

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-NEOSPORA CANINUM EM BOVINOS LEITEIROS E DE CORTE DA REGIÃO DE PRESIDENTE PRUDENTE, SP

I.F. Sartor^{1,3}, A. Garcia Filho¹, L.C. Vianna¹, E.M. Pituco², V. Dal Pai³, R. Sartor⁴

¹Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Laboratório de Enfermidades Parasitárias, Distrito de Rubião Junior, s/nº, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. E-mail: Sartor@unoeste.br

RESUMO

O *Neospora caninum* é considerado um agente de prioridade de estudo em reprodução animal em todo mundo, pelos distúrbios reprodutivos que afetam os bovinos. No Brasil, os estudos iniciais desta infecção são baseados em levantamentos soroepidemiológicos regionais. Sendo assim, amostras de soros sanguíneos de 505 de bovinos de corte da raça Nelore e de 408 bovinos leiteiros da raça Holstein localizados na região de Presidente Prudente, SP, Brasil, foram analisadas pelo teste imunoenzimático (ELISA). A ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* para o gado leiteiro foi de 35,54% (145/408) e 20,0% (101/505) para o gado de corte. A análise dos resultados mostra que há evidência de infecção de *N. caninum* nos rebanhos da região, sendo a ocorrência significativamente maior em rebanhos leiteiros ($p < 0,01$).

PALAVRAS-CHAVE: Neosporose, ocorrência, soroepidemiologia, Nelore, Holandês, bovino, Brasil.

ABSTRACT

OCCURRENCE OF ANTIBODIES ANTI-NEOSPORA CANINUM IN DAIRY AND BEEF CATTLE IN THE REGION OF PRESIDENTE PRUDENTE, SP, BRAZIL. *Neospora caninum* is considered one of the most important world wide agents that affect the bovine reproductive tract. In Brazil the initial studies of this infection were based on regional soroepidemiologic data. So, blood serum samples of 505 Nelore beef cattle and 408 of Holstein dairy cattle located in the region of Presidente Prudente, SP, Brazil were analysed using the immunoenzymatic ELISA test. The occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum* for dairy cattle was 35.54% (145/408) and 20.0% (101/505) for the beef cattle. The analysis of the results revealed evidence of *N. caninum* infection in the herds of this region, which was significantly higher in dairy cattle ($p < 0.01$).

KEY WORDS: Neosporosis, occurrence, Nelore, soroeidemiology, Holstein, Nelore Holstein, cattle, Brazil.

INTRODUÇÃO

Existem várias causas de perdas embrionárias e abortamentos em bovinos, portanto, a identificação dos prováveis agentes etiológicos causadores dessas enfermidades é crucial para que sejam adotadas medidas preventivas de controle dessas doenças.

Em todo mundo, o *Neospora caninum* é considerado um dos principais agentes causadores de distúrbios da reprodução. Difunde-se rapidamente nos rebanhos pela transmissão horizontal, onde os cães (McALLISTER *et al.*, 1998) e, mais recentemente, os coiotes (GONDIM *et al.*, 2004) foram descobertos como hospedeiros definitivos, sendo os primeiros também hospedeiros intermediários, infectando-se com seus próprios oocistos eliminados pelas fezes. Outra via de transmissão citada como importante é a vertical, que assume papel primordial na manutenção da doença, pelo fato da maioria das infecções congênicas resultar em bezerros clinicamente normais, porém persistentemente infectados.

A importância do rastreamento dos rebanhos visando a neosporose é justificada pelos prejuízos por ela assinalados. Na Califórnia (EUA), o *N. caninum* é o maior causador de abortamentos em bovinos leiteiros (ANDERSON *et al.*, 1991), causando em todo país perdas com abortamentos da ordem de US\$ 35 milhões (BARR *et al.*, 1997), havendo um custo em torno de

deiros intermediários, infectando-se com seus próprios oocistos eliminados pelas fezes. Outra via de transmissão citada como importante é a vertical, que assume papel primordial na manutenção da doença, pelo fato da maioria das infecções congênicas resultar em bezerros clinicamente normais, porém persistentemente infectados.

²Instituto Biológico, Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Sanidade Animal, São Paulo, SP, Brasil.

³Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, SP, Brasil.

