



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

SINTIA BARBOZA BASTOS

NEOSPORA CANINUM:
SOROEPIDEMIOLOGIA E FATORES ASSOCIADOS EM VACAS
E CÃES DE PROPRIEDADES LEITEIRAS DE CUNHA-SP,
BRASIL

SINTIA BARBOZA BASTOS

NEOSPORA CANINUM:
SOROEPIDEMIOLOGIA E FATORES ASSOCIADOS EM VACAS
E CÃES DE PROPRIEDADES LEITEIRAS DE CUNHA-SP,
BRASIL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. João Luis Garcia

Londrina
2018

BARBOZA BASTOS SINTIA

NEOSPORA CANINUM:

**SOROEPIDEMIOLOGIA E FATORES ASSOCIADOS EM VACAS E CÃES
DE PROPRIEDADES LEITEIRAS DE CUNHA-SP, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito para a obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. João Luis Garcia
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Roberta Lemos Freire
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Dauton Luiz Zulpo
Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUC

Londrina, 06 de julho de 2018.

**Dedico este trabalho as pessoas que me
respeitam, me incentivam e que dão sentido a
minha vida: Nadir, Anacleto, Antônio Carlos,
Silvana, Luara, Lucas e Vinícius.**

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. João Luis Garcia pela oportunidade de aprimoramento de meus estudos, pela confiança e conhecimento.

Ao Prof. Dr. Dauton Luiz Zulpo que contribui com a elaboração deste projeto, gratidão pelo incentivo e dedicação na condução das atividades.

Ao professores do programa de pós graduação em Ciência Animal pelo conhecimento compartilhado, principalmente, a Prof. Dra. Roberta Lemos Freire pela contibuição na finalização deste trabalho.

Aos amigos pela força e incentivo, principalmente, a Jamile Haddad pelo exemplo de carater e perseverança. E, a Salete e a Janete que estão sempre no apoio e na torcida.

Gostaria de agradecer a equipe da SerrAcima que me apoiaram na realização deste trabalho, principiamente, a Alketa Bestaku, que me incentivou do início ao fim; em especial, a todos os produtores rurais que disponibilizaram seus animais para a pesquisa e também ao pessoal do Laboratório de Parasitologia, principalmente, a Thais Agostinho, Ana Sue Sammi, Felipe Danyel Cardoso Martins que me ajudaram na execução, além da Marcelle Mareze e o Prof. Dr. Ivo Alexandre Leme da Cunha que contribuíram para a finalização deste trabalho.

Desistir...
Eu já pensei seriamente nisto, mas nunca me levei realmente a sério; é que tem mais chão nos meus olhos do que cansaço nas minhas pernas, mais esperança nos meus passos, do que tristeza nos meus ombros, mais estrada no meu coração do que medo na minha cabeça.

Cora Coralina

1 BASTOS, Sintia Barboza. *Neospora Caninum*: soroe epidemiologia e fatores associados em
2 vacas e cães de propriedades leiteiras de Cunha-SP, Brasil. 2018. 65 f. Dissertação (Mestrado
3 em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

6 RESUMO

9 *Neospora caninum* é um protozoário intracelular obrigatório causador da neosporose, que é
10 uma das principais causas de problemas reprodutivos em bovinos, ocasionando abortamento e
11 perdas econômicas na pecuária leiteira. A enfermidade, como várias outras de ordem
12 reprodutiva, apresenta diagnóstico clínico difícil, desta forma a identificação do agente por
13 técnicas de diagnóstico é fundamental para, posteriormente, determinar as medidas de
14 prevenção e controle. O objetivo deste estudo foi avaliar a soroprevalência de anticorpos
15 contra *N. caninum* em bovinos de leite e em cães do município de Cunha, SP, BR. Além de
16 avaliar os fatores associados à neosporose em vacas e cães de propriedades leiteiras e a
17 incidência do *N. caninum* em fêmeas de bovinos leiteiros. A amostragem foi obtida através do
18 programa Open Epi 3.01, onde foi utilizado uma prevalência de 50%, erro esperado de 5% e
19 intervalo de confiança de 95%, tendo como resultado uma amostragem mínima de 384
20 animais. Na primeira fase do estudo, de novembro a dezembro de 2015, foram selecionadas
21 40 propriedades distribuídas de forma que houvesse uma representatividade no município,
22 conforme a disponibilidade do proprietário. Foram coletadas 400 amostras de sangue de
23 bovinos de leite e 50 amostras de sangue de cães. Após 18 meses, na segunda fase do estudo,
24 entre fevereiro e abril de 2017, foram realizadas novas colheitas de amostras de sangue em
25 fêmeas bovinas de 16 propriedades já avaliadas anteriormente. Do total de 187 amostras
26 coletadas, 68 amostras foram obtidas de vacas já avaliadas no primeiro estudo com resultados
27 sorológicos positivos e negativos ao anti- *N. caninum* e 119 amostras de sangue foram
28 colhidas de vacas ausentes na primeira fase do estudo. As amostras de soro foram analisadas
29 por meio da reação de imunofluorescência indireta (IFI), bovinos com títulos ≥ 100 e cães ≥ 50
30 foram considerados positivos. A soroprevalência total para anticorpos contra *N. caninum* foi
31 15,0% (60/400) e 14,0% (7/50) em bovinos e cães respectivamente. Do total de 68 amostras
32 de fêmeas colhidas em 2015 e 2017, 4 soroconverteram para positiva, 5,9% (4/68), 10
33 apresentaram reação negativa em 2017, 14,7% (10/68), enquanto 5,9% (4/68) das fêmeas
34 testadas após 18 meses continuaram soropositivas e 73,50% (50/68) das fêmeas continuaram
35 soronegativas. Após 18 meses a incidência calculada foi de 7,4% (4/54). Comparando a
36 prevalência do rebanho em 2015 e 2017, do presente estudo, foi observado que 69 (13,3%)
37 dos 519 animais amostrados foram considerados positivos para anti-*N. caninum*: 60/400
38 (15,0%) em 2015 e 9/119 (7,56%) em 2017. À análise estatística do questionário
39 epidemiológico e das vacas positivas ao anti- *Neospora caninum* foram observados que
40 presença de aborto, as propriedades com cães positivos ao anti-*Neospora caninum* e a
41 presença de piquetes para parição apresentaram associação de risco e, como fatores de
42 proteção foram observados a idade até 2 anos e o número de vacas em lactação menor ou
43 igual 10 animais. O trabalho revelou a presença do *N. caninum* circulando na região estudada,
44 sugerindo o papel de fêmeas bovinas e cães como potenciais reservatórios e transmissores da
45 enfermidade. Estes dados fornecem embasamento para programas estratégicos afim de
46 realizar medidas de monitoramento e controle da enfermidade sobre estes hospedeiros.

47
48 **Palavras-chave:** Anticorpos. Bovinocultura de leite. Neosporose e incidência.

BASTOS, Sintia Barboza. *Neospora Caninum*: soroepidemiologia and factors associated in cows and dogs of dairy properties of Cunha-SP, Brazil. 2018. 65 p. Dissertation (Master's degree in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

Neospora caninum is a mandatory intracellular protozoan that causes neosporosis, which is one of the main causes of reproductive problems in cattle, causing abortion and economic losses in dairy cattle. The disease, like several others of a reproductive order, presents a difficult clinical diagnosis. In this way, the identification of the agent by diagnostic techniques is fundamental to later determine the prevention and control measures. The objective of this study was to evaluate the seroprevalence of antibodies against *N. caninum* in cattle and dogs of the municipality of Cunha, SP, Brazil. In addition to evaluating, the factors associated with neosporosis in dairy cows and dogs and the incidence of *N. caninum* in dairy cattle. Sampling was obtained through the Open Epi 3.01 program, where a prevalence of 50%, expected error of 5% and 95% confidence interval was used, resulting in a minimum sampling of 384 animals. In the first phase of the study, from November to December 2015, we selected 40 properties distributed in such a way that there was a representation in the municipality, according to the availability of the owner. 400 blood samples from cattle and 50 blood samples from dogs were collected. After 18 months, in the second phase of the study, between February and April 2017, new blood samples were collected in bovine females from 16 previously evaluated animals. From the 187 samples collected, 68 samples were obtained from cows already evaluated in the first study with positive and negative serological results to anti-*N. caninum* and 119 blood samples were collected from cows absent in the first phase of the study. Serum samples were analyzed by means of the indirect immunofluorescence (IFI) reaction, bovine animals with titers ≥ 100 and dogs ≥ 50 were considered positive. The total seroprevalence for antibodies against *N. caninum* was 15.0% (60/400) and 14.0% (7/50) in cattle and dogs respectively. From the 68 samples of females collected in 2015 and 2017, 4 seroconverted to positive, 5.9% (4/68), 10 showed negative reaction in 2017, 14.7% (10/68), while 5.9% (4/68) of females tested after 18 months remained seropositive and 73.50% (50/68) of females remained seronegative. After 18 months, the calculated incidence was 7.4% (4/54). Comparing the prevalence of the herd in 2015 and 2017, 69 (13.3%) of the 519 animals sampled were considered positive for anti-*N. caninum*: 60/400 (15.0%) in 2015 and 9/119 (7.56%) in 2017. The statistical analysis of the epidemiological questionnaire and *Neospora caninum*-positive cows showed that the presence of abortion, with dogs positive to the anti-*Neospora caninum* and the presence of pickets for calving had an association of risk and, as protection factors were observed the age up to 2 years and the number of lactating cows less than or equal to 10 animals. The work revealed the presence of *N. caninum* circulating in the studied region, suggesting the role of bovine females and dogs as potential reservoirs and transmitters of the disease. These data provide a basis for strategic programs in order to carry out monitoring and control measures of the disease on these hosts.

Keywords: Antibodies. Milk cattle. Neosporosis and incidence.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Ciclo de vida do *Neospora caninum* 15
- Figura 2** – Mapa do município de Cunha/SP com a identificação das propriedades
leiteiras selecionadas para amostragem do estudo no ano de 2015..... 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Soroprevalência do <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras em alguns países do mundo	16
Tabela 2.	Soroprevalência do <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras no Brasil.....	17
Tabela 3.	Variáveis associadas à presença do <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras positivas no município de Cunha, São Paulo, no ano de 2015	42
Tabela 4.	Avaliação dos resultados da IFI em amostras de vacas leiteiras contra o <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras no município de Cunha, São Paulo, no ano de 2015 e 2017	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REFERENCIAL TEÓRICO - NEOSPOROSE	13
2.1	INTRODUÇÃO.....	13
2.2	CICLO BIOLÓGICO DO PROTOZOÁRIO	14
2.3	EPIDEMIOLOGIA	15
2.4	VIAS DE TRANSMISSÃO	18
2.5	PERDAS ECONÔMICAS	19
2.6	SINAIS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO	20
2.7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
	REFERÊNCIAS	22
3	OBJETIVOS	34
3.1	OBJETIVO GERAL	34
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	34
4	ARTIGO – SOROPREVALÊNCIA DO NEOSPORA CANINUM EM VACAS E CÃES DE PROPRIEDADES LEITEIRAS DE CUNHA, SÃO PAULO, BRASIL.	35
	RESUMO	36
	ABSTRACT	37
4.1	INTRODUÇÃO	38
4.2	MATERIAL E MÉTODOS	39
4.3	RESULTADOS	42
4.4	DISCUSSÃO	44
4.5	CONCLUSÃO	48
4.6	REFERÊNCIAS DO ARTIGO	49
5	CONCLUSÃO	55
	ANEXOS	56
	ANEXO A – Parecer do Comitê de Ética em Uso Animal	57

APÊNDICES	58
APÊNDICE A – Termo de Consentimento do Uso Animal	59
APÊNDICE B – Questionário Epidemiológico	60
APÊNDICE C – Fatores associadas ao <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras no município de Cunha, São Paulo, no ano de 2015	61
APÊNDICE D – Fatores associadas ao <i>Neospora caninum</i> em vacas leiteiras no município de Cunha, São Paulo, no ano de 2015	63

1 INTRODUÇÃO

A bovinocultura de leite é uma cadeia produtiva importante no agronegócio mundial, atingindo em 2015 uma produção de 656 mil toneladas de leite, apresentando como destaque na produção os seguintes países: Estados Unidos, Índia, China, Brasil, Alemanha, Rússia, França, Nova Zelândia, Turquia e Reino Unido (FAO, 2016). O Brasil abriga um dos maiores rebanhos produtivos do mundo, com 23 milhões de fêmeas bovinas em lactação, com uma produção de 34,5 bilhões de litros de leite em 2017, com estimativa de aumento anual entre 2,1 e 3,0% (BRASIL, 2017).

O município de Cunha (23° 04' 26"S e 44° 57' 36" W) localiza-se na fronteira entre os estados de São Paulo e Rio de Janeiro, na região do Vale do Paraíba Paulista, ocupando uma área de 1.400Km², 950 metros de altitude (IBGE, 2010). Com base nos dados da Coordenadoria de Defesa Agropecuária – CDA, o rebanho bovino se constituía de 90.000 cabeças cadastradas, distribuídas em 1.886 propriedades rurais do município (CDA, 2014). Historicamente, a pecuária extensiva voltada à produção de leite, carne ou mista tem sido a atividade agropecuária mais importante, ocupando cerca de 60% das áreas produtivas na maioria dos municípios da região, sendo a principal atividade geradora de renda no meio rural (CATI, 2010).

Neospora caninum vem sendo relatado em diversos países, incluindo o Brasil, como a principal causa de abortamento em rebanhos de bovinos leiteiros e de corte (ALMERÍA; LÓPEZ-GATIUS, 2015). Clinicamente é difícil confirmar o diagnóstico de neosporose por existirem casos assintomáticos e pelos sinais inespecíficos da parasitose, logo, o diagnóstico laboratorial é de suma importância para confirmar uma infecção por *N. caninum* (ANDREOTTI et al., 2010).

