

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

JULIANA GARCEZ OLIVEIRA

Emprego do kit portátil DOT-ELISA para detecção de anticorpos IgG de *Neospora caninum* no soro de bovinos leiteiros, Uberlândia-MG

**UBERLÂNDIA
2023**

JULIANA GARCEZ OLIVEIRA

Emprego do kit portátil DOT-ELISA para detecção de anticorpos IgG de *Neospora caninum* no soro de bovinos leiteiros, Uberlândia-MG

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Cristino Barbosa

**Uberlândia
2023**

Juliana Garcez Oliveira

Emprego do kit portátil DOT-ELISA para detecção de anticorpos IgG de *Neospora caninum* no soro de bovinos leiteiros, Uberlândia-MG

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Uberlândia, como requisito parcial à aprovação na disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso 2.

APROVADA EM 27/06/2023

Prof. Dr. Fernando Cristino Barbosa
(FAMEV- Faculdade de Medicina Veterinária)

Médica Veterinária Ana Carolina Guimarães Fenelon
(FAMEV- Faculdade de Medicina Veterinária- PPGCV)

Médica Veterinária Lara Reis Gomes
(FAMEV- Faculdade de Medicina Veterinária- LADOC)

**Uberlândia
2023**

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, por não ter me deixado desistir. Sempre busquei em oração estar o mais próximo possível d'Ele, e isso me fortaleceu fazendo com que eu vencesse todos os obstáculos. Aprendi que devemos sempre colocar Deus à frente de tudo, pois o que for de nosso merecimento e nossas vontades coincidir, assim ele o fará. Esse trabalho é o resultado da fé de que Deus é maior do que qualquer coisa que existe na Terra.

Em segundo lugar agradeço aos meus pais, pois me deram um lar de amor e me apoiaram sempre. Graças aos seus esforços puderam me proporcionar os estudos e chegar até aqui, prestes a concluir a graduação. Não teria conseguido nada sem a ajuda de vocês. Muito obrigada.

Agradeço à minha irmã pelo apoio e por me incentivar sempre. Agradeço aos meus amigos, familiares e aos colegas de curso por todo apoio e por dividir sempre os momentos de alegria, de angústia e nervosismo.

Agradeço a empresa BIOGAL® por terem disponibilizado o kit para que este trabalho fosse realizado, e agradeço a Médica Veterinária Lara Reis Gomes por ter aceitado o convite e ter participado da etapa de realização do teste.

Por fim agradeço aos meus professores pela paciência, pelos ensinamentos e por acreditarem que não só eu mais os demais colegas do curso de graduação em Medicina Veterinária podemos sim sempre dar o nosso melhor e fazer diferente, trabalhando sempre com empatia e amor independente da área de atuação e nunca fraquejar diante dos desafios que virão.

Muito obrigada a todos os envolvidos, cada um teve um papel importante na realização deste trabalho e na minha formação.

RESUMO

Visto que a neosporose é de suma importância para a pecuária não só brasileira, mas mundial vários trabalhos foram realizados a fim de verificar a ocorrência e a prevalência da doença no rebanho. É uma doença infecciosa que vem se destacando como um importante causador de problemas reprodutivos, onde se observa um aumento na ocorrência de abortos e mortalidade neonatal. Causada por um protozoário intracelular obrigatório, que acomete não só os bovinos, mas outras espécies também. Tem como seu principal hospedeiro definitivo os canídeos, com destaque para o cão doméstico, que vive em ambiente rural. Neste trabalho fizemos a utilização do kit ImmunoComb portátil DOT-ELISA para detectar anticorpos IgG em soro bovino e verificar a ocorrência do protozoário *Neospora caninum* nas vacas leiteiras da fazenda Experimental da Universidade Federal de Uberlândia. O kit possuía 30 testes a serem usados de forma individualizada. Como resultado tivemos que 23,4% (7/30) das fêmeas testadas apresentaram anticorpos IgG de *Neospora caninum*. Com a utilização desse teste e caso fosse necessário averiguar anotações reprodutivas do rebanho, teríamos o controle ou até mesmo explicações por possíveis ocorrências de aborto, repetições de cio e / ou entrada de cio antecipado por algum animal, acontecido em um período anterior a realização do teste. Com esses dados, se teria um norteamento em quais manejos seriam necessários realizar alterações na fazenda, para assim evitar perdas de bezerros, ou então a permanência de animais infectados, pois isso nos levaria a uma contaminação em massa do rebanho visto que os sinais clínicos apresentados pelos animais nos fazem relacionar à outras doenças reprodutivas e isso levaria a uma queda de produção e um aumento significativo nos custos da criação, principalmente aqueles relacionados a sanidade animal.