⁴Universidade Estadual de Londrina, Londrina PR, Brasil.

US\$ 500,00 por abortamento (DUBEY, 1999). Na pecuária de corte as perdas são estimadas entre US\$ 15 e US\$ 24 milhões (KASARI *et al.*, 1999).

Levantamentos sorológicos no Brasil apontam ocorrências de anticorpos anti-*N. caninum* que variam de 7,7% (ANDREOTTI *et al.*, 1999) a 87,5% (MUNHOZ *et al.*, 2002b). Essa diferença é decorrente do tipo de amostragem utilizada, como as provenientes de animais que sofreram abortamentos ou de uma amostragem simplesmente casualizada. Influencia também no índice de sororeatividade, a sensibilidade do método diagnóstico utilizado. Exemplo desse fato é a constatação que o teste de ELISA detecta maior número de animais infectados que a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (SARTOR *et al.*, 2003).

A ocorrência da neosporose pode variar com o tipo de exploração, manejo dos rebanhos e a presença de hospedeiros definitivos. Rebanhos leiteiros mostram maior ocorrência de anticorpos (35,9%) quando comparados aos de corte (17,9%) (PITUCO *et al.*, 1998). Entretanto, outros autores apontam semelhança nas taxas conforme citações de SARTOR *et al.* (2003), que constataram 15,9 % em rebanhos leiteiros e de HASEGAWA (2000) com 15,5% em gado de corte, na mesma região.

Com o objetivo de se conhecer a dimensão da doença na região de Presidente Prudente, SP, reali-

zou-se um levantamento epidemiológico em rebanhos bovinos de corte e leiteiros.

MATERIAL E MÉTODOS

De um total de 6 rebanhos de raça Holandesa e 11 de raça Nelore, escolhidas ao acaso, foram colhidas 913 amostras de soro, sendo 408 e 505 respectivamente, provenientes de fêmeas bovinas, prenhes ou que haviam parido pelo menos uma vez. Todos os animais eram oriundos de propriedades com características próprias da região de Presidente Prudente, SP, que é constituída de 21 municípios, com população estimada em um milhão de cabeças entre corte e leite.

Os rebanhos leiteiros avaliados eram criados em regime semi-extensivo, com suplementação alimentar protéica particularmente no outono e inverno. O gado de corte era criado sob manejo extensivo.

Utilizou-se o ensaio imunoenzimático (ELISA), que emprega como antígeno taquizoítos rompidos, sendo as amostras de soro diluídas em 1:100, conforme instruções do fabricante.

Empregou-se o teste de Qui-quadrado, de acordo com PIMENTEL GOMES (1985), para verificação dos níveis de significância da frequência de animais reagentes entre rebanhos leiteiros e de corte.

Tabela 1 – Levantamentos soroepidemiológicos de *Neospora caninum* em bovinos no Brasil, segundo a Região geográfica, estado, aptidão dos animais, frequência de ocorrência, técnica diagnóstica empregada, autor e ano.