O manejo sanitário do rebanho bovino é deficitário, em grande parte das pequenas e médias propriedades na região, principalmente pela falta de diagnóstico e de conhecimento de medidas preventivas contra as doenças reprodutivas, pois estas doenças apresentam alterações clínicas comuns, como o aborto e a infertilidade, gerando perdas econômicas expressivas. Portanto, pela escassez de informações sobre a prevalência de *N. caninum* em rebanhos bovinos no município de Cunha, São Paulo, objetivou-se, neste estudo, determinar a presença de anticorpos anti- *N. caninum* em vacas leiteiras oriundas de pequenas e médias propriedades rurais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO - NEOSPOROSE

2.1 INTRODUÇÃO

A neosporose é uma doença parasitária distribuída em todo o mundo, cujo agente etiológico é o *Neospora caninum*, o qual até 1988 era confundido com o *Toxoplasma gondii*, devido as suas estruturas similares (DUBEY et al., 1988a). Esse parasita foi diagnosticado pela primeira vez em 1984, em cães na Noruega (BJERKAS et al., 1984) e caracterizado posteriormente com novo gênero e espécie (DUBEY et al., 1988a). Desde então, tem emergido como grave doença em cães e bovinos (DUBEY et al., 2003). Atualmente cães (*Canis lupus familiaris*), coiotes (*Canis latrans*), dingos (*Canis lupus dingo*) e lobos cinzas (*Canis lupus*), são as únicas espécies reconhecidas como hospedeiros definitivos do *N. caninum* (McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004; KING et al., 2010; DUBEY; SCHARES, 2011), podendo infectar diversas espécies de animais, tais como, bovinos, aves, equinos, bubalinos, caprinos e cervídeos, raposas cinzentas (DUBEY, 2003; VARASCHIN et al., 2012; NASCIMETO et al., 2015).

Neospora caninum pertence ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Família Sarcocystidae; esta classificação foi feita por meio de estudos morfológicos utilizando microscopia eletrônica e resultados da análise da sequência de DNA, sendo este um protozoário intracelular obrigatório (ELLIS et al., 1994).

Por volta de 1990, a neosporose foi considerada como uma relevante causa de abortamento em bovinos (THILSTED; DUBEY, 1989; ANDERSON et al., 1991; BARR et al., 1990), apresentando também, outros distúrbios reprodutivos, como repetição de cio e infertilidade, além de nascimento de bezerros debilitados, sendo responsável por elevados prejuízos econômicos na pecuária de corte e, especialmente, na pecuária leiteira (THURMOND; HIETALA, 1996; PARÉ et al., 1997; DUBEY, 1999; DUBEY & LINDSAY, 1996).

A transmissão vertical ou transplacentária é a forma mais importante de infecção por *N. caninum*, pois as fêmeas prenhes na fase de parasitemia transmitem ao feto via placenta (BJORKMAN et al., 1999; PARÉ; THURMOND; HIETALA, 1997; DAVISON; OTTER; TREES, 1999), podendo atingir a ordem de 50 a 95% de transmissão, contribuindo com a manutenção do protozoário no rebanho (WOUDA et al., 1998; STURARO, et al., 2013).

Também, é descrita a transmissão horizontal, onde os canídeos, hospedeiros definitivos, eliminam oocistos do parasito pelas fezes contaminando água, alimentos e pastagens, e estes, quando esporulados e ingeridos pelos hospedeiros intermediários, são fontes de infecção (MCALLISTER et al., 1998; DUBEY, 2003; GONDIM et al., 2004). Além, da infecção dos hospedeiros definitivos por meio da ingestão de tecidos de bovinos e de outras espécies, como aves, com cistos teciduais (BJERKAS; MOHN; PRESTHUS, 1984; DUBEY et al., 1988a; BARR et al., 1993; ROMANELLI et al., 2007). E através, da ingestão de placentas e abortos provenientes de vacas soropositivas para *N. caninum* (DIJKSTRA et al., 2008).

O diagnóstico da neosporose pode ser realizado por meio de métodos indiretos, que evidenciam a presença de anticorpos no soro dos animais infectados, como soroprecipitação, ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (IFI), e de métodos diretos que revelam a presença do agente, como imunohistoquímica (IHC) e reação em cadeia de polimerase (PCR), dentre estes, os mais utilizados são ELISA e IFI (SARTOR et al., 2005).

Os bovinos apresentam positividade sorológica variando entre 6,8 e 67,8% dos animais nos diferentes estudos realizados (TEIXEIRA et al., 2010; AMARAL et al., 2012). Já entre a população canina brasileira analisada, observou-se grande diferença entre a reatividade sorológica de cães urbanos e rurais, sendo que os animais amostrados em cidades apresentam positividade variando de 6,7 a 35,6% (MINEO et al., 2004), enquanto que cães provenientes de zonas rurais atingiram 60% de animais positivos (HASEGAWA et al., 2004).

No entanto, são necessários estudos constantes a fim de determinar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em fêmeas de bovinos e em cães de propriedades rurais, observando a prevalência, a ocorrência e o modo de transmissão vertical e horizontal deste protozoário a fim de determinar mecanismos eficientes de controle e prevenção.

2.2 CICLO DE VIDA DO *NEOSPORA CANINUM*

O ciclo de vida do agente é heteroxênico, com a presença de hospedeiro definitivo e hospedeiro intermediário; os cães atuam tanto como hospedeiros definitivos quanto intermediários para o *N. caninum* (McALLISTER et al., 1998; DUBEY et al., 2002a).

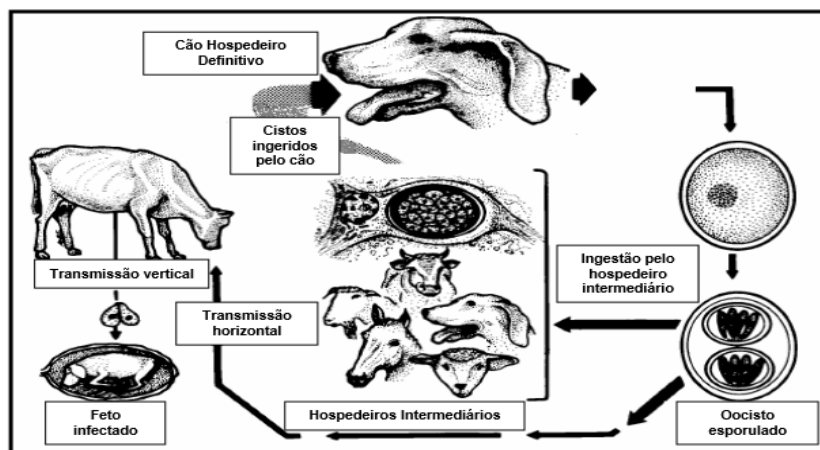
A ingestão oral de carnes cruas ou restos placentários ou aborto contendo o cisto tecidual, com bradizoítos, por hospedeiros carnívoros promove a diferenciação sexual do parasito nos tecidos intestinais, com a formação de oocistos que são excretados nas fezes. No

ambiente, ocorre a esporulação com a formação de dois esporocistos com quatro esporozoítos cada (DUBEY et al., 2002), estes serão ingeridos por meio água ou alimento contaminados pelos hospedeiros intermediários que serão infectados (GONDIM et al., 2005). O desenvolvimento e sobrevivência dos oocistos no meio ambiente ainda são poucos conhecidos.

Após a infecção, na corrente sanguínea os bradizoítos, transformam-se em taquizoítos que penetram na célula do hospedeiro por invasão ativa, formando o vacúolo parasitóforo no citoplasma e replicam rapidamente em células neurais, macrófagos, fibroblastos, endotélio e hepatócitos (ELLIS et al., 1999b). E novamente, formarão cistos teciduais intracelularmente, onde os bradizoítos replicam vagarosamente, principalmente em tecidos neurais, como cérebro, coluna espinhal, e na retina. Os fatores que influenciam a formação do cisto tecidual não são bem conhecidos (DUBEY et al., 2007).

Sob certas circunstâncias, como prenhes e imunodeficiência, os bradizoítos podem converter-se em taquizoítos, que proliferam assexuadamente, promovendo a infecção fetal ou causar lesões nestes animais imunossuprimidos (DUBEY, 2003). A figura 1 representa o ciclo biológico do *N. caninum*.

Figura 1 - Ciclo biológico do *Neospora caninum* (DUBEY, 1999).



2.3 EPIDEMIOLOGIA

Estudos sorológicos realizados ao longo dos últimos anos confirmam os trabalhos de Anderson et al. (1991) e Barr et al. (1991) na Califórnia, EUA e demonstraram que a neosporose é a principal causa de abortamentos em bovinos, com elevada prevalência em vacas leiteiras em todo o mundo (Tabela 1)

Tabela 1. Soroprevalência do *Neospora caninum* em vacas leiteiras em alguns países do mundo.

Autor	País	N	Prevalência		Título de ponto de corte
			%	Técnica	
Armengol et al. (2007)	Andorra	1758	7,4	ELISA	
Eiras et al. (2011)	Galícia	37.090	23,6	IFI	100
Furtado et al. (2011)	Uruguai	734	28,8	ELISA	
Nasir et al. (2012)	Austrália	133	44,4	ELISA	
Fort et al. (2015)	Argentina	864	20,3	ELISA	
Qian et al. (2017)	China	510	41,2	IFI	100
Yildiz et al. (2017)	Turquia	116	18,1	ELISA	
Softic et al. et al. (2018)	Bósnia	1970	9,2	ELISA	

No Brasil, o protozoário foi diagnosticado pela primeira vez no Mato Grosso do Sul (MS) por Brautigam et al. (1996). Logo após, foi relatado em um feto bovino abortado na região de Botucatu (GONDIM, 1999b) e, a partir destes, vários estudos epidemiológicos foram realizados por meio da sorologia em diferentes espécies animais, confirmando a presença do agente em diversas regiões do país (HASEGAWA et al., 2004; MINEO et al., 2004), reforçando a necessidade de incluir a infecção pelo *N. caninum* no diagnóstico diferencial de abortamentos e doenças neurológicas de bovinos (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2004).

Vários estudos foram realizados em bovinos leiteiros em todas as regiões do país e confirmaram a presença de vacas reagentes ao *anti-Neospora caninum*, com uma prevalência média de 31,4% (Tabela 2)

Tabela 2. Soroprevalência do *Neospora caninum* em vacas leiteiras no Brasil.

Autor	Estado	N	Prevalência %	Técnica	Título de ponto de corte
Região Sul					
LocatelliDittrichet al. (2001)	PR	172	34,8	ELISA	
Corbellini et al. (2002)	SC	29	65,5	ELISA	
Corbellini et al. (2002), Guimarães Júnior et al. (2004)	RS	223	12,2	IFI	50
Camilo et al. (2010)	PR	623	21,55	IFI	50
Katto et al. (2017)	PR	1778	24,2	IFI	100
Snak et al. (2018)	PR	735	19,7	IFI	100
Região Sudeste					
Melo et al. (2001)	MG	359	18,7	ELISA	
Sartor et al. (2003)	SP	521	30,5	ELISA	
Sartor et al. (2003)	SP	521	15,9	IFI	100
Munhoz et al. (2006)	RJ	123	23,06	IFI	100
Cardoso et al. (2012)	SP	2750	37,1	IFI	100
Região Centro-Oeste					
Melo et al. (2006)	GO	930	30,4	IFI	250
Oshiro et al. (2007)	MS	2488	14,90	IFI	25
Benetti et al. (2009)	MT	932	53,5	IFI	100
Martins et al. (2011)	TO	192	33,33	IFI	200
Região Nordeste					
Gondim et al. (1999)	BA	447	14,1	IFI	100
Teixeira et al. (2010)	MA	812	50,74	IFI	200
Região Norte					
Silva et al. (2013)	PA	465	13,33	IFI	100

Em um estudo realizado em nove municípios do norte do estado do Paraná avaliou associações de risco e fator de proteção para infecção por *N. caninum* em bovinos, sendo observado que a idade dos animais influenciou para a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum*, com maior número de bovinos positivos após os 24 meses de idade. Já a presença de cães positivos nas propriedades e a prevalência nos bovinos apresentaram correlação positiva fraca; enquanto a produção de silagem e/ou concentrado na propriedade atuou como fator de proteção (GUIMARÃES JUNIOR et al., 2004).

Martins et al. (2012) analisando fatores epidemiológicos revelaram que a produção de alimentos na fazenda, a ausência de programa de inseminação artificial e o acesso de animais domésticos e selvagens às instalações das vacas leiteiras ou ao alimento das vacas demonstraram associação de risco significativo com a presença de anticorpos contra *Neospora caninum*.

2.4 VIAS DE TRANSMISSÃO

A neosporose é transmitida por duas vias principais a vertical e a horizontal (DUBEY et al, 2007). A infecção vertical ou congênita é considerada a principal via de transmissão e manutenção do *N. caninum* nos rebanhos bovinos, onde a fêmea infectada transmite para o seu feto durante a gestação (CARDOSO et al., 2012). Estudos sorológicos, com base em amostras de sangue obtidas antes da ingestão do colostro, apontam que 81 a 95% das vacas positivas a *N. caninum* transmitem o protozoário para seus descendentes em sucessivas gestações (BARR et al., 1993; PARÉ et al., 1996, 1997; HIETALA; TRURMOND, 1999).