Palavras- chave: aborto, kit, neosporose, protozoário, rebanho.

ABSTRACT

Since neosporosis is of paramount importance for livestock, not only in Brazil, but worldwide, several studies were carried out in order to verify the occurrence and prevalence of the disease in the herd. It is an infectious disease that has been highlighted as an important cause of reproductive problems, where there is an increase in the occurrence of abortions and neonatal mortality. Caused by an obligate intracellular protozoan, which affects not only cattle, but other species as well. Its main definitive host is canids, especially the domestic dog, which lives in a rural environment. In this work, we used the ImmunoComb portable DOT-ELISA kit to detect IgG antibodies in bovine serum and verify the occurrence of the protozoan *Neospora caninum* in dairy cows at the Experimental farm of the Federal University of Uberlândia. The kit had 30 tests to be used individually. As a result, 23.4% (7/30) of the females tested had *Neospora caninum* IgG antibodies. With the use of this test and in case it was necessary to verify the herd's reproductive notes, we would have control or even explanations for possible occurrences of abortion, repetitions of estrus and / or early estrus entry by an animal, which happened in a period prior to the performance of the test. test. With these data, we would have a guide in which managements would be necessary to make changes on the farm, in order to avoid loss of calves, or else the permanence of infected animals, as this would lead to mass contamination of the herd, since the clinical signs presented by animals make us relate to other reproductive diseases and this would lead to a drop in production and a significant increase in breeding costs, especially those related to animal health.

Key- Words: abortion, flock, kit, neosporosis, protozoan.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	10
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	15
5. CONCLUSÃO	17
REFERÊNCIAS	18

1. INTRODUÇÃO

O Brasil se destaca por seu papel fundamental na produção de bovinos com finalidade de corte e produção de leite, sendo estes os segmentos de maior importância para a exportação nacional. No ano de 2020 a produção brasileira de carne cresceu cerca de 1,5% e foi observado um aumento no rebanho, que chegou a 218,2 milhões de cabeças (IBGE, 2022). As boas condições de sanidade dos animais, principalmente no que diz respeito às características reprodutivas das fêmeas são fundamentais para a manutenção da produtividade do rebanho. Entre as doenças que afetam diretamente o trato reprodutivo dos bovinos e cuja transmissão se dá de forma congênita está a neosporose, que interfere no ciclo reprodutivo das vacas (ALFIERI et al., 2017).

As doenças parasitárias e infecciosas são responsáveis por causar alterações de ordem reprodutiva, com manifestações que incluem reabsorções embrionárias e abortos recorrentes, influenciando diretamente na produção e no lucro do produtor, que muitas vezes faz altos investimentos em biotecnologias reprodutivas e não obtêm retorno em taxas de nascimento satisfatórias (LOPES et al., 2022).

A neosporose é uma doença infecciosa que vem se destacando como um importante causador de problemas reprodutivos, onde se observa um aumento na ocorrência de abortos e mortalidade neonatal no rebanho. Esta doença é considerada atualmente como uma das principais causas de falhas reprodutivas, gerando impacto sanitário e prejuízo econômico não só no Brasil, mas também na bovinocultura mundial (CAMPOS; DUTRA, 2021).

A principal manifestação clínica dessa doença em bovinos é o aborto, que ocorre geralmente entre o quinto e o sexto mês de gestação (MEGID et al., 2016). Vacas infectadas podem apresentar em repetição de cio, com intervalos regulares ou irregulares, gestação a termo com bezerros natimortos, nascimento de animais fracos e inviáveis, e nascimento de bezerros com manifestações clínicas neurológicas (MALDONADO RIVERA et al., 2020).

Ressalta-se que não há um tratamento eficaz para a enfermidade, somente controle da introdução da infecção com a realização de testes diagnósticos, atestados negativos da doença de animais oriundos de outras propriedades e adoção de práticas de manejo que interrompam o ciclo de transmissão do *N. caninum* (ZANATTO et al., 2019).