Local	Aptidão	Frequência	Técnica	Autor e Ano
Região Sul				
Rio Grande do Sul	Leiteira e Corte	23% (31/140)	RIFI	RAGOZO <i>et al.</i> (2003)
Paraná	Leiteira	34,8% (60/172)	ELISA	LOCATELLI DITTRICH <i>et al.</i> (2001b)
Paraná	Leiteira e Corte	32,3% (285/882)	ELISA	PITUCO <i>et al.</i> (2001)
Paraná	Leiteira e Corte	22% (20/90)	RIFI	RAGOZO <i>et al.</i> (2003)
Paraná	Corte	8,4% (16/190)	ELISA	ANDREOTTI <i>et al.</i> (2002)
Paraná	Leite tipo B	54,5% (225/413)	ELISA	GUIMARÃES JÚNIOR <i>et al.</i> (2003)
Paraná	Leite tipo B	21,6% (89/413)	RIFI	GUIMARÃES JÚNIOR <i>et al.</i> (2003)
Santa Catarina	Leiteira	65,5% (19/29)	ELISA	CORBELLINI <i>et al.</i> (2002)
Santa Catarina	Leiteira e Corte	19,3% (6/31)	ELISA	PITUCO <i>et al.</i> (2001)
Santa Catarina	Corte	41,6% (05/12)	ELISA	ANDREOTTI <i>et al.</i> (2002)
Região Sudeste				
São Paulo	Corte	15,6% (121/777)		HASEGAWA (2000)
São Paulo	Leiteira e Corte	29,3% (536/1824)	ELISA	PITUCO <i>et al.</i> (2001)
São Paulo	Leiteira e Corte	27% (40/150)	RIFI	RAGOZO <i>et al.</i> (2003)
São Paulo	Corte	41,6% (05/12)	ELISA	ANDREOTTI <i>et al.</i> (2002)
São Paulo	Leite	38,9% (144/370)	ELISA	PIAGENTINI (2002)
São Paulo	Leite	30,5% (159/521)	ELISA	SARTOR <i>et al.</i> (2003)
São Paulo	Leite	15,9% (83/521)	RIFI	SARTOR <i>et al.</i> (2003)
Rio de Janeiro	Leiteira	82,35% (14/140)	ELISA	MUNHOZ <i>et al.</i> (2002a)
Rio de Janeiro	Leiteira	14,2% (1/7) – 80% (8/10)	ELISA	MUNHOZ <i>et al.</i> (2002a)
Rio de Janeiro	Leiteira	87,5% (14/126)	ELISA	MUNHOZ <i>et al.</i> (2002b)
Rio de Janeiro	Leiteira e Corte	15% (23/150)	RIFI	RAGOZO <i>et al.</i> (2002)

Tabela 1 – Continuação

Local	Aptidão	Frequência	Técnica	Autor e Ano
Minas Gerais	Leiteira	18,7% (67/359)	ELISA	MELO & LEITE (2001)
Minas Gerais	Leiteira e Corte	44,8% (48/107)	ELISA	PITUCO <i>et al.</i> (2001)
Minas Gerais	Leiteira e Corte	29% (47/162)	RIFI	RAGOZO <i>et al.</i> (2003)
Região Centro-Oeste				
Mato Grosso do Sul	Leiteira e Corte	28% (28/110)	RIFI	RAGOZO <i>et al.</i> (2003)
Goiás	Leiteira e Corte	32% (16/50)	ELISA	PITUCO <i>et al.</i> (2001)
Mato Grosso	Leiteira e Corte	16,6% (2/12)	ELISA	PITUCO <i>et al.</i> (2001)
Goiás	Corte	17,4% (77/441)	ELISA	ANDREOTTI <i>et al.</i> (2002)
Mato Grosso do Sul	Corte	7,7% (07/91) - 30% (18/60)	ELISA	ANDREOTTI <i>et al.</i> (2002)
Região Nordeste				
Bahia	Leiteira	14,9% (63/ 447)	RIFI	GONDIM <i>et al.</i> (1999b)
Pernambuco	Leiteira	34,75% (163/469)	RIFI	SILVA <i>et al.</i> (2002)
Sergipe	Leiteira	13,5% (05/37)	ELISA	MELO <i>et al.</i> (2001)

RESULTADOS

As Tabelas 2 e 3 mostram a distribuição da enfermidade entre e dentre os municípios na região de Presidente Prudente, SP. Evidencia-se nessas tabelas as diferenças marcantes entre a quantidade de animais possuidores de anticorpos nas amostras analisadas.

Tabela 2- Ocorrência de anticorpos anti-*N.caninum* pelo método de ELISA por município, em soros de bovinos leiteiros da região Presidente Prudente, SP,2004).

Município	N.º de animais positivos	N.º de animais testados	%
Pres. Prudente	38	78	48,72
Pres. Prudente	10	40	25,00
Pres. Prudente	11	40	27,50
Pres. Prudente	8	20	40,00
Pres. Prudente	8	20	40,00
Pres. Bernardes	5	26	19,23
Pres. Bernardes	5	24	20,83
Pres. Bernardes	26	35	74,28
Pres. Bernardes	3	9	33,33
Emilianópolis	24	94	25,53
Pirapó	7	22	31,82
Total	145	408	35,54

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os resultados assinalados nas Tabelas 2 e 3 revelam a marcante presença da enfermidade nos rebanhos da região, onde maior ocorrência foi verificada nos rebanhos leiteiros, havendo diferença estatisticamente significativa na ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* (Valor $\chi^2 = 26,90$; $p < 0,01$; risco relativo = 1,78). O risco dos bovinos de leite se infectarem pelo *N. caninum* é de 1,78 vezes maior que os bovinos de corte (Tabela 4).