Em um estudo com vacas leiteiras prenhes e tecidos (cérebro, pulmão, coração e fígado) de seus fetos usadas para PCR e avaliação sorológica foram observados em 41,6% (25/60) das vacas prenhes e em 43,3% (26/60) das vacas não gestantes apresentaram anticorpos contra *N. caninum*. Anticorpos contra o parasita foram detectados em soros de três fetos (5,5%). A análise de PCR revelou que 3,3% (2/60) das vacas e 6,6% (4/60) dos fetos avaliados foram positivos para primers específicos de *N. caninum* (MACEDO et al., 2013). Enquanto em um outro estudo, em vacas de leite que abortaram, no estado de Santa Catarina, pelo uso das técnicas de ELISA (HerdCheck, IDEXX), reação em cadeia pela polimerase (PCR) e imunohistoquímica (IHC); observaram uma alta frequência de *N. caninum* em abortamentos de vacas leiteiras (51,2% das vacas e 26,7% dos fetos), com maior prevalência de *N. caninum* em vacas com mais de 36 meses de idade (MACEDO et al, 2017).

Paré et al. (1997); Gondim et al. (2004) e More et al. (2009), observaram a relação entre o maior grau de transmissão com os altos títulos de anticorpos durante a gestação. Em infecções adquiridas no início da gestação, antes do desenvolvimento do sistema imune fetal, comumente causam morte fetal, como demonstrado em vacas infectadas experimentalmente com taquizoítos de *N. caninum* (DUBEY, 2005). Em um estudo em abatedouro, em Santa Catarina, observaram que fetos positivos tinham entre 4 a 6 meses de idade gestacional (MACEDO et al, 2013). Além de, em determinados períodos, a infecção fetal não levar ao

abortamento, assim fêmeas podem nascer infectadas congenitamente e com potencial de transmitir o agente para seus descendentes em futuras e consecutivas gestações, com sinais clínicos inaparente (ANDERSON; ADRIANA VIRO; CONRAD, 2000).

Bezerros são classificados como infectados se o soro coletado antes da ingestão do colostro ou soro obtido a partir da quinta semana pós nascimento apresentar título ≥ 50 (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007), entretanto Cardoso et al. (2012) observaram, também em bezerros, que anticorpos colostrais podem ser detectados por período superior a cinco meses.

Touros soropositivos excretaram, esporadicamente, *N. caninum* no sêmen, com frequência da detecção do DNA e a carga do protozoário baixas, sugerindo que o risco de transmissão sexual é baixo com pequena importância epidemiológica (FERRE, et al., 2003).

O *N. caninum* também pode ser adquirido após o nascimento, pela ingestão de tecidos infectados com taquizoítos ou cistos teciduais ou pela ingestão de alimentos ou água contaminados por oocistos esporulados, caracterizando a transmissão horizontal (PARRÉ et al., 1997).

Em relação à atuação dos cães na transmissão da neosporose, Cardoso et al. (2012) observaram que a alta ocorrência da infecção por *N. caninum* em cães de fazenda pode ser devido ao comportamento de carnívoro, pois estes animais podem ingerir tanto pequenos animais domésticos e silvestres como bovinos mortos, fetos e restos placentários, aumentando as possibilidades de infecção.

A fase aguda da infecção por *N. caninum* em cães é marcada pela eliminação de oocistos, os quais são detectados nas fezes durante os primeiros 30 a 40 dias de infecção. No entanto, ainda não é bem compreendida a frequência de excreção de oocistos de *N. caninum* pelos canídeos, a resistência dos oocistos no ambiente e se cães podem eliminar mais de uma vez os oocistos (McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2005).

2.5 PERDAS ECONÔMICAS

A neosporose é responsável por elevados prejuízos econômicos em rebanhos de corte e, especialmente, a pecuária leiteira (DUBEY; LINDSAY, 1996). Na Califórnia, EUA, foi relatado 40.000 abortamentos de bovinos, aproximadamente, por ano, com uma perda

financeira para os produtores de cerca de US\$ 35 milhões/ano (ANDERSON et al., 1991; ANDERSON et al., 1995).

O impacto econômico da infecção por esse protozoário está relacionado tanto ao valor dos fetos abortados, quanto aos custos indiretos com auxílio profissional, redução da vida produtiva da vaca, aumento do tempo de lactação, possíveis quedas de produção de leite e custo com o diagnóstico (THURMOND; HIETALA, 1997).

Na Nova Zelândia e Austrália, acredita-se que essas perdas possam passar de 100 milhões de dólares australianos anualmente (REICHEL, 2000). Já na Suíça, a neosporose é considerada uma doença de notificação obrigatória e as perdas econômicas no gado leiteiro chegam a 9,7 milhões de euros anualmente (HASLER et al., 2006 a, b)

Estudo realizado em fazendas leiteiras na região de pampa úmido da Argentina estimaram prejuízos de US\$ 1.865,00 por aborto, o que equivale a uma perda total de US\$ 43.607.430,00 (MOORE et al., 2013).

2.6 SINAIS CLÍNICOS E DIAGNÓSTICO

Fêmeas podem abortar a partir do terceiro mês de gestação, porém a maioria dos estudos apontam que os abortamentos ocorrem entre quatro e seis meses (LINDSAY, et al., 1996). Também, podem apresentar reabsorção ou mumificação fetal, além de nascimento de bezerros clinicamente normais, porém com infecção crônica inaparente. (DUBEY; LINDSAY, 1996; DUBEY, 2006). Ainda, a infecção e o abortamento podem ocorrer em gestações consecutivas ou não (BARR, et al., 1990; ANDERSON, et al.; 1991).

Nos bezerros neonatos infectados ocorrem sinais neurológicos, como membros posteriores e/ou anteriores flexionados ou hiperestendidos, ataxia, diminuição do reflexo patelar, perda de consciência, exoftalmia, assimetria ocular e deformidades associadas com lesões de células nervosas, na fase embrionária, mielite, miocardite e encefalite (DUBEY, 2006). Os sintomas aparecem cerca de cinco dias após o parto (BARR et al., 1993), com possibilidade de óbito nas primeiras quatro semanas de vida (DUBEY; LINDSAY, 1996).

O diagnóstico da neosporose é baseado na detecção de anticorpos específicos no soro sanguíneos de animais infectados (BJÖRKMAN & UGGLA, 1999) e visualização de lesões características no cérebro, coração e fígado de fetos abortados, combinado com exames de

imunohistoquímica (IHQ) de tecidos contendo lesões (ANDERSON, et al., 1991; BARR et al., 1990) e sorologia fetal (BUXTON et al., 1998).

A imunofluorescência indireta é empregada no diagnóstico sorológico da infecção e em estudos epidemiológicos, tendo sido considerada como técnica de referência (“gold standard”) em Neosporose (ÁLVAREZ-GARCIA, 2002). Estudos sorológicos indicam que títulos ≥ 200 (IFI) são específicos para infecção por *N. caninum* (DUBEY et al., 1996), porém animais com títulos ≥ 100 podem ser considerados positivos (CARDOSO et al., 2012; KATOO et al., 2017; PADILHA, et al., 2017). No entanto, Macedo et al. (2017) observa que a sorologia, PCR (Reação em Cadeia pela Polimerase) e IHC (imunohistoquímica) deveriam ser utilizadas conjuntamente para melhor diagnóstico de neosporose em bovinos.

Existe indicações que títulos sorológicos podem regredir em algumas situações, como logo após o abortamento ou parto, devido a migração de anticorpos para a glândula mamária, desse modo, a escolha de um de ponto de corte e época da realização do teste são relevantes para determinar o diagnóstico (CONRAD et al., 1993). Além de declínio de anticorpos em fêmeas bovinas na faixa etária entre 13 e 24 meses, em animais infectados congenitamente, recomendam-se observação atenta na interpretação de resultados sorológicos nesta idade. (HIETALA; THURMOND, 1999).

2.7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por se tratar de uma doença para a qual não existe tratamento específico, e o controle ser baseado na determinação da infecção do rebanho por meio de exame sorológico (MINERVINO et al.; 2008). A detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* por meio da IFI em fêmeas bovinas, principalmente, com problemas reprodutivos é de extrema importância para elucidar o diagnóstico da neosporose.

Também, para o efetivo controle da neosporose, recomenda-se diminuir gradativamente o número de animais soropositivos na propriedade, priorizando o descarte desses animais, evitando manter no rebanho vacas infectadas e suas filhas (CARDOSO et al., 2012). Além de, enterrar resíduos de parto, aborto e animais mortos; em relação aos cães, deve-se evitar a permanência destes na área destinada ao rebanho e não fornecer carne e vísceras cruas.

Para o futuro, novos trabalhos deverão ser realizados para elucidar os aspectos epidemiológicos ligados especialmente aos mecanismos de transmissão, da resposta imune e diagnóstico, a fim de diminuir os prejuízos econômicos na bovinocultura de leite.

REFERÊNCIAS

ALMERIA, S.; LOPEZ-GATIUS, F. Markers related to the diagnosis and to the risk of abortion in bovine neosporosis. *Research in Veterinary Science*, Kidlington, v. 100, p. 169–175, 2015.

ÁLVAREZ-GARCIA, G.; PEREIRA-BUENO, J.; GÓMES-BATISTA, 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, n. 1-2, p. 15-27, 2002

AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; JÚNIOR, J. W. P.; NETO, O. L. S.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. *Pesq. Vet. Bras.*, Seropédica, v.32, n.10, 2012.

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

ANDERSON, M.L; PALMER, C.W.; TRURMOND, M.C; PICANSO, J.P.; BLANCHARD, P.C.; BREIRMEYER, R.E; LAYTON, A.W.; McALLISTER, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; READ, D.H.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A.; BARR, B.C. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Chicago, v.2, n.9, p. 1206-1210, 1995.

ANDERSON, M.L.; ANDRIANA RIVO, A.G.; CONRAD, P.A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, Quebec, v.60-61, p. 407-431, 2000.

ANDREOTTI, R.; BARROS, J. C.; PEREIRA, A. R.; OSHIRO, L. M.; CUNHA, R. C.; FIGUEIREDO NETO, F. Association between seropositivity for *Neosporacanium* and reproductive performance of beef heifers in the Pantanal of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 19, n. 2, p. 119-123, 2010.

ARMENGOL, R.; PABÓN, M.; SANTOLARIA, P.; CABEZÓN, O.; ADELANTADO C.; YÁNIZ, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; ALMERÍA, S. Low seroprevalence of *Neospora caninum* infection associated with the limousin breed in cow-calf herds in Andorra, Europe. *International Journal for Parasitology*, Kidlington, v. 93, n. 5, p. 32-1029, 2007.

BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; DAFT, B.M.; KINDE, H.; CONRAD, P.A. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v.27, p. 354-361, 1990.

BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; DUBEY, J. P.; ANDERSON, M. L. Neospora-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. *Journal Veterinary Diagnostic Invest*, Foster City, v. 3, p. 39-46, 1991.

BARR, B. C.; CONRAD, P. A.; BREITMEYER, R.; SVERLOW, K.; ANDERSON, M. L.; REYNOLDS, J.; CHAUVET, A. E.; DUBEY, J. P.; ARDANS, A. A. Congenital *Neospora* infection in calves born from cows that had previously aborted *Neospora*-infected fetuses. *Journal of American Veterinary Medical Association*, Chicago, v. 202, p. 113-117, 1993.

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. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v. 18, p. 29-33, 2009.

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

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

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA – MAPA. Projeções da política agrícola. Sumários Executivos. Política Agrícola Leite. Brasília: MAPA, 2017. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/sumarios-executivos/leite-1.pdf/view>>. Acesso em 05 de dezembro de 2017.

BRAUTIGAM, C. P.; HIETALA, S. K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: Congresso Pan-americano de Ciências Veterinárias. *Abstracts Associação Pan-americana de Ciências Veterinária*, Campo Grande, p.284, 1996.

BUXTON, D.; MALEY, S. W.; WRIGHT, S.; THOMSON, K. M.; RAE, A. G.; INNES, E. A. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. *Journal of Comparative Pathology*, Amsterdam, v. 118, p. 267-279, 1998.

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*, Belo Horizonte, v. 62, n. 6, p. 1511-1513, 2010.

CARDOSO, J. M. S., AMAKU, M., ARAÚJO, A. N. U. S., GENNARI, S. M. A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on three dairy farms in Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 187, p. 553-557, 2012.

CATI – Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Secretaria da Agricultura Estado de São Paulo. Projeto LUPA, 2008. Disponível em www.cati.sp.gov.br/projetolupa/dadosestado.php. Acesso em 17 set. 2016.

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

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*, Glasgow, v. 106, p. 239-249, 1993.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO–CDA/SP. Unidade Regional de saúde animal e vegetal de Guaratinguetá. TC2 da campanha de novembro de 2014, Disponível em www.cda.sp.gov.br/gedave/dadosestado.php. Acesso em 20 maio 2015.

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

DIAS, J.A.; MULLER, E.E.; DIAS, R.A.; FREITAS, J.C.; AMAKU, M.; FERREIRA, F.; SILVA, M.C.P.; LOBO, J.R.; FIGUEIREDO, V.C.F.; GONÇALVES, V.S.P.; FERREIRA-NETO, J.S. Situação epidemiológica da brucelose bovina no Estado do Paraná. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootecnica*, Belo Horizonte, v. 61, p. 66-76, 2009.

DIJKSTRA, T.; LAM, T.J.; BARTELS, C. J.; EYSKER, M.; WOUDA, W. Natural postnatal *Neospora caninum* infection in cattle can persist and lead to endogenous transplacental infection. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 152, n. 1-2, p. 220-225, 2008.

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 American Veterinary Medicine Association*, Chicago, v. 193, n. 10, p. 1259-1263, 1988a.

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

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

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKAS, I.; BJORJKMAN, C.; BLAGBURN, B.L.; BOWMAN, D. D.; BUXTON, D.; ELLIS, J. T.; GOTTSTEIN, B.; HEMPHILL, A.; HILL, D. E.; HOWE, D. K.; JENKINS, M. C.; KOBAYASHI, Y.; KOUDELA, B.; MARSH, A. E.; MATTSSON, J. G.; McALIISTER, M. M.; MODRY, D.; OMATA, Y.; SIBLEY, L. D.; SPEER, C. A.; TREES, A. J.; UGGLA, A.; UPTON, S. J.; WILLIAMS, D. J. L.; LINDSAY, D. S. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidian. *International Journal of Parasitology*, Kidlington, v. 32, n. 20, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal Parasitology*, Seoul, v. 41, n. 1, p. 116, 2003.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, Philadelphia, v. 21, n. 2, p. 473-483, 2005.