Devido a neosporose na espécie bovina apresentar manifestações clínicas inespecíficas e perdas produtivas significativas, torna-se desafiador e fundamental a identificação de animais soro reagentes em levantamentos epidemiológicos, a fim de se evitar e controlar a doença. Desta forma, objetivou-se determinar a presença de anticorpos IgG de *Neospora caninum* em

amostras de soro de bovinos leiteiros, na fazenda Experimental do Campus Glória no município de Uberlândia-MG, empregando o kit portátil DOT-ELISA.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

A neosporose tem como agente etiológico, o protozoário *Neospora caninum*. Trata-se de um protozoário intracelular obrigatório, que acomete como hospedeiros intermediários, os bovinos, ovinos, caprinos, equinos, felinos, cervídeos e bubalinos; e definitivos, representados pelos canídeos, com destaque para o cão doméstico, no ambiente rural (MEGID et al., 2016).

A transmissão desse agente se dá basicamente por duas maneiras, a transmissão vertical e horizontal. Na forma horizontal, trata-se de uma transmissão em que os hospedeiros intermediários são infectados por ingerem os oocistos esporulados do hospedeiro definitivo no ambiente, enquanto a vertical, pode ocorrer pela transmissão endógena, pelo recrudescimento da infecção, com reativação de bradizoítos maternos durante o período gestacional, ou exógena, via hematogênica-uterina de mães recém infectadas. Vale destacar a importância da transmissão transplacentária endógena na manutenção da doença no rebanho, uma vez que, cerca de 95% das vacas soropositivas irão abortar ou gerar bezerros soropositivos (DINIZ et al., 2019; TOOLAN, 2003).

O *Neospora caninum* foi descrito primeiramente em cães por Dubey et al. (1988), causando uma doença neuromuscular (Dubey; Lindsay, 1996). Este parasito tem sido também associado como uma das principais causas de aborto bovino, podendo ainda interferir na produção leite e na produtividade do rebanho (Dubey 1999).

Os primeiros relatos de infecção por *Neospora caninum* no Brasil foram em 1996, no Mato Grosso do Sul, em bovinos de corte e leite com histórico de abortos (BRAUTIGAN et al., 1996). Desde então foram realizados vários levantamentos soroepidemiológicos a fim de indicar a prevalência da doença em diferentes rebanhos em grande parte do território brasileiro. Os estudos soroepidemiológicos da neosporose em bovinos demonstram que, possivelmente, a doença está amplamente difundida no país, sendo considerada doença reprodutiva comum e, provavelmente, subestimada devido à elevada quantidade de animais assintomáticos, embora cronicamente afetados (DINIZ et al., 2019).

Dentre os métodos diagnósticos que têm sido empregados para detecção da infecção por *N. caninum*, estão os testes sorológicos, os quais se baseiam na presença de anticorpos específicos contra o agente, que têm contribuído para prover informações sobre a epidemiologia da neosporose bovina. Entre os métodos indiretos mais usados, pode-se citar o uso da Reação de Imunoflorescência indireta (RIFI), Ensaio Imunoenzimático (ELISA), Imunoblotting (IB) e teste de aglutinação (NAT), que pode detectar anticorpos específicos para *Neospora caninum*. A técnica ELISA é adequadamente confiável em termos de definição de títulos específicos de

anticorpos para *N. caninum*, possui alta aplicabilidade para estudos epidemiológicos, devido à sua relativa alta sensibilidade (GUIDO et al., 2016).

A utilização de métodos de diagnóstico para a neosporose é muito importante para toda a cadeia produtiva. Nunes et al. (2020), realizaram um trabalho utilizando um kit portátil rápido ELISA para detecção de *Neospora caninum* nos bovinos leiteiros. Utilizaram amostras de leite *in natura* de possíveis infectados por *N. caninum*. Avaliaram raças diferentes (Holandesas e Jersey) de 4 municípios do Rio Grande do Sul. Dos 10 animais testados, duas deram positivas, quatro suspeitas e quatro negativas. Com esse resultado, chegaram à conclusão de que o teste utilizado pode ser recomendado para verificação da incidência da neosporose na propriedade, bem como fazer a triagem de animais recém comprados e introduzidos no rebanho, devido a sensibilidade do teste e o custo ser baixo se comparado a outros testes.