Levantamentos soroepidemiológicos no Brasil relatam a disseminação da enfermidade em impor-

Tabela 3 - Ocorrência de anticorpos anti-*N.caninum* pelo método de ELISA por município, em soros de bovinos de corte da região Presidente Prudente, SP, 2004.

Município	N.º de animais positivos	N.º de animais testados	%
Pres. Prudente	32	149	21,48
Pres. Prudente	12	35	34,29
Santo Inácio	16	71	22,54
Santo Inácio	20	110	18,19
Anhumas	9	79	11,40
Parapanema	12	61	19,68
Total	101	505	20,00

Tabela 4 - Comparação entre a ocorrência de soropositividade de rebanhos de leite e corte ao *N. caninum* utilizando método de ELISA, analisada pelo método do Qui-quadrado.

Resultado ELISA	Rebanhos de leite	Rebanhos de corte	Teste de Qui-quadrado
Soropositivos	35,5 4% 145/408	20,00 % 101/505	$\chi^2 = 26,90^{**}$ $p < 0,01$
Soronegativos	64,46 % 263/408	80,00 % 404/505	risco relativo = 1,78

tantes estados produtores de leite e carne com uma frequência variável de animais sororeagentes, de 7,7% a 87,5% (Tabela 1). Observa-se nessas citações um maior índice de infecção em gado de leite, comparados aos bovinos de corte. Em resumo, o *N. caninum* está distribuído no Brasil e em outras partes mundo, afetando rebanhos bovinos de corte e leite. A amplitude de ocorrência de animais com anticorpos anti-*Neospora* entre rebanhos, mesmo os de aptidões iguais, ocorre em decorrência do uso de diferentes técnicas de amostragem, se viciadas ou não, pois amostras provenientes de animais que sofreram abortamento ou de rebanhos onde esse distúrbio é marcante, certamente evidenciarão uma taxa diferente de anticorpos, comparada à amostragem oriunda de levantamentos epidemiológicos cujas propriedades são sorteadas e as coletas realizadas ao acaso. Também influenciam nos resultados o manejo zootécnico, onde a concentração de animais por área deve ser levada em consideração e, particularmente, o método de diagnóstico laboratorial empregado, pois diferenças significativas de valores são observadas entre elas. SARTOR et al. (2003), comparando as técnicas de ELISA e RIFI em diluição 1:200 em soros procedentes dos mesmos animais, constataram que a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* foi 85% superior na primeira técnica. Observação semelhante foi verificada por GUIMARÃES JUNIOR (2003) na comparação da RIFI e NAT, onde os valores encontrados no primeiro método foram 80% maiores que os constatados no segundo método.

Optou-se pelo método de ELISA, pelas vantagens oferecidas sobre os outros métodos diagnósticos, entre eles a sensibilidade de até 98%, especificidade de até 100%, menor tempo de execução, precisão e custo do teste (VENKASTEIN & WAKELI, 1993; OSAWA et al., 1988; SCHARLES et al., 1998).

Comparando-se esses achados com estudos que utilizaram o mesmo método de detecção de anticorpos, ELISA, a ocorrência para o gado de leite (Tabela 2) assemelha-se aos encontrados por PITUCO et al. (1998), LOCATELLI-DITRICH et al. (2001b), MUNHOZ et al. (2002a), PIAGENTINI (2002) e SARTOR et al. (2003), entretanto, são inferiores aos achados por LOCATELLI-DITRICH et al. (2001 a) e CORBELLINI et al. (2002) e superiores aos citados por MELO et al. (2001), BRAUTIGAM et al. (1996) e MELLO & LEITE (1999).

Para os rebanhos de corte (Tabela 3) esse número assemelha-se aos encontrados por MELO et al. (2001) e MUNHOZ et al. (2002b) sendo inferior ao citado por PITUCO et al. (1998) e CORBELLINI et al. (2002), e superior ao encontrado por ANDREOTTI et al. (1999) e MELO & LEITE (1999).

