

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM SOROS BOVINOS PROCEDENTES DE SEIS ESTADOS BRASILEIROS

ALESSANDRA M.A. RAGOZO¹, V.ÂNIA S.O. PAULA¹, SILVIO L.P. SOUZA¹, DENISE P. BERGAMASCHI²,
SOLANGE M. GENNARI^{1*}

ABSTRACT.- RAGOZO, A.M.A.R., PAULA, V.S.O., SOUZA, S.L.P., BERGSMASCHI, D.P., GENNARI, S.M. [Occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum* in bovine sera from six Brazilian states.] Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros bovinos procedentes de seis estados brasileiros. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 1, p. 33-37, 2003. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Orlando Marques de Paiva 89, Cidade Universitária Butantã, São Paulo, SP 05508-000, Brazil. E-mail:sgennari@usp.br

To determine the occurrence of antibodies anti-*N. caninum* 802 serum samples were selected randomly from a dairy and beef female cattle serum archive from six Brazilian states: Mato Grosso do Sul (110), Minas Gerais (162), Paraná (90), Rio de Janeiro (150), Rio Grande do Sul (140) and São Paulo (150). Sample size was calculated by using Epi-Info statistical program assuming a prevalence of 50% with 3% of precision and 95% of confidence limits adding 10% for eventual losses. The presence of antibodies anti-*N. caninum* was determined by indirect immunofluorescence-antibody test with a cut-off value of 1:25. The occurrence of seropositive bovines in all six states, was 23.6% with values increasing in animals over 24 months of age. However, difference between age and proportion of seroreagents was not evident. Among the states, Rio de Janeiro presented the lowest percentage (14.7%) of positives and Minas Gerais (29.0%) the highest. In relation to the animal ability a higher occurrence was observed in dairy (26.2%) than beef cattle (19.1%). Animals from the states of Paraná, Mato Grosso do Sul and Rio Grande do Sul presented higher occurrence in beef and from Minas Gerais in dairy animals.

KEY WORDS: *Neospora caninum*, Bovine, Indirect Immunofluorescence-Antibody Test, Brazil.

RESUMO

Para determinar a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* 802 amostras foram selecionadas aleatoriamente de um banco de soros de fêmeas bovinas procedentes de rebanhos de corte e de leite de seis Estados brasileiros: Mato Grosso do Sul (110), Minas Gerais (162), Paraná (90), Rio de Janeiro (150), Rio Grande do Sul (140) e São Paulo (150). Para o cálculo do tamanho da amostra considerou-se uma soroprevalência para *N. caninum* de 50%, precisão de 3% e intervalo de confiança de 95%, acrescidos de 10% para eventuais perdas, obtidas utilizando-se o pacote estatístico Epi-Info. A determinação da presença de anticorpos anti-*N. caninum* foi analisada pela Reação de Imunofluorescência Indireta com ponto de corte de 1:25. A ocorrência de ani-

mais soropositivos nos seis Estados foi de 23,6% com aumento nos bovinos acima de 24 meses, entretanto parece não haver diferenças entre a idade média e a proporção de sororeagentes. Dentre os Estados, o Rio de Janeiro apresentou a menor (14,7%) e Minas Gerais a maior (29,0%) porcentagem de sororeagentes. Com relação à aptidão animal, observou-se maior ocorrência nos bovinos de leite (26,2%) que nos de corte (19,1%), com os Estados do Paraná, Mato Grosso do Sul e Rio Grande do Sul apresentando os maiores valores de ocorrência nos bovinos de corte e Minas Gerais nos de leite.

PALAVRAS-CHAVE: *Neospora caninum*, Bovinos, Reação de Imunofluorescência Indireta, Brasil.

INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um protozoário formador de cistos em tecidos de animais, o qual até 1988, era confundido com *Toxoplasma gondii*, devido as suas estruturas similares. Porém, os agentes são distintos em sua ultraestrutura, imunogenicidade e patogenicidade ao hospedeiro. Este parasita, desde a sua descoberta, tem emergido como um

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, Av. Orlando Marques de Paiva, 89 Cidade Universitária Butantã, São Paulo SP. CEP 05508-000

²Departamento de Epidemiologia, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo

*Autor para correspondência, E-mail:sgennari@usp.br

significante patógeno, acometendo várias espécies animais, como os bovinos, nos quais é responsável por abortamento além de problemas neuromusculares nessa espécie e em cães. (MAYHEW et al., 1991; DUBEY; DE LAHUNTA, 1993).

A neosporose bovina está amplamente distribuída, sendo relatada na Europa, Escandinávia, África, Austrália, Nova Zelândia e Américas (DUBEY, 1999).

Há vários relatos da ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* no Brasil, com valores que variam de 7,7% (ANDREOTTI et al., 1999) a 67,85% (BELO et al., 1999), porém em levantamentos sorológico nem sempre é possível serem feitas comparações dos estudos devido ao uso de diferentes pontos de corte e/ou técnicas sorológicas. Sartor et al. (1999), ao utilizarem técnicas diferentes nas mesmas amostras de soros, observaram em 521 fêmeas bovinas do Estado de São Paulo, valores de 16,30% quando analisadas pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e de 30,13% pelo Ensaio Imuno Enzimático (ELISA). Também em amostras de soro bovino, Guimarães Júnior (2002) comparou a RIFI e o Teste de Aglutinação (NAT), encontrando valores de prevalência de 21,54% e 12,1% respectivamente, para bovinos do norte do Estado do Paraná.

Devido a grande importância do *N. caninum* em rebanhos bovinos no mundo inteiro e pelo conhecimento limitado da prevalência do agente no Brasil, este trabalho tem como objetivo, conhecer a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos oriundos de rebanhos de seis Estados brasileiros: Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras utilizadas neste estudo pertenciam a um banco de soros constituído por 2336 amostras de soros de fêmeas bovinas, colhidas entre os anos de 1996 a 2000 de propriedades com pecuária de corte e leite dos Estados do Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro e São Paulo. Estas amostras eram procedentes de 55 propriedades sendo no Estado do Paraná e Minas Gerais seis e nove propriedades respectivamente e nos demais dez por Estado. Em cada propriedade foi aplicado um questionário com a finalidade de se obter informações a respeito da idade e do tipo de exploração animal e colheu-se, aproximadamente, 44 amostras de soro (total de 2336 amostras).

Para o cálculo do tamanho da amostra considerou-se uma soroprevalência para *N. caninum* de 50%, precisão de 3% e intervalo de confiança de 95%, acrescidos de 10% para eventuais perdas, utilizando-se o pacote estatístico Epi-Info (Epi-Info, 1994). O tamanho da amostra, 802 soros, representa 34% do total de soros disponíveis no banco original, o mesmo percentual foi utilizado para o cálculo do número da amostra por Estado e por aptidão do animal (corte ou leite) e obtidos do banco de soro de forma aleatória por propriedade. Os animais estudados apresentaram idades variando de três a 180 meses com idade média de 65,5 meses (5,5 anos).

O diagnóstico foi realizado pela reação de imuno-

fluorescência indireta (RIFI) segundo a metodologia preconizada por DUBEY et al. (1988). O ponto de corte utilizado foi o de 25 (VENTURINI et al., 1999) e os soros positivos neste título foram diluídos seriadamente e testados para determinar o título máximo da reação. Reações que ocorriam de forma apical ou parcial foram consideradas negativas, enquanto as reações eram consideradas positivas quando os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total (PARÉ et al., 1995).

As variáveis estudadas foram: ocorrência e título de anticorpos anti-*N. caninum*, Estado de origem do animal (Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e São Paulo), aptidão (bovino de corte e de leite) e idade (meses).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar de se ter conhecimento da presença do *N. caninum* no país, um estudo utilizando a mesma técnica de diagnóstico, o mesmo ponto de corte e as mesmas condições laboratoriais, com amostras de diferentes procedências, não havia sido realizado, permitindo uma boa avaliação da presença do agente nos diferentes Estados brasileiros. As amostras do banco de soro foram colhidas por conveniência, proporcionando limitação importante para o presente estudo quanto à utilização de técnicas estatísticas de análise de dados que pressupõem amostragem probabilística. Assim, a comparação dos resultados será realizada de forma descritiva.