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

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals – the last five years. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 180, n. 1, p. 90-108, 2011.

ELLIS, J.; LUTON, K.; BARVERSTOCK, P. R.; BRINDLETY, P. J.; NIMMO, K. A.; JOHNSON, A. M. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Molecular Biochemical Parasitology*, Quebec, v. 64, p. 303-311, 1994.

ELLIS, J. T.; MORRISON, D. A.; LIDDELL, S.; JENKINS, M. C.; MOHAMMED, O. B.; RYCE, C.; DUBEY, J. P. The genus *Hammondia* is paraphyletic. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 118, p. 357-362, 1999b.

EIRAS, C.; ARNAIZ, I.; ALVAREZ-GARCIA, G.; ORTEGA-MORA, M. L.; 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*, United States of American, v. 98, p. 2-3, 2011.

FAO, FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Cenário Pecuária no Brasil. Disponível em: <http://www.fao.org>. Acesso em 12 de maio de 2018.

ORTEGA-MORA, L.M. Diagnóstico de la infección y del aborto causado por *Neospora caninum* en los bovinos. *Producción Animal*, Panamá City, v.1 90, p. 52-56, 2003.

FORT, M.; EDELSTEN, M.; MALEY, S.; INNES, E. Seroepidemiological study of *Neospora caninum* in beef and dairy cattle in La Pampa, Argentina. *Acta Parasitology*, Warsaw/Poland, v. 60, p. 275-82, 2015.

FURTADO, A.; ROSADILLAI, D.; CATTÁNEOII, M.; BERMÚDEZII, J.; PUENTES, R. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in small dairy farms in Uruguay. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, n. 4, p. 673-675, 2011.

GONDIM, L. F.; SARTOR, I. F.; MONTEIRO Jr., L. A.; HARITANI, M. *Neospora caninum* infection in an aborted bovine foetus in Brazil. *New Zealand Veterinary Journal*, New Zealand, v. 47, n.1, p. 35, 1999b.

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

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

GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; MATEUS-PINILLA, N. E.; PITT, W. C.; MECH, L. D.; NELSON, M. E. Transmission of *Neospora caninum* oocysts by dogs. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 134, p. 22-29, 2005.

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*, Amsterdam, v.124, n.1-2, p.1-8, 2004.

HASEGAWA, M. Y.; SARTOR, I. F.; CANAVESSI, A. M. O.; PINCKNEY, 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: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 25, n. 1, p. 45-50, 2004.

HASLER, B.; REGULA, G.; STARK, K.D.C.; SAGER, H.; GOTTSTEIN, B.; REIST, M. Financial analysis of various strategies for the control of *Neospora caninum* in dairy Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine*, United States of American, v.77, p. 230-253, 2006a.

HASLER, B.; STARK, K.D.C.; SAGER, H.; GOTTSTEIN, B.; REIST, M. Simulating the impact of four control strategies on the population dynamics of *Neospora caninum* in infection in Swiss dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, United States of American, v. 77, p. 254-283, 2006b.

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

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Estatística da Produção Pecuária. Censo Agropecuário de 2010. Brasília: IBGE, 2010. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>. Acesso em 17 set. 2016.

KATTO, S.; FILHO, L. F. C.; BOGADO, A. L. G.; MARTINS, T. A.; SAMMI, A. S.; SANTOS, J. R.; KONO, I. S.; SEIXAS, M.; NINO, B. S. L.; GARCIA, J. L. Anti-*Neospora caninum* antibodies among dairy cattle in a rural settlement, Paraná, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 38, n. 1, p. 259-266, 2017.

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

LOCATELLI-DITTRICH, R. et al. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil. *Journal of Parasitology*, México city, v. 87, n. 6, p. 1493-1494, 2001.

LOCATELLI-DITTRICH, R.; THOMAZ-SOCCOL, V.; RICHARTZ, R. R. T.B.; GASINO-JOINEAU, M. E.; VAN DER VINNE, R.; PINCKNEY, R. D. Isolamento de *Neospora caninum* de feto bovino de rebanho leiteiro no Paraná. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 13, n. 3, p. 103-109, 2004.

MACEDO, C. A.; MACEDO, M. F.; CARDIM, S. T.; PAIVA, M. C.; TARODA, A.; BARROS L. D.; CUNHA; I. A.; ZULPO, D. L.; GARCIA; J. L. *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered dairy cows (*Bos taurus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 22, p. 7-13, 2013.

MACEDO, A. B.; MACEDO, M. F. S. B.; MIURA, A. C.; ALESSANDRA TARODA, A.; CARDIM, S. T.; INNES, E. A.; KATZER, F.; CANTÓN, G. J.; CHIANINI, F.; HEADLEY, S. A.; GARCIA, J. L. Occurrence of abortions induced by *Neospora caninum* in dairy cattle from Santa Catarina, southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 292-298, 2017.

MARTINS, A. A.; ZAMPROGNA, T. O.; LUCAS, T. M.; CUNHA, I. A. L.; GARCIA, J. L.; SILVA, A. V. Frequency and risk factors for infection by *Neospora caninum* in dairy farms of Umuarama, PR. *Brazil. Arq. Ciênc. Vet. Zool.*, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 137-142, 2012.

MARTINS, N. E. X.; FRESCHI, C. R.; BAPTISTA, F.; MACHADO, R. Z.; FREITAS, F. L. C.; ALMEIDA, K. S. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas lactantes do município de Araguaína, estado do Tocantins, Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, Goiás, v. 40, n. 3, p. 231-238, 2011.

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

MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N., LEITE, R.C. *Neospora caninum*: Distribuição de anticorpos em três faixas etárias de rebanhos bovinos de leite em Minas Gerais. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, Belo Horizonte, v. 25, n. 2 p. 250-251, 2001.

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

MINEO, T. W. P.; SILVA, D. A. O.; NASLUND, K.; BJORKMAN, C.; UGGLA, A.; MINEO, J. R. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 414-417, 2004.

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

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

MORE, 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*, Amsterdam, v. 160, n. 1-2, p. 51-54, 2009.

MOURA, A. B.; S. C. OSAKI, S.C.; ZULPO, D. L.; J. L. Garcia, J. L.; E.B. Teixeira, E. B. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos da microrregião de Guarapuava, PR, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.79, n.3, 2012.

MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T. DA; ALMEIDA, C. R. R.; LOPES, C. W. G. Distribution of anti-*Neospora caninum* antibodies in dairy cows at Municipalities of Resende and Rio Claro in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 15, n. 3, p. 101-104, 2006.

NASCIMENTO, C. O. M.; SILVA, M. L. C. R.; KIM, P. C. P., GOMES, A. A. B.; GOMES, A. L. V.; MAIA, R. C. C.; ALMEIDA, J. C; MOTA, R. A. Occurrence of *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em tecidos do cérebro de raposa do campo (*Pseudalopex vetulus*) no Brasil. *Acta Tropical*, Madrid, v. 146, n. 3, p. 60-65, 2015.

NASIR, A.; LANYON, S. R.; SCHARES, G.; ANDERSON, M. L.; REICHEL, M. P. Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Besnoitia besnoiti* in South Australian beef and dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 186, p. 480-485, 2012.

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*, Jaboticabal, v. 16, n. 3, p. 133-138, 2007.

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

QIAN, W.; WANG, T.; YAN, W.; ZHANG, M.; HAN, L.; XUE, R.; SONG, S.; LV, C. Seroprevalence and first multilocus microsatellite genotyping of *Neospora caninum* in dairy cattle in Henan, central China. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 244, p. 81-84, 2017.

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

REICHEL, M. P. *Neospora caninum* infectious in Australia and New Zealand. *Australian Veterinary*, Australian, v. 78, p. 258-261, 2000.

ROMANELLI, P. R.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E. R. M.; OGAWA, L.; DEPAULA, V. S. O.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Research in Veterinary Science*, Kidlington, v. 82, p. 202-207, 2007.

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

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

SOFTIC, A.; ASMARE, K.; GRANQUIST, E. G.; GODFROID, J.; FEJZIC, N.; SKJERVE, E. The serostatus of *Brucella spp.*, *Chlamydia abortus*, *Coxiella burnetii* and *Neospora caninum* in cattle in three cantons in Bosnia and Herzegovina. *BMC Veterinary Research*, Norway, v. 14, p. 2-9, 2018.

STURARO, L. G. R.; ZANENGA, C. A ; PEDROSO, M. F.; PALAZZI, E. G. R. Desempenho reprodutivo entre receptoras bovinas não contaminadas e naturalmente infectadas por *Neospora caninum*, após a transferência de embriões. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, São Paulo, v. 33, p. 970-974, 2013.

TEXEIRA, W. C.; UZEDA, R. S.; GODIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalence of anti-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) antibodies in dairy cattle in rural properties of three microrregions of Maranhão, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, São Paulo, v. 30, n. 9, p. 1-12, 2010.

THILSTED, J. P. e DUBEY, J. P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, Foster City, v. 1, n. 3, p. 205-209, 1989.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Culling associated with Neosporacanium infection in dairy cows. *American Journal Veterinary Research*, Arizona, v. 57, p. 1559-1562, 1996.

TREES, A. J.; DAVISON, H. C.; INNES, E. A.; WASTLING, J. M. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *International Journal of Parasitology*, Kidlington, v. 29, p. 1195-2000, 1999.

VARASCHIN, M. S.; HIRSCH, C.; WOUTERS, F.; NAKAGAKI, K. Y.; GUIMARÃES, A. M.; SANTOS, D. S.; BEZERRA, P. S.; COSTA, R. C.; PECONICK, A. P.; LANGOHR, I. M. Congenital neosporosis in goats from the state of Minas Gerais, Brazil. *The Korean Journal of Parasitology*, Seoul, v. 50, n. 1, p. 63-67, 2012.

YILDIZ, K.; GÖKPINAR S., SÜRSAL N., DEĞİRMENCI R. Seroprevalence of *Neospora Caninum* in Dairy Cattle Raised in Çiçekdağı District of Kırşehir Province. *TürkiyeParazitDerg*, Ankara-Turquia, v. 41, p. 135-138, 2017.

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

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Determinar o perfil soroepidemiológico do *Neospora caninum* em vacas e em cães de propriedades leiteiras no município de Cunha - SP, Brasil

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar a prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* por meio da IFI.

Avaliar fatores associados à neosporose em vacas e cães de propriedades leiteiras.

Avaliar a incidência do *N. caninum* em fêmeas de bovinos leiteiros.

4 ARTIGO

NEOSPORA CANINUM: SOROEPIDEMIOLOGIA E FATORES ASSOCIADOS EM VACAS E CÃES DE PROPRIEDADES LEITEIRAS DE CUNHA-SP, BRASIL.

NEOSPORA CANINUM: SOROEPIDEMIOLOGIA AND FACTORS ASSOCIATED IN COWS AND DOGS FROM DAIRY PROPERTIES OF CUNHA-SP, BRAZIL

RESUMO

A neosporose é uma doença parasitária de distribuição mundial, cujo agente etiológico é um protozoário intracelular obrigatório *Neospora caninum*, o qual pode causar abortamentos e infertilidade em fêmeas, promovendo elevados prejuízos econômicos principalmente na pecuária leiteira. O objetivo deste estudo foi avaliar a soroprevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos de leite do município de Cunha, SP, BR. A amostragem foi obtida através do programa Open Epi 3.01, onde foi utilizado uma prevalência de 50%, erro esperado de 5% e intervalo de confiança de 95%, tendo como resultado uma amostragem mínima de 384 animais. As colheitas foram realizadas em duas fases, na primeira fase, novembro a dezembro de 2015, participaram do estudo um total de 400 bovinos de leite e 50 cães presentes em 40 propriedades estudadas. Após 18 meses, na segunda fase, fevereiro a abril de 2017, foi realizada nova colheita em vacas de apenas 16 propriedades avaliadas em 2015. Amostras de soro foram analisadas por meio da reação de imunofluorescência indireta (IFI), bovinos com títulos ≥ 100 e cães ≥ 50 foram considerados positivos. A soroprevalência total para anticorpos contra *N. caninum* foi de 15,0% (60/400) e 14,0% (7/50), bovinos e cães respectivamente. Após 18 meses a incidência calculada foi de 7,4% (4/54). Do total de 68 amostras de fêmeas colhidas em 2015 e 2017, 5,9% (4/68) soroconverteram para positiva, 14,7% (10/68) apresentaram reação negativa em 2017, enquanto 5,9% (4/68) das fêmeas testadas após 18 meses continuaram soropositivas e 73,50% (50/68) das fêmeas continuaram soronegativas. Comparando a prevalência do rebanho em 2015 e 2017, do presente estudo, foi observado que 69 (13,3%) dos 519 animais amostrados foram considerados positivos para anti-*N. caninum*: 60/400 (15,0%) em 2015 e 9/119 (7,56%) em 2017. Por meio da análise estatística do questionário epidemiológico e das vacas positivas ao *Neospora caninum* foram observados que presença de aborto, as propriedades com cães positivos ao *Neospora caninum* e a presença de piquetes para parição apresentaram associação de risco e, como fatores de proteção foram observados a idade até 2 anos e o número de vacas em lactação menor ou igual 10 animais, estes apresentando $p \leq 0,05$ e $1 < OR > 1$. O trabalho revelou a presença do *N. caninum* circulando na região estudada, sugerindo o papel de fêmeas bovinas e cães como mantenedores e transmissores da enfermidade. Estes dados fornecem embasamento para programas estratégicos afim de realizar medidas de monitoramento e controle da enfermidade sobre estes hospedeiros.