Segundo Oliveira et al., (2020), em um levantamento de 45 estudos, realizados no período de 15 anos (2005-2020), observaram uma soroprevalência média de 32,7%, com a frequência mínima de 2,45%, e máxima de 100%. Segundo os autores, essa variação pode ser devido aos fatores de risco inerentes a cada região, como microclima, presença de reservatórios silvestres, imunidade individual e do rebanho, presença de comorbidades, padrão racial, tipo de criação, idade dos animais, bem como, o manejo nutricional e sanitário. Citaram também, os aspectos clínicos mais correlacionados e observados na literatura sobre a infecção por *Neospora caninum*, em que o aborto é um dos principais sinais clínicos. Entre outros sinais clínicos, aparições de cios repetidos, com seus intervalos regulares ou não, a gestação continuada, mas com bezerros natimortos, ou animais nascidos fracos e inviáveis.

No estado de São Paulo, na região de Presidente Prudente, Sartor et al. (2005), analisaram amostras de soros sanguíneos de bovinos leiteiros e de corte, utilizando o teste imunoenzimático (ELISA), e verificaram que a ocorrência dos anticorpos anti-*Neospora caninum* foi maior no gado leiteiro, do que no gado de corte. Essa diferença de resultados, pode ser devido ao tipo de amostragem que foi utilizada, como os animais que sofreram abortos ou simplesmente por uma amostragem casual de uma propriedade aleatória. Outros fatores que levaram a utilização desse método e que também já foi citado na literatura é o custo que se comparado aos outros testes é mais barato, o tempo de execução que é mais rápido e a precisão.

Ribeiro et al. (2019), determinaram uma prevalência de 24% na América do Sul, com significativa correlação da infecção com abortos em rebanhos bovinos, assim como, Megid et al. (2016), destacaram que os estudos de soroprevalência de neosporose em bovinos infectados no Brasil esteja entre 20 a 30%. Os principais fatores de risco apontados nesse estudo foram

presença de cães nas fazendas, tipo de sistema de produção, identificando a bovinocultura leiteira mais susceptível frente à destinada ao corte.

Nascimento et al. (2014) e Fávero et al. (2017), relatam que no Paraná e em Santa Catarina, num período estimado de 3 anos, entre 2014 e 2017, a prevalência de *Neospora caninum* nas propriedades rurais foi de aproximadamente 30%. No Rio Grande do Sul a prevalência entre animais em lactação varia de 17 a 60% (COBERLLINI et al., 2006; FRANDOLOSO et al., 2008).

Langoni et al. (2013), fizeram um trabalho de avaliação sorológica com o rebanho bovino de 19 propriedades do Sudoeste no estado do Paraná, e correlacionaram com a eficiência reprodutiva para verificar se existia essa correlação. Nos resultados, foi relatado a prevalência de 24% de *N. caninum* dando um total de 23 animais positivos. Destes animais positivos 61% apresentaram problemas na reprodução e como foi demonstrado neste trabalho, o principal problema seria o retorno do cio seguido de um abortamento.

França, et al. (2021), estudaram a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em vacas leiteiras no estado de Pernambuco. Os animais eram de pessoas que participavam da agricultura familiar, e esses proprietários também tiveram um questionário para se averiguar o histórico da propriedade em relação ao manejo higiênico, sanitário e reprodutivo. Como resultado se teve 80% das propriedades com animais positivos no rebanho. Não fez a correlação do estudo com a presença de cães, mas notou-se que em grande parte essas propriedades que tiveram animais positivos, os cães tinham um contato com as vacas leiteiras, viram carcaças jogadas próximas à essas propriedades sem nenhum tratamento sanitário, e não realizavam quarentena para os animais recém adquiridos. Então por conclusão, esse estudo além de mais uma vez elucidar a questão reprodutiva, complementou que essas perdas durante a atividade levaram prejuízos.

Em Minas Gerais, a soroprevalência para *N. caninum* oscila bastante entre vacas leiteiras de diferentes rebanhos, podendo variar de 16,8% (COSTA et al., 2001) a 97,2% (GUEDES et al., 2008). Coury et al. (2020), em um estudo realizado na microrregião de Patos de Minas, Minas Gerais, em que se analisou 110 amostras de soro sanguíneo de bovinos leiteiros, provenientes de 10 propriedades rurais, encontraram 28,2% de animais reagentes para *Neospora caninum*.