Ainda, no Brasil, há relatos onde as taxas de soropositividade ao *N. caninum* foram semelhantes em gado leiteiro e corte (HASEGAWA, 2000; SARTOR et al., 2003).

Maior ocorrência desses anticorpos em gado de corte é citada também na Argentina (MOORE et al., 2002), na Espanha (QUINTANILLA-GONÇALO et al., 1999) e na Bélgica (Hemphill & Gottstein, 2000).

Conclui-se que há evidência da doença na região de Presidente Prudente, SP, onde a ocorrência de anticorpos é significativamente maior em bovinos com aptidão leiteira em relação à de corte.

REFERÊNCIAS

- ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C.; DUBEY, J.P.; HOFFMAN, R.L.; CONRAD, P.A. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.198, p.241-244, 1991.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.; GOMES, A. Diagnóstico sorológico de *Neospora caninum* em rebanho bovino de corte de Mato Grosso do Sul. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11., SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL, 2., 1999, Salvador. *Anais*. Salvador, 1999. p.226.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.; GOMES, A.; PRES, P.P.; SILVA, E.A.A. Sorologia anti-*Neospora caninum* em gado de corte e em cães no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil Central. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. 1 CD-ROM.
- BARR, B.C.; BJERKAS, I.; BUXTON, D.; CONRAD, P.A.; DUBEY, J.P.; ELLIS, J.T.; JENKINS, M.C.; JOHNSTON, S.A.; LINDSAY, D.S.; SIBLEY, D.; TREES, A.J.; WOUDA, W. Neosporosis, Report of the International *Neospora* Workshop. *Compendium Continuing Education for Practicing Veterinarian*, v.19, p.120-126, 1997.
- BJORKMAN, C. & UGLLA, A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *International Journal of Parasitology*, v.29, n.10, p.1497-1507, 1999.
- BRAUTIGAM, F.E.; HETALA, S.K.; GLASS, R. Resultados de levantamento sorológico para espécie *Neospora* em bovinos de corte e leite. In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, 15., 1996, Campo Grande. *Anais*. Campo Grande: Sociedade Matogrossense do Sul de Medicina Veterinária, 1996. p.284.
- 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*, v.103, n.3, p.195-202, 2002.
- DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v.84, p.349-367, 1999.
- GONDIM, L.F.P.; MCALLISTER, M.M.; PITT, W.C. ZEMLIKKE, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive host of *N. Neospora*. *International Journal of Parasitology*, v.34, n.2, p.59-161, 2004.
- GUIMARÃES JUNIOR, J.S. *Neospora caninum* em bovinos de exploração leiteira: soroprevalência, fatores de risco e