Palavras-Chave: Anticorpos, Bovinocultura de Leite, Neosporose e Incidência.

ABSTRACT

Neosporosis is a parasitic disease of worldwide distribution, whose etiological agent is a mandatory intracellular protozoan *Neospora caninum*, which can cause abortions and infertility in females, promoting high economic losses, especially in dairy cattle. The objective of this study was to evaluate the seroprevalence of antibodies against *Neospora caninum* in cattle from the city of Cunha, SP, Brazil. Sampling was obtained through the Open Epi 3.01 program, where a prevalence of 50%, expected error of 5% and 95% confidence interval was used, resulting in a minimum sampling of 384 animals. The harvests were carried out in two phases, in the first phase, from November to December 2015, a total of 400 dairy cattle and 50 dogs were present in 40 studied farms. After 18 months, in the second phase, from February to April 2017, a new harvest was carried out on cows from only 16 farms evaluated in 2015. Serum samples were analyzed by means of the indirect immunofluorescence (IFI) reaction, cattle with titres ≥ 100 and dogs ≥ 50 were considered positive. The total seroprevalence for antibodies against *N. caninum* was 15.0% (60/400) and 14.0% (7/50), cattle and dogs respectively. After 18 months the calculated incidence was 7.4% (4/54). From the total of 68 samples of females harvested in 2015 and 2017, 5.9% (4/68) seroconverted to positive, 14.7% (10/68) presented a negative reaction in 2017, while 5.9% (4/68) of females tested after 18 months remained seropositive and 73.50% (50/68) of females remained seronegative. Comparing the prevalence of the herd in 2015 and 2017, 69 (13.3%) of the 519 animals sampled were considered positive for anti-*N. caninum*: 60/400 (15.0%) in 2015 and 9/119 (7.56%) in 2017. A statistical analysis of the epidemiological questionnaire and *Neospora caninum* positive cows showed that the presence of abortion, with positive dogs to *Neospora caninum* and the presence of pickets for calving showed a risk association and, as protective factors were observed, the age up to 2 years and the number of lactating cows less than or equal to 10 animals, these presenting $p \leq 0.05$ and $1 < OR > 1$. The work revealed the presence of *N. caninum* circulating in the studied region, suggesting the role of bovine females and dogs as maintainers and transmitters of the disease. These data provide a basis for strategic programs in order to carry out monitoring and control measures of the disease on these hosts.

Key Words: Antibodies, Milk Cattle, Neosporosis and Incidence.

4.1 INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um protozoário apicomplexa, descrito pela primeira vez em 1984 na Noruega (BJERKAS et al., 1984). Até 1988 foi diagnosticado como *Toxoplasma gondii* devido às semelhanças morfológicas (DUBEY et al., 1988a). Os hospedeiros definitivos do protozoário são cães (*Canis lupus familiaris*), coiotes (*Canis latrans*), dingos (*Canis lupus dingo*) e lobos cinzas (*Canis lupus*) (McALLISTER et al., 1998; GONDIM et al., 2004; KING et al., 2010; DUBEY; SCHARES, 2011) e como hospedeiros intermediários, bovinos, aves, equinos, bubalinos, caprinos e cervídeos, raposas cinzentas (DUBEY, 2003; VARASCHIN et al., 2012; NASCIMETO et al., 2015).

A neosporose é um problema mundial em bovinos e cães (DUBEY, 2003), e é considerada a principal causa de abortamentos em rebanhos de bovinos leiteiros e de corte (ALMERÍA; LÓPEZ-GATIUS, 2015), principalmente, do terceiro ao oitavo mês de gestação (LINDSAY et al., 1996). A transmissão do agente se dá pela via vertical ou horizontal. Na transmissão vertical, considerada a mais frequente, a vaca prenhe transmite o protozoário para o feto pela placenta, ocasionando o aborto ou o nascimento descendentes congenitamente infectados (RAMOS et al., 2016). Em um estudo com vacas de leite que abortaram, no estado de Santa Catarina, observaram que 51,2% das vacas e 26,7% dos fetos foram positivos no ELISA ao *N. caninum* (MACEDO et al., 2017). O *N. caninum* também pode ser adquirido após o nascimento, transmissão horizontal, pela ingestão de tecidos infectados com taquizoítos ou cistos teciduais ou pela ingestão de alimentos ou água contaminados por oocistos esporulados, caracterizando a transmissão horizontal (PARRÉ et al., 1997)

O diagnóstico da neosporose pode ser realizado por meio de métodos indiretos, que evidenciam a presença de anticorpos no soro dos animais infectados, como a reação de imunofluorescência indireta (IFI) (SARTOR et al., 2005), tendo sido considerada como técnica de referência (“gold standard”) em Neosporose (ÁLVAREZ-GARCIA, 2002).

Em diversos estudos realizados em vacas leiteiras no país observou-se a soroprevalência variando entre 12,2 e 92,1% (COBERLLINI et al., 2002; GUEDES et al., 2008). Já entre a população canina brasileira analisada, observou-se grande diferença entre a reatividade sorológica de cães urbanos e rurais, sendo que os animais amostrados em cidades apresentam positividade variando de 6,7 a 25,8% (MINEO et al., 2001; GENNARI et al., 2002; MORAES et al., 2008; MASCOLLI, et al., 2015), enquanto que cães provenientes de zonas rurais atingiram 60% de animais positivos (HASEGAWA et al., 2004).

A neosporose é responsável por elevados prejuízos econômico na pecuária de corte e, especialmente, na pecuária leiteira (DUBEY & LINDSAY, 1996). Devido aos problemas reprodutivos nas fêmeas bovinas, ocorre a necessidade de gastos com profissionais para diagnóstico e medidas de controle em animais infectados que sofreram abortamento, despesa com o estabelecimento de uma nova gestação, abate prematuro das fêmeas adultas que abortaram, reposição dos animais abatidos, possíveis perdas na produção de leite. (THURMOND; HIETALA, 1996; PARÉ et al., 1997; WALDNER et al., 1998; DUBEY, 1999; PFEIFFER et al., 2002).

Devido a ocorrência de abortamentos em vacas leiteiras e a escassez de informações sobre a presença do *N. caninum* no rebanho no município de Cunha, SP, objetivou-se, neste estudo, determinar a soroe epidemiologia e os fatores associados ao *N. caninum* em vacas e cães de pequenas e médias propriedades leiteiras.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo e população alvo

O município de Cunha localiza-se na fronteira entre os estados de São Paulo e Rio de Janeiro, na região do Vale do Paraíba Paulista, com uma área de 1.400Km² e uma população de 22 mil habitantes (IBGE, 2010). A pecuária extensiva voltada à produção de leite, carne ou mista é a atividade mais importante entre as Unidades de Produção Agropecuárias, ocupando cerca de 50% das áreas produtivas no município. A produção diária de leite é de 48.000 litros (CATI, 2010). O número de cabeças de bovinos em 2014 cadastrados na Coordenadoria de Defesa Agropecuária era de 90.000 cabeças de gado, localizados em 1.886 propriedades (CDA, 2014). Um estudo transversal foi delineado para documentar o estado sorológico das vacas e dos cães ao *Neospora caninum* no município de Cunha/SP.

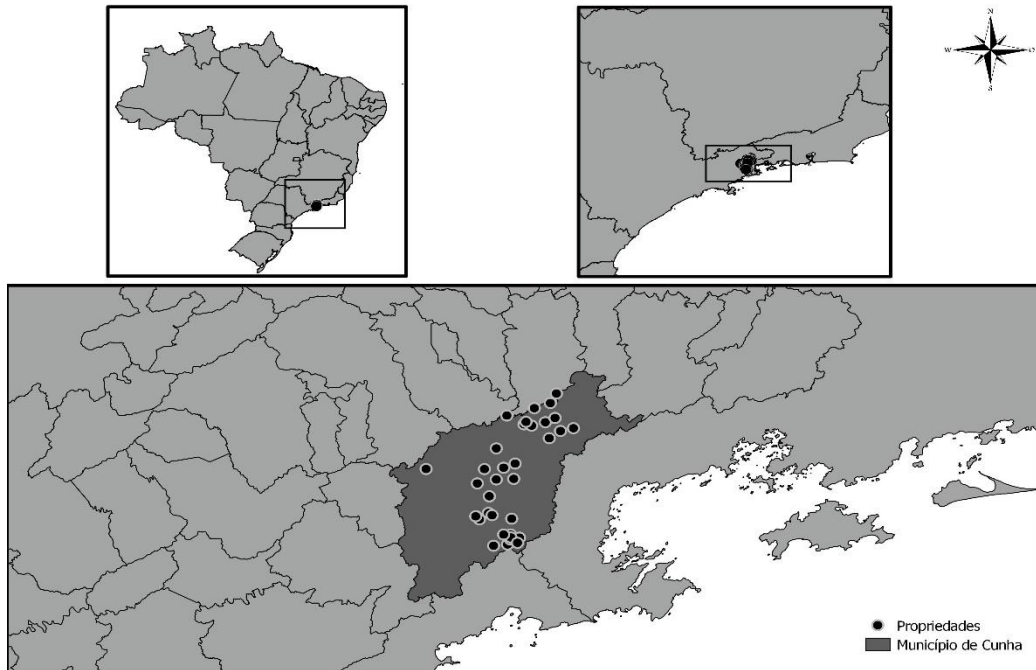
Fase 1. Estudo da prevalência realizado em novembro e dezembro de 2015

Tamanho de amostra e amostragem

O tamanho da amostra foi obtido por meio do programa Open Epi 3.01, onde foi utilizado uma prevalência de 50%, erro esperado de 5% e intervalo de confiança de 95%, tendo como resultado uma amostra mínima de 384 animais. A amostragem não foi

probabilística, as propriedades foram selecionadas conforme a disponibilidade do proprietário e de forma que houvesse uma representatividade no município (Figura 2).

Figura 2. Mapa do município de Cunha/SP com a identificação das propriedades leiteiras selecionadas para amostragem do estudo no ano de 2015



No total foram colhidas 400 amostras de sangue de vacas leiteiras, em 40 propriedades de pequeno e médio porte. As amostras foram colhidas dependendo da quantidade de vacas em lactação: de 20 animais foram colhidas em 8 propriedades, de 10 animais em 15 propriedades e de 5 animais foram colhidas em 18 propriedades. Também, em propriedades com a presença de cães obteve-se o sangue destes, totalizando 50 animais em 26 propriedades.

Questionário epidemiológico

Para o estudo dos fatores associados ao *N. caninum* foi aplicado um questionário epidemiológico para abordar as variáveis ambientais (fonte de água; presença de cães da propriedade e de cães errantes; presença de animais silvestres; abate de animais na propriedade; produto de aborto na pastagem e características das construções), sanitárias e reprodutivas (presença de aborto; infertilidade; recém-nascido debilitado; uso de inseminação; diagnóstico de enfermidades reprodutivas; uso de vacina; compra de bovinos para a

reprodução; uso de vermífugo e carrapaticida) e as características produtivas da propriedade (manejo do rebanho; número de bovinos na propriedade; número de animais em lactação; produção diária de leite, raça; idade; presença de assistência veterinária; aluguel de pasto; pratica troca de animais entre propriedades de terceiros e a existência de cocho para sal mineral). Estes questionários foram preenchidos por meio de entrevistas individuais em 2015. Nessa ocasião, foi obtida autorização para o uso e disseminação dos dados de todos os produtores que participaram deste estudo. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (protocolo n.º 0991/2015).

Teste Sorológico

A determinação dos títulos dos anticorpos anti-IgG do *N. caninum* foi realizada por meio da técnica de imunofluorescência indireta (IFI) de acordo com Conrad et al. (1993).

Para a realização da técnica, as lâminas para pesquisa de anticorpos foram preparadas com formas de taquizoítos de *Neospora caninum* (cepa NC-1) e foram consideradas reagentes amostras com os títulos ≥ 100 para vacas e ≥ 50 para bezerras (CARDOSO et al., 2012; KATOO et al., 2017; PADILHA, et al., 2017). Já para os cães foram considerados reagentes animais com títulos ≥ 50 (MASCOLLI et al, 2015). O conjugado anti-IgG de bovino (FITC – Sigma-Aldrich®) foi padronizado. As amostras consideradas positivas foram diluídas sequencialmente na base dois até tornarem-se negativas e controles positivo e negativo também foram incluídos em todos os testes.

Análise Estatística

A associação entre animais soropositivos e variáveis de risco foi investigada pelo teste do qui-quadrado (χ^2) e Odds Ratio (razão de probabilidades) com nível de significância de 5% e Intervalo de Confiança (IC) de 95%, foi utilizando o software Epi Info 7.

Fase 2. Estudo da incidência e prevalência realizado entre fevereiro a abril de 2017

Após 18 meses da etapa inicial foram realizadas novas colheitas de amostras de sangue em fêmeas bovinas em 16 propriedades, já avaliadas anteriormente.

Foram colhidas 187 amostras, sendo: 68 de vacas já avaliadas no primeiro estudo, 14 positivas e 54 negativas, além de 119 não pertencentes ao primeiro estudo.

4.3 RESULTADOS

Fase 1. Estudo de Prevalência e Associação de Risco

Das 400 amostras de bovinos testados pela IFI, em 40 propriedades selecionadas, 15% (IC 95%: 11,83 - 18,83) dos bovinos foram sororeagentes ao *N. caninum* (60/400) com título ≥ 100 . Em relação às propriedades 70% (28/40) apresentaram fêmeas bovinas positivas. Os títulos de anticorpos observados nas fêmeas positivas foram 25 (46,3%) no título 100; 15 (27,8%) no título 200; 9 (16,7%) no título 400; 1 (1,8%) no título 800; 2 (3,7%) no título 1.600 e 2 (3,7%) no título 3.200.

