



NEOSPORA CANINUM EM FETOS BOVINOS ABORTADOS

Leticia Cursino dos **Santos**¹; Julia Mitie **Yamamora**²; Márcia Mayumi **Fusuma**³; Lília Hiromi **Okuda**⁴; Claudia Del **Fava**⁵

Nº 21823

RESUMO – As perdas reprodutivas em rebanhos bovinos causam impacto econômico na bovinocultura. As enfermidades da reprodução podem ser causadas por diversos agentes etiológicos, dentre eles o *Neospora caninum*, um protozoário da família Sarcocystidae, causador da Neosporose. É importante verificar sua ocorrência, tendo em vista que é considerado na atualidade o principal agente causador de abortamento em bovinos. Foi realizado o diagnóstico do *N. caninum* em fetos bovinos abortados no Brasil, provenientes da casuística do Instituto Biológico. Um total de 100 fetos foram necropsiados para colheita de órgãos e líquido tóraco/abdominal. Alíquotas destes materiais foram amostrados e processados para nested-PCR nos tecidos refrigerados, e sorologia ELISA no líquido tóraco-abdominal. A análise histopatológica foi realizada em fragmentos de órgãos fixados em formol 10% tamponado, e processadas por técnica histológica de emblocagem em parafina e lâminas coradas pela hematoxilina e eosina. Foi calculada a frequência de fetos positivos na nested-PCR e ou sorologia fetal, segundo idade, sexo, o Estado de origem das amostras e a frequência de lesões histopatológicas nos diversos órgãos. Das 100 amostras totais recebidas no período de 2015 a 2020, 22 foram positivas. Considerando a sorologia fetal e ou nested-PCR para *N. caninum*, 0,72% (16/22) dos abortos aconteceram no segundo trimestre de gestação. Pode-se observar que o maior número de amostras positivas foi proveniente do Estado de São Paulo 0,26% (14/53). As principais lesões microscópicas dos fetos positivos apresentaram infiltrado inflamatório não purulento, a saber: encefalite multifocal (81,81%), miocardite e epicardite (54,54%), hepatite (77,27%) e pneumonia (50%).

Palavras-chaves: Abortamento, Diagnóstico, Doenças Reprodutivas, Neosporose.

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Medicina Veterinária, UAM, São Paulo-SP; leticia.cursino@outlook.com.

2 Colaborador, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Medicina Veterinária, UAM, São Paulo-SP.

3 Colaborador, Técnico de Nível Superior do Instituto Biológico, São Paulo-SP.

4 Colaborador, Pesquisador Científico do Instituto Biológico, São Paulo-SP.

5 Orientador: Pesquisador Científico do Instituto Biológico, São Paulo-SP; claudia.fava@sp.gov.br.



ABSTRACT – Reproductive losses in cattle herds have an economic impact on cattle. Reproductive illnesses can be caused by several etiological agents, including *Neospora caninum*, a protozoan from the family Sarcocystidae, which causes Neosporosis. It is considered the main cause of abortion in cattle. The objective of this project is to carry out the direct and indirect diagnosis of *N. caninum* in aborted fetuses in the State of SP, from the casuistic of the Instituto Biológico. A total of 100 fetuses were necropsied to collect organs and thoraco/abdominal fluid. Aliquots of these materials were sampled and processed for nested-PCR in the refrigerated tissues, and ELISA serology in the thoraco-abdominal fluid. The histopathological analysis were performed on fragments of organs fixed in 10% buffered formaldehyde, and processed by paraffin embedding and slides staining by hematoxylin/eosin. The frequency of positive fetuses in nested-PCR and or fetal serology was calculated, according to age, sex, and the State of origin of the samples, as well as the frequency of histopathological lesions in the different organs. Of the total 100 samples received in the period from 2015 to 2020, 22 were positive. Considering fetal serology and/or nested-PCR for *N. caninum*, 0.72% (16/22) of abortions occurred in the second trimester of pregnancy. It can be seen that the largest number of positive samples came from the State of São Paulo 0.26% (14/53). The main microscopic lesions of positive fetuses showed non-purulent inflammatory infiltrate, namely: multifocal encephalitis (81.81%), myocarditis and epicarditis (54.54%), hepatitis (77, 27%) and pneumonia (50%).

Keywords: Abortion, Diagnosis, Reproductive Diseases, Neosporosis.

1. INTRODUÇÃO

Neospora caninum (*N. caninum*), é um protozoário pertencente ao filo Apicomplexa, família Sarcocystidae, foi primeiramente detectado em cães na Noruega (BJERKÅS et al., 1984), descrito e nomeado em 1988 por Dubey et al. (1988), e identificado como o agente causador de abortamento em bovinos (ANDERSON et al., 1991).

O estudo histopatológico dos fetos bovinos abortados é um método auxiliar no diagnóstico. As lesões são de natureza inflamatória e degenerativa (focos de necrose), podendo aparecer em qualquer órgão ou tecido fetal, mas pela frequência de aparecimento destacam-se o sistema nervoso central (SNC), o coração, o músculo esquelético, placenta e o fígado (CABRAL, 2009). Em outros órgãos como o rim, o pulmão, o pâncreas ou as glândulas adrenais também têm sido encontradas lesões associadas a esta parasitose (BARR et al., 1991; ROGERS et al., 1993; CABRAL, 2009).



A obtenção do sucesso no diagnóstico diferencial de aborto depende do envio de fetos e placenta, a realização de necropsia, incluindo coleta adequada de materiais e a execução de exames histopatológicos, microbiológicos, moleculares, imuno-histoquímicos, sorológicos e micológicos (KIRKBRIDE, 1990; DEL FAVA et al., 2007; CABRAL et al., 2009).

O diagnóstico da neosporose tem a finalidade de identificar a causa do abortamento, e assim implantar medidas de controle, que devem objetivar a redução da prevalência da infecção nas explorações com surtos de abortamento, para prevenir sua propagação aos demais suscetíveis evitando tanto a transmissão horizontal como a vertical (ÁLVAREZ-GARCIA, 2003).

Não existem ainda métodos efetivos para o controle da neosporose bovina. As práticas de manejo do rebanho são utilizadas para tentar eliminar ou reduzir a infecção e os prejuízos causados por *N. caninum*. Estratégias para o controle da neosporose são descritas por Andreotti et al. (2001).

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado em 100 fetos bovinos abortados de rebanhos localizados no Brasil, utilizando a casuística de fetos que foram encaminhados ao Instituto Biológico para diagnóstico diferencial de doenças da reprodução. Para a obtenção do histórico dos fetos recebidos entre 2015 e 2020 pelo Instituto, eram registradas no banco de dados e as informações como identificação do animal, idade, sexo e manejo; estas informações foram computadas para posteriormente facilitar o diagnóstico. O exame histológico foi usado como primeiro método de triagem para lesões nas amostras.

Os fetos foram necropsiados e coletadas amostras de SNC, coração, pulmão, fígado, rim, baço, linfonodos, e líquido tóraco-abdominal (PITUCO et al., 2010).

2.1. Análise Histopatológica

Alíquotas dos tecidos para análise histopatológica foram fixadas em formol 10% para processamento histotécnico. Os materiais foram cortados em fragmentos menores, depositados em cassetes histológicos e submetidos a um protocolo de soluções de álcool etílico em concentrações crescentes para desidratação, diafanização pelo xilol e embebição em parafina (PROPHET, 1995). Por fim, foram emblocados em parafina e devidamente identificados.



O tecido emblocado em parafina foi cortado em micrótomo (três µm de espessura), estendido em banho-maria (60°C) e colocado em lâmina de vidro tratada previamente com albumina, para facilitar a adesão do corte histológico na lâmina. Em seguida, a lâmina foi colocada em estufa 65°C com ventilação forçada para desparafinização parcial, e posteriormente submetida a um protocolo de desparafinização (xilol), hidratação em soluções de concentrações decrescentes de álcool etílico, coloração Hematoxilina e Eosina, desidratação em soluções de concentrações crescentes de álcool etílico e diafanização em xilol (PROPHET, 1995). Para a montagem da lâmina e lamínula foi empregada resina sintética (ENTELLAN – MERCK®).

As lâminas foram analisadas em microscópio óptico comum LEICA DM 2000 e imagens capturadas e editadas por câmera digital LEICA acoplada a sistema computadorizado com o módulo de imagens LAS LEICA.

Os órgãos foram avaliados histologicamente e a patologia classificada de acordo com a literatura de referência em anatomia patológica veterinária (JONES et al.; JUBB et al., 2007; MCGAVIN; ZACHARY, 2009).

2.2. Diagnóstico Indireto (Pesquisa de Anticorpos)

ELISA indireto comercial para anticorpos anti-*Neospora caninum*: foi utilizado o kit ELISA indireto (Idexx®) para o teste de anti-*Neospora caninum* que é um imunoensaio enzimático que detecta anticorpos contra o *N. caninum* em soro bovino. As análises foram realizadas de acordo com o fabricante.

2.3. Diagnóstico Direto (Pesquisa de Antígeno)

Os tecidos colhidos na necropsia: SNC, pulmão, coração, fígado, baço, timo, linfonodos e rins dos fetos foram processados para a análise molecular.

Um grama de tecido (animal adulto: SNC; fetos: cérebro, pool de fígado e coração, pool de pulmão baço, linfonodo e timo) foram macerados em graal com auxílio de pistilo e ressuspensos em 4mL de meio MEM e 1% de solução de antibióticos (penicilina, gentamicina e estreptomicina).

Este material foi congelado em freezer -20°C até a realização do teste molecular (*nested-PCR*).



Foi utilizada a *nested*-PCR descrita por Cabral et al. (2009) e Malaguti et al. (2012), com o gene Nc5 do DNA genômico, e sequência ITS1 do DNA ribossomal do *N. caninum*.

A extração de DNA foi realizada com Kit comercial (Wizard Genomic DNA *Purification Kit* - PROMEGA), segundo instruções do fabricante. Foram utilizados dois *primers* para a detecção do *N. caninum* por *nested*-PCR (PLUS), segundo Hughes et al. (2006) baseado na sequência Nc5 do DNA genômico e *nested*-PCR (JB), segundo Barrat et al. (2008), baseado na sequência ITS1 do DNA ribossomal.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas 100 amostras, provenientes de fetos bovinos abortados. As amostras totais e positivas na *nested*-PCR e ou ELISA foram organizadas de acordo com a idade fetal, sexo, Estado Brasileiro de origem da amostra, lesões macroscópicas e microscópicas.

Na presente amostragem, foram diagnosticados 22% (22/100) fetos bovinos abortados, no período de 2015 a 2020, utilizando *nested*-PCR e imuno-histoquímica. Este valor foi próximo ao publicado por Cabral et al. (2009), que encontraram 24,76% (26/105) fetos bovinos abortados positivos ao *N. caninum* pela *nested*-PCR e imuno-histoquímica em uma amostragem de conveniência no Brasil, colhida no período de janeiro de 2006 a maio de 2008.

A idade fetal foi determinada em 88 dos 100 fetos totais, dos quais sete correspondiam ao primeiro trimestre de gestação, 63 ao segundo e 18 ao terceiro, e em sete casos não foi informada a idade fetal (NI). Com relação aos 22 fetos positivos ao *N. caninum*, dois correspondiam ao primeiro trimestre de gestação, 16 ao segundo, três ao terceiro e em um não foi possível identificar a idade. De acordo com Cabral (2009), dos 26 casos positivos para *N. caninum*, a maioria correspondia ao segundo trimestre de gestação. Barr (1991) relatou que a principal manifestação clínica em bovinos infectados é o aborto, que se dá entre o terceiro e o oitavo mês de gestação.

Entre os 100 fetos abortados, 40 eram fêmeas, 53 machos, e sete não foi informado o sexo. Das 22 amostras positivas na *nested*-PCR e/ou ELISA para *N. caninum*, 14 eram machos, sete eram fêmeas e apenas em um não foi possível identificar o sexo (NI). De acordo com Lindsay et al. (1996), o abortamento ocorre normalmente entre três e oito meses de gestação. Segundo ÁLVAREZ-GARCIA (2003), nas fêmeas gestantes, o aborto é o único sinal clínico que pode ser observado, podendo acontecer em vacas de até 11 anos de idade; mesmo infectados, os adultos permanecem assintomáticos, podendo controlar a infecção.



Quanto aos Estados de origem dos 100 fetos, 53 foram provenientes de São Paulo, 28 Minas Gerais, um de Alagoas, um da Bahia, um do Maranhão, seis do Paraná, um do Distrito Federal, três de Goiás, três do Mato Grosso do Sul, dois do Mato Grosso e apenas um caso NI. Dos 22 fetos positivos na *nested*-PCR e/ou ELISA, 14 eram de São Paulo, sete de Minas Gerais e um de Goiás. Como a amostragem analisada foi de conveniência, ou seja, não foi feito nenhum delineamento estatístico para sorteio dos fetos abortados por Estado, e foram examinados todos os fetos, independentemente de sua origem, não significa que o Estado de São Paulo é verdadeiramente o que apresenta maior frequência de ocorrência de casos positivos. Cabral (2009) relata que a maior parte das amostras encaminhadas - 62,85% (66/105) foi oriunda do Estado de São Paulo, onde também mostrou o maior índice de positividade para *N. caninum*.

Na macroscopia dos 22 fetos positivos ao *N. caninum*, as principais alterações foram observadas em fígado (45,45%), presença de líquido sanguinolento em cavidades torácica e abdominal (45,45%), e hemorragia em subcutâneo (50%). CORBELLINI et al. (2006) relataram que, macroscopicamente, não são observadas lesões significativas em fetos abortados pelo *N. caninum*. Já Dubey et al. (1998) citam que tais lesões, por mais que sejam raras, podem estar presentes no coração, músculo esquelético e cérebro.

Os achados microscópicos nos fetos positivos a *nested*-PCR e/ou ELISA ao *N. caninum*, de acordo com os sistemas orgânicos, demonstram que 18/22 apresentaram alterações no sistema nervoso, 15/22 cardiovascular, 17/22 no digestório, 12/22 no geniturinário e 18/22 no sistema respiratório. As lesões microscópicas compatíveis com neosporose ocorreram de forma mais frequente no cérebro, seguido de fígado, coração e pulmão. Assim como Barr et al. (1991) e Rogers et al. (1993) descreveram, lesões inflamatórias e áreas de necrose podem aparecer no SNC, coração, músculo esquelético e fígado com maior frequência, seguido de alterações em rins, pulmão e pâncreas. Njaa (2012) e Pereira (2018) relataram meningoencefalite, miosite, nefrite, hepatite, pneumonia e miocardite foram consideradas como lesões sugestivas da neosporose. Corbelini et al. (2006) acreditam que um diagnóstico presuntivo de aborto é baseado nos achados de encefalite multifocal e miocardite tal como lesões não purulentas em outros órgãos. Cabral (2009) relatou achados histopatológicos (infiltrado inflamatório não purulento) no fígado, rim, pulmão, coração, SNC e placenta.

Nas amostras positivas para *N. caninum*, as alterações foram constituídas por um infiltrado inflamatório mononuclear em miocárdio e epicárdio. A miocardite e epicardite não purulenta foram observadas em 12 fetos (54,54%). Cabral (2009), relatou 75,7% (53/70) casos positivos para *N. caninum* com infiltrado inflamatório não supurativo presente no epicárdio e miocárdio.



No SNC, a presença de infiltrado inflamatório multifocal não purulento foi observado em 18 fetos (81,81%), sendo 11 em região de neurópilo, nove em meninge e quatro no córtex cerebral, podendo ter mais de uma alteração em um mesmo feto. Em oito fetos (36,36%), a necrose esteve presente. Lesões em áreas de gliose em região do córtex cerebral, tálamo e córtex cerebelar e áreas multifocais de necrose com infiltrado inflamatório mononuclear podem estar presentes em córtex, cerebelo e colículos (ORLANDO et al., 2013). CABRAL et al. (2009) observaram em fetos bovinos abortados por *N. caninum* 55,9% (38/68) fetos com meningoencefalite multifocal não purulenta.

No pulmão, fígado e rim as lesões são constituídas basicamente por infiltrado focal ou difuso de células inflamatórias mononucleares não supurativas. No rim esses infiltrados encontram-se preferencialmente na cortical (BUXTON et al., 1998; CABRAL, 2009).

A ausência de sinais clínicos e lesões macroscópicas evidentes que acompanham o aborto por *N. caninum* e a necessidade de recorrer ao laboratório para alcançar um diagnóstico etiológico preciso são características compartilhadas pela maioria dos processos infecciosos e parasitários que cursam com infertilidade (falha na concepção, morte embrionária ou fetal e aborto). Por este motivo, o diagnóstico da causa de aborto em um animal ou em um grupo de animais num rebanho é sempre uma tarefa difícil devido aos múltiplos agentes que podem estar implicados, a ausência de um quadro clínico característico na maioria dos casos e a inespecificidade das lesões macroscópicas. A investigação da infecção fetal por *N. caninum* é apenas mais uma das quais se deve realizar nos abortos bovinos, tendo em vista que inclusive nos melhores laboratórios a porcentagem de êxito não superará 40-50% (FERRE et al., 2003).

4. CONCLUSÃO

A neosporose é uma importante causa de abortamento em bovinos e deve ser incluída no diagnóstico diferencial de perdas reprodutivas na espécie.

As análises microscópicas compatíveis com a infecção em associação ao teste molecular e sorológico positivos são fundamentais para um diagnóstico definitivo de *N. caninum*.

5. AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Dra. Claudia Del Fava pela oportunidade, ensinamentos e apoio durante a minha pesquisa e por ter desempenhado tal função com muita dedicação e carinho.



15º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2021
01 a 02 de setembro de 2021
ISBN 978-65-994972-0-9

À minha amiga de laboratório com quem convivi durante a pesquisa, Julia Mitie Yamamora, pela ajuda, paciência e companheirismo a longo desse trabalho.

À todos os responsáveis e coordenadores do CIIC (Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica) pela organização do evento.

Ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) pela bolsa de Iniciação Científica concedida, que possibilitou minha dedicação ao projeto de pesquisa.

À Fundação de Desenvolvimento da Pesquisa do Agronegócio (FUNDEPAG - São Paulo, Brasil), contratos 2013.1251 e 2018.2018, pelo suporte financeiro.

6. REFERÊNCIAS

ÁLVAREZ-GARCIA, G. **Identificación y caracterización de antígenos de *Neospora caninum* con interés inmunodiagnóstico en bovinos**. 2003. 293 p. Tese (Doutorado) – Universidad Complutense de Madrid, Madrid. Disponível em: <<https://eprints.ucm.es/id/eprint/4780/>>. Acesso em: 18 mai. 2021.

ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C.; DUBEY, J.P.; HOFFMAN, R.L.; CONRAD, P.A. Neospora-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 198, p. 241-244, 1991.

ANDREOTTI, R.; LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V. T.; PAIVA, F. **Diagnóstico e controle da neosporose em bovinos**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2003. 51 p. (Documentos Embrapa Gado de Corte, n. 136). Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/324070/diagnostico-e-controle-da-neosporose-em-bovinos>. Acesso em: 15 mai. 2001.

BARR, B.C.; ANDERSON, M.L.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A. Neospora-like protozoal infections associated with bovine abortions. **Veterinary Pathology**, v. 28, p. 110-116, 1991.

BARRATT, J.; QASSAB, A. S.; REICHEL, P. M.; ELLIS, T. J. The development and evaluation of a nested PCR assay for detection of *Neospora caninum* and *Hammondia heydorni* in feral mouse tissues. **Molecular and Cellular Probes**, v. 22, n. 4, p. 228-233, 2008.

BJERKÅS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Zeitschrift für Parasitenkunde**, v. 70, p. 271-274, 1984.

BUXTON, D.; MALEY, S.W.; WRIGHT, S.; THOMSON, K.M.; RAE, A.G.; INNES, E.A. The pathogenesis of experimental neosporosis in pregnant sheep. **Journal of Comparative Pathology**, v. 118, p. 267-279, 1998.

CABRAL, A. D. **Pesquisa de *Neospora caninum* em fetos bovinos abortados utilizando análises histológicas (HE), imunoistoquímica (IHQ) e nested PCR**. 2009. 78 p. Dissertação (Mestrado) – Instituto Biológico, São Paulo. Disponível em: <http://www.biológico.sp.gov.br/pos/#/page/dissertacoes-defendidas/teses-e-dissertacoes-2009/pesquisa-de-neospora-caninum-em-fetos-bovinos-abortados-utilizando-analises-histologicas-he-imunoistoquimica-ihq-e-nested-pcr->. Acesso em: 18 mai. 2021.



15º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2021
01 a 02 de setembro de 2021
ISBN 978-65-994972-0-9

CABRAL, A.D.; CAMARGO, C.N.; GALLETI, N.T.C.; OKUDA, L.H.; PITUCO, E.M.; DEL FAVA, C. Diagnosis of *Neospora caninum* in bovine fetuses by histological analysis (HE), immunohistochemistry (IHC) and nested PCR. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, p. 14-19, 2009.

CORBELLINI, L.G.; PESCADOR, C.A.; FRANTZ, F.; WUNDER, E.; STEFFEN, D.; SMITH, D.R.; DRIEMEIER, D. Diagnostic survey of bovine abortion with special reference to *Neospora caninum* infection: Importance, repeated abortion and concurrent infection in aborted fetuses in Southern Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 172, n. 1, p. 114-120, 2006.

DEL FAVA, C.; PITUCO, E. M.; GENOVEZ, M.E. Diagnóstico Diferencial de Doenças da Reprodução em Bovinos: Experiência do Instituto Biológico. **Biológico**, v. 69, n. 2, p. 73-79, 2007.

DUBEY, J.P.; CARPENTER, J.L.; SPEER, C.A.; TOPPER, M.J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 192, p. 1269-285, 1988.

DUBEY, J.P.; ABBITT, B.; TOPPER, M.J.; EDWARDS, J.F. Hydrocephalus associated with *Neospora caninum* infection in an aborted bovine fetus. **Journal of Comparative Pathology**, v. 118, p. 169-173, 1998.

FERRE, I.; ÁLVAREZ-GARCIA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; PÉREZ, F. J.; ORTEGA-MORA, L. M. Diagnóstico de la infección y del aborto causado por *Neospora caninum* em los bovinos. **Producción Animal**, v. 190, p. 52-62, 2003.

HUGHES, M. J.; WILLIAMS, H. R.; MORLEY, K. E.; COOK, N. A. D.; TERRY, S. R.; MURPH, G. R.; SMITH, E. J.; HIDE, G. The prevalence of *Neospora caninum* and coinfection with *Toxoplasma gondii* by PCR analysis in naturally occurring mammal populations. **Parasitology**, v. 132, p. 29-36, 2006.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. (Eds.). **Patologia Veterinária**, 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. 1415p.

JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N.G. (Eds.) **Pathology of Domestic Animals**. 5.ed. v.1. Elsevier Saunders, 2007. 899 p.

KIRKBRIDE, C.A. **Laboratory diagnosis of livestock abortion**. 3. ed. Iowa State University Press, 1990. 260p.

LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P., BLAGBUM, B.L. Finding the cause of parasite induced abortions in cattle. **Veterinary Medicine**, v. 91, n. 1, p. 64-71, 1996.

MALAGUTI, J.M.A.; CABRAL, A.D.; ABDALLA, R.P.; SALGUEIRO, Y.O.; GALLETI, N.T.C.; OKUDA, L.H.; CUNHA, E.M.S.; DEL FAVA, C. *Neospora caninum* as causative agent of bovine encephalitis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, p. 1-7, 2012.

MCGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. (Eds.) **Bases da patologia veterinária**. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 1476 p.

NJAA, B. L. **Kirkbride's Diagnosis of abortion and neonatal loss in animals**. 4.ed. Oxford: Wiley Blackwell, 2012. p. 221-222.

ORLANDO, D.R.; COSTA, R.C.; SOARES, B.A.; OLIVEIRA, N.S.C.; NASCIMENTO, L.C.; PECONICK, A.P.; RAYMUNDO, D.L.; VARASCHIN, M.S. Abortos por *Neospora caninum* em bovinos do sul de Minas Gerais. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 11, p. 1332-1338, 2013.

PEREIRA, N. Aborto bovino por *Neospora caninum*: relato de caso. 2018. Disponível em: > <https://bdm.unb.br/handle/10483/22409><

PITUCO, E.M.; DEL FAVA, C.; RIBEIRO, C.P.; BERSANO, J.G.; MIYASHIRO, S. PANAFTOSA-OPAS/OMS (Org.). **Manual veterinário de colheita e envio de amostras. Manual técnico**. Cooperação Técnica



15º Congresso Interinstitucional de Iniciação Científica – CIIC 2021

01 a 02 de setembro de 2021

ISBN 978-65-994972-0-9

MAPA/OPAS/PANAFTOSA para o Fortalecimento dos Programas de Saúde Animal do Brasil. Rio de Janeiro: PANAFOTOSA -OPAS/OMS, 2010. 218p. (Série de Manuais Técnicos, 13).

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L. H. (Eds.) **Métodos Histotecnológicos**. Washington: Registro de Patología de los Estados Unidos de América y Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América, 1992. 280p.

ROGERS, D.G.; GROTELUESCHEN, D.M.; ANDERSON, M.L.; MCCULLOUGH, M.S.; SHAIN, W.S.; DUBEY, J.P. Endemic protozoal abortions in a dairy cow herd. **Agri-Practice (USA)**, v. 14, p. 16-21, 1993.