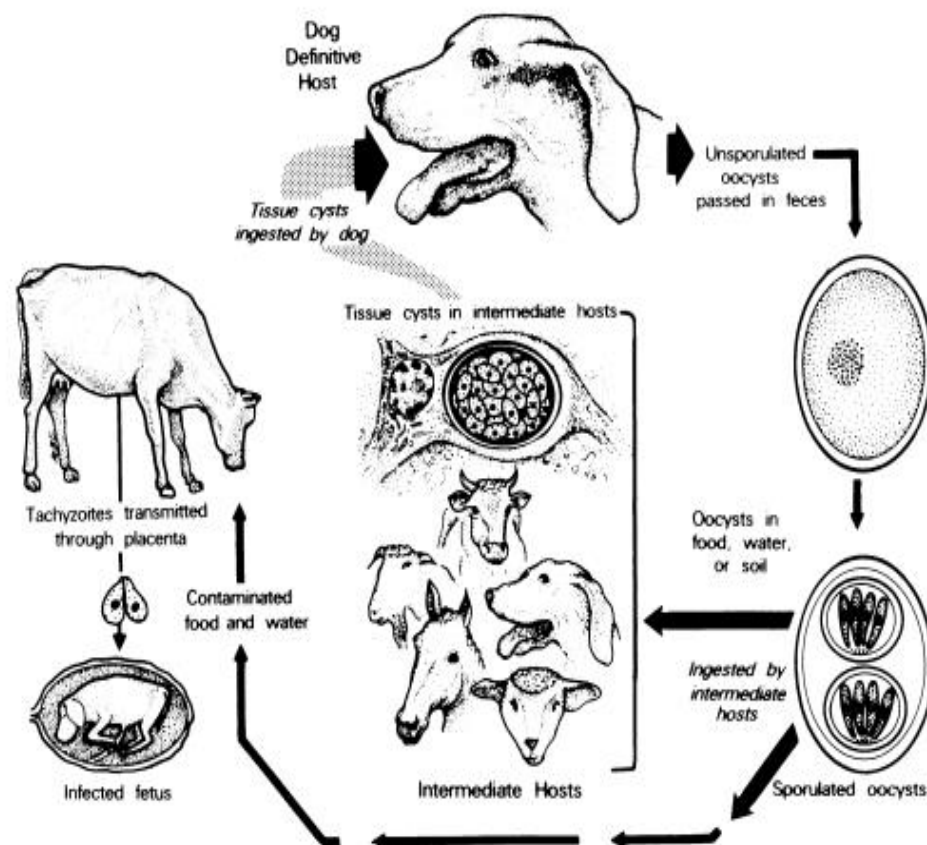


Figura 2 – Ciclo de vida da *Neospora caninum*.

Fonte: Dubey (1999).

Os bradizoítos medem de 6 a 8 micrômetros de comprimento por cerca de 1,8 micrômetros de largura (DUBEY; LINDSAY, 1996), se reproduzem lentamente e são encontrados no sistema nervoso central, nervos periféricos, musculo esquelético e cardíaco, podem persistir durante anos sem manifestar sinais clínicos significativos no hospedeiro (MÜLLER et al., 2002)

Os hospedeiros intermediários, se contaminam pela ingestão de alimentos contaminados com oocistos esporulados presente no meio ambiente que foram liberados nas fezes do hospedeiro definitivo (LINDSAY; DUBEY; McALLISTER, 1999). Após a ingestão dos oocistos esporulados pelo hospedeiro intermediário, ocorre a liberação dos esporozoítos no trato intestinal, esses se transformam em tachizoítos que se multiplicam rapidamente e provocam lesões teciduais, além de ocorrer a propagação da infecção ao penetrar em vários tecidos dos hospedeiros (BUXTON; McALLISTER; DUBEY, 2002). No interior das células os tachizoítos podem se transformar em bradizoítos (DUBEY et al., 1988b).

A transmissão vertical tem sido demonstrada em vários hospedeiros, como bovinos, carneiros, cabras, cães, gatos, camundongos, macacos e porcos. É o principal modo de transmissão em bovinos (DUBEY; LINDSAY, 1996). Ocorre através da transmissão transplacentária da mãe para o feto. Essa transmissão assume papel muito importante na manutenção da doença, pelo fato da maioria das infecções congênicas resultarem em animais clinicamente normais, mas cronicamente infectados (DUBEY; ACLAND; HAMIR, 1992).

Outras formas de transmissão têm sido estudadas. Há relatos da presença do DNA da *Neospora caninum* encontrados em amostras de sêmen de animais soropositivos contaminados naturalmente (ORTEGA-MORA et al., 2003). Em outro estudo, sêmen bovino contaminado induziu a infecção em vacas que foram inseminadas (SERRANO-MARTINEZ et al., 2006). Entretanto essa forma de transmissão em bovinos é de pouca importância (ORTEGA-MORA et al., 2003). Outra forma de transmissão da infecção foi observado em bezerro, onde a presença do DNA da *Neospora caninum* também foi detectável no colostro de vacas infectadas (MOSKWA et al., 2007).

A *Neospora caninum* não há tratamento e com isso após adquirir a infecção, os animais permaneceram por toda vida com a doença. Entretanto sua transmissão para seus descendentes nas gestações subsequentes poderá ou não acontecer (WOUDA et al., 1998).

2.4 IMPACTO ECONÔMICO NA BOVINOCULTURA

Neospora caninum é reconhecida como uma enfermidade de grande impacto da bovinocultura, devido ser considerada uma das principais causas de distúrbios reprodutivos em bovinos (SARTOR et al., 2005). Os prejuízos dessa infecção podem ser significativos, desde a diminuição da produção de leite até o descarte prematuro de animais soropositivos, inseminação artificial ou cobertura, abortos (DUBEY, 2003), redução de ganho de peso, encurtamento da vida produtiva, infertilidade como consequência de morte fetal e reabsorção, assistência especializada, dentre outros (ÁLVAREZ-GARCÍA, 2003).

Vacas soropositivas, podem apresentar maior número de inseminações por prenhez (STENLUND et al., 1999), e apresentarem intervalo entre partos de até 584 dias, evidenciando baixo desempenho reprodutivo, em comparação com as soronegativas (VANLEEUEWEN et al., 2010) Abortos podem ocorrer do terceiro mês até o final da gestação, apesar de serem mais frequente entre o quinto e o sexto mês (DUBEY, 2003).

No Brasil em 1999 foi diagnosticado pela primeira vez a *Neospora caninum* em bovinos, através de fetos abortados em uma fazenda leiteira com histórico de abortos no Estado da Bahia (GONDIM et al., 1999).

Os levantamentos sorológicos brasileiros mostram que a ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* pode variar de acordo com os tipos de amostragem utilizada, sendo amostras provenientes de animais com abortamentos ou amostras simplesmente casuais, também ocorrem diferenças nos índices de especificidade e sensibilidade do método diagnóstico utilizado (SARTOR et al., 2005). Este fato acaba por impedir a real compreensão da dimensão do dano causado por *N. caninum* no âmbito econômico e na saúde animal (ÁLVAREZ-GARCÍA, 2003).