Um ponto importante para se destacar, é que a aparente ausência do *N. caninum* em algumas regiões como a do sul do país, podem estar mais relacionadas à subnotificação de estudos soropidemiológicos que possam demonstrar a realidade epidemiológica da doença no Brasil que a falta do agente, visto que a realidade de nossas propriedades rurais é quase sempre parecida, onde os bovinos leiteiros possuem um contato maior com os cães domésticos do que

os bovinos de corte. Sabe-se que a maior parte dos produtores de leite no país são compostos por pequenas propriedades.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em uma propriedade localizada no município de Uberlândia, MG. Foram utilizadas trinta vacas, com idade média de quatro anos, peso aproximado de 400 a 450 kg, escolhidas de forma aleatória, de um total de 70 animais em lactação. Foi coletado de cada animal, 10 mL de sangue por venopunção da veia coccígea média, utilizando-se tubos estéreis secos com ativador de coágulo (Vacutainer). Após a coleta, as amostras de sangue foram acondicionadas em caixa isotérmicas e transportadas ao Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária - UFU. Imediatamente após a chegada ao laboratório, as amostras foram centrifugadas à 720g por 10 minutos, o soro obtido foi transferido em alíquotas de 2,0 mL para microtubos (Eppendorf) e congelados à - 20 °C, por um período máximo de 48 horas até o momento da análise. Para realização do teste de detecção de anticorpos anti-*N. caninum*, foi empregando o kit ImmunoComb portátil DOT-ELISA cedido pela BIOGAL® (Israel). O kit identifica a presença de anticorpos IgG de *N. caninum*, no soro sanguíneo ou leite, de bovinos, fornecendo resultados em cerca de 38 minutos. De acordo com a BIOGAL®, o kit se baseia no princípio Imunoensaio em fase sólida, DOT-ELISA contendo 2 componentes principais: um cartão plástico ImmunoComb em formato de pente com 12 dentes, sendo que cada um dos dentes, testa uma amostra, e cada dente está adsorvido em um ponto do antígeno purificado de *N. caninum*, e uma placa reveladora contendo os reagentes para o teste. Os ensaios foram realizados seguindo instruções de uso do fornecedor, sendo a diluição de 1:400 a escolhida para se considerar uma amostra positiva. O estudo adotado foi do tipo transversal, empregando para análise dos resultados uma estatística descritiva, tendo como objetivo avaliar a frequência da neosporose na população estudada. O número de animais utilizados (n amostral), foi estabelecido de acordo com a fórmula: $n = (z_{\alpha/2})^2 \times p \times q / e^2$, considerando 95% de confiança, 20% de positividade e 14% de erro máximo.

O experimento seguiu os princípios éticos das Boas Práticas Clínicas - VICH GL9, com aprovação da Comissão de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia, conforme protocolo nº 23117.000987/2023-55.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O emprego do kit ImmunoComb portátil DOT-ELISA, possibilitou determinar uma ocorrência de 23,4% (7/30) de fêmeas bovinas que apresentaram anticorpos IgG de *N. caninum*, na propriedade estudada (Tabela 1).

A ocorrência de anticorpos anti- *N. caninum* nesse percentual, aponta que o agente está presente na propriedade estudada. Segundo Megid et al. (2016), os estudos de soroprevalência de neosporose bovina no Brasil, apontam para uma ocorrência entre 20 a 30%.

Tabela 1. Frequência absoluta frequência e relativa dos resultados do kit portátil DOT-ELISA na detecção de anticorpos IgG de *Neospora caninum* no soro de bovino leiteiros, Uberlândia-MG, 2023.

Resultado DOT-ELISA	Frequência absoluta	Frequência relativa
Negativos	23	76,60
Positivos ($\geq 1:400$)	7	23,40
Total	30	100

Os valores encontrados no presente trabalho foram semelhantes aos apresentados por Langoni et al. (2013) no estado do Paraná e Ribeiro et al. (2019) na América do Sul, que ambos encontraram uma ocorrência de 24% de animais soropositivos. Frequências inferiores foram demonstradas por Nasciutti et al. (2018), que identificaram 18,4% de animais soro reagentes no município de Uberlândia, MG. E Coury (2020), encontrou frequências superiores na microrregião de Patos de Minas, Minas Gerais, onde este trabalho apresentou um resultado de 28,2% de animais reagentes.