Do total de 802 exames sorológicos realizados observou-se uma ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* igual a 23,6%, com 189 animais positivos, indicando que estes animais, em algum momento de suas vidas, infectaram-se pelo agente e produziram anticorpos específicos.

Estudos realizados no Brasil sobre a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* apresentam valores bastante variáveis, e em muitos deles, também não é conhecida, com detalhe, a procedência dos soros utilizados e o histórico dos animais e ou propriedades analisadas, permitindo poucas informações epidemiológicas.

Os títulos de anticorpos variaram de 25 a 3200, com animais apresentando título de 25 (24,3%), 50 (17,5%), 100 (14,8%), 200 (18,5%), 400 (9,5%), 800 (7,4%), 1600 (5,8%) e 3200 (2,1%). Títulos ≥ 800 são considerados altos e sugestivos de infecção ativa (DUBEY, 1999; LINDSAY et al., 1999). Neste estudo, verificou-se que 15,34% dos animais apresentaram títulos iguais ou superiores a 800, o que permite a suposição de que esses pudessem estar na fase aguda da doença. Entretanto, Innes et al. (2000) relatam que poucos meses após o aborto, fêmeas podem apresentar-se soronegativas e Conrad et al. (1993) observaram que, após o aborto, os títulos podem diminuir por um período de um a cinco meses, porém podem retornar a altos níveis no quarto ou quinto mês de gestação, possivelmente devido a reativação de uma infecção latente. Assim, é necessário precaução para interpretar resultados sorológicos, particularmente em animais que

Tabela 1. Distribuição da frequência de bovinos soropositivos a anticorpos anti-*N. caninum* segundo a Unidade da Federação

Unidade da Federação	Animais testados	Animais positivos	(%)
Mato Grosso do Sul	110	31	28,2
Minas Gerais	162	47	29,0
Paraná	90	20	22,2
Rio de Janeiro	150	22	14,7
Rio Grande do Sul	140	28	20,0
São Paulo	150	41	23,6
Total	802	189	23,6

Tabela 2. Distribuição da frequência de bovinos soropositivos a anticorpos anti-*N. caninum* procedentes de seis Estados brasileiros segundo idade

Idade (meses)	Positivo		Negativo		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
0-24	3	12,5	21	87,5	24	100
24-48	34	20,2	134	79,8	168	100
48-72	71	25,6	206	74,4	277	100
72-181	78	24,1	246	75,9	324	100
Total	186	23,5	607	76,5	793*	100

* 793 dos 802 bovinos sorteados tinham a idade declarada

Tabela 3. Distribuição da frequência de bovinos soropositivos a anticorpos anti-*N. caninum* segundo aptidão animal, carne ou leite, por Unidade da Federação

Unidade da Federação	Ocorrência (%)					
	Leite			Corte		
	Total	Positivos	%	Total	Positivos	%
Mato Grosso do Sul	23	5	21,7	87	26	29,9
Minas Gerais	126	43	34,4	36	4	11,1
Paraná	75	16	21,3	15	4	26,7
Rio de Janeiro	75	17	22,7	75	5	6,7
Rio Grande do Sul	70	13	18,6	70	15	21,4
São Paulo	150	41	27,3	*		

* soros de bovinos de corte não disponíveis

abortaram ou em fêmeas prenhes, devido à flutuação dos títulos de anticorpos (STELUND et al., 1999).

A proporção de resultados positivos, segundo a Unidade da Federação, é apresentada na Tabela 1. A maior proporção de resultados positivos foi encontrada nos Estados do Mato Grosso do Sul e Minas Gerais. Os Estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Paraná apresentam ocorrência de soropositivos inferior à média geral (23,6%), isto é, considerando todos os Estados estudados.