BRAUTIGAN et al. (1996), através de ELISA, encontraram 15% de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos de leite do estado de São Paulo e 8% em bovinos de corte do Mato Grosso do Sul. GONDIM et al. (1999) descreveram, através da RIFI, o encontro de 60% de anticorpos anti-*N. caninum* em uma propriedade de bovinos de leite com antecedentes de aborto em Natal e 14,0% em bovinos de leite na Bahia. Em Minas Gerais foi encontrado através de ELISA 18,4% de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos de leite (MELO et al., 2004). No Rio Grande do Sul e Paraná soros de bovinos de leite foram submetidos a RIFI verificando-se a prevalência de 11,2% e 14,3% de anticorpos anti-*N. caninum*, respectivamente (CORBELLINI et al., 2002; GUIMARÃES et al., 2004). No Mato Grosso, através da RIFI uma prevalência de 53,54% nos rebanhos leiteiros (BENETTI, 2009).

Entretanto há a necessidade de pesquisas científicas sobre a real importância da neosporose na bovinocultura e seu impacto econômico na produção (DUBEY; LINDAY, 1996). O impacto econômico da *Neospora caninum* na Califórnia (EUA), por exemplo, foram estimados de 35 milhões de dólares de perda por ano na indústria leiteira (ANDREOTTI, 2001), e de 25 milhões de dólares por ano para a produção de carne (ANDERSON; ADRIANARIVO; CONRAD, 2000).

2.5 PATOLOGIA E SINAIS CLÍNICOS

A patologia de *Neospora caninum* é complexa e parcialmente compreendida. Alguns fatores influenciam a ocorrência de aborto, tais como a idade do animal, época da infecção,

imunidade da mãe durante a gestação, entre outros, irão determinar porque alguns animais soropositivos abortam e outros não (ALMERIA et al., 2010).

Durante a gestação, o sistema imunológico se desenvolve de forma gradativa (INNES et al., 2005). Na ausência de uma resposta imunológica, os taquizoitos continuam reproduzindo e causando destruição celular e até a morte do hospedeiro (LOCATELLI-DITTRICH, HOFFMANN, DITTRICH, 2006).

No primeiro trimestre, o feto é susceptível às infecções por micro-organismos, devido os órgãos como o timo, baço e linfonodos não estarem todos desenvolvidos. No segundo trimestre, o feto é capaz de desenvolver uma resposta imunológica a vários patógenos (INNES et al., 2005). Portanto quando a infecção ocorre no primeiro trimestre de gestação, aumenta a ocorrência de morte fetal, já no segundo terço, ocorre uma resposta rudimentar a ser estabelecida, entretanto não é suficiente para protegê-lo, ocorrendo a maioria dos abortos nesse período. (ANDERSON et al., 2000). E quando ocorre a infecção no terço final de gestação, geralmente o feto sobrevive, podendo nascer infectado e apresentar-se clinicamente sadio ou não (BUXTON, McALLISTER, DUBEY, 2002).

As vacas infectadas, geralmente apresentam sinais como abortos, em torno do quinto mês e meio, podendo ainda resultar em mumificações, mortes no útero seguida de reabsorções e natimortos, além do nascimento de bezerros com sintomatologia nervosa ou clinicamente sadios, mas cronicamente infectados. Esses animais cronicamente infectados são muito importantes, devido manterem a infecção no rebanho (DUBEY, 2003).

2.6 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Desde a sua descoberta e do isolamento, várias possibilidades de diagnósticos da *Neospora caninum* vem sendo descritas (MOTA; FERRE; FARIA, 2008). Seu diagnóstico é muito importante para identificar os animais infectados e para tomar medidas de controle (CARDOSO et al., 2008).

O diagnóstico clínico da *Neospora caninum* é complexo devido à ausência de manifestações clínicas nos animais soropositivos (JENKINS et al., 2002), com isso o diagnóstico laboratorial é importante e deve ser realizado para confirmar a infecção por essa doença (PACKMAN et al., 2002).

A neosporose pode ser diagnosticada em avaliações *post-mortem* com exames feitos no feto abortado ou *in vivo* exames realizados na mãe, onde verificam a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* no soro do hospedeiro (MOTA; FERRE; FARIA, 2008)

O diagnóstico da *Neospora caninum* pode ser realizado por métodos parasitológicos ou sorológicos (SILVA, 2005). A confirmação laboratorial dessa infecção deve ser realizada pelo diagnóstico parasitológico com a detecção do parasito nos tecidos, por exames histopatológicos, imuno-histoquímica e PCR, ou isolar os parasitos mediante a inoculação do material suspeito em cultivo celular ou em animais de laboratório (PETERS et al., 2001).

Os métodos diretos para o diagnóstico da *Neospora caninum* são com base nas alterações histopatológicas e na imuno-histoquímica. Inclui-se ainda a reação em cadeia de polimerase (PCR) e o isolamento de *Neospora caninum* (VOGEL et al., 2006). Já os métodos indiretos ou sorológicos são por meio de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA) e *western blot*, mais utilizados em fêmeas que tiveram abortos (DUBEY et al., 1996).

2.6.1 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

A *Reação de Imunofluorescência Indireta* (RIFI), foi o primeiro teste sorológico desenvolvido para a detecção de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988b), é uma técnica rotineira utilizada para indicativo da infecção, sendo considerada como prova de referência (DUBEY, LINDSAY, 1996).

O diagnóstico da *Neospora caninum* pelos métodos de RIFI já foi realizado em várias espécies de animais: cães, raposas, gatos, bovinos, ovinos, caprinos, búfalos, equinos, roedores e primatas. A RIFI é considerada como Padrão Ouro, devido ser padrão para comparar com novos testes desenvolvidos (VARDELEON et al., 2001).

A RIFI detecta anticorpos que se unem a antígenos localizados na superfície celular da *Neospora caninum*. Os taquizoítos são cultivados em células, e através dessa cultura obtêm-se os antígenos, para serem utilizados na realização da técnica de RIFI (DUBEY et al., 1996).

O resultado positivo é dado pela observação da fluorescência de todo o taquizoíto presente na lâmina (SILVA, 2005). Os resultados devem ser interpretados com cuidado, devido ao grau de subjetividade, o que requer uma experiência (BJÖRKMAN; UGLA, 1999), já que o

resultado é dado pela observação da fluorescência de todo o taquizoíto presente na lâmina (SILVA, 2005).

Os pontos de cortes utilizados na RIFI são diferentes entre alguns laboratórios, entretanto tem se preconizado um ponto de corte de 1:200 para bovinos e bubalinos, sendo sugestivo de infecção por *Neospora caninum* (REICHEL; DRAKE, 1996), entretanto já foram empregados pontos de corte que oscilam entre 1:200 e 1:640 (SILVA, 2005).

2.6.2 O ensaio imunoenzimático (ELISA)

A técnica de ensaio imunoenzimático (ELISA) é mais sensível e específica, e necessita de menos tempo de execução. É uma técnica simples e rápida com alta precisão, favorece uma forma de interpretação dos resultados mais fácil, além de ser de menor custo e é mais usada quando há um grande número elevado de amostras (OSAWA et al., 1998). Um outro fato importante, é que a técnica ELISA praticamente elimina a interferência pessoa, tendo assim resultados mais precisos obtidos na leitura da lâmina. (SARTOR et al., 2003).