- comparação de técnicas sorológicas. 2003. 119f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- HASEGAWA, M.Y. Soroprevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos de corte e em cães rurais da região de Avaré – SP. 2000. 50 f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2000.
- HEMPHILL, A. & GOTTSTEIN, B. A European perspective on *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*, v.30, p.1887-1924, 2000.
- KASARI, R.T.; BARLING, K.; McGRANN, J. M. Estimated production and economic losses from *Neospora caninum* infection in Texas beef herds. *Bovine Practice*, v.33, p.113-120, 1999.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V.T.; RICHARTZ, R.R.; GASINO-JOINEAU, M.E.; VINNE, R.; PINCKNEY, R.D. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in southern Brazil. *Journal of Parasitology*, v.87, p.1493-1494, 2001a.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V.T.; RICHARTZ, R.R.; GASINO-JOINEAU, M.E.; VINNE, R.; SILVA, R.; LEITE, L.C.; PINCKNEY, R.D. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras e bezerros no Estado do Paraná. *Archives of Veterinary Science*, v.6, p.37-41, 2001b.
- 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*, v.28, p.1473-147, 1998.
- MELO, C. B. *Neospora caninum* em Minas Gerais. Aspectos epidemiológicos. 2001. 131f. Tese (Doutorado em Ciência Animal – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2001.
- MELO, C.B. & LEITE, R.C. *Neospora caninum* em Minas Gerais: dados preliminares. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11., SEMINÁRIO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA DOS PAÍSES DO MERCOSUL, 2., 1999, Salvador. *Anais*. Salvador, 1999. p.225-226.
- 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*, v.25, n.2 p.250-251, 2001.
- MOORE, D.P.; CAMPERO, C.M.; ODEÓN, A.C.; POSSO, M.A.; CANO, D.; LUENDA, M.R.; BASSO, W.; VENTURINI, M.C.; SPATH, E. Seroepidemiology of beef and dairy herds and fetal study of *Neospora caninum* in Argentina. *Veterinary Parasitology*, v.107, n.4, p.303-316, 2002.
- MUNHOZ, A.D.; SILVA, R.T.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA, M.; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas, no rebanho leiteiro do município de Resende, estado do Rio de Janeiro: dados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002a. CD-ROMa.
- MUNHOZ, A.D.; FLAUSINO, W.; ALMEIDA, C.R.R.; LOPES, C.W.G. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em vacas, no rebanho leiteiro do município de Rio Claro, estado do Rio de Janeiro: dados preliminares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002b. CD-ROMb.
- OKUDA, L.H.; PITUCO, E.M.; STEFANO, E.; PERUCINI, L.M. Isolamento de *Neospora caninum* em amostras de fetos bovinos abortados no Brasil. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v.25, n.2, p.248-250, 2001.
- OSAWA, T.; WASTLING, J.; MALEY, S.; BUXTON, D.; INNES, E.A. A multiple antigen ELISA to detect *Neospora*-specific antibodies in bovine sera, bovine foetal fluids, ovine and caprine sera. *Veterinary Parasitology*, v.79, p.19-34, 1998.
- PIAGENTINI, M. *Dinâmica da infecção por Neospora caninum e propriedades leiteiras do município de Avaré/SP*. 2002. 37f. Dissertação (Mestrado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2002.
- PIMENTEL GOMES, F. *Curso de estatística experimental*. 11.ed., Piracicaba: Livraria Nobel, 1985. 466p.
- PITUCO, E.M.; STEFANO, E.; OKUDA, L.H.; TROTTER, C.M.; PERUCINI, L.M., DUARTE, F.C. Sorodiagnóstico de Neosporose bovina no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.68, p.83, 2001. Suplemento. Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 14., 2001, São Paulo. Resumo 113. 1CD-ROM.
- PITUCO, E.M., SOARES, J.A.G.; OKUDA, L.H.; STEFANO, E. Ocorrência de neosporose bovina em rebanhos com histórico de abortamento no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.65, p.70, 1998. Suplemento. Trabalho apresentado na REUNIÃO ANUAL DO INSTITUTO BIOLÓGICO, 2, 1998, São Paulo. Resumo 092.
- QUINTANILLA-GOZALO, A.; PEREIRA-BUENO, J.; TABARÉS, E.; INNES, E.A.; GONZÁLES-PANIELLO, R.; ORTEGA-MORA, L.M. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dairy and beef cattle in Spain. *International Journal of Parasitology*, v.29, p.1201-1208, 1999.
- RAGOSO, A.M.A. *Ocorrência de anticorpos anti-Neospora caninum em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros*. 2003. 74f. Tese (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- SARTOR, I.F.; HASEGAWA, M.Y.; CANAVESSI, A.M.O.; PINCKNEY, R.D. Ocorrência de anticorpos de *Neospora caninum* em vacas leiteiras avaliados pelos métodos de ELISA e RIFI no município de Avaré., SP. *Semina Ciências Agrárias*, v.24, p.3-10, 2003.
- SILVA, M.I.S.; ALVES, L.C.A.; FAUSTINO, M.A.G.; ALMEIDA, M.A.; PINHEIRO, M.A.; JESUS, E.E.V.; CUNHA, A.P.; NASCIMENTO, E.S.; LIMA, M.M. Frequência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em bovinos leiteiros do município de Gravatá. Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12., 2002, Rio de Janeiro. *Anais*. Rio de Janeiro: Colé-

gio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. CD-ROM.

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

VENKASTEIN, P. & WAKELI, D. ELISAs for parasitologist: or lies, dammed lies and ELISAs. *Parasitology Today*, v.9, p.228-232, 1993.

Recebido em 5/9/05

Aceito em 19/12/05