Em estudos realizados no estado do Paraná e Santa Catarina, a prevalência encontrada nas propriedades foi de aproximadamente 30%, que ao se comparar com este estudo, pode-se dizer que está relativamente semelhante, por se tratar de bovinos utilizados na atividade leiteira. O que sugere a diferença de resultados é algum tipo de manejo e até mesmo o clima da região, levando em conta quanto ao ciclo deste protozoário e sua resistência no ambiente, além do costume regional quanto a criação desses animais e o contato direto entre os bovinos e os cães. (Nascimento et al., 2014 e Fávero et al., 2017).

Trabalhos realizados na região do estado de Minas Gerais e São Paulo deixaram registros de que os resultados oscilam bastante, onde Costa et al., (2001) e Guedes et al., (2008) relataram que animais soropositivos para neosporose estavam presentes nas propriedades de

16,8% a 97,2%, respectivamente. Costa (2001) relata que dos 16,8% soropositivos, somente 6,38% foram relacionados a animais do estado de Minas Gerais.

O presente trabalho apresentou resultados entre os intervalores encontrados pelos autores citados, demonstrando a presença do protozoário no rebanho.

A realização dos testes de ELISA para detecção de *Neospora caninum* são uma boa opção na inclusão dos diagnósticos diferenciais, quando se tratar de doenças reprodutivas visto que temos inúmeras doenças com os mesmos sinais clínicos, como leptospirose bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina (IBR), diarreia viral bovina (BVD) e brucelose. Com esses diferenciais, pode se avaliar melhor quanto ao manejo higiênico-sanitário e a introdução de animais não testados para o *N. caninum* fazendo assim com que o rebanho seja exposto ao risco de uma contaminação e conseqüentemente os prejuízos aos proprietários aumentarão, fazendo com que a atividade não fique rentável o quanto se espera.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos caracterizaram soropositividade para *N. caninum* nos bovinos pertencentes ao rebanho avaliado, e indicam a necessidade de se incluir a neosporose no diagnóstico diferencial de desordens reprodutivas no referido rebanho.

O emprego do kit ImmunoComb portátil DOT-ELISA (BIOGAL®) em amostras de soro sanguíneo de bovinos, mostrou ser uma alternativa rápida, eficiente e econômica para diagnosticar a ocorrência da neosporose em rebanhos leiteiros. Desta forma, pode ser recomendada a aplicação deste kit para avaliações de rebanhos com histórico de problemas reprodutivos e, principalmente, na aquisição de animais para reposição do plantel, auxiliando o diagnóstico, a percepção da neosporose nas propriedades.

REFERÊNCIAS

- ALFIERI A.A.; ALFIERI F.A. Infectious diseases that impact the bovine reproduction. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v. 41, n. 1, p. 133-139. jan./mar. Londrina - PR/ 2017.
- BRAUTIGAM, F.E.; HIETALA, 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 Mato-grossense do Sul de Medicina Veterinária, 1996. p.284.
- CAMPOS, J.M; DUTRA, G.A. Neosporose Bovina – Revisão de Literatura. **In: VIII Colóquio Técnico Científico de Saúde Única**, Ciências Agrárias e Meio Ambiente, 2021. <https://www.doity.com.br/anais/viii-coloqui-scm/trabalho/219136>. Acesso em: 09 Jun 2023. Brasil.
- COBERLLINI, L. G. et al. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 74, p.130-141, 2006.
- COSTA, G. H. N. et al. **Frequência de anticorpos anti- *Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e Minas Gerais**. *Semina. Ciências Agrárias*, Londrina, v. 22, n. 1, p. 61-66, jan./jun. 2001.
- COURY, L. F.F. et al. Detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros na microrregião de Patos de Minas, MG. **Pubvet**, v. 14, p. 163, 2020.
- DE OLIVEIRA, C. M. et al. Situação da neosporose na bovinocultura brasileira. **Pubvet**, v.14, n.8, p.1-15, 2020. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v14n8a626.1-15>. Acesso em: 09 Jun 2023. Brasil.
- DINIZ, L. V. A. et al. Vertical transmission of *Neospora caninum* in bovine fetuses from a slaughterhouse in Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 51, n. 6, p. 1751–1755, 2019. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01828-y>. Acesso em: 09 Jun 2023. [s.l.]
- DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**. v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999
- DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. 1988. A newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**. v. 192, n. 9, p. 1269-1285, 1988.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**. v. 67, n. 1-2, p. 1-59, 1996.