Após o primeiro teste de ELISA ser descrito e padronizado, uma série de modificações foram introduzida no teste para o diagnóstico da infecção. A maior variação nos testes de ELISA é com preparo do antígeno utilizado, pois pode ser realizado com taquizoítos sonificados, utilizando-se antígenos extra e intra celular (PARÉ; HIETALA; THURMON, 1995), ou ainda com taquizoítos inteiros (WILLIAMS et al., 1997). O ponto de corte é um motivo de grande discussão, devido ter variações no preparo do antígeno (DUBEY et al., 1997).

2.6.3 Imuno-histoquímica

O método de imuno-histoquímica é considerado altamente específico, entretanto pouco sensível. (VAN MAANEN et al., 2004). Essa técnica apresenta melhor desempenho quando é realizado um estudo histopatológico, onde são selecionados fragmentos do sistema nervoso central com lesões (ANDERSON; BARR; CONRAD, 1994).

O diagnóstico pela imuno-histoquímica é utilizado anti-*N. caninum* sobre os cortes dos tecidos, onde são identificados os parasitas. O número de parasitas presentes nos tecidos, as vezes é reduzido e pode não ser detectados nos cortes, o que resultar em falsos negativos (ANDERSON et al., 2000), ou algumas vezes pode apresentar baixa qualidade do tecido, como nos casos de tecidos autolisado, mumificado ou macerado (DUBEY, 1999). Ocasionalmente, variações consideráveis nos resultados encontrados entre laboratórios, podem ser atribuídas à experiência do operador, utilização de anticorpos diferentes (VAN MAANEN et al., 2004).

2.6.4 Reação de Polimerase (PCR)

O diagnóstico de Reação de Polimerase (PCR) é sensível e específica, permitido grandes avanços no diagnóstico de doenças infecciosas. Estudos que utilizam PCR para diagnóstico da *Neospora caninum*, vem sendo utilizado, confirmando a especificidade e sensibilidade no diagnóstico para neosporose. (ELLIS, 1998).

A técnica de PCR amplifica sequencias de *Neospora caninum* a partir do material genético no parasita, mesmo que se encontre pequenas quantidades (HOLMDAHL; MATTSON, 1996), presente em tecidos frescos, congelados e emblocados em parafina (JENKINS et al., 2002).

2.6.5 Isolamento

O diagnóstico pelo isolamento do parasita da *Neospora caninum*, a partir de amostras de tecido com suspeita de estar infectado, pode ser feito por meio da utilização de cultivos celulares em células Vero, Marc, monócitos bovinos ou inoculação em animais sensíveis, imunossuprimidos ou não (SILVA, 2004). Vários trabalhos realizado com o isolamento da *Neospora* spp., utilizam a células Vero no cultivo, entretanto o parasita parece não ter preferência por um tipo de célula. Os cultivos celulares devem ser examinados por alguns meses, devido o parasita da *Neospora caninum* ter crescimento lento (LEI et al., 2005).

A cultura de células e inoculação em cobaias é utilizada para recuperar a *Neospora caninum* em tecidos animais (DUBEY et al., 1988b). Entretanto, a taxa de sucesso é baixa devido a maioria do parasitas da *Neospora caninum* morrer no tecido fetal, quando este não resiste à infecção do parasita (CONRAD et al., 1993).

A inoculação em cultura de células em camundongos pode ser utilizada para recuperar tecidos fetais suspeitos com parasitas, entretanto o sucesso do isolamento depende do número de organismos presentes no tecido amostrado e o grau de autólise que se encontra o mesmo (ÁLVAREZ-GUARCÍA, 2003). Essa inoculação em camundongos é mais eficiente que a inoculação direta de tecidos infectados em cultura de células para o isolamento de *Neospora caninum* (DUBEY et al., 1988b). O Isolamento da *Neospora caninum* realizado em camundongos por meio de inoculação em tecidos fetais suspeitos, não é fácil (ÁLVAREZ-GUARCÍA, 2003).

2.6.6 Teste de aglutinação Neospora (NAT)

O diagnóstico do teste de aglutinação direta de Neospora (NAT), é considerado relativamente barato, pois utiliza poucos equipamentos e materiais, além de ser de fácil interpretação. É um teste simples, o qual detecta anticorpos IgG e IgM em várias espécies (ROMAND; THULLIEZ; DUBEY, 1998). A técnica de NAT apresentou uma sensibilidade e especificidade de 100% e 98%, enquanto RIFI teve 97% e 99% (MOTA; FERRE; FARIA, 2008).

2.6.7 “Western blot”

O método de “Western blot”, é utilizado em várias espécies animais, como teste confirmatório para *Neospora caninum*, por ser considerado um teste específico (HEMPHILL; GOTTSTEIN, 2003). Este método estuda a composição antigênica de *Neospora caninum*, utilizando soros de diferentes espécies (ÁLVAREZ-GUARCÍA, 2003).

O “Western blot” de acordo com Schares et al. (1998), poderia substituir a técnica de referência RIFI da neosporose, devido apresentar uma sensibilidade mais elevada em comparação com RIFI e ELISA.

2.7 DIAGNÓSTICOS DIFERENCIAIS

Entre as diversas etiologia de aborto de origem infecciosas, a serem consideradas no diagnostico diferencial, devem ser incluídos a Diarreia Viral Bovina (BVD), Brucelose, Leptospirose, *Tritrichomonas foetus* e *Campylobacter foetus* var.*venerealis* (ÁLVAREZ-GARCIA, 2003), e Herpesvírus Bovino tipo I (HVB-1), (ENTRICAN, 2002). Por último, devem ser também consideradas as causas não infecciosas de origem alimentare genética (ÁLVAREZ-GARCIA, 2003).

2.7.1 Herpesvírus Bovino tipo 1 (HVB-1)

O *Herpesvírus bovino tipo 1* (HVB-1), pode ser dividido em três diferentes genótipos: 1(BoHV-1.1), 2a (BoHV-1.2a) e 2b (BoHV-1.2b) e são responsáveis por causar várias complicações. Assim, o BoHV-1.1 está associado à doenças respiratórias e a casos de aborto. O BoHV-1.2a está associado a manifestações clinicas do trato genital, aborto e também a infecções do trato respiratório. Já, o BoHV-1.2b, é incomum no Brasil, associado com doença respiratória leve (FRANCO; ROECHE, 2007). Uma característica muito importante independente de qual *Herpesvirus* é a sua capacidade de permanecer latente, o que lhe confere a capacidade de ficar indefinidamente em seu hospedeiro após uma primeira infecção (THIRE; DUBUISSON; PASTORET, 1986).

Quando os animais prenhes, entram em contato com o vírus, ocorre sua multiplicação e disseminação por todo o corpo do animal e pode chegar até o útero (SCHLAFER; MILLER, 2007). Desta forma o aborto pode ocorrer pela exposição do vírus nos animais e pela reativação do vírus que estava em latência (CROOK et al., 2012). O índice de aborto pelo HVB tipo 1, pode chegar a 25% no rebanho (WOUTERS, 2006).

