

Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da região nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com neuropatias

Frequency of antibodies for *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs in northeast of São Paulo State

Nancy Prette Varandas^{1,2}; Paula Abi Rached¹; Gustavo Henrique Nogueira Costa^{1,2}; Luciano Melo de Souza^{1,2}; Karina Carrão Castagnolli^{1,2}; Alvimar José da Costa¹

Resumo: Investigou-se a presença de anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em 295 soros colhidos de cães oriundos da região Nordeste do Estado de São Paulo, com o objetivo de correlacionar a presença de anticorpos com eventuais distúrbios clínicos. Todas as amostras de soros foram examinadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para ambos protozoários. As reações com recíprocas de títulos igual ou maior que 50 (*N. caninum*) e 16 (*T. gondii*) foram consideradas positivas. Diluições seqüenciais foram efetuadas até a obtenção do título sorológico final. Os resultados revelaram que 25 (8,48%) e 151 (51,19%) dos cães examinados apresentavam anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii*, respectivamente. Anticorpos para ambos os coccídios foram detectados em 17 animais (5,76%). Dos 58 cães (19,66%) que apresentavam sintomatologia nervosa, foram detectados anticorpos em 04 (1,36%) para *N. caninum* e em 24 (8,14%) para *T. gondii*. Apesar da literatura atribuir a ambos coccídios a etiologia de distúrbios neurológicos em cães, os resultados obtidos não revelaram correlação significativa ($P>0,05$) entre sorologia positiva e a presença de neuropatias nos animais examinados. Experimentos especialmente delineados necessitam ser conduzidos, principalmente com *N. caninum*, para elucidar essa eventual e importante correlação.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, cães, neuropatias.

Abstract: Two hundred and ninety five samples of canine sera, of dogs from northeast of Sao Paulo State were tested using an immunofluorescent antibody technique (RIFI-IgG) for the presence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies. The relationship between antibodies and casual clinical problems also were investigated. The reactions with title = 50 (*N. caninum*) and = 16 (*T. gondii*) were considered positive. A total of 25 (8,48%) of tested samples were reactive and 270 (91,52%) non-reactive to *N. caninum*, while 151 (51,19%) of the samples were reactive and 144 (48,81%) were non-reactive to *T. gondii*. Dogs with serum that reacted positively to both protozons parasites were seen in 17 animals (5,76%). From 58 dogs (19,66%), that showed nervous sintomatology, were detected antibodies in 04 (1,36%) to *N. caninum* and in 24 (8,14%) to *T. gondii*. Statistical differences ($P<0,05$) between normal dogs and dogs with nervous sintomatology were not observed, despite of some papers have associated nervous signals with these parasites. More experiments should be conduced to show the relationship between *N. caninum* and clinical problem.

Key words: *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, canine, nervous sintomatology.

1 Introdução

Os protozoários *Neospora caninum*, Filo Apicomplexa, Família Sarcocystidae (ELLIS *et al.*, 1994; HOLMDAHL *et al.*, 1994) e *Toxoplasma gondii* podem ser diferenciados por meio da detecção de diferentes antígenos, empregando-se a imuno-histoquímica (IHQ), exames sorológicos e ainda pela espessura da parede cística e número de roptrias do taquizoíto (DUBEY *et al.*, 1988 a; BARR *et al.*, 1991; SPEER *et al.*, 1999). Em relação aos oocistos, de acordo com LINDSAY *et al.* (1999b), são necessárias mais investigações para que seja possível a diferenciação.

A infecção natural pelo *N. caninum* em caninos já foi relatada por Uggla *et al.* (1989) e a transmissão congênita foi confirmada em 1990 (DUBEY *et al.*, 1990). Porém, até o momento não foi comprovada a transmissão pela via lactogênica (COLE *et al.*, 1995 a).

O parasito pode ser isolado de tecidos de animais infectados através da inoculação em cultivo celular ou em animais de laboratório (DUBEY *et al.*, 1988b). A forma ultraestrutural do taquizoíto pode estar alterada, porém, mesmo com passagens contínuas em cultivo celular, os taquizoítos, quando inoculados em camundongos, não perdem a sua infectividade (CONRAD *et al.*, 1993).