FÁVERO, J. F. et al. Risk factors for *Neospora caninum* infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. **Microbial Pathogenesis**. v. 110, p. 202–207, 2017. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.06.042. Acesso em: 12 Jun 2023. [s.l.].

FRANÇA, C.A.B. et al. Prevalência de anticorpos anti- *Neospora Caninum* em vacas leiteiras procedentes da agricultura familiar no estado de Pernambuco. **Medicina Veterinária (UFRPE)**. v. 15, n. 3, p. 241-249, 2021. DOI: <https://doi.org/10.26605/medvet-v15n3-3516>. Acesso em: 12 Jun 2023. Brasil.

FRANDOLOSO, R. et al. Prevalência de leucose enzoótica bovina, diarreia viral bovina, rinotraqueíte infecciosa bovina e neosporose bovina em 26 propriedades leiteiras da região Nordeste do Rio Grande do Sul. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 4, p. 1102-1106, 2008.

GUEDES, M. H. P. et al. Frequência de anticorpos anti-*Neospora Caninum* em vacas e fetos provenientes de municípios do sul de Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 17, n. 4, p. 189-194, out./dez. 2008.

GUIDO, S. et al. Serology-Based Diagnostics for the Control of Bovine Neosporosis, **Trends in Parasitology**, v. 32, n.2, p.132, February 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2015.11.014>. Acesso em: 09 Jun 2023. [s.l.].

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, **Estatísticas econômicas notícias**. Disponível em <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/31722-ppm-2020-rebanho-bovino-cresce-1-5-e-chega-a-218-2-milhoes-de-cabecas>. Acesso em: 12 Jun .2023. Brasil.

LANGONI, H. et al. **Avaliação Sorológica Para *Neospora caninum* em Propriedades de Bovinos Leiteiros com Alterações Reprodutivas**. Mar./ 2013.

LOPES, C.S. et al. Important bacterial, viral and parasitic abortive diseases in cattle – Review. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 4, p. 1-5, 2022. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i4.27376>. Acesso em: 10 Jun 2023. [s.l.].

MALDONADO RIVERA, J. E. et al. Bovine neosporosis in dairy cattle from the southern highlands of Ecuador. **Regional Studies and Report**. v. 20, n. 1, p. 1–15. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100377>. Acesso em: 10 Jun. 2023. [s.l.].

MEGID, J., RIBEIRO, M. G., PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Roca. 2016.

NASCIMENTO, E. E. et al. Anti-*Neospora caninum* antibody detection and vertical transmission rate in pregnant zebu beef cows (*Bos indicus*): *Neospora caninum* in pregnant beef cows (*Bos indicus*). **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 37, n. 4, p. 267–270, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2014.08.002>. Acesso em: 12 Jun 2023. [s.l.].

NASCIUTTI, N. R. et al. Soroprevalência e fatores de risco associados ao herpesvírus bovino tipo 1, vírus da diarreia viral bovina em vacas leiteiras mestiças não vacinadas e *Neospora caninum* no município de Uberlândia. **Semina: Ciências Agrárias**. v. 39, n. 4, p. 1585–1594,

2018. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2018v39n4p1585>. Acesso em: 09 Jun. 2023. Brasil.

RIBEIRO, C. M. et al. Meta-analysis of the prevalence and risk factors associated with bovine neosporosis. **Tropical Animal Health and Production**. v. 51, n. 7, p. 1–18, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01929-8>. Acesso em: 11 Jun. 2023. [s.l.].

SARTOR, I.F. et al. **Ocorrência de Anticorpos Anti- *Neospora caninum* em Bovinos Leiteiros e de Corte da Região de Presidente Prudente, SP**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootécnica, Laboratório de Enfermidades Parasitárias, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu- SP. Arq. Inst. Biol. São Paulo, v. 72, n. 4, p. 413-418, out. / dez., 2005.

TOOLAN, D. P. *Neospora caninum* abortion in cattle-a clinical perspective. **Irish Veterinary Journal**, v. 56, n. 8, p. 404-412, 2003.

ZANATTO, D.C.S. et al. *Coxiella burnetii* associated with BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus), BoHV (Bovine Herpesvirus), *Leptospira* spp., *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii* and *Trypanosoma vivax* in reproductive disorders in cattle. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 28, n. 2, p. 245–257, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1590/s198429612019032>. Acesso em: 09 Jun. 2023. Brasil.