Sanderson et al. (2000), nos EUA, também não encontraram diferenças nos valores de soroprevalência do *N. caninum*

em bovinos procedentes de cinco Estados da região nordeste; mesmo com as diferenças regionais entre os dois países, a mesma tendência foi observada neste estudo. Com exceção do Rio de Janeiro, que apresentou ocorrência de 14,7%, nos outros Estados foram encontrados valores que variaram de 20% a 29%, não evidenciando grandes variações entre os resultados.

A RIFI vem sendo uma das técnicas de diagnóstico sorológico amplamente utilizada e considerada teste de referência para detecção de anticorpos anti-*N. caninum* em bovinos (CONRAD et al., 1993). Além da importância das técnicas no sorodiagnóstico, outro aspecto de grande importância é o ponto de corte. Os primeiros trabalhos utilizando a RIFI para o diagnóstico do *N. caninum* utilizavam um ponto de corte maior ou igual a 640 (TREES et al., 1994; DANNATT et al.; 1995) e à partir dos estudos de Venturini et al. (1999) e das infecções experimentais com o parasito, observou-se que este ponto de corte poderia ser reduzido (DE MAREZ et al., 1999; JENKINS et al., 2000; BASSO et al., 2001; MOORE et al., 2002). Atualmente, vários são os laboratórios que utilizam ponto de corte menor ou igual a 200 na RIFI (GUIMARÃES JÚNIOR, 2002; PEREIRA-BUENO et al., 2003), entretanto ainda não há consenso em relação a este valor.

Tanto nos bovinos soropositivos como nos soronegativos observou-se idades variando de três a 180 meses, com predominância na faixa dos 36 a 84 meses. A idade média dos animais soropositivos foi de 65,8 meses, com desvio padrão (DP) de 29,7 meses e, entre os soronegativos, foi de 64,0 meses (DP=30,1 meses).

A Tabela 2 apresenta a distribuição dos animais soropositivos segundo idade. Observou-se 12,5% das fêmeas soropositivas com idade inferior a 24 meses e nos animais acima desta idade a proporção de soropositivos foi superior a 20%. Neste estudo parece não haver diferença das idades entre os animais soropositivos e soronegativos. Dentre os positivos os resultados indicam um aumento no número de sororeagentes nos animais acima de 24 meses de idade. Entretanto, não é possível concluir esta observação devido a pequena amostragem no intervalo de 0 a 24 meses em relação às demais faixas etárias.

Na Inglaterra e França não foi observada nenhuma evidência no aumento da soroprevalência de acordo com a idade dos bovinos estudados (HEMPHILL; GOTTESTEIN, 2000; PITEL et al. 2001). No Brasil, Melo et al. (2001), num estudo em fêmeas leiteiras do Estado de Minas Gerais, também não observaram diferenças entre as faixas etárias estudadas de sete a 18 meses, 19 a 30 meses e fêmeas acima de 31 meses, sugerindo haver uma mesma exposição dos animais ao parasito.

Dyer et al. (2000) e Sanderson et al. (2000), ambos nos EUA, observaram aumento de sororeagentes com o aumento da idade dos bovinos, sugerindo a ocorrência de infecção pós-natal no rebanho. Dado semelhante foi descrito por Guimarães Júnior (2002), no Brasil, que observou, em fêmeas bovinas acima de 24 meses de idade, maior prevalência para o

agente e encontrou a idade como um importante fator de risco para infecção pelo *N. caninum*.

Em todos os Estados brasileiros animais de leite e de corte foram examinados, com exceção do Estado de São Paulo onde só existiam bovinos de leite. Do total de 802 fêmeas, 519 (64,7%) eram de leite e o restante de corte. Entre os animais de leite, 26,2% eram soropositivos comparados com 19,1% dos animais de corte. Minas Gerais apresentou o maior percentual de positivos entre os bovinos de leite (34,4%) e o Rio Grande do Sul, o menor (18,6%). No rebanho de corte, maiores percentuais de soropositivos foram observados entre os animais procedentes dos Estados de Mato Grosso do Sul (Tabela 3).