O diagnóstico da neosporose canina pode ser realizado a partir de tecidos ou fluidos (soro, pleural e peritoneal) de fetos abortados ou filhotes infectados (DUBEY e LINDSAY, 1996). A identificação de taquizoítos e/ou cistos do *N. caninum*, por meio de exames histológicos e imuno-histoquímica, tem sido relatada a partir de cérebro, medula espinhal, coração, fígado, pulmão, rim, esôfago, e retina (DUBEY *et al.*, 1988b; DUBEY *et al.*, 1990b; BARBER e TREES, 1996). Histologicamente,

¹ CPPAR- Centro de Pesquisas em Sanidade Animal, FCAVJ/UNESP, Jaboticabal-SP

² Aluno de pós-graduação da FCAVJ/UNESP, Jaboticabal

a encefalomielite generalizada é caracterizada por necrose, infiltração perivascular de células mononucleares, gliose e inflamação multifocal com infiltração de células mononucleares. A miosite de musculatura esquelética é caracterizada por necrose, infiltração de células mononucleares, vasculites, sendo mais frequentemente observada em membros pélvicos (DUBEY e LINDSAY, 1996).

Diversos testes sorológicos são utilizados para detecção de anticorpos anti-*N. caninum*, como as técnicas de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaio imunoenzimático (ELISA), e o teste modificado de aglutinação (N-MAT). No Brasil, a detecção de anticorpos em soros de cães com ou sem sintomatologia nervosa foi relatada por diversos autores, com prevalências variando entre 14,77% a 35,57% (BELO *et al.*, 1999, REZENDE *et al.*, 1999).

Apesar do *N. caninum* compartilhar diversos antígenos com o *T. gondii*, a RIFI é considerada uma técnica específica, sendo pouca ou nula a reatividade cruzada com outros coccídios (YAMANE *et al.*, 1993). Título maior ou igual a 1:50 indica a exposição do hospedeiro ao parasito, mas não à enfermidade. Praticamente todos os casos confirmados da neosporose exibiram títulos maiores ou iguais a 1:800. Assim, um título de 1:800 ou, maior, é uma boa evidência da neosporose em cão com sinais clínicos (GIRALDI *et al.*, 2001).

A alta prevalência de cães sororeagentes ao *T. gondii*, com índices variando entre 21% a 91%, foi demonstrada em estudos conduzidos por ISHIZUKA *et al.* (1974), CHAPLIN *et al.* (1984), GERMANO *et al.* (1985) e FREIRE *et al.* (1992).

Diversos autores desenvolveram estudos envolvendo a sorologia de bovinos leiteiros com a epidemiologia da infecção pelo *N. caninum* (THORNTON *et al.*, 1991; PARÉ *et al.*, 1998). Mainar-Jaime *et al.* (1999) relataram a combinação entre a presença de cães e a soropositividade da neosporose em rebanhos, indicando que a infecção por oocistos pode contribuir para o estabelecimento do *N. caninum* em bovinos. Sawada *et al.* (1998) e Wouda *et al.* (1999) observaram que cães criados em propriedades leiteiras, apresentaram uma maior soroprevalência que cães mantidos em áreas urbanas. Constataram, ainda, uma forte correlação entre a soropositividade de cães de fazendas e a soropositividade em bovinos. Assim, o reconhecimento do cão como hospedeiro definitivo do *N. caninum*, permite a implementação de medidas de controle eficazes contra a doença (GIRALDI *et al.*, 2001).

Considerando que a neosporose apresenta relevante papel na pecuária mundial associada a grande importância dos cães como veiculadores do *Neospora caninum*, o presente trabalho teve como objetivo investigar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em soros de cães naturalmente infectados, com ou sem sintomatologia nervosa.

2 Material e Métodos

2.1 Colheita de soros

As amostras de soro foram obtidas no período de julho de 1999 a setembro de 2000, totalizando 295 colheitas de sangue de cães da zona rural e urbana oriundos da região Nordeste do Estado de São Paulo. Após a retração do coágulo e centrifugação a 1000g por 10 minutos, os soros foram tomados, identificados e mantidos a temperatura de -18°C até a realização dos testes sorológicos.

Para cada amostra foi confeccionada uma ficha com dados semiológicos e laboratoriais, na tentativa de correlacionar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* e distúrbios clínicos neurológicos.