2.7.2 Diarreia viral bovina (DVB)

A Diarreia Viral Bovina (DVB), é causado por um vírus, RNA envelopado, pertencente à família *Flaviviridae* e ao gênero *Pestivirus* (VANROOSE, 2000). O animal infectado com vírus da DVB se torna temporariamente ou persistentemente infectado (FRAY; PATON; ALENIUS, 2000). Os animais persistentemente infectados (PI), são muito importante, devido serem fonte constante de infecção para outros animais ainda saudáveis (RÜFENACH et al., 2001).

2.7.3 Brucelose

A brucelose é uma zoonose de distribuição mundial, causada por bactérias facultativas, pertencentes ao gênero *Brucella*. A brucelose acomete todas as idades e ambos os sexos, afeta principalmente os animais mais velhos, gera sérios prejuízos, devido a abortos, retenções de placenta, metrites, sub-fertilidade e até infertilidade (ACHA; SZYFRES, 2001).

2.7.4 Leptospirose

A leptospirose é uma zoonose, é uma importante causa de aborto bacteriano em bovinos em todo mundo. Leptospirose em bovinos é causada mais frequentemente por *Leptospira interrogans*, sorovar *pomona* e sorovar *hardjo* (ANTONIASSI et. al., 2007)

A maioria dos sintomas causados pela leptospiroses são assintomáticos. Entretanto a infecção pode apresentar sinais mais graves, em decorrência do estado imunológico do hospedeiro, do sorovar envolvido na infecção e da localização do patógeno (JAFARI DEHKORDI; SHAHBAZKIA; RONAGH, 2011). Na fase crônica, ocorrem infertilidade, aborto, nascimentos de natimortos e a queda na produção de leite, além de gerar perdas

econômicas, como custos com assistência veterinária, medicamentos, vacinas e testes laboratoriais (TONIN et al., 2010). Geralmente os abortos acontecem tardios, com mais de 6 meses de gestação (ANDERSON, et. al., 1990).

2.7.5 *Tritrichomonas foetus* e *Campylobacter foetus* var. *venerealis*

Infecções causadas por *Tritrichomonas foetus* e *Campylobacter foetus* var. *venerealis*. São caracterizadas por um quadro típico de repetição de cio devida à mortalidade embrionária e fetal prematura. Por isso que propriedades que mantém a monta natural é necessário incluir no diagnóstico diferencial. No caso de aborto, a investigação se realiza mediante o cultivo do agente etiológico a partir do conteúdo abomasal fetal e dos fluidos placentários (ÁLVAREZ-GARCIA, 2003).

2.7.6 Toxoplasmose

A toxoplasmose é causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (NICOLLE e MANCEAUX, 1908), uma zoonose de caráter cosmopolita, causado por coccidio intestinal de felídeos, sendo o gato doméstico como principal hospedeiros definitivo.

A contaminação de toxoplasmose em bovinos é através das pastagens e água com oocistos eliminados pelos gatos (ALBUQUERQUE et al., 2011). Entretanto a alta prevalência de reagentes em bovinos e bubalinos demonstra que estes animais podem atuar como fonte de infecção (MILLAR et al., 2008).

2.8 CONTROLE E PREVENÇÃO DA NEOSPOROSE

Os prejuízos econômicos causados pela neosporose podem chegar a centenas de milhares de dólares por ano, no mundo (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Segundo

McALLISTER et al. (1998), não existem medidas isoladas para eliminar abortamentos causados por *N. caninum* nos bovinos ou para prevenir a eliminação de oocistos pelos cães.

A base para o controle da infecção por *Neospora caninum* é a prevenção da transmissão vertical e horizontal (PARÉ et al., 1998). É fundamental a realização de testes sorológicos nos animais para avaliar o grau de infecção do rebanho (THURMOND, HIETALA, 1995). Os testes sorológicos deve ser realizada em todos os animais do rebanho, e não apenas nas vacas que abortaram, devido os bovinos poder adquirir a infecção após o nascimento através da ingestão de oocistos (McALLISTER et al., 1998) e animais cronicamente infectados, gerados por vacas soropositivas (DANNAT et al., 1995).

Para realizar o controle desta enfermidade deve buscar o bloqueio da transmissão entre cães e bovinos. Para isso, deve-se evitar o acesso de cães aos alimentos e fontes de água dos bovinos e manter os cães presos. Além disso, é importante também a remoção de restos de placentas, fetos abortados e terneiros mortos para evitar a ingestão dos mesmos pelos cães e outros carnívoros. Os bovinos mortos, de qualquer idade, devem ser removidos ou queimados antes que os carnívoros tenham acesso às carcaças. Os cães devem ser alimentados com rações ou, quando ingerirem carne ou vísceras, estas sempre devem ser cozidas. Outra medida que surte efeito é o controle da população de cães errantes (ANDREOTTI, 2001; SPURI, 2006).

Para o controle da transmissão vertical, as vacas infectadas devem ser identificadas através de provas sorológicas e gradativamente eliminadas do rebanho, uma vez que têm grande probabilidade de transmitirem a infecção à sua progênie além de maior chance de abortamento e/ou repeti-lo. No caso de animais de alto valor zootécnico, a vaca positiva pode vir a ser utilizada como doadora na transferência de embriões para receptoras negativas, como alternativa de evitar a transmissão vertical. Deve-se também realizar testes sorológicos nos animais antes de introduzi-los no rebanho a fim de evitar a entrada de animais infectados na propriedade (BJÖRKMAN, UGGLA, 1999).

Como profilaxia já são disponíveis vacinas comerciais em vários países inclusive no Brasil que garantem conferir proteção contra abortos causados por *N. caninum*. Estas vacinas embora tragam discussões sobre sua eficácia e custo-benefício devem ser mencionadas como estratégia de controle (CARVALHO NETA; TORRES JÚNIOR, 2006).

Barajas-Rojas et al. (2007), estudando a eficácia de uma vacina contra *Neospora caninum* em bovinos leiteiros em condições de campo no México verificaram que houve uma resposta imunológica mensurável aos 30 e 60 dias além de reduzir em 41% a ocorrência de abortamento

entre os animais vacinados. As medidas de prevenção e controle da neosporose muitas vezes podem tornar-se inviáveis economicamente ou pouco práticas (MUNHÓZ, 2009),

Assim, é importante, no controle da neosporose, atuar sobre as duas formas de transmissão do agente: a vertical e a transmissão horizontal (CORBELLINI et al., 2006). De acordo com Dubey, Schares e Ortega- Mora (2007), não é possível aplicar medidas gerais de controle efetivo, uma vez que cada região tem uma característica epidemiológica específica na neosporose. Assim, é prudente observar essas características antes de se realizar um programa de controle dessa doença.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A seleção das propriedades foi aleatória a partir de dados coletados na região sudoeste do estado de Mato Grosso, sendo coletadas em 5 propriedades no município de Jauru, 3 propriedades em Vila Bela da Santíssima Trindade, 5 propriedades em Vila Cardoso e 10 propriedades em Pontes e Lacerda. Com o objetivo de padronizar a amostragem foram adotados dois critérios de seleção: a presença de no mínimo dez vacas em produção (secas e em lactação) e produção média de pelo menos 40 litros de leite por dia.