Em relação aos resultados da imunofluorescência indireta realizadas nos 50 cães presentes em 70% das propriedades estudadas, destes 14% (7/50) foram positivos ao anti-*Neospora caninum*, considerando como positivos animais com título ≥ 50 .

Os resultados de associação das variáveis do questionário epidemiológico ($p < 0,05$) e as vacas soropositivas ao *Neospora caninum* estão demonstradas na tabela 3.

Após 6 meses da colheita foram apresentados os resultados das análises sorológicas das vacas e dos cães para cada proprietário e fornecido um fly com recomendações de controle e prevenção da Neosporose.

Tabela 3. Variáveis associadas à presença do *Neospora caninum* em vacas leiteiras positivas no município de Cunha, São Paulo, no ano de 2015.

Variável	Total	Positivos (%)	OR ¹	IC 95% ²	p ³
Aborto					
Sim	13	5 (38,5)	3,77	1,19-11,95	0,002
Não	387	55 (14,2)			
Propriedades com cães**					
Sim	95	20 (21,0)	2,45	1,23-5,00	0,009
Não	175	17 (9,7)			
Há piquetes de parição					
Sim	105	25 (23,8)	2,32	1,31-4,10	0,003
Não	295	35 (11,9)			
Idade					
≥ 5	274	54	0,20	0,08-0,47	0,0001
2 a 4	126	6			
Número de vacas em lactação					
≤ 10	85	7 (15,6)	0,44	0,20-1,01	0,049
> 10	315	53 (14,8)			

*Referência; **Apenas animais de propriedades com cães; ¹Odds Ratio (Razão das Probabilidades); ²Intervalo de confiança para OR.; ³Mantel-Haenszel, resultados significativos se $p < 0,05$.

Além de compra de bovinos para reprodução (16,6%) e presença de recém-nascido debilitado (18,1%) que apresentaram valor de $p=0,058$, ou seja, o valor está próximo de apresentar diferença significativa.

Conforme a análise da razão das probabilidades (OR) foram observados como associações de risco ($OR>1,0$): a presença de aborto ($OR= 3,77$), as propriedades com cães positivos ao anti-*Neospora caninum* ($OR=2,45$), a presença de piquetes para parição (IC: 1,31-4,10). Foram observados como fatores de proteção ($OR<1,0$), a idade até 2 anos (IC: 0,09-0,78) e o número de vacas em lactação menor ou igual 10 animais (IC: 0,20-1,01).

Fase 2. Estudo da incidência e ocorrência realizado entre fevereiro a abril de 2017

A incidência calculada pela relação entre fêmeas infectadas e o total fêmeas bovinas em risco foi de 7,4% (4/54).

A avaliação das vacas 68 amostras de vacas que foram realizadas as colheitas em 2015 e em 2017 estão apresentadas na tabela 8.

Tabela 4. Avaliação dos resultados da IFI em amostras de vacas leiteiras contra o *Neospora caninum* em vacas leiteiras no município de Cunha, São Paulo, no ano de 2015 e 2017.

2015	2017	N	%
Negativo	Positivo	4	7,4
Negativo	Negativo	50	92,6
		54	
Positivo	Positivo	4	28,6
Positivo	Negativo	10	71,4
		14	
Total		68	100%

A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* das vacas amostradas em 2015 e 2017, foi de 13,3% de 519 animais amostrados 69 foram considerados positivos para anti-*N. caninum*: 60/400 (13,5%) em 2015 e 9/119 (7,56%) em 2017 (Tabela 4). Em relação as propriedades que apresentaram vacas positivas em 2015 e 2017 a prevalência foi de 70% (28/40) e 46,2% (6/13) respectivamente. Comparando as propriedades no intervalo de 18 meses, 4 propriedades mantiveram vacas positivas, 5 propriedades deixaram de apresentar animais positivos, 2 propriedades mantiveram animais negativos e 2 propriedades apresentaram animais positivos.

4.4 DISCUSSÃO

A prevalência de 15% observada nas vacas leiteiras no município de Cunha, pode ser comparada com o estudo realizado na mesma região, porém no município de Pindamonhangaba, onde Cardoso et al. (2012) ao avaliar três propriedades relataram ocorrência nas fêmeas bovinas variando de 3,32% à a 37,10%. Já no Vale do Paraíba Fluminense, Munhoz et al. (2006) observaram ocorrência de anticorpos contra *N. caninum* de 25,74% em Resende e 20,38% em Rio Claro. Estes trabalhos mostram que apesar da variação da ocorrência, o protozoário está circulando nas fêmeas bovinas na região e, estas são mantenedoras e potenciais transmissoras do agente para seus descendentes e para os cães.

Munhoz et al. (2006) observaram positividade em propriedades fluminenses de 89,7% e 85,71% em Resende e Rio Claro, respectivamente. Silva et al. (2008) no Pernambuco, encontraram fêmeas bovinas reagentes para *N. caninum* em 85,0% propriedades. Os dados supracitados apresentam valores acima do respectivo trabalho. Enquanto, Moura et al. (2012) em Guarapuava, PR, detectaram animais soropositivos em 40% das propriedades avaliadas, apresentando menor ocorrência observada neste trabalho de 70%. Estes dados revelaram a disseminação da Neosporose nas propriedades de bovinocultura de leite no país e, que muitas vezes, são negligenciados devido à falta de diagnóstico, causando prejuízos financeiros aos pecuaristas com as falhas reprodutivas e descarte de animais.

Em vários países do mundo e no Brasil, as taxas de soroprevalência são extremamente variáveis em rebanhos de bovinos de leite, devido ao tipo de manejo adotado, as condições epidemiológicas, a sensibilidade e especificidade dos testes de diagnósticos empregados.

Nos Estados Unidos, Califórnia, a neosporose foi diagnosticada em 42% dos casos de abortos em bovinos (ANDERSON et al., 1995), sendo considerada a principal causa desta patologia (BARR et al., 1990). Em um estudo realizado em todas as populações das Associações de Defesa Sanitária de Agricultores da Galícia na Espanha, a soroprevalência do rebanho foi estimada em 80,6% (ERIAS et al, 2011). Já em Andorra, a soroprevalência de *N. caninum* em estudada em 1758 animais com idade superior a 6 meses foi de 7,4% (ARMENGOL et al., 2007). No Uruguai, Furtado (2011) analisou 734 soros provenientes de vacas leiteiras adultas e obteve 28,8% de positividade.

Analisando vacas soropositivas obtida no presente estudo com trabalhos em todo o Brasil, que utilizaram o mesmo método e ponto de corte, verificou-se ocorrência similar aos citados por Amaral et al. (2012), Moura et al. (2012), Silva et al. (2015) e Padilha et al. (2017) que encontraram 12,7% nos estados de Alagoas e Pernambuco, 13,2 em Guarapuava, Paraná,

13,3% em Parauapebas, Região Sudeste do Estado do Pará e 13,8% na região serrana de Santa Catarina. Estudos com soro-ocorrência superior ao respectivo trabalho foram descritos por Silva et al. (2008) no Pernambuco, Teixeira et al. (2010) no Maranhão, Melo et al. (2006) em Goiás e Martins et al. (2012) e Snak et al. (2018) no Paraná, estes expõem positividade nos bovinos de 31,7%, 50,7%, 30,4%, 20,4% e 23,7%, respectivamente.

Nas 40 propriedades avaliadas no município de Cunha, os cães estavam presentes em 70% das propriedades com positividade de 14% ao anti-*Neospora caninum*. Este foi superior ao encontrado no município de Ibiúna, SP, onde foi detectado 7,02% de positividade (MASCOLLI et al., 2015). Martins et al. (2012) avaliaram 49 cães de propriedades rurais de Umuarama, PR e apenas 3 (6,1%) foram positivos. Também no Paraná, região Oeste do estado, Snak et al. (2018) descrevem soropositividade de 11,6%.

As propriedades com cães positivos ao anti-*Neospora caninum* foi um fator de risco para a neosporose bovina, ou seja, está ocorrendo a transmissão horizontal do agente, possivelmente, pelo livre acesso dos cães na área de pastagem do rebanho e pela presença de produto de aborto na pastagem, confirmadas em 68,7% das propriedades, por meio da análise da frequência dos questionários epidemiológicos. Como consequência da infecção dos cães, à liberação de oocistos nas fezes e contaminação do ambiente. Bruhn et al. (2013) observaram que cães soltos são um fator de risco associado ($p < 0,05$) com maior soropositividade bovina.

Presença de problemas reprodutivos, principalmente, o aborto, foi uma associação de risco relevante neste estudo, assim como, Silva, et al. (2008) observaram associação significativa com o histórico de aborto, o destino das vacas que abortaram e a época do aborto. Também, Cardoso et al. (2012) observaram risco relativo de abortamentos em vacas soropositivas, sendo que dentre os índices reprodutivos avaliados somente os abortamentos foram significativos. E, Justo et al. (2013) constataram associação positiva entre soropositividade das fêmeas bovinas e a ocorrência de aborto e a repetição de cio. Em um trabalho realizado com 1078 vacas prenhes, a porcentagem de abortos em vacas soropositivas foi três vezes maior do que em vacas soronegativas, 21,6 e 7,3%, respectivamente (MAZUZ et al., 2014). Estes resultados confirmam o *N. caninum* como o maior causador de abortos em bovinos leiteiros.

Também foram observados como associação de risco a presença de piquete de parição, pois a área determinada para os partos apresenta maior concentração de contaminação, devido ao acúmulo de restos placentários e abortos, por falta de enterrar, com a possível ingestão pelos cães. E também, a compra de bovinos para reprodução apresentou efeito sobre a positividade das vacas, pois devido à falta de diagnóstico preventivo antes da compra, ocorre

o aumento das chances de adquirir um animal positivo que será fonte de infecção para o rebanho.

O estudo revelou também, como fator de proteção o número de bovinos em lactação menor ou igual a 10, devido ao número reduzido de animais, diminui as chances de contágio, assim como no trabalho de Hasegawa et al. (2004), este autor relata que o menor número de bovinos por hectare foi um fator que contribuiu para que houvesse uma menor taxa de animais infectados. Também, Erias et al. (2011) observaram que a soropositividade foi significativamente associada ao maior tamanho do rebanho. Outro fator de proteção foi a idade menor que 2 anos, pois quanto mais novo o animal, menor o risco deste ter acesso ao parasita no ambiente, devido ao manejo alimentar e o tempo de contato. Fávero et al. (2017) relatam um aumento de 1,25 vezes nas chances do animal se infectar a cada ano de vida.

A incidência de 7,4%, observada após 18 meses, corrobora com Katoo et al. (2016) que relatam uma incidência de 7,7%, podendo indicar uma transmissão horizontal ocorrendo nas propriedades por meio da infecção por oocistos presente no ambiente.

Ocorreu também no presente estudo que 71,4% (4/14) das fêmeas positivas soroconverteram para negativas, mostrando essa elevada taxa. A flutuação dos níveis de anticorpos contra *N. caninum* em vacas naturalmente infectadas já é conhecida (CONRAD et al., 1993; PARE et al., 1997; MARQUES et al., 2011) e pode estar relacionado aos fatores imunológicos contra o parasita. O conhecimento dessa dinâmica é importante no que diz respeito tanto à patogenia, mas principalmente quanto ao diagnóstico (ANTONELLO, et al., 2015)

Comparando a prevalência do rebanho em 2015 e 2017, do presente estudo, foi observado 15% (60/400) e 7,6% (9/119), respectivamente, estes dados corroboram com estudo realizado por Katoo et al. (2016) de 23,1% (60/400) e 15,5% (51/329) entre 2012 e 2014. Estes dados revelam que o *Neospora caninum* está se mantendo no rebanho através da transmissão horizontal devido a infecção dos cães por cistos teciduais e a eliminação de oocistos nas fezes destes, contaminando as pastagens. A diminuição da prevalência entre 2015 e 2017 pode estar relacionada a conscientização dos proprietários à neosporose, bem como, a adoção de medidas preventivas sugeridas em 2015 no início do estudo.

Com isto, pode ser sugerido algumas medidas de controle contra a neosporose a fim de evitar prejuízos econômicos na bovinocultura leiteira, e que sejam incluídos nos programas de manejo do rebanho e nos custos da atividade, tais como: eliminar vacas positivas do rebanho que apresentam problemas reprodutivas recorrentes, principalmente, o aborto; enterrar resíduos de parto e/ou aborto, além de animais mortos; em relação aos cães, evitar a

permanência destes na área de pastagem e/ou alimentação dos animais e no piquete de parição, não fornecer carne e vísceras cruas; realizar teste sorológico dos bovinos antes da aquisição e sempre que possível no rebanho afim de observar o status sorológico, em fêmeas que apresentam abortamento realizar a PCR do feto para confirmar o diagnóstico.

4.5 CONCLUSÃO

Com base nas fêmeas de bovinos leiteiros e cães estudados no município de Cunha, podemos relatar que o protozoário está circulando na maioria das propriedades e devido as perdas na produção gerada pela enfermidade e o difícil aparecimento dos sinais clínicos, foi de fundamental importância à obtenção do estado sanitário do rebanho.

Como associação de risco ao *Neospora caninum* foi observado a ocorrência de abortamento, a presença de cães positivos e os piquetes para parição. Como fatores de proteção, a idade até 2 anos e o número de vacas em lactação menor ou igual 10 animais.

A incidência, as associações de risco e a prevalência em 2017 confirmam a possibilidade das vacas estarem sendo infectadas por oocistos esporulados no ambiente, revelando a ocorrência da transmissão horizontal e retrata a importância da conscientização dos produtores rurais das medidas de controle e prevenção da Neosporose.