2.2 Exames sorológicos

2.2.1 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpo anti-*N. caninum*

Todas as 295 amostras de soros dos cães foram examinadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), segundo Dubey *et al.* (1988a), com a utilização de taquizoítos de *N. caninum* fixados em lâminas de vidro (VMRD INC., WASHINGTON D.C.) e conjugado anti-IgG canino (SIGMA CHEMICAL, F-7884). Inicialmente foi realizada uma triagem dos soros dos cães na diluição 1:50. As amostras positivas foram novamente examinadas, em diluições seqüenciais, na base dois, até 1:800. As reações com título igual ou maior que 50 foram consideradas positivas, os taquizoítos apresentaram fluorescência periférica mínima de 50% (PARÉ *et al.*, 1995a).

2.2.2 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpo anti-*T. gondii*

Utilizou-se também a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), preconizada por CAMARGO (1964), para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, em todos os soros colhidos. As amostras com título igual ou maior que 16 foram consideradas positivas. O título final de cada soro positivo foi alcançado após diluições seqüenciais na base 4.

2.3. Análise estatística

Foi aplicado o teste de Qui-quadrado (χ^2), com nível de significância de 5%, para avaliação epidemiológica dos resultados sorológicos.

3 Resultados e Discussão

Das 295 amostras de soro canino analisadas pela RIFI, 25 (8,48%) apresentaram anticorpos anti-*N. caninum* (Tabela 1). Tais resultados estão próximos aos relatados por Lathe (1994), Sawada *et al.* (1998) e Cheadle *et al.* (1999).

| Recíproca do título de anticorpos | <i>Neospora caninum</i> | | | <i>Toxoplasma gondii</i> | | |
|-----------------------------------|-------------------------|-------------------|--------------|--------------------------|-------------------|--------------|
| | Soros examinados | | Total | Soros examinados | | Total |
| | Sororeagentes (%) | Não reagentes (%) | | Sororeagentes (%) | Não reagentes (%) | |
| | | 270 (91,52%) | 270 (91,52%) | | 144 (48,81%) | 144 (48,81%) |
| 50 | 13 (52%) | | 13 (4,41) | 16 | 51 (33,78%) | 51 (17,29%) |
| 100 | 04 (16%) | | 04 (1,36%) | 64 | 45 (29,80%) | 45 (15,25%) |
| 200 | 07 (28%) | | 07 (2,37%) | 256 | 27 (17,88%) | 27 (9,15%) |
| 400 | – | | – | 1024 | 13 (8,61%) | 13 (4,41%) |
| 800 | 01 (4%) | | 01 (0,34%) | 4096 | 15 (9,93%) | 15 (5,09%) |
| Total | 25 (8,48%) | 270 (91,52%) | 295 (100%) | Total | 151 (51,19%) | 144 (48,81%) |

Na mesma região nordeste do Estado de São Paulo, Resende *et al.* (1999), através da RIFI, detectaram um maior percentual de cães sororeagentes ao *N. caninum* (21,92%). Tal discrepância pode ser devido ao ponto discriminativo utilizado pelos autores (25), o que provavelmente superestimou o número de animais sororeagentes.

A análise sorológica (RIFI) para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* resultou em 151 (51,19%) animais sororeagentes e, portanto, 144 (48,81%) não reagentes (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com os relatados por Guimarães *et al.* (1992) e Duran *et al.* (1995), que detectaram anticorpos anti-*T. gondii* em 47,30% e 52,70% soros de cães, respectivamente.

Fato notório foi que 17 (5,76%) dos animais apresentaram títulos de anticorpos para ambos os coccídios. Esse fato também foi relatado por Resende *et al.* (1999) e Mineo *et al.* (2001) que obtiveram, respectivamente, índices de 16,27% e 3,1%.

Considerando-se as diferentes idades e sexo dos animais, ficou demonstrado que não houve diferença significativa ($P>0,05$) quanto a tais parâmetros (Tabela 2), sugerindo que machos e fêmeas de qualquer idade estão sujeitos ao mesmo risco de infecção. Esses achados estão em conformidade com os obtidos por Trees *et al.* (1993), Rasmussen e Jensen (1996) e Cheadle *et al.* (1999), que, além do sexo e faixa etária, não observaram diferença significativa ($P>0,05$) quanto à raça e ao tipo alimentar.