A definição do número de observações (soros) necessárias para estimar a prevalência da doença nessa região foi baseada na fórmula do Centro Pan-americano de zoonoses (CEPANZO, 1979) da seguinte forma: $n = [p \times (100-p) \times z^2] / (d \times p / 100)^2$ em que n= número de amostras, p= prevalência esperada de 60%, d= erro esperado de 10% e z=grau de confiança a 1,96%.

Em cada propriedade foi selecionado o mesmo número de animais para coleta de sangue, em um total de 23 fazendas pesquisadas. Nos dias que aconteceram a coleta do material foi realizada um questionário sobre as características da propriedade, do rebanho, do manejo reprodutivo, dos principais problemas reprodutivos e do manejo sanitário. Além disso foi realizado um questionário mais detalhado da vida reprodutiva do animal coletado. Nesse histórico foi questionado se o animal tem histórico de aborto (não ou sim, e quantas vezes), assim como se houve ocorrência de outros problemas reprodutivos.

Em cada propriedade selecionadas, foi coletado sangue de no mínimo cinco e no máximo quinze animais, de acordo com a quantidade de animais disponíveis no momento da coleta. As coletas foram agendadas de acordo com o melhor horário para cada produtor e a rotina da propriedade, com intuito de gerar o mínimo estresse aos animais, assim como grandes alterações na rotina da propriedade.

O sangue foi coletado por venopunção da veia jugular, acondicionadas em tubos de ensaios de 10ml, sem anticoagulante. Após um período para separação do soro, o mesmo foi coletado através de pipetas estéreis e acondicionadas em tubos tipo *Eppendorf*[®] com capacidade de 1,5 mL e foram armazenadas a -20°C até a realização do teste sorológicos.

O diagnóstico foi baseado no teste de reação de imunofluorescência indireta, essa técnica sorológica é considerada como “padrão ouro” para a detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos. Para isso as amostras de soro foram armazenadas a -20°C até a realização do teste, esse foi realizado no Setor de Patologia Animal da Faculdade de Medicina Veterinária

da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV/UFRGS). O antígeno utilizado foi taquizoitos de *Neospora caninum* fixados em lamínas de vidro (laboratório Imunodot) como conjugado foi utilizado.

E as amostras positivas foram aquelas que apresentaram títulos na diluição 1:200 com completa fluorescência da superfície dos taquizoitos (FIGLIUOLO et al., 2004).

Análise estatística utilizada foi realizada pelo teste do Qui-Quadrado para verificar associação entre as variáveis estudadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao total foram coletadas trezentos e dezessete amostras de soros de bovinos leiteiros, de vinte e três rebanhos que apresentaram características similares como a predominância de animais mestiços com cruzamento não direcionados de diversas raças, criados extensivamente com suplementação alimentar basicamente se restringida ao fornecimento de sal mineral, independente da época do ano.

A Tabela 1 mostra que em termos de proporcionalidade o número de animais negativos foi maior em relação ao número de positivo.

Tabela 1: Soroprevalência de *Neospora caninum* em bovinos leiteiros para IFI

Resultado	Frequência relativa	Frequência absoluta
Negativo	272	85,81
Positivo	45	14,19
Total	317	100

Fonte: Elaborado pelo Autor
P<0,005

Dos 4 municípios pesquisados, o que teve mais casos de animais soropositivos foi Vila Cardoso com 22,05% seguida de Vila Bela 14,28%, Pontes e Lacerda 11,71% e por último Jauru com 11,11% (Tabela 2). Sendo que, das 23 propriedades avaliadas, 17 apresentaram pelo menos 1 animal soropositivo com prevalência de 7,14% e 33,33% (Tabela 3), o que demonstra que o parasita está amplamente distribuído nas propriedades rurais.

Tabela 2: Prevalência de animais positivos e negativos nos municípios.

Município	Positivo	%	Negativo	%	Total
Jauru	8	11,11	64	88,88	72
Vila Bela	7	14,28	42	85,71	49
Vila Cardoso	15	22,05	53	77,94	68
Pontes e Lacerda	15	11,71	113	88,28	128
Total	45		272		317

Fonte: Elaborado pelo Autor

Tabela 3: Prevalência de animais soropositivos e soronegativo em cada propriedade.

Propriedades	Soropositivos	%	Soronegativo	%	Total de Animais
1	0	0	15	100	15
2	3	25	9	75	12
3	2	18,18	9	81,81	11
4	2	15,38	11	84,61	13
5	2	13,33	13	86,66	15
6	3	30	7	70	10
7	2	13,33	13	86,66	15
8	0	0	15	100	15
9	0	0	15	100	15
10	1	7,14	13	92,85	14
11	3	20	12	80	15
12	4	26,66	11	73,33	15
13	0	0	15	100	15
14	1	8,33	11	91,66	12
15	0	0	15	100	15
16	3	25	9	75	12
17	2	13,33	13	86,66	15
18	2	13,33	13	86,66	15
19	4	26,66	11	73,33	15
20	0	0	12	100	12
21	5	33,33	10	66,66	15
22	3	20	12	80	15
23	3	27,27	8	72,72	11
Total	45	14,19	272	85,80	317

Fonte: Elaborado pelo Autor

Dos 45 animais soropositivos, 24 animais pertenciam a propriedades com histórico de nascimento de animais fracos ou natimortalidade (Tabela 4). Vinte animais soropositivos pertenciam as propriedades onde ocorreram casos de aborto, mas cabe ressaltar que não foram necessariamente animais positivos que abortaram nessas propriedades (Tabela 5). Vogel, Arenhart e Bauermann (2006), afirmam que animais soropositivos tem 3,4 vezes mais chance

de aborto quando comparados aos soronegativos. Desta forma, os casos de abortos e animais natimortos nas propriedades estudadas podem ser devido à infecção de *Neospora caninum*, pois 44,44% e 53,33% respectivamente, foram dos animais soropositivos. Embora em ambas as situações não houve associação estatística entre a soropositividade e os fatores analisados. Entretanto, isto não significa que o aborto não foi consequência da infecção, pois segundo Ragozo et al. (2003), logo após o abortamento o nível de anticorpos no soro regride, podendo não ser encontrado no exame, porem volta a aumentar entre o 4° e 5° mês gestação.

Tabela 4: Quantidade de animais positivos que pertenciam às propriedades com ocorrência de natimorto.

Natimorto	Positivo	% de positivo	Negativo	% negativo
Sim	24	53,33	166	61,03
Não	21	46,67	106	38,97
Total	45	100	272	100

Fonte: Elaborado pelo Autor
 $\chi^2=0,26$ $P=0,60$

Tabela 5: Quantidade de animais positivos que pertenciam às propriedades com ocorrência de aborto.