4.6 REFERÊNCIAS DO ARTIGO

- ALMERIA, S.; LOPEZ-GATIUS, F. Markers related to the diagnosis and to the risk of abortion in bovine neosporosis. *Research in Veterinary Science*, Kidlington, v. 100, p. 169–175, 2015.
- AMARAL, R. L. G.; SILVA, L. B. G.; JÚNIOR, J. W. P.; NETO, O. L. S.; LEAL, C. A. S.; PORTO, W. J. N.; BARBOSA, J. M. P.; MOTA, R. A. *Neospora caninum* em bovinos em matadouros de Pernambuco e Alagoas. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, Seropédica, v. 32, n. 10, 2012.
- ANDERSON, M. L.; PALMER, C. W.; TRURMOND, M. C.; PICANSO, J. P.; BLANCHARD, P. C.; BREIRMAYER, R. E.; LAYTON, A.W.; McALLISTER, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; READ, D. H.; DUBEY, J. P.; CONRAD, P. A.; BARR, B. C. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Chicago, v. 2, n. 9, p. 1206-1210, 1995.
- ANDERSON, M. L.; ANDRIANA RIVO, A. G.; CONRAD, P. A. Neosporosis in cattle. *Animal Reproduction Science*, Quebec, v. 60-61, p. 407-431, 2000.
- ANTONELLO, A.M.; CAMILLO, G.; WEBER, A.; BRAUNIG, P.; SANGIONI, L. S.; VOGEL, F. S. F. Dinâmica sorológica de anticorpos contra *Neospora caninum* durante a gestação de vacas naturalmente infectadas. *Ciência Animal Brasileira*, Goiânia, v. 16, n. 4, p. 553-559, 2015.
- ARMENGOL, R.; PABÓN, M.; SANTOLARIA, P.; CABEZÓN, O.; ADELANTADO C.; YÁNIZ, J.; LÓPEZ-GATIUS, F.; ALMERÍA, S. Low seroprevalence of *Neospora caninum* infection associated with the limousin breed in cow-calf herds in Andorra, Europe. *International Journal for Parasitology*, Kidlington, v. 93, n. 5, p. 32-1029, 2007.
- BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; DAFT, B.M.; KINDE, H.; CONRAD, P.A. Bovine fetal encephalitis and myocarditis associated with protozoal infections. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 27, p. 354-361, 1990.
- BRUHN, F. R. P.; DAHER, D. O.; EDNA LOPES, E.; JONATA MELLO BARBIERI, J. M.; ROCHA, C. M. B. M.; GUIMARÃES, A. M. Factors associated with seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in southeastern Brazil. *Trop Anim Health Prod.*, Eninburgh, v. 45, p. 1093 – 1098, 2013.
- BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift Fur Parasitenkunde*, Jena, v. 70, p. 271-274, 1984.
- 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*, Belo Horizonte, v. 62, n. 6, p. 1511-1513, 2010.

CARDOSO, J. M. S., AMAKU, M., ARAÚJO, A. N. U. S., GENNARI, S. M. A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on three dairy farms in Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 187, p. 553-557, 2012.

CATI – Coordenadoria de Assistência Técnica Integral. Secretaria da Agricultura Estado de São Paulo. Projeto LUPA, 2008. Disponível em www.cati.sp.gov.br/projetolupa/dadosestado.php. Acesso em 17 set. 2016.

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*, Glasgow, v. 106, p. 239-249, 1993.

COORDENADORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO ESTADO DE SÃO PAULO–CDA/SP. Unidade Regional de saúde animal e vegetal de Guaratinguetá. TC2 da campanha de novembro de 2014, Disponível em www.cda.sp.gov.br/gedave/dadosestado.php. Acesso em 20 maio 2015.

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 American Veterinary Medicine Association*, Chicago, v. 193, n. 10, p. 1259-1263, 1988a.

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

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

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *The Korean Journal Parasitology*, Seoul, v. 41, n. 1, p. 116, 2003.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals – the last five years. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 180, n. 1, p. 90-108, 2011.

EIRAS, C.; ARNAIZ, I.; ALVAREZ-GARCIA, G.; ORTEGA-MORA, M. L.; SANJUÁN, M. L.; YUS, E.; DIÉGUEZ, F. J. *Neospora caninum* seroprevalence in dairy and beef cattle from the northwest region of Spain, Galicia. *Prev. Vet. Med.*, United States of American, v. 98, p. 2-3, 2011.

FÁVERO, J. F.; SILVA, A. S.; CAMPIGOTTO, G.; MACHADO, G., BARROS, L. D.; GARCIA, J. L.; VOGEL, F. F.; MENDES, R. E.; STEFANI, L. M. Risk factors for *Neospora caninum* infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. *Microbial Pathogenesis*, Netherlands, v. 110, p. 202-207, 2017.

FURTADO, A.; ROSADILLAI, D.; CATTÁNEOII, M.; BERMÚDEZII, J.; PUENTES, R. Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in small dairy farms in Uruguay. *Revista Ciência Rural*, Santa Maria, v. 41, n. 4, p. 673-675, 2011.

- GENNARI, S. M.; YAI, L. E. O.; DÁURIA, S. N. R.; CARDOSO, S. M.; KWOK, O. C.; JENKINS, M. C.; DUBEY, J. P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. *Veterinary Parasitology*, London, v. 106, n. 1-2, p. 177-179, 2002.
- GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; PITT, W. C., ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*, Kidlington, v. 34, p. 159-161, 2004.
- HASEGAWA, M. Y.; SARTOR, I. F.; CANAVESSI, A. M. O.; PINCKNEY, 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: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 25, n. 1, p. 45-50, 2004.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. Estatística da Produção Pecuária. Censo Agropecuário de 2010. Brasília: IBGE, 2010. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp>. Acesso em 17 set. 2016.
- JUSTO, R. V.; MANFIO, J. B.; GALHARDO, J. A.; GARCIA, J. L.; CAMPOS, A. K. Seroepidemiological inquiry on bovine neosporosis in northern Mato Grosso state, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 34, n. 6, p. 3897-3902, 2013.
- KATOO, S.; FILHO, L. F. C.; BOGADO, A. L. G.; MARTINS, T. A.; SAMMI, A. S.; SANTOS, J. R.; KONO, I. S.; SEIXAS, M.; NINO, B. S. L.; GARCIA, J. L. Anti-*Neospora caninum* antibodies among dairy cattle in a rural settlement, Paraná, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 38, n. 1, p. 259-266, 2017.
- KING, J. S.; ŠLAPETA, J.; JENKINS, D. J.; ALQASSAB, S. E.; ELLIS, J. T.; WINDSOR, P. A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*, Kidlington, v. 40, n. 8, p. 945-950, 2010.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J.P.; BLAGBURN, B.L. Finding the cause of parasite – induced abortions in cattle. *Veterinary Medicine*, Hong Kong, v. 21, p. 64-71, 1996.
- MACEDO, C. A.; MACEDO, M. F.; CARDIM, S. T.; PAIVA, M. C.; TARODA, A.; BARROS L. D.; CUNHA; I. A.; ZULPO, D. L.; GARCIA; J. L. *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered dairy cows (*Bos taurus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 22, p. 7-13, 2013.
- MACEDO, A. B.; MACEDO, M. F. S. B.; MIURA, A. C.; ALESSANDRA TARODA, A.; CARDIM, S. T.; INNES, E. A.; KATZER, F.; CANTÓN, G. J.; CHIANINI, F.; HEADLEY, S. A.; GARCIA, J. L. Occurrence of abortions induced by *Neospora caninum* in dairy cattle from Santa Catarina, southern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 26, n. 3, p. 292-298, 2017.
- MARQUES, F. A.; HEADLEY A. S.; FIGUEREDO-PEREIRA, V.; TARODA, A.; BARROS, L. D.; CUNHA, I. A.; MUNHOZ, K.; BUGNI, F. M.; ZULPO, D. L.; IGARASHI, M.; VIDOTTO, O.; GUIMARÃES J, J.; GARCIA, J. L. *Neospora caninum*: evaluation of vertical transmission in slaughtered beef cows (*Bos indicus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 108, p. 1015-1019, 2011.

- MARTINS, A. A.; ZAMPROGNA, T. O.; LUCAS, T. M.; CUNHA, I. A. L.; GARCIA, J. L.; SILVA, A. V. Frequency and risk factors for infection by *Neospora caninum* in dairy farms of Umuarama, PR. *Brazil. Arq. Ciênc. Vet. Zool.*, Umuarama, v. 15, n. 2, p. 137-142, 2012.
- MASCOLLI, R.; SOTO, F. R. M.; BERNARDI, F.; ITO, F. H.; PINHEIRO, S. R.; GUILLOUX, A. G. A.; AZEVEDO, S. S.; SILVA, P. V.; GENNARI, S. M.; FERNANDES, A. R. F.; PENA, H. F. J.; VASCONCELLOS, S. A. Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis and neosporosis in the dog population of Ibiúna, São Paulo, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 6, p. 3777-3786, 2015.
- MAZUZ, M. L.; FISH, L.; REZNIKOV, D.; WOLKOMIRSKY, R.; LEIBOVITZ, B.; SAVITZKY, I.; GOLENSER, J.; SHKAP, V. Neosporosis in naturally infected pregnant dairy cattle. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 205, p. 85-91, 2014.
- McALLISTER, M. M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R.; WILLS, R.A.; MCGUIRE, A. M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*, Kidlington, v. 28, p. 1473-1478, 1998.
- MELO, D. P. G.; SILVA, A. C. DA; ORTEGA-MORA, L. M.; BOAVANTURA, C. M. Prevalência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos das microrregiões de Goiânia e Anápolis, Goiás. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 15, n. 3, p. 105-109, 2006.
- MINEO, T. W.; SILVA, D. A.; COSTA, G. H.; VON ANCKEN, A. C.; KASPER, L. H.; SOUZA, M. A.; CABRAL, D. D.; COSTA, A. J.; MINEO, J. R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. *Vet Parasitology*, v.98, p. 239-245, 2001.
- MINEO, T. W. P.; SILVA, D. A. O.; NASLUND, K.; BJORKMAN, C.; UGGLA, A.; MINEO, J. R. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v. 56, n. 3, p. 414-417, 2004.
- MORAES, C. C. G.; MEGID, J.; PITUCO, E. M.; OKUDA, L. H.; FAVA, C. D.; STEFANO, E.; CROCCI, A. J. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da microrregião da Serra de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2008.
- MOURA, A. B.; S. C. OSAKI, S.C.; ZULPO, D. L.; J.L. GARCIA, J. L.; E.B. TEIXEIRA, E. B. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos da microrregião de Guarapuava, PR, Brasil. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v. 79, n. 3, 2012.
- MUNHOZ, A. D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R. T.; ALMEIDA, C. R. R. DE; LOPES, C. W. G. Distribution of anti-*Neospora caninum* antibodies in dairy cows at Municipalities of Resende and Rio Claro in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 15, n. 3, p. 101-104, 2006.
- NASCIMENTO, C. O. M.; SILVA, M. L. C. R.; KIM, P. C. P., GOMES, A. A. B.; GOMES, A. L. V.; MAIA, R. C. C.; ALMEIDA, J. C.; MOTA, R. A. Occurrence of *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em tecidos do cérebro de raposa do campo (*Pseudalopex vetulus*) no Brasil. *Acta Tropica*, Madrid, v. 146, n. 3, p. 60-65, 2015.

NAZIR, M. M.; MAQBOOL, A., AKHTAR, M.; AYAZ, M.; AHMAD, A. N.; ASHRAF, K.; ALI, A.; ALAM, M.A.; ALI, M. A.; KHALID, A. R.; LINDSAY, D. S. *Neospora caninum* prevalence in dogs raised under different living conditions. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 29, n. 204, p. 3-4, 2014.

PADILHA, M. A. C.; WASEN, G.; SOUZA, A. P.; MILCZEWSKI, V.; LUZ, T. V. B.; SARTOR, A. A.; FARIAS, J. A.; MOURA, A. B. *Neospora caninum*: Seroprevalence in beef cattle in the mountainous region of Santa Catarina, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 38, n. 1, p. 273-282, 2017.

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

PFEIFFER, D. V.; WILLIANSO, N. B.; REICHEL, M. P., WICHTEL, J. J. TEAGUE, W. R.; A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on a dairy farm in New Zeland. *Preventive Veterinary Medicine*, United States of American, v. 54, p. 11-24, 2002.

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

SILVA, C. L. S.; FREITAS, J. A.; GARCIA, J. L.; ARAÚJO, C. V.; ZULPO, D. L.; CUNHA, I. A. I. Serological survey of *Neospora caninum* in dairy herds from Parauapebas, State of Pará. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 36, n. 1, p. 231-238, 2015.

SNAK, A. S.; GARCIA, F. G.; LARA, A. A.; PENA, H. F. J.; OSAKI, S. C. *Neospora caninum* in properties in the west region of Paraná, Brazil: prevalence and risk factors. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 27, n. 1 p. 51-59, 2018.

TEXEIRA, W.C; UZEDA, R. S.; GODIM, L. F. P.; SILVA, M. I. S.; PEREIRA, H. M.; ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Prevalence of anti-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) antibodies in dairy cattle in rural properties of three microrregions of Maranhão, Brazil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, São Paulo, v. 30, n. 9, p. 1-12, 2010.

THURMOND, M. C.; HIETALA, S. K. Culling associated with Neosporacanium infection in dairy cows. *American Journal Veterinary Research*, Arizona, v. 57, p. 1559-1562, 1996.

VARASCHIN, M. S.; HIRSCH, C.; WOUTERS, F.; NAKAGAKI, K. Y.; GUIMARÃES, A. M.; SANTOS, D. S.; BEZERRA, P. S.; COSTA, R. C.; PECONICK, A. P.; LANGOHR, I. M. Congenital neosporosis in goats from the state of Minas Gerais, Brazil. *The Korean Journal of Parasitology*, Seoul, v. 50, n. 1, p. 63-67, 2012.

WALDNER, C. L.; JANZEN, E. D.; RIBBLE, C. S. Determination of the association between *Neospora caninum* infection and reproductive performance in beef herds. *Journal American Veterinary Medical Association*, New York, v. 213, p. 685-690, 1998.