Não se verificou também diferença significativa ($P>0,05$) quando confrontados os resultados da sorologia para *N. caninum* e *T. gondii* com a presença ou ausência de sintomatologia nervosa nos cães (Tabela 2). Porém, dos 58 (19,66%) cães que apresentavam sintomatologia nervosa, em 04 (1,36%) foram detectados anticorpos anti-*N. caninum* e em 24 (8,14%) anti-*T. gondii*, sugerindo um possível envolvimento de ambos os coccídios nas neuropatias em cães. Pinheiro *et al.*

| Parâmetros | Soros Examinados | | | | | | |
|------------------------|-------------------------|--------------|--------------|--------------------------|--------------|--------------|--------------|
| | <i>Neospora caninum</i> | | | <i>Toxoplasma gondii</i> | | | |
| | Positivo (%) | Negativo (%) | Total (%) | Positivo (%) | Negativo (%) | Total (%) | |
| Sexo | Masculino | 13 (4,41%) | 126 (42,71%) | 139 (47,12%) | 72 (24,41%) | 67 (22,71%) | 139 (47,12%) |
| | Feminino | 12 (4,07%) | 144 (48,81%) | 156 (52,88%) | 79 (26,78%) | 77 (26,10%) | 156 (52,88%) |
| | Total (%) | 25 (8,48%) | 270 (91,52%) | 295 (100%) | 151 (51,19%) | 144 (48,81%) | 295 (100%) |
| Idade | < 1 | 01 (0,34%) | 35 (11,86%) | 36 (12,20%) | 13 (4,41%) | 23 (7,80%) | 36 (12,20%) |
| | 1 a 7 | 18 (6,10%) | 167 (56,61%) | 185 (62,71%) | 104 (35,25%) | 81 (27,46%) | 185 (62,71%) |
| | > 7 | 06 (2,04%) | 68 (23,05%) | 74 (25,09%) | 34 (11,52%) | 40 (13,56%) | 74 (25,09%) |
| | Total (%) | 25 (8,48%) | 270 (91,52%) | 295 (100%) | 151 (51,19%) | 144 (48,81%) | 295 (100%) |
| Sintomatologia nervosa | Ausência | 21 (71,12%) | 216 (73,22%) | 237 (80,34%) | 127 (43,05%) | 110 (37,29%) | 237 (80,34%) |
| | Presença | 04 (1,36%) | 54 (18,30%) | 58 (19,66%) | 24 (8,14%) | 34 (11,52%) | 58 (19,66%) |
| | Total (%) | 25 (8,48%) | 270 (91,52%) | 295 (100%) | 151 (51,19%) | 144 (48,81%) | 295 (100%) |

Tabela 1 – Recíproca dos títulos de anticorpos anti-*Neospora caninum* (RIFI-IgG) e anti-*Toxoplasma gondii* (RIFI-IgG), em soros de cães provenientes da região nordeste do Estado de São Paulo, 2000.

Tabela 2 – Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* (RIFI-IgG) e anti-*Toxoplasma gondii* (RIFI-IgG), em soros de cães provenientes da região nordeste do Estado de São Paulo, segundo o sexo, a faixa etária e a presença ou ausência de sintomatologia nervosa.

(1999), observaram que, de 11 cães com neuropatias, 4 apresentavam-se sororeagentes ao *N. caninum*, e apenas 1 sororreagente ao *T. gondii*.

4 Conclusão

Os resultados sorológicos dos 295 cães examinados permitem inferir que *N. caninum* e *T. gondii* estão disseminados na população canina da região nordeste do Estado de São Paulo, inclusive com ocorrência simultânea (16,27% dos animais examinados).

Referências Bibliográficas

BAKER, D.G. et al... Experimental oral inoculations in birds to evaluate potencial definitive host of *Neospora caninum*. *J Parasitol*, v.81, p. 783-785, 1995.

BARBER, J.S., TREES,A.J. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *The Veterinary Record*, v.139,p.439-43, 1996.

BARR, B.C. et al. Neospora-like encephalomyelitis in a calf: pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. *J Vet Diagn Invest*, v. 03, p. 39-46, 1991.

BARR, B.C. et al. Neospora-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J Vet Diagn Invest*, v. 04, p. 365-367, 1992.

BARR, B.C. et al. Congenital Neospora infection in calves born from cows that had previously aborted Neospora-infected fetuses: four cases (1990-1992). *J Am Vet Med Assoc*, v. 202, p. 113-117, 1993.

BARR, B.C. et al. Experimental reproduction of bovine Neospora infection and death with a bovine Neospora isolate. *J Vet Diagn Invest*, v. 06, p. 207-215, 1994a.

BARR, B.C. et al. Experimental fetal and transplacental Neospora infection in the nonhuman primate. *Lab Invest*, v. 71, p. 236-242, 1994b.

BELO, M.A.A. et al. Pesquisa de anticorpos anti-Neospora caninum em cães criados sob diferentes condições sanitárias. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999. Salvador-BA. *Anais*. Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p.228.

BJERKÅS, I. et al.. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd*, v. 70, p. 271-274, 1984.

CAMARGO M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rer Inst Med Trop*, v. 06, n. 03, p. 117-118, 1964.

CARINI, A. Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 04, p. 518-519, 1911.

CARINI, A., MACIEL, J. Toxoplasmose naturelle du chien. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 06, p. 681-683, 1913.

CHAPLIN, E.L. et al. Cadeia epidemiológica da toxoplasmose em Guaporé/RS, relacionando humanos e seus animais domésticos. *Arq. Fac. Vet. UFRGS*, v. 12, p. 25-34, 1984.

CHEADLE, M.A. et al.. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs. *Vet Parasitol*, v. 85, p. 235-330, 1999.

COLE, R.A. et al. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J Parasitol*, v. 81, n. 02, p. 208-211, 1995a

COLE, R.A. et al. Vertical transmission of *Neospora caninum* in mice. *J Parasitol*, v. 81, p. 730-732, 1995b.

CONRAD, P.A. et al. Detection of serum antibody responses in cattle with natural or experimental *Neospora* infections. *J Vet Diagn Invest*, v. 05, p. 572-578, 1993.

De MAREZ, T. et al. Oral inoculation of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: humoral and cellular immune responses. *Int J Parasitol*, v. 29, n. 10, p. 1647-1657, 1999.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in dogs. *Canine Pract.*, v. 12, p. 07-28, 1985.

DUBEY, J.P. A review of *Neospora caninum* and Neospora-like infections in animais. *J. Protozool. Res.*, v. 2, p. 40-52, 1992.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *J Parasitol*, v. 75, p. 765-771, 1989a.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am J Vet Res*, v. 50, p. 1578-1579, 1989b.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. *Neospora caninum* induced abortion in sheep. *J Vet Diagn Invest*, v. 2, p. 230-233, 1990.

DUBEY, J.P., LINDSAY, D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet Parasitol*, v. 67, p. 01-59, 1996.

DUBEY, J.P. et al. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc*, v. 192, p. 1269-1285, 1988a.

DUBEY, J.P. et al.. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am vet Med Assoc*, v. 193, p. 1259-1263, 1988b.

DUBEY, J.P. et al.. Congenital *Neospora caninum* infection in a calf with spinal cord anomaly. *J Am Vet Med Assoc*, v. 197, p. 1043-1044, 1990a.

DUBEY, J.P. et al. Fatal congenital *Neospora caninum* infection in a lamb. *J Parasitol*, v. 76, p. 127-130, 1990b.

DUBEY, J.P. et al. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in horses in North America. *J Parasitol*, v. 85, n. 05, p. 968-969, 1999.

DURAN, F.P. et al. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães clinicamente sadios da cidade de Uberlândia-MG. In : SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 9, *Anais*. Campo Grande-MS., 1995. p. 228.

ELLIS, J. et al. The phylogeny of *Neospora caninum*. *Mol Biochem Parasitol*, v. 64, p. 303-311, 1994.

FREIRE, R.L. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina-PR. *Semina: Ci. Agr.*, v. 13, n. 01, p. 66-69, 1992.

GERMANO, P.M., et al.. Estudo sorológico da toxoplasmose canina, pela prva de imunofluorescência indireta, na cidade de Campinas. *Ver. fac. Med. Vet. Zoot. USP*, v. 22, p. 53-58, 1985.

GIRALDI, J.H. et al.. Neosporose canina – revisão. *Clínica Veterinária*, ano VI, n.34, setembro/outubro, 2001.