Aborto	Positivo	% de positivo	Negativo	% negativo
Sim	20	44,44	122	44,85
Não	25	55,56	150	55,15
Total	45	100	272	100

Fonte: Elaborado pelo Autor
 $\chi^2=0,84$ $P=0,36$

Outro fator de risco importante, a presença de cães na propriedade, foi constada em 91,30% (21/23) propriedades, tinha em média quatro animais. Não houve diferenças estatísticas para esse fator ao se analisar a soroprevalência de *Neospora caninum*. Pode-se observar que o resultado encontrado nesse trabalho de 14,2% é semelhante a trabalhos que utilizaram o mesmo ponto de corte (1:200) como nos estudos de Godim et al. (1999) e Sartor et al. (2003) que obtiveram 14,9% e 15, 9%, já Silva (2010), Costa et al. (2001) e Hasegawa et al. (2004), utilizando ponto de corte de 1:100, encontraram 13,33%, 16,83 % e 15,57%. O que indica a presença do parasita no hospedeiro intermediário.

Existem vários métodos de diagnóstico para essa enfermidade (ANDREOTTI 2001; VOGEL et al., 2006), contudo sabe-se que o teste sorológico de imunofluorescência indireta é

uma técnica considerada como “padrão ouro” para a detecção de anticorpos anti-*N.caninum* em bovinos (BRUHN, 2012). Assim como, cabe ressaltar que a presença de anticorpos séricos para *Neospora caninum* não indica necessariamente a existência de uma infecção ativa, pode indicar apenas uma exposição ao parasita ou um parasitismo estritamente relacionado e passível de reação cruzada (VARDELEON et al., 2001).

Os resultados dessa pesquisa confirmam a presença de *Neospora caninum* em rebanho de animais mestiços.

5 CONCLUSÃO

O resultado no presente estudo foi encontrado 14,2% de animais soropositivos para *Neospora caninum* na região Sudoeste do Mato Grosso. A soroprevalência da *Neospora caninum* constitui fator de risco para ocorrência de aborto, causando grandes prejuízos para o produtor.

Com o resultado obtido neste estudo, mostra a importância da infecção causada por *Neospora caninum* em bovídeos. Considerando os dados soroepidemiológicos de *Neospora caninum*, escassos no estado de Mato Grosso, e que, a neosporose tenha sido relatada recentemente no Brasil, este trabalho indicam que a infecção por *Neospora caninim* está amplamente distribuída no rebanho bovino em quatro cidades da região sudoeste do Mato Grosso. Diante disso, há a necessidade de mais estudo sobre a epidemiologia clínica e laboratorial e informar os produtores sobre essa enfermidade, a fim de reduzir o número de casos e futuros prejuízos.

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington: OPS, 2001. p. 1-420. (Bacteriosis y micosis, v. 1).

ALMERIA, S.; ARAUJO, R.; TUO, W.; LÓPEZ-GATIUS, F.; DUBEY, J. P.; GASBARRE, L. C. Fetal death in cows experimentally infected with *Neospora caninum* at 110 days of gestation. **Veterinary Parasitology**, v. 169, p. 304-311, 2010.

ÁLVAREZ-GUARCÍA, G. **Identificação e caracterização de antígenos de *Neospora caninum* com interesse imunodiagnóstico em bovinos**. 2003. 302 p. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Complutense de Madri, Madri, 2003.

ANDERSON, M. L.; BARR, B. C.; CONRAD, P. A. Protozoal causes of reproductive failure in domestic ruminants. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 10, n. 3, p. 439-461, 1994.

ANDERSON, M. L.; BLANCHARD, P. C.; BARR, B. C.; HOFFMAN, R. L. A survey of causes of bovine abortion occurring in the San Joaquin Valley, California. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 2, p. 283-287, 1990.

ANDERSON, M. L.; ANDRIANARIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417-431, 2000.

ANDERSON, M.L. ; BLANCHARD, P.C. ; BARR, B.C. ; DUBEY, J.P. ; HOFFMAN, R.L. ; CONRAD, P.A. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal American Veterinary Medical Association**, v. 198, n. 2, p. 241-244, 1991.

ANDREOTTI, R. **Neosporose**: um possível problema reprodutivo para o rebanho bovino. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2001. 14 p. (Documento nº 104).

ANTONIASSI, N. A. B.; SANTOS, A. S.; OLIVEIRA, E. C.; PESCADOR, C. A.; DRIEMEIER, D. Diagnostico das causas infecciosas de aborto em bovinos. **Biológico**, v. 69, n.2, p. 69-72, 2007.

BARAJAS-ROJAS, J. A.; MAPES, G.; YAÑEZ, Y.; MORALES, E.; LASTRA, G. Eficácia de uma vacina contra *Neospora caninum* em condições de campo no México. InterVet. Disponível em: <https://www.abspecplan.com.br/upload/library/Eficacia_vacina_contra_Neospora_caninum.pdf> Acesso em: 05/11/2018

BENETTI, A. H.; SCHEIN, F. B.; SANTOS, T. R.; TONIOLLO, G. H.; COSTA, A. J.; MINEO, J. R.; LOBATO, J.; SILVA, D. A. O.; GENNARI, S. M. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, supl. 1, p. 29-33, 2009.

BJERKAS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. Unidentified cystforming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift fur Parasitenkunde**, v.70, p.271-274, 1984.

BJORKMAN, 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, p. 41-44, 1999.

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

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Produção da pecuária municipal**. Rio de Janeiro, v. 44, p.1-51, 2016.

BRAUTIGAM, F. E.; HIETALA, S.K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para a espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15, 1996, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: PANVET, 1996, p. 284.

BRUHN, F. R. P. **Fatores de risco associados à soroprevalencia de *Neospora caninum* em bovinos leiteiros no Estado de Minas Gerais, Brasil**. 2012. 76p. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinárias), Programa de Pós-Graduação “Stricto Sensu”, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

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

CARVALHO NETA, A. V.; TORRES JÚNIOR, J. R. S. 2006. Neosporose: emergente causa de perdas reprodutivas em bovinos de corte. Disponível em:

<<https://www.beefpoint.com.br/neosporose-emergente-causa-de-perdas-reprodutivas-em-bovinos-de-corte-30030/>> Acesso em: 05/11/2018

CENTRO PANAMERICANO DE ZOONOSSES, Ramos Mejia. **Procedimientos para estudios de prevalência por muestreo**. Buenos Aires: CEPANZO, 1979. 39 p. (Nota Técnica 18).

CONRAD, P. A.; BARR, B. C.; SVERLOW, K. W.; ANDERSON, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J. P.; MUNSON, L.; ARDANS, A. *In vitro* isolation and characterization of a *Neospora* sp. from aborted bovine fetuses. **Parasitology**, v. 106, p. 239-249, 1993.

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

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

COSTA, G. H. N.; CABRAL, D. D.; VARANDAS, N. P.; SOBRAL, E. A.; BORGES, F. A.; CASTAGNOLLI, K. C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. **Semina: Londrina**, v. 22, n.1, p. 61-66, 2001. Disponível em: <http://www.uel.br/proppg/portal/pages/arquivos/pesquisa/semina/pdf/semina_22_1_19_14.pdf> Acesso em: 05/11/2018.