Até o presente momento há poucos relatos comparando diferentes sistemas de produção e a prevalência do *N. caninum*. Venturini et al. (1999), na Argentina e Quintanilla-Gonzalo et al. (1999), na Espanha, observaram maior prevalência em bovinos leiteiros em relação aos de corte. Na Bélgica, encontraram maior prevalência em bovinos de corte, e isto, provavelmente tenha ocorrido devido a diferenças na raça e manejo dos animais (HEMPHILL; GOTTSTEIN, 2000)

No Brasil, o único estudo comparando bovinos de corte e leite foi realizado na Bahia onde encontrou-se maior prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* nos animais leiteiros (JESUS et al., 2001). Neste estudo, os bovinos de leite apresentaram maior ocorrência (26,2%) que os de corte (19,1%) e, dentre os Estados, Paraná e Mato Grosso do Sul apresentaram um maior número de animais soropositivos entre os bovinos de corte e Minas Gerais entre os de aptidão leiteira.

AGRADECIMENTOS: Os autores agradecem aos Laboratórios Pfizer Ltda por ceder as amostras de soros bovinos. Especial agradecimento ao CNPq pela bolsa de mestrado à A. M. A. Ragozo e de produtividade em pesquisa à S. M. Gennari.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREOTTI, R., PINCKNEY, R.; GOMES, A. Diagnóstico sorológico de um rebanho bovino de corte de Mato Grosso do Sul. *In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA*, 11. 1999, Salvador. 1999. *Anais...* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 226.
- BASSO, W., VENTURINI, L., VENTURINI, M. C., HILL, D. E., KWOK, O. C. H., SHEN, S. K. & DUBEY, J. P. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *Journal of Parasitology*, v. 87, n. 3, p. 612-618, 2001.
- BELO, M. A. A., REZENDE, L. M. & COSTA, A. J. Presença de anticorpos contra *Neospora caninum* em bovinos com histórico de abortos não diagnosticados etiológicamente. *In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA*, 11. 1999, Salvador. 1999. *Anais...* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 229.
- 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 fetuses. *Parasitology*, v. 106, n. 3, p. 239-249, 1993.
- DANNATT, L., GUY, F. & TREES, A. J. Abortion due to *Neospora* species in a dairy herd. *Veterinary Record*, v. 137, n. 22, p. 566-567, 1995.
- DE MAREZ, T., LIDDELL, S., DUBEY, J. P., JENKINS, M. C. & GASBARRE, L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 10, p. 1647-57, 1999.
- DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 214, n. 8, p. 1160-1163, 1999.
- DUBEY, J. P. & DE LAHUNTA, A. Neosporosis associated congenital limb deformities in a calf. *Applied Parasitology*, v. 34, p. 229-233, 1993.
- DUBEY, J. P., DOROUGH, K. R., JENKINS, M. C., LIDDELL, S., SPEER, C. A., KWOK, O. C. & SHEN, S. K. Canine neosporosis: clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. *International Journal Parasitology*, v. 28, n. 8, p. 1293-1304, 1998.
- DYER, R. M., JENKINS, M. C., KWOK, O. C. H., DOUGLAS, L. W. & DUBEY, J. P. Serologic survey of *Neospora caninum* infection in a closed dairy cattle herd in Maryland: risk of serologic reactivity by production groups. *Veterinary Parasitology*, v. 90, n. 3, p. 171-181, 2000.
- GUIMARÃES JR., J. S. *Neospora caninum* em bovinos de exploração leiteira: soroprevalência, fatores de risco e comparação de técnicas sorológicas, 2002. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
- HEMPHILL, A. & GOTTSTEIN, B. A European perspective on *Neospora caninum*. *International Journal of Parasitology*, v. 30, n. 8, p. 1887-1924, 2000.
- INNES, E. A., BUXTON, D., MALEY, S., WRIGHT, S., MARKS, J., ESTEBAN, I., RAE, A., SCHOCK, A. & WASTLING, J. Neosporosis. Aspects of epidemiology and host immune response. *Annals of the New York Academic Science*, v. 916, n. 93, p. 93-101, 2000.
- JENKINS, M. C., CAVER, J. A., BJÖRKMAN, C., ANDERSON, T. C., ROMAND, S., VINYARD, B., UGGLA, A., THULLIEZ, P. & DUBEY, J. P. (2000). Serological investigation of an outbreak of *Neospora caninum*-associated abortion in a dairy herd in southeastern United States. *Veterinary Parasitology*, v. 94, n. 1-2, p. 17-26.
- JESUS, E. E. V., BARROS, S. L. B., SIMÃO, C. B., PINHEIRO, A. M., GONDIM, L. F. P., GUIMARÃES, J. E. & ALMEIDA, M. A. O. Inquérito sorológico do *Neospora caninum* em bovinos dos municípios de Euclides da Cunha e Uauá do semi-árido baiano. *In: CONGRESSO BRASI-*

- LEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA - CONBRAVET, 28, 2002, Salvador. *Anais...* Salvador: Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 2002. p. 189.
- LINDSAY, D. S., DUBEY, J. P. & MCALLISTER, M. *Neospora caninum* and the potential for parasite transmission. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v. 21, n. 4, p. 317-321, 1999.
- MAYHEW, I. G., SMITH, K. C., DUBEY, J. P., GATWARD, L. K. & MCGLENNON, N. J. Treatment of encephalomyelitis due to *Neospora caninum* in a litter of puppies. *Journal Small Animal Practice*, v. 32, n. 12, p. 609-612, 1991.
- MELO, C. B., LEITE, R. C., SOUZA, G. N. & LEITE, R. C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.
- MOORE, D. P., CAMPERO, C. M., ODEON, A. C., POSSO, M. A., CANO, D.; LEUNDA, 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.
- PARÉ, J., HIETALA, S. K. & THURMOND, M. C. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for serological diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 7, n. 3, p. 352-359, 1995.
- PEREIRA-BUENO, J., QUINTANILLA-GOZALO, A., PEREZ-PEREZ, V., ESPI-FELGUEROSO, A., ALVAREZ-GARCIA, G., COLLANTES-FERNANDEZ, E. & ORTEGA-MORA, L. M. Evaluation by different diagnostic techniques of bovine abortion associated with *Neospora caninum* in Spain. *Veterinary Parasitology*, v. 111, n. 2-3, p. 143-152, 2003.
- PITEL, P. H., PRONOST, S., CHATAGNON, G., TAINTUNIER, D., FORTIER, G. & BALLEST, J. J. Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA of aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 102, n. 4, p. 269-277, 2001.
- 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 for Parasitology*, v. 29, n. 8, p. 1201-1208, 1999.
- SANDERSON, M. W.; GAY, J. M. & BASZLER, T. V. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in northwestern United States. *Veterinary Parasitology*, v. 90, n. 1-2, p. 15-24, 2000.
- SARTOR, I. F., HASEGAWA, M. Y., GONDIM, L. F. P., PIAGENTINI, M., VIEIRA, A., MEGID, J. & CANAVESSI, A. M. Prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em rebanhos leiteiros no município de Avaré, SP - Resultados preliminares. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. 1999. *Anais...* Salvador, Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 225.
- STELUND, S., KINDAHL, H., MAGNUSSON, U., UGGLA, A. & BJORKMAN, C. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, v. 85, n. 4, p. 227-234, 1999.
- TREES, A. J., GUY, F., LOW, J. C., ROBERTS, L., BUXTON, D. & DUBEY, J. P. Serological evidence implicating *Neospora* species as a cause of abortion in British cattle. *Veterinary Record*, v. 134, n. 16, p. 405-407, 1994.
- VENTURINI, M. C., VENTURINI, L., BACIGALUPE, D., MACHUCA, M., ECHAIDE, I., BASSO, W., UNZAGA, J. M., DILORENZO, C., GUGLIELMONE, A., JENKINS, M.C. & DUBEY, J. P. *Neospora caninum* infections in bovine fetuses and dairy cows with abortions in Argentina. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 10, p. 1705-1708, 1999.

Recebido em 6 de março de 2003.

Aceito para publicação em 1 de julho de 2003.