GREIG, B. et al.. *Neospora caninum* pneumonia in adult

- dog. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 206, p. 1000-1, 1995.
- GUIMARÃES, A.M. et al. Freqüência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arq. Bras. med. Vet. Zootec.*, v. 44, p. 67-678, 1992.
- HOLMDAHL, O.J.M. et al. The phylogeny of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* based on ribosomal RNA sequences. *FEMS Microbiol Letters*, v. 119, p. 87-192, 1994.
- HUONG, L.T.T. et al. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* cattle and water buffaloes in southern Vietnam. *Vet Parasitol*, v. 75, p. 53-57, 1998.
- ISHIZUKA, M.M., et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães do município de São Paulo. *Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. USP*, v. 11, p. 115-125, 1974.
- JENSEN, L., et al. Experimental porcine neosporosis. *A P M I S*, v. 106, n. 04, p. 475-482, 1998.
- LATHE, C.L. *Neospora caninum* in British dogs. *Vet. Rec.*, v.134, p. 532, 1994.
- LINDSAY, D.S. et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in coyotes (*Canis latrans*) and experimental infections of coyotes with *Neospora caninum*. *J Parasitol*, v. 82, n. 04, p. 657-659, 1996.
- LINDSAY, D.S., et al.. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol*, v. 82, p. 327-333, 1999a.
- LINDSAY, D.S., et al. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *Int J Parasitol*, v. 29, n. 10, p. 1521-1523, 1999b.
- MAINAR-JAIME, R.C., et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and abortion in dairy cows in northern Spain. *Vet Rec*, v. 145, p. 72-75, 1999.
- MARSH, A.E., et al. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *J Parasitol*, v. 84, n. 05, p. 983-991, 1998.
- McALLISTER, M.M., et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol*, v. 28, p. 1473-1478, 1998a.
- McALLISTER, M.M., et al. Oral inoculation of cats with tissue cysts of *Neospora caninum*. *Am J Vet Res*, v. 59, n. 04, p. 441-444, 1998b.
- MELLO, V. Um cas de toxoplasmose du chien observé à Turin. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, v. 06, p. 10-15, 1910.
- MINEO, T.W.P. et al.. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.98 p.239-45, 2001.
- NAM, H.W., et al.. Antibody reaction of human anti-*Toxoplasma gondii* positive and negative sera with *Neospora caninum* antigens. *Korean J Parasitol*, v. 36, n. 04, p. 269-275, 1998.
- NICOLLE, C.S., MANCEAUX, L. Sur une infection à corps de Leishman (on organismes voisins), du gondii. *Compt Rend Acad Sc*, v. 147, p. 763-766, 1908.
- ODIN, M., DUBEY, J.P. Sudden death associate with *Neospora caninum* myocarditis in a dog. *J. am. Vet. Assoc.*, v. 203, p. 831-3, 1993.
- PARÉ, J., et al.. Interpretation of na indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in cattle. *J Vet Diagn Invest*, v. 07, p. 273-275, 1995.
- PARÉ, J., et al. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc*, v. 213,n. 11, p. 1595-1598, 1998.
- PINHEIRO, A.M., et al. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* em cães com alterações neuromusculares no Estado da Bahia. In: SEMINÁRIO BRASI-LEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 199. Salvador-BA. *Anais...* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p. 227.
- RASMUSSEN, K., JENSEN, A.L. Some epidemiological features of canine neosporosis in Denmark. *Vet Parasitol.*, v. 62, p. 345-349, 1996.
- RESENDE, P.C.B., et al. Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães do município de Jaboticabal, SP, rasil. In: SEMI-NÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERI-NÁRIA, 11, 1999. Salvador-BA. *Anais...* Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p. 229.
- SAWADA, M., et al. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs, v. 60, n. 07, p. 853-854, 1998.
- SPEER, C.A., et al. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol*, v. 29, n. 10, p. 1509-1519,1999.
- SVOBODA, M., SVOBODOVÁ, V. Effects of breed, sex age, management and nutrituion on the incidence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs and cats. *Acta. Vet. Brno.*, v. 56, p. 315-330, 1987.
- TREES, A.J., et al. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in a population of urban dogs in England. *Vet. Rec.*, v. 132, p. 125-126, 1993.
- THORNTON, R.N., et al. *Neospora* abordion in New Zealand cattle. *NZ Vet J*, v. 39, p. 129-133, 1991.
- TRANAS, J., et al. Serological evidence of human infection with the protozoan *Neospora caninum*. *Clin Diagn Lab Immunol*, v. 06, n. 05, p. 765-767, 1999.
- UGGLA, A., et al. Encephalomyelitis and myositis in a Boxer puppy due to a *Neospora-like* infection. *Vet Parasitol*, v. 32, p. 255-260, 1989.
- UGGLA, A., et al. Oral *Neospora caninum* inoculation of neonatal calves. *Int J Parasitol*, v. 28, p. 1467-1472, 1998.
- WOUDA, W., et al. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int J Parasitol*, v. 29, n. 10, p. 1677-1682, 1999.
- YAMANE, I., et al.. Evaluation of the indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Babesia gibsoni* infections in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, v. 54, p. 1579-84, 1993.