CROOK, T.; BENAVIDES, J.; RUSSELL, G.; GILRAY, J.; MALEY, M.; WILLOUGHBY, K. *Bovine herpesvirus 1* abortion: current prevalence in the United Kingdom and evidence of haematogenous spread within the fetus in natural cases. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, Columbia, v. 24, n. 4, p. 662-670, 2012.

DANNATT, L.; GUY, F.; TREES, A. J. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. **Veterinary Record**, v. 137, n. 22, p. 566-567, 1995.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; GENOVEZ, M. E. Diagnóstico diferencial de doenças da reprodução em bovinos: Experiência do Instituto Biológico. **Biológico**, v.69, n.2, p. 73-79, 2007.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animais. **The Korean Journal of Parasitology**, v. 41, n. 1, p. 1-6, 2003.

DUBEY, J. P.; ACLAND, H. M.; HAMIR, A. N. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a still born goat. **The Journal of Parasitology**, v. 78, n. 3, p. 532-534, 1992.

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

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

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

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

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; ADAMS, D.S.; GAY, J.M.; BASZLER, T.V.; BLAGBURN, B. L.; THULLIEZ. Serologic responses of cattle and other animals infected with *Neospora caninum*. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.57, n.3, p.329-336, 1996.

DUBEY, JP, LINDSAY, DS. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**. v. 67, p. 1-59, 1996.

ELLIS, J.T. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v.28, p.1053-1060, 1998.

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

FIGLIUOLO, L.P.; KASAI, N.; RAGOZO, A.M.; DE PAULA, V.S.; DIAS, R.A.; SOUZA, S.L.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-Toxoplasma gondii and anti-Neospora caninum antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, n.3-4, p.161-166, 2004.

FRANCO, A. C.; ROECHE, P. M. Herpesviridae. In: FLORES, E. F. (Ed.). **Virologia Veterinária**. Santa Maria: UFSM, 2007. p. 433-488.

FRAY, M. D.; PATON, D. J.; ALENIUS, S. The effects of bovine viral diarrhea virus on cattle reproduction in relation to disease control. **Animal Reproduction Science**, n. 60/61, p. 615-627, 2000.

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

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, p.71-75, 1999.

GONDIM, L.F.P.; SARTOR, I. F. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras numa propriedade com histórico de aborto. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 10, 1997, Itapema. **Anais...Itapema: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 1997. p. 346, 1997.

GOODSWEN, S. J.; KENNEDY, P. J.; ELLIS, J. T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, p. 133–150, 2013.

GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; SOUZA, S. L. P.; BERGAMASCHI, D. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 124, p. 1–8, 2004.

HASEGAWA, M. Y.; SARTOR, I. F.; CANAVESSI, A. M. O.; PINCKENEY, R. D. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de corte e em cães rurais da região de Avaré, Estado de São Paulo, Brasil. **Semina**, Londrina. v. 25, nº 1, p. 45-50, 2004.

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

HOLMDAHL, O.J.; MATTSON, J.G. Rapid and sensitive identification of *Neospora caninum* by in vitro amplification of the internal transcribed spacer. **Parasitology**, v. 82, p.112-177, 1996.

INNES, E. A.; WRIGHT, S.; BARTLEY, P.; MALEY, S.; MACALDWIE, C.; ESTEBAN-REDONDO, I.; BUXTON, D. The host-parasite relationship in bovine neosporoses. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 108, p. 29-36, 2005.

JAFARI DEHKORDI, A.; SHAHBAZKIA, H.; RONAGH, N. Evaluation of pathogenic serovars of *Leptospira interrogans* in dairy cattle herds of Shahrekord by PCR. **Iranian Journal of Microbiology**, v. 3, n. 3, p. 135–9, set. 2011.

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

JUNQUEIRA, J.R.C.; ALFIERI, A.A. Falhas da reprodução na pecuária bovina de corte com ênfase para causas infecciosas. *Semina: Ciências Agrárias*, v.27, n.2, p.289-298, 2006.

LEI, Y.; DAVEY, M.; ELLIS, J. Autofluorescence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* cysts *in vitro*. **Journal of Parasitology**, v. 91, n. 1, p. 17-23, 2005.

LINDSAY, D.S. Question: What is the economic impact of the disease? **Veterinary Exchange**, v. 20, n. 11, p. 13, 1998.

LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P., McALLISTER, M.M *Neospora caninum* and potential for parasite transmission. **Compendium**, v.21, p.317-321, 1999.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v.82, n. 4, p.327-333, 1999.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; HOFFMANN, D.C.S.; DITTRICH, J. R. Neosporose equina – revisão. **Archives of Veterinary Science**. v.11, n.3, p.1-10, 2006.

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

MELO, C.B.; LEITE, R.C.; LOBATO, Z.I.P.; LEITE, R.C. Infection by *Neospora caninum* associated with bovine herpesvirus 1 and bovine viral diarrhea virus in cattle from Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 119, p. 97–105, 2004.

MOSKWA, B.; PASTUSIAK, K; BIEN, J; CABAJ, W. The first detection of *Neospora caninum* DNA in the colostrum of infected cows. **Parasitology Research**, v. 100, n. 3, p. 633-636, 2007.

MOTA, R. A.; FERRE, I.; FARIA, E. B. Situação da neosporose bovina no Brasil e métodos de diagnóstico, **Medicina Veterinária**, v. 2, n. 1, p. 38-48, 2008.

MÜLLER, N.; VONLAUFEN, N.; GIANINAZZI, C.; LEIB, S. L.; HEMPHILL, A. Application of real-time fluorescent PCR for quantitative assessment of *Neospora caninum* infections in organotypic slice cultures of rat central nervous system tissue. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 252-255, 2002.

MUNHOZ, K. F. Soro-ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em ovinos de propriedades rurais localizadas no norte do Paraná, Brasil. 2009. 12-25 p. Dissertação (Mestrado em Sanidade Animal), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Paraná.

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

OSAWA, T.; WASTLING, J.; MALEY, S.; BUXTON, D.; INNES, E. A. A multiple antigen Elisa to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. **Veterinary Parasitology**, v.79, p.19-34, 1998.

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

PARÉ, J.; HIETALA, S.K.; THURMON, M.C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. Infection in cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p.273- 275, 1995.

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

REICHEL, M. P.; DRAKE, J. M. The diagnosis of *Neospora caninum* abortions in cattle. **New Zealand Veterinary Journal**, v.44, p.151-154, 1996.

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

ROMAND, S.; THULLIEZ, P.; DUBEY, J. P. Direct agglutination test for serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. **Parasitology Research**, v. 84: p. 50-53, 1998.

RÜFENACH, J.; SCHALLER, P.; AUDIGÉ, L.; KNUTTI, B.; KUPFER, U.; PETERHANS, E. The effect of infections with bovine virus diarrhea virus on the fertility of swiss dairy cattle. **Theriogenology**, v. 56, p. 199- 210, 2001.

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

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

SAWADA, M.; PARK, C. H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I.; UMEMURA, T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. **The Journal of Veterinary Medical Science**, v.60, n. 7, p.853-854, 1998.

