



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO AMAPÁ

MEDICINA VETERINÁRIA

CAMPUS PORTO GRANDE

FELIPE NUNES RODRIGUES

**SOROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM REBANHOS BOVINOS E BUBALINOS NO
ESTADO DO AMAPÁ**

PORTO GRANDE – AP

2025

FELIPE NUNES RODRIGUES

**SOROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM REBANHOS BOVINOS E BUBALINOS NO
ESTADO DO AMAPÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
coordenação do curso de Medicina Veterinária
como requisito avaliativo para obtenção do título
de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador(a): Dra. Alessandra dos S. Belo Reis.

Coorientador: Msc. Leonardo Reis Silva

PORTO GRANDE – AP

2025

Biblioteca Institucional - IFAP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

R696s Rodrigues, Felipe Nunes
 SOROPREVALÊNCIA DE Neospora caninum EM REBANHOS
 BOVINOS E BUBALINOS NO ESTADO DO AMAPÁ / Felipe Nunes
 Rodrigues - Porto Grande, 2025.
 42 f.

 Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -- Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá, Campus Porto Grande,
Bacharelado em Medicina Veterinária, 2025.

 Orientadora: Dra. Alessandra dos Santos Belo Reis.
 Coorientador: Me. Leonardo Reis Silva .

 1. Neosporose. 2. Bovinos e Bubalinos . 3. Amapá . I. Reis, Dra.
Alessandra dos Santos Belo , orient. II. Silva , Me. Leonardo Reis ,
coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica do IFAP
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

FELIPE NUNES RODRIGUES

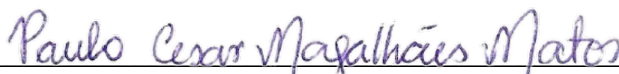
**SOROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM REBANHOS BOVINOS E BUBALINOS NO
ESTADO DO AMAPÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
coordenação do curso de Medicina Veterinária
como requisito avaliativo para obtenção do título
de Bacharel em Medicina Veterinária.

BANCA EXAMINADORA



Profª. Dra. Alessandra dos S. Belo Reis (Orientadora)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá



Prof. Dr. Paulo César Magalhães Matos
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amapá



Méd. Vet. Msc. Leonardo Reis (Co-orientador)

Apresentado em: 18/ 12 / 2025.

Conceito/Nota: Excelente/ 93

Aos meus pais que não mediram esforços para que eu tivesse uma educação baseada em adquirir conhecimentos.

AGRADECIMENTOS

Ao município de Porto Grande, por ter me acolhido durante três anos e meio da minha vida, sendo palco de grandes descobertas, inícios e encerramentos necessários para a formação do meu caráter e da pessoa que almejo me tornar.

Ao meu psiquiatra, Dr. Antônio Ávila, e à minha psicóloga Dra. Gisely, pelas conversas, pelos ensinamentos, pelo acolhimento, pela maestria e afinho com que desenvolvem seu trabalho.

A toda a equipe do Centro de Atendimento Psicossocial do município de Porto Grande, pelo acