

---

PREVALÊNCIA DE  
*Neospora caninum*  
EM CÃES DE GOIÂNIA

---

Cybelly Moreno Boaventura,<sup>1</sup> Vanessa Silvestre Ferreira de Oliveira,<sup>1</sup> Débora Pereira Garcia Melo,<sup>1</sup> Lígia Miranda Ferreira Borges<sup>2</sup> e Andréa Caetano da Silva<sup>2</sup>

RESUMO

A neosporose canina vem sendo descrita desde 1984 quando ocorreram os primeiros relatos de cães afetados pela doença, cujos sinais eram semelhantes aos de encefalite e miosite. A descoberta do cão como hospedeiro definitivo veio em 1998 com a constatação de que estes animais são capazes de desenvolver a fase sexual do parasito e eliminar oocistos pelas fezes no ambiente. Este é um fator importante na cadeia epidemiológica, pois ressalta a importância destes animais na transmissão horizontal do parasito. O objetivo deste trabalho foi determinar, por meio do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI), a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da cidade de Goiânia (GO), capturados pelo Centro de Zoonoses de Goiânia e domiciliados e atendidos em hospitais veterinários. Do total de cães examinados, 32,9 % (65/197) mostraram-se positivos no teste de IFI, com títulos de 1:50. Entre os 72 animais provenientes do Centro de Zoonoses de Goiânia, 36,1 % (26/72) apresentaram resultados positivos e entre os 125 cães domiciliados atendidos por hospitais veterinários, 31,2 % (39/125) foram positivos para *N. caninum*.

DESCRITORES: Cães. *Neospora caninum*. Diagnóstico.

INTRODUÇÃO

A neosporose é uma enfermidade parasitária causada pelo protozoário *Neospora caninum*, que vem sendo estudada em vários países, incluindo o Brasil. A enfermidade está associada a distúrbios neurológicos em cães, além de ser uma importante causa de abortos em bovinos (Dubey et al., 1996).

*N. caninum* foi identificado pela primeira vez na Noruega, por Bjerkås et al. (1984), ao descreverem um parasito similar ao *Toxoplasma gondii* em cães jovens que

---

1 Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás (UFG).

2 Departamento de Parasitologia, IPTSP, UFG. Caixa Postal 131, CEP 74001-970, Goiânia, GO.

Endereço para correspondência: E-mail: andrea@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em: 18/4/2007. Revisto em: 28/11/2007. Aceito em: 21/12/2007.

apresentavam uma síndrome caracterizada por encefalomielite e miosite. Porém, o novo gênero foi proposto somente quando o protozoário foi identificado em cães que apresentavam sinais neuromusculares, como paresia de membros posteriores, depois de cinco a oito semanas após o nascimento, em consequência de poliradiculoneurite e polimiosite granulomatosa. A nova espécie foi denominada de *Neospora caninum*, pertencente ao filo Apicomplexa, família Sarcocystidae (Dubey et al., 1988a).

Confirmou-se, posteriormente, que *T. gondii* e *N. caninum* não eram da mesma espécie, visto que apresentavam aspectos distintos quanto à estrutura, imunogenicidade e patogenicidade ao hospedeiro (Bjerkås & Dubey, 1991).

Os cães (*Canis familiaris*) (Dubey et al., 1988a) e coiotes (*Canis latrans*) (Gondim et al., 2004) foram descritos como hospedeiros definitivos de *N. caninum* por serem capazes de eliminar oocistos pelas fezes e infectar os hospedeiros intermediários que podem ser os bovinos, ovinos, caprinos, cervídeos, eqüinos, bubalinos, raposas e felinos, os quais estão sujeitos à infecção ao consumir água ou alimentos contaminados (McAllister et al., 1998).