VIANNA, L. C.; SARTOR, I. F.; PITUCO, E. M.; OKUDA, L. H.; CAMARGO, C. N.; KRONKA, S. N. Incidence and transplacental transmission of *Neospora caninum* in primiparous females from *Bos indicus* slaughtered in Presidente Prudente, São Paulo, Brazil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 29, n. 2, p. 387-392, 2008.

5. CONCLUSÃO

Através deste estudo foi possível determinar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em fêmeas de bovinos e em cães de propriedades rurais no município de Cunha, no entanto, a presença de cães nas propriedades não foi significativa para a sorologia positiva das vacas, porém, a presença de cães positivos atuou como fator de risco, ou seja, potenciais produtores de oocistos para contaminação do ambiente. Além da ocorrência de abortamento e a presença de piquetes para parição, e como fatores de proteção foram observados a idade até 2 anos e o número de vacas em lactação menor ou igual 10 animais.

Medidas de controle que visam a diminuição da transmissão, dos abortamentos, da infertilidade, das infecções uterinas e da diminuição da vida produtiva do rebanho associados ao *N. caninum* são necessárias para evitar as perdas econômicas na bovinocultura de leite.

ANEXOS

ANEXO A

Parecer de Comitê de Ética em Uso de Animais



Pontifícia Universidade Católica do Paraná
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais

Curitiba, 01 de outubro de 2015.

PARECER DE PROTOCOLO DE PESQUISA

REGISTRO DO PROJETO: 0991/2015 – 2ª versão

TÍTULO DO PROJETO: SOROPREVALÊNCIA DO *NEOSPORA CANINUM* EM FÊMEAS DE BOVINOS LEITEIROS DE CUNHA-SP, BRASIL

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: DAUTON LUI ZULPO

EQUIPE DE PESQUISA: SINTIA BARBOZA BASTOS

INSTITUIÇÃO

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

ESCOLA / CURSO:

Escola de Medicina Veterinária e Ciências Agrárias / Medicina Veterinária

VIGÊNCIA DO PROJETO	10/2015 a 06/2016	QUANTIDADE DE ANIMAIS	380 e quantidade de cães não definidos
ESPECIE/LINHAGEM	<i>Bos taurus</i> (Bovinos) e <i>Canis lupus familiaris</i> (Cães)	Nº SISBIO (Somente animais de vida livre)	Não se aplica
SEXO	M/F	ATIVIDADES (Somente animais de vida livre)	Não se aplica
IDADE / PESO	Variados	ESPECIÉ – GRUPO TAXONÔMICOS (Somente animais de vida livre)	Não se aplica
ORIGEM DO ANIMAL	Animais de fazendas selecionadas ao acaso e que aceitem voluntariamente a participar do estudo.	LOCAL (IS) (Somente animais de vida livre)	Não se aplica

APÊNDICES

APÊNDICE A

Termo de Consentimento do Uso Animal

SOROPREVALÊNCIA DO *NEOSPORA CANINUM* EM FÊMEAS DE BOVINOS LEITEIROS
DE CUNHA-SP, BRASIL

TERMO DE CONSENTIMENTO DE USO ANIMAL (TCUA)

Eu, _____; de nacionalidade _____; idade _____; estado civil _____; profissão _____; endereço _____; RG _____ estou permitindo a participação dos meus animais em um estudo denominado **(SOROPREVALÊNCIA DO NEOSPORA CANINUM EM FÊMEAS DE BOVINOS LEITEIROS DE CUNHA-SP, BRASIL)**, cujos objetivos e justificativas são: **(DETERMINAR A PREVALÊNCIA DA NEOSPOROSE EM BOVINOS LEITEIROS DE CUNHA-SP)**.

A participação do meu animal no referido estudo será no sentido de **(COLETA DE SANGUE)**.

Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: **(CONHECER A PREVALÊNCIA DA DOENÇA EM MEU REBANHO)**

Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização. Assim, **(PARA A COLETA DE SANGUE DOS ANIMAIS O DESCONFORTO É MÍNIMO, SENDO UM PROCEDIMENTO DE BAIXA INSASÃO E O ANIMAL SERÁ OBSERVADO APÓS 5 MINITOS PARA MINIMIZAR OS RISCOS)**.

Estou ciente de que o meu animal será atendido, respeitado e receberá os cuidados necessários, como qualquer outro elemento submetido da mesma forma a procedimentos onde não estejam sendo utilizados para fins de pesquisa. Também fui informado de que posso recusar a participação do meu animal no estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que recebendo o meu animal. Foi-me esclarecido, igualmente, que eu posso optar por métodos alternativos, que são: **(NÃO EXISTE MÉTODO ALTERNATIVO PARA CONHECER A PREVALÊNCIA DA DOENÇA SEM A INTERVENÇÃO PELA COLETA DE SANGUE)**.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são **(DAUTON LUIZ ZULPO PUCPR, SINTIA BARBOZA BASTOS ORGANIZAÇÃO NÃO GOVERNAMENTAL SERRACIMA)** e com eles poderei manter contato pelos telefones **(45- 32778654; 45-9973-0443; 12-31111744 E 12-997837190)**.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da participação da pesquisa com o meu animal.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento em permitir a participação do mesmo, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, pela participação do meu animal. No entanto, caso eu tenha qualquer despesa decorrente da participação do animal na pesquisa, haverá ressarcimento na forma seguinte: **(O RESSARCIMENTO SERÁ EFETUADO EM DEPÓSITO BANCÁRIO NOMINAL AO PROPRIETÁRIO)**.

Cunha - SP, ____/____/____.

Nome e assinatura do proprietário do animal da pesquisa _____

DAUTON LUIZ ZULPO _____

SINTIA BARBOZA BASTOS _____

APÊNDICE B**Questionário Epidemiológico**

PROPRIETÁRIO _____ NÚMERO ____ DATA __/__/__

1. Manejo do rebanho: () a pasto () semi confinado () confinado
2. Compra de bovinos para reprodução: () sim () não
3. Após a compra os mesmos ficam em quarentena? () sim () não
4. Presença de cães na propriedade: () sim () não
5. Presença de gatos na propriedade: () sim () não
6. Há animais silvestres na propriedade: () sim () não
7. Tem roedores na propriedade: () sim () não
8. As instalações para os bovinos são: () boas () precárias
9. Há córrego/ rio/ lago próximo (até 300m) da propriedade: () sim () não
10. Qual é a fonte de água para os animais: () rede pública () poço () mina
11. A propriedade compartilha a fonte de água com os vizinhos: () sim () não
12. Raça predominante: () Girolando () Holandês () Jersey () mestiço
13. Há trocas de animais entre propriedades: () sim () não
14. Frequência dos problemas reprodutivos: () primeira () segunda () terceira () todas
() nenhuma () não sabe
15. Indique quais casos já ocorreram no rebanho bovino: () Aborto () Repetição de cio
() Ausência de cio () Recém-nascido debilitado () Natimorto () todos
16. Deixa produtos de abortos nas pastagens: () sim () não
17. Presença de piquetes ou locais para parição: () sim () não
18. Utiliza inseminação artificial: () sim () não
19. Abate animais (qualquer espécie) na propriedade: () sim () não
20. A propriedade recebe assistência veterinária: () sim () não
21. Utiliza vacina contra doenças reprodutivas: () sim () não
22. Faz diagnóstico de enfermidades reprodutivas: () sim () não
23. Número de bovinos na propriedade: () menos de 30 () mais de 30
24. Número de animais em lactação: () menos de 10 () mais de 10
25. Produção diária do rebanho: () menos de 100 litros () mais de 100 litros

APÊNDICE C

Tabela 4. Resultado da soroprevalência para *Neospora caninum* em fêmeas bovinos leiteiros do município de Cunha, entre 2015 e 2017, São Paulo, Brasil.

Propriedades	2015		2017	
	N	Positiva	N	Positiva
1	10	2 (20%)		
2	10	2 (20%)		
3	5	0	5	2 (40%)
4	5	0		
5	5	0	2	0
6	5	1 (10%)	5	1 (10%)
7	5	1 (20%)		
8	20	1 (5%)		
9	20	2 (10%)		
10	5	0	2	2 (100%)
11	10	2 (20%)		
12	5	1 (20%)	2	0
13	10	3 (30%)	10	0
14	20	1 (5%)	15	2 (13,3%)
15	10	0		
16	10	3 (30%)		
17	10	2 (20%)		
18	10	0		
19	5	0		
20	20	5 (25%)		
21	20	4 (20%)		
22	5	1 (20%)	9	0
23	20	5 (25%)	17	1 (5,9%)
24	20	2 (10%)		
25	10	2 (20%)		
26	5	3 (60%)		
27	5	0		
28	5	0		
29	5	0		
30	5	2 (40%)		
31	5	1 (20%)		
32	10	2 (20%)		
33	10	2 (20%)		
34	10	0	13	0
35	5	0		
36	10	2 (20%)	10	0
37	10	2 (20%)		
38	10	2 (20%)		
39	20	2 (10%)	8	0
40	10	2 (20%)	21	1 (4,8%)

TOTAL	400	60	119	9
%				
Soropositivos	15,0%		7,6%	

APÊNDICE D

Fatores associadas ao *Neospora caninum* em vacas leiteiras no município de Cunha, São Paulo, no ano de 2015.

Variável	Total	Positivos (%)	OR ¹	IC 95% ²	P ³
Raça					
Girolanda*	285	42 (14,7)	-	-	-
Holandesa	60	12 (20,0)	1,45	0,71-2,95	0,308
Mestiça	55	6 (10,9)	0,71	0,28-1,76	0,456
Idade					
2 anos	16	6 (37,5)			
> 2 anos	384	54 (14,1)	0,27	0,09-0,78	0,010
Aborto					
Não	387	55 (14,2)			
Sim	13	5 (38,5)	3,77	1,19-11,95	0,002
Manejo rebanho					
Intensivo*	20	5 (25,0)	-	-	-
Extensivo	230	32 (13,9)	0,48	0,16-1,42	0,181
Semi intensivo	150	23 (15,3)	0,54	0,18-1,64	0,270
Presença de cães					
Não	130	23 (17,7)			
Sim	270	37 (13,7)	0,73	0,41-1,30	0,296
Propriedades com cães**					
Negativos	175	17 (9,7)			
Positivos	95	20 (21,1)	2,45	1,23-5,00	0,009
Há cães errantes					
Não	25	3 (12,0)			
Sim	375	57 (15,2)	1,31	0,38-4,53	0,665
Há piquetes de parição					
Não	295	35 (11,9)			
Sim	105	25 (23,8)	2,32	1,31-4,10	0,003
Número de vacas em lactação					
> 10	315	53 (14,8)			
≤ 10	85	7 (15,6)	0,44	0,20-1,01	0,049
Abate animais na propriedade					
Não	310	46 (14,8)			
Sim	90	14 (15,6)	1,06	0,55-2,02	0,867

Produto de aborto na pastagem					
Não	125	21 (16,8)	0,81	0,46-1,46	0,497
Sim	275	39 (14,2)			
Aluga pasto					
Não	285	43 (15,1)	0,98	0,53-1,79	0,938
Sim	115	17 (14,8)			
Assistência Veterinária					
Não	185	24 (12,9)	1,35	0,77-2,36	0,293
Sim	215	36 (16,7)			
Compra bovinos reprodução					
Não	75	6 (8,0)	2,29	0,95-5,54	0,058
Sim	325	54 (16,6)			
Características das construções					
Boas	260	24 (12,9)	1,35	0,77-2,39	0,293
Precárias	140	36 (16,7)			
Diagnóstico doença reprodutiva					
Não	145	17 (11,7)	1,52	0,83-2,79	0,167
Sim	255	43 (16,9)			
Vacina doença reprodutiva					
Não	275	40 (14,5)	1,12	0,62-2,01	0,706
Sim	125	20 (16,0)			
Fonte água					
Mina	330	54 (16,4)	0,48	0,20-1,17	0,098
Poço	70	6 (8,6)			
Há animais silvestres					
Não	45	9 (20,0)	0,67	0,30-1,78	0,867
Sim	355	51 (14,4)			
Há cocho sal mineral					
Não	10	46 (14,8)	1,60	0,20-12,90	0,654
Sim	390	14 (15,6)			
Infertilidade					
Não	65	5 (7,7)	2,36	0,90-6,13	0,079
Sim	335	55 (16,4)			
Recém-nascido debilitado					
Não	185	21 (11,3)	1,73	0,98-3,06	0,058
Sim	215	39 (18,1)			

Número de bovinos na propriedade						
> 30	320	51 (15,9)				
≤ 30	80	9 (11,2)	0,67	0,31-1,42	0,294	
Produção diária do rebanho (litros)						
> 100	240	40 (16,7)				
≤ 100	160	20 (12,5)	0,71	0,40-1,27	0,253	
Troca de Animais						
Não	250	38 (15,2)				
Sim	150	20 (14,7)	0,96	0,54-1,70	0,885	
Uso de carrapaticida (qtde. produtos)						
1 a 2	45	8 (17,8)				
3 a 4	355	52 (14,6)	0,80	0,35-1,80	0,580	
Uso de vermífugo (qtde. produtos)						
1 a 2	330	50 (15,1)				
3 a 4	70	10 (14,3)	0,93	0,45-1,94	0,854	
Uso de inseminação artificial						
Não	235	38 (16,2)				
Sim	165	22 (13,3)	0,80	0,45-1,40	0,435	
Uso vacina reprodução						
Não	275	40 (14,5)				
Sim	125	20 (16,0)	1,12	0,62-2,00	0,706	

*Referência; **Apenas animais de propriedades com cães; ¹Odds Ratio (Razão das Probabilidades); ²Intervalo de confiança para OR.; ³Mantel-Haenszel, resultados significativos se p<0,05.