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

SCHLAFER, D. H.; MILLER, R. B. Pathology of the gravid uterus, placenta and fetus abortion and stillbirth. In: MAXIE, M. G. (Ed.). Jubb, Kennedy, and Palmer's pathology of domestic animals. **Philadelphia: Elsevier**, v. 3, p. 529-531, 2007.

SERRANO-MARTINEZ, E.; FERRE, I.; OSORO, K.; ADURIZ, G.; MOTA, R. A.; MARTINEZ, A.; DEL-POZO, I.; HIDALGO, C. O.; ORTEGA-MORA, L. M.: Intrauterine *Neospora caninum* inoculation of heifers and cows using contaminated semen with different numbers of tachyzoites. **Theriogenology**, v. 67, n. 4, p. 729-737, 2006.

SILVA, A. C. Diagnóstico da neosporose bovina. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 29-32, 2004. 2010. 85 p.

SILVA, C. L. Inquérito sorológico de *Neospora caninum* em rebanhos bovinos leiteiros no município de Parauapebas, mesorregião sudoeste do Estado do Pará. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal), Núcleo de Ciência Agrárias e Desenvolvimento Rural, Universidade Federal do Pará. Belém, 2010.

STENLUND S. A.; KINDAHL, H. A.; MAGNUSSON, U. A.; UGGLA, A. B.; BJÖRKMAN, C. C. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 85, n. 4, p. 227-234, set. 1999.

THIRE, E.; DUBUISSON, J.; PASTORET, P. P. Pathogenesis, latency and reactivation of infection by herpesvírus. **Revue Scientifique et Technique**, v. 5, n. 4, p. 809-819, 1986.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Strategies to control *Neospora* infection in cattle. **Bovine Practitioner**, n. 29, p. 60-63, 1995.

TONIN, A. A.; AZEVEDO, M. I. De; ESCOBAR, T. P.; CASASSOLA, I.; GASPARETTO, L.; SCHAFER, A.; SILVA, D.; LUIS, J.; MARTINS, R.; SCHAEFER, C.; RENATO, M.; BADKE, T. Leptospirose bovina: aumento na incidência da *Leptospira interrogans* sorovar Butembo no rebanho do estado de Santa Catarina, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica (UFERSA)**, v. 4, n. 4, p. 294-297, 2010.

VAN MAANEN, C., WOUDA, W., SCHARES, G., VON BLUMRÖDER, D., CONRATHS, F.J., NORTON, R., WILLIAMS, D.J.L., ESTEBAN-REDONDO, I., INNES, E.A, MATTSSON, J.G., BJÖRKMAN, C., FERNÁNDEZ-GARCÍA, A., ORTEGA-MORA, L.M., MÜLLER, N., SAGER, H., HEMPHILL, A. An interlaboratory comparison of immunohistochemistry and PCR methods for detection of *Neospora caninum* in bovine fetal tissues. **Veterinary Parasitology**, v.126, p.351- 364, 2004.

VANLEEUEWEN, J. A.; HADDAD, J. P.; DOHOO, I. R.; KEEFE, G. P.; TIWARI, A.; TREMBLAY, R. Associations between reproductive performance and seropositivity for bovine leukemia virus, bovine viral-diarrhea virus, *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, and *Neospora caninum* in Canadian dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdã, v. 94, n. 1-2, p. 54-64, abr. 2010.

VANROOSE, G. Interaction of bovine viral diarrhoea vírus and foot-and-mouth disease vírus with bovine reproductive tissue and embryos. **Reproduction Domestic Animals**, v. 35, n. 6, p. 273-276, Dec. 2000.

VARDELEON, D.; MARSH, A. E.; THORNE, J. G.; LOCH, W.; YOUNG, R.; JOHNSON, P. J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.95, p.273-282, 2001.

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

WILLIAMS, D.J. L.; McGARRY, J.; GUY, F.; BARBER, J.; TREES, J. Novel ELISA for detection of *Neospora*-specific antibodies in cattle. **The Veterinary Record**, v.140, p.328-331, 1997.

WOUDA, W.; BRINKHOF, J.M.A.; VAN MAANEN, C.; 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 Diagnostic Laboratory Immunology**, v.5, n. 5, p.711-716, 1998.

WOUTERS, F. Diarreia bovina a vírus: doença das mucosas. In: VARASCHIN, M. S. (Ed.). **Patologia especial das principais doenças transmissíveis na reprodução e bovinos**. 3. ed. Lavras: UFLA, p. 27-36, 2006.

APÊNDICE- Questionário aplicado aos produtores

Nº do questionário: _____ Data de aplicação: (/ /)

I – IDENTIFICAÇÃO DO QUESTIONÁRIO

1. Nome da Propriedade:
2. Município:
3. Tamanho da Área:

II – IDENTIFICAÇÃO DO PROPRIETÁRIO(A)

4. Nome:	Idade:
5. Reside na propriedade: () Não () Sim	Sexo: () M F ()

III - IDENTIFICAÇÃO DO INFORMANTE

6. Nome:	Idade:
7. Cargo ocupado: () Dono () Gerente () Funcionário	Sexo: () M F ()

IV – IDENTIFICAÇÃO DA PROPRIEDADE

8. Quantidade de animais na propriedade: Fêmeas () / Macho ()
9. Método de criação: () Extensivo () Semi-extensivo () Confinamento
10. Época da chuva é fornecido suplementação: () Não () Sim () Volumoso () Concentrado () Sal mineral
11. Época da Seca é fornecido suplementação: () Não () Sim () Volumoso () Concentrado () Sal mineral
12. Fatores que afetam a produção: () Seca () Excesso de chuva () Solo () água para criação () Falta de Crédito () Doenças () Falta Informação
13. A propriedade possui cães: () Não () Sim Quantos:
14. Qual alimentação dos cães: () Rações () Restos (vísceras) de animais

V – HISTÓRICO DOS ANIMAIS

15. Quantidade de animais acima de 24 meses: Fêmeas () / Macho ()
16. Método de cobertura: MN () / IA () / IATF () / Outros:
17. Monta natural utiliza quantos Touros? Realiza exame andrológico: Sim () Não () qual a frequência ()
18. Raças predominante:
19. Quantidades de vacas em lactação:

Ordenha mecânica: Sim () não ()	
20. Quantidade de média de leite por dia:	Frequência de ordenha diária: 1 () 2 () 3 ()
21. Tem histórico de aborto: () Não () Sim Nos últimos 12 meses:	
22. Qual época que ocorre maior casos de aborto: Seca () / Chuva ()	
23. Qual categoria que ocorre maior casos de aborto: Nulíparas () primíparas () multíparas ()	
24. Após o aborto como ocorre seu descarte: () Incineração () Enterrar () Permanece no mesmo local	
25. Destinos dos restos placentários após parto () Incineração () Enterrar () Permanece no mesmo local	
26. Quais são as vacinas aplicadas no manejo normal da propriedade () Brucelose () IBR/BVDV () Leptospirose () Campilobacteriose.	
27. Repetição do cio: Sim () Não () Frequência:	
28. Nascimento de animais fracos ou natimortalidade: Sim () não ()	
29. Cão tem acesso ao armazenamento do alimento dos bovinos: () Não () Sim	
30. Utiliza cães na lida com os bovinos: () Não () Sim	