Os cães infectam-se quando ingerem tecidos contendo cistos parasitários. Os cistos contêm bradizoítos e são observados principalmente em tecido nervoso, cérebro, medula espinhal, nervos, músculo cardíaco, esquelético, ocular, fígado (Dubey, 1999; Anderson et al., 2000) e placenta de bovinos infectados (Dijkstra et al., 2001). Nos cistos, os bradizoítos conservam sua capacidade infectante durante períodos de tempo prolongados (Lindsay & Dubey, 1990). A transmissão vertical em cães também ocorre, porém em baixa frequência. Sendo a transmissão horizontal mais frequente, justificam-se as elevadas taxas de soroprevalência encontradas em populações caninas (Barber & Trees, 1998).

Em cães, a maioria dos casos clínicos ocorre em filhotes infectados congenitamente (Dubey et al., 1990). Caracterizam-se por uma paralisia ascendente, com os membros posteriores geralmente mais afetados, podendo ter hiperextensão rígida ou flácida, provavelmente decorrente de poliradiculoneurite e miosite causadas pela infecção (Dubey et al., 1988b). Podem ainda apresentar dificuldade de deglutição, paralisia da mandíbula, cegueira, convulsões, incontinência urinária e fecal, flacidez e atrofia muscular e falha cardíaca (Lindsay et al., 1999).

Em cães adultos a apresentação é mais variada e, além do quadro neuromuscular, podem ocorrer dermatite piogranulomatosa, miocardite e pneumonia. Os cães podem sobreviver durante meses com paralisia progressiva, meningoencefalite, insuficiência cardíaca, complicações pulmonares e, muitas vezes, os animais precisam ser submetidos à eutanásia (Barber, 1998).

As infecções clínicas e subclínicas de *N. caninum* em cães são importantes epidemiologicamente por ser o cão doméstico o principal hospedeiro do parasito capaz de eliminar oocistos no ambiente. Esse é um fator de risco para a ocorrência de abortos associados a *N. caninum* em bovinos (Pare et al., 1998).

Anticorpos para *N. caninum* têm sido encontrados em cães naturalmente infectados nos EUA, Europa, Canadá, Austrália, África do Sul e Costa Rica (Barber,

1998). Estudos de prevalência da infecção por este agente em cães foram realizados em vários países. Sanchez et al. (2003) demonstraram a prevalência de 20% para soros de cães de área urbana em regiões do México. No Japão, Sawada et al. (1998) encontraram 31% de positividade em cães de área rural e 7% em cães urbanos. Wouda et al. (1999) verificaram resultados similares na Holanda, onde 23,6% de cães de fazenda eram positivos, mas somente 5% dos cães de cidade apresentavam positividade para *N. caninum*. Ortuno et al. (2002), em estudo feito na Espanha usando teste de Imunofluorescência Indireta (IFI), encontraram a prevalência de 12,2% de animais positivos.

No Brasil, o primeiro isolado de *N. caninum*, nomeado Nc-Bahia, foi descrito na Bahia em um cão da raça Collie, macho, de 7 anos de idade, que apresentava incoordenação e paralisia dos membros posteriores (Gondim et al., 2001). Depois disso anticorpos anti-*Neospora caninum* foram relatados por vários outros autores. Fernandes et al. (2004) e Mineo et al. (2001), em estudo feito com cães, relataram o achado de 10,7% e 6,7%, respectivamente, de cães positivos em área urbana de Uberlândia (MG). Souza et al. (2002) encontraram soropositividade em 21,6% de 134 cães de propriedades leiteiras do estado do Paraná. Gennari et al. (2002), analisando soros de cães domiciliados e errantes em São Paulo (SP), encontraram, respectivamente, índices de 9,8% e 24,7% de soropositivos.

Anticorpos anti-*Neospora caninum* também foram encontrados em cães por Bello et al. (1999), que detectaram um índice de 35% em cães de rua em São Paulo.

O diagnóstico da neosporose canina é baseado na sorologia, sendo a Imunofluorescência Indireta (IFI) a técnica mais utilizada. Os títulos variam muito, podendo se apresentar negativos mesmo em cães que estejam excretando oocistos (McAllister et al., 1998), mas ainda assim é uma técnica de referência (Björkman e Uglla, 1999).

Como não havia registro da infecção no estado de Goiás, este trabalho teve como objetivo determinar a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães errantes e cães domiciliados da cidade de Goiânia (GO), por meio da técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI).

## MATERIAL E MÉTODOS

No período de março a agosto de 2005, foram colhidas amostras de sangue venoso sem anticoagulante de 197 animais assim distribuídos quanto à sua origem: 72 provenientes do Centro de Zoonoses e 125 de hospitais veterinários. No estudo foram utilizados soros de animais de diversas raças, no entanto a maioria era constituída de cães sem raça definida (SRD), entre os quais havia 97 machos e 100 fêmeas.

As amostras de sangue venoso foram colhidas em tubos tipo Vacutainer®, para obtenção do soro, que foi separado por centrifugação, identificado e mantido a -20°C até o momento do exame.

A detecção de anticorpos foi feita utilizando-se a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) de acordo com Álvares-Garcia et al. (2002). A diluição dos soros se deu na proporção de 1:50. Em seguida foram adicionados à lâmina previamente fixada com taquizoítos da amostra NC-1 de *N. caninum*, cultivados em células Vero e utilizados como antígeno.

Para o início do procedimento, 7  $\mu$ L de uma suspensão de  $10^7$  de taquizoítos fixados em formalina 10% foram depositados em cada área dos 18 círculos demarcados na lâmina de imunofluorescência. Após a secagem da lâmina ao ar, fixou-se com acetona durante 20 minutos a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Depois da fixação, foram acrescentados 10  $\mu$ L/círculo do soro a ser pesquisado, diluídos em PBS (1:50). As lâminas foram incubadas por 40 minutos a  $37^{\circ}\text{C}$  em uma câmara úmida. Posteriormente, foram lavadas duas vezes com PBS (pH 7,2) e duas vezes com água destilada (cinco minutos cada vez). Depois de secas, foi adicionado o conjugado (anti-IgG canina, Sigma ®) na diluição de 1:32 em PBS-azul de Evans (0,2%) e as lâminas foram, então, incubadas em estufa a  $37^{\circ}\text{C}$ , em câmara úmida, durante meia hora. Novamente as lâminas foram lavadas duas vezes com PBS e água destilada, durante cinco minutos cada vez. Logo após a secagem das lâminas, em temperatura ambiente, procedeu-se à sua montagem com glicerina tamponada e lamínula. As lâminas foram examinadas em microscópio equipado com luz fluorescente, objetiva de 40x (Olympus PX 41).

Em todas as lâminas examinadas foram adicionados controles positivos e negativos, constituídos por amostras de soro de cães previamente examinados por IFI, provenientes do Centro de Parasitologia Veterinária da UFG. A reação foi considerada positiva quando se observou fluorescência em toda a parede do taquizoíto, em uma diluição do soro igual a 1:50.

### Análise estatística

As relações com o sexo e a procedência dos animais foram analisadas pelo teste qui quadrado ( $\chi^2$ ), utilizando o programa estatístico Epi Info v.3.3 (Centers for disease control and prevention, 2004).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Do total de 197 soros caninos examinados por IFI, 32,9 % (65/197) foram positivos, com títulos de 1:50. Quando os resultados da sorologia foram relacionados com sexo e procedência dos animais, os machos apresentaram soroprevalência de 39,1 % (38/97), ao passo que entre as fêmeas 27 % (27/100) eram soropositivas (Tabela 1), portanto não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao sexo dos animais.

Na Tabela 2 estão apresentados os resultados da variável procedência dos animais. Entre os provenientes do Centro de Zoonoses de Goiânia, 36,1% (26/72) apresentaram resultados positivos e dentre os cães atendidos em hospitais

veterinários, 31,2% (39/125) foram positivos para *N. caninum*. Tais índices revelam a inexistência de diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

*Tabela 1.* Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* por reação de Imunofluorescência Indireta, no período de março a agosto de 2005, de acordo com o sexo, em cães da cidade de Goiânia (GO)

| Cães          | Positivos | Negativos | Total | (%)  |
|---------------|-----------|-----------|-------|------|
| Machos        | 38        | 59        | 97    | 39,1 |
| Fêmeas        | 27        | 73        | 100   | 27,0 |
| Total de cães | 65        | 132       | 197   | 32,9 |

$X^2 = 3,296$ .  $p > 0,05$

*Tabela 2.* Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, por reação de Imunofluorescência Indireta, no período de março a agosto de 2005, de acordo com a procedência de cães da cidade de Goiânia (GO)

| Cães                   | Positivos | Negativos | Total de cães | (%)  |
|------------------------|-----------|-----------|---------------|------|
| Centro de Zoonoses     | 26        | 46        | 72            | 36,1 |
| Hospitais veterinários | 39        | 86        | 125           | 31,2 |
| Total                  | 65        | 132       | 197           | 32,9 |

$X^2 = 0,496$ .  $p > 0,05$

Muitos estudos foram feitos para a determinação da prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães no Brasil. A prevalência encontrada no presente trabalho foi de 32,9 % (65/197). Estes valores superam os observados por Mineo et al. (2001) e Fernandes et al. (2004), que registraram, respectivamente, prevalência de 10,7 % e 6,7 % para cães urbanos domiciliados e cães atendidos em hospital veterinário de Uberlândia (MG). Também se mostram superiores quando comparados aos resultados de Souza et al. (2002), que encontraram soropositividade em 21,6 % de 134 cães em propriedades leiteiras no estado do Paraná, e Gennari et al. (2002) que, analisando soros de cães domiciliados e errantes, encontraram, respectivamente, índices de 9,8 % e 24,7 % de soropositivos em São Paulo (SP).

No Paraná, Guimarães Junior et al. (2004) e Romanelli et al. (2007) descrevem a prevalência de 21,6 % e 29,1 %, respectivamente, de cães positivos em área rural. Em Aracaju (SE), estudando a prevalência de infecção por *N. caninum* em cães errantes e domiciliados em abrigos de uma associação de proteção animal, Melo et al. (2003) observaram uma prevalência de 68,37 % de cães soropositivos para *N. caninum*.

Do total de cães procedentes do Centro de Zoonoses, 36,1 % foram positivos; em hospitais veterinários a positividade foi de 31,2 %. Estes resultados são inferiores àqueles obtidos em estudo feito por Teixeira et al. (2006), que encontraram uma taxa de 45 % de positividade entre os cães capturados pelo Centro de Zoonoses de São Luís

(MA). Mas se mostra similar aos resultados apresentados por Bello et al. (1999), que detectaram um índice de positividade de 35% em cães de rua em São Paulo (SP).

Com relação à variável sexo, não se verificou diferença estatisticamente significativa neste trabalho. Este fato, também observado por Souza et al. (2002), Teixeira et al. (2006) e Varandas et al. (2001), sugere que machos e fêmeas da espécie canina estão submetidos às mesmas condições de risco. Também não foi encontrada diferença estatisticamente significativa com relação à procedência do animal, o que indica que tanto os cães de Centros de Zoonoses quanto os cães domiciliados podem adquirir a infecção por *Neospora caninum*.

A maioria dos relatos sorológicos relacionados à neosporose canina refere-se a cães assintomáticos. Casos de neosporose congênita são muitas vezes subdiagnosticados. Alguns autores recomendam até mesmo que cadelas soropositivas sejam castradas ou impossibilitadas de se reproduzirem, uma vez que pode ocorrer a transmissão vertical (Barber & Trees, 1998). Em clínicas e hospitais veterinários, o diagnóstico da neosporose ainda não é utilizado rotineiramente, portanto a enfermidade pode não estar sendo detectada ou mesmo sendo confundida com outras enfermidades que cursam com sintomatologia nervosa.

Os resultados deste trabalho evidenciam, pela primeira vez, a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em amostras de sangue da população canina da cidade de Goiânia (GO).

## CONCLUSÃO

Anticorpos anti-*N. caninum* estão presentes em parcela significativa dos cães de Goiânia. Portanto, o diagnóstico sorológico da neosporose canina é importante para a detecção da enfermidade para se conhecer melhor a epidemiologia da doença e, dessa maneira, determinar a importância da transmissão horizontal deste parasito para outros hospedeiros.

Sugere-se que a Neosporose canina seja incluída no diagnóstico diferencial das doenças neurológicas em cães dessa região e que outros estudos sejam desenvolvidos em cães da área rural de Goiânia, visto que estudos epidemiológicos realizados demonstram uma relação positiva entre neosporose em cães e bovinos (Wouda et al., 1999; Sawada et al., 1998).

## ABSTRACT

Prevalence of *Neospora caninum* in dogs from Goiânia, Brazil

*Neospora caninum* is a coccidium from Sarcocystidae family and Apicomplexa phylum that causes neurological disorders in dogs and, since 1989, described as an abortion agent in bovine cattle. Dogs and coyotes had their role on the horizontal

transmission proved, and they were classified as definitive hosts. The objective of this study was to determinate, through indirect immunofluorescence (IFI) the presence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs of the city of Goiânia-Go, from the Zoonosis center, the Federal University of Goiás (UFG) Veterinary Hospital and from private clinics. From the total of examined dogs, 32.97 % (65/197) were positive, with titers higher than 1:50. Among the 72 animals from the zoonosis center of Goiânia, 36.1 % (26/72) showed positive results and among the 125 dogs from the UFG veterinary hospital and private clinics, 31.2 % (39/125) were positive to *N. caninum*.

KEY WORDS: Dogs. *Neospora caninum*. Diagnosis.

## REFERÊNCIAS

1. Álvarez-García G, Pereira-Bueno J, Gómez-Bautista M, Ortega-Mora LM. Pattern of recognition of *Neospora caninum* tachyzoite antigens by naturally infected pregnant cattle and aborted fetuses. *Vet Parasitol* 107: 15-27, 2002.
2. Anderson ML, Andrianarivo AG, Conrad PA. Neosporosis in cattle. *Anim Reprod Sci* 60: 417-431, 2000.
3. Barber JS. Neosporosis canina. *Waltham Focus* 8: 25-29, 1998.
4. Barber JS, Trees AJ. Naturally occurring vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *Int J Parasitol* 28: 57-64, 1998.
5. Bello MAA, Rezende PCB, Castagnolli KC, Bresciani KDS, Costa AJ. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães criados sob diferentes condições sanitárias. In: Seminário Brasileiro de Parasitologia veterinária, 11, 1999, Salvador, Anais... Salvador, Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999, p.228.
6. Bjerkas I, Mohn SF, Presthus J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z Parasitenkd* 70: 271-274, 1984.
7. Bjerkas I, Dubey JP. Evidence that *Neospora caninum* is identical to the Toxoplasma-like parasite of Norwegian dogs. *Acta Vet Scand* 32: 407-410, 1991.
8. Bjorkman C, Ugla A. Serological diagnosis of *Neospora caninum* infection. *Int J Parasitol* 29: 1497-1507, 1999.
9. Centers for Diseases Control and Prevention. Epi Info v. 3.3 [CD ROM], C. D. C., 2004. Statistic software
10. Dijkstra T, Eysker M, Shares G, Conranth FJ, Wouda W, Barkema HW. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. *Int J Parasitol* 31: 747-752, 2001.
11. Dubey JP, Carpenter JL, Speer CA, Topper MJ, Uggla A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. *J Am Vet Med Assoc* 192: 1269-1285, 1988a.
12. Dubey JP, Hattel AL, Lindsay DS, Topper MJ. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission. *J Am Vet Med Assoc* 193: 1259-1263, 1988b.
13. Dubey JP, Koestner A, Piper RC. Repeated transplacental transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J Am Vet Med Assoc* 197: 857-860, 1990.
14. JP, Lindsay DS. A review of *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol* 67: 1-59, 1996.
15. Dubey JP. Recents advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet Parasitol* 84: 349-367, 1999.
16. Fernandes BCTM, Gennari SM, Souza SLP, Carvalho JM, Oliveira WG, Cury MC. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais - Brazil. *Vet Parasitol* 123: 33-40, 2004.

17. Gennari SM, Yai LE, D'auria SN, Cardoso SM, Kwok OC, Jenkins NC, Dubey JP. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. *Vet Parasitol* 106: 177-179, 2002.
18. Gondim LF, McAllister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 34: 159-161, 2004.
19. Gondim LFP, Pinheiro AM, Santos POM, Jesus EEV, Ribeiro MB, Fernandez HS, Almeida MAO, Freire SM, Meyer R, McAllister MM. Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected dog, and production of encysted bradyzoites in gerbils. *Vet Parasitol* 101:1-7, 2001.
20. Guimarães JS, Souza SLP, Bergamaschi DP, Gennari SM. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the North of Paraná state, Brazil. *Vet Parasitol* 124: 1-8, 2004.
21. Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol* 82: 327-333, 1999.
22. Lindsay DS, Dubey JP. Infections in mice with tachyzoites and bradyzoites of *Neospora caninum* (Protozoa: Apicomplexa). *J Parasitol* 76: 410-413, 1990.
23. McAllister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, McGuire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 28: 1473-1478, 1998.
24. Melo CB, Pinheiro AM, Oliveira AA, Dantas MDM, Jesus EEV, Almeida MAO, Reis AV, Feitosa AS, Leite RC. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães em Aracaju, Sergipe. In: Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 30, 2003. Resumo dos Trabalhos Científicos, Resumo 012 (Meio Digital), 2003.
25. Mineo TW, Silva DA, Costa GH, Von Ancken AC, Kasper LH, Souza MA, Cabral DD, Costa AJ, Mineo JR. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. *Vet Parasitol* 98: 239-245, 2001.
26. Ortuno A, Castella J, Almeria S. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Spain. *J Parasitol* 88: 1263-1266, 2002.
27. Pare J, Fecteau G, Fortim M, Marsolais G. Seroepidemiologic study of *Neospora caninum* in dairy herds. *J Am Vet Med Assoc Schaumburg* 213: 1595-1598, 1998.
28. Romanelli PR, Freire RL, Vidotto O, Marana ERM, Ogawa L, De Paula VSO, Garcia JL, Navarro IT. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. *Res Vet Sci* 82: 202-207, 2007.
29. Sanchez GF, Morales SE, Martinez MJ, Trigo JF. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. *Can J Vet Res* 67: 142-145, 2003.
30. Sawada M, Park CH, Kondo. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. *J Vet Med Sci* 60: 853-854, 1998.
31. Souza SL, Guimarães JS, Ferreira F, Dubey JP, Gennari SM. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Paraná, Brazil. *J Parasitol* 88: 408-409, 2002.
32. Teixeira WC, Silva MIS, Pereira JG, Pinheiro AM, Almeida MAO, Gondim LFP. Frequência de cães reagentes para *Neospora caninum* em São Luís, Maranhão *Arq Bras Med Vet Zootec* 58: 4, 2006.
33. Varandas NP, Rached PA, Costa GHN, Souza LM, Castagnolli KC, Costa AJ, Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em cães da região Nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com Neuropatias. Semina. *Ciências Agrárias Londrina*, 22: 105-111, 2001.
34. Wouda W, Dijkstra T, Kramer AM, Maanen C. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int J Parasitol* 29:1677-1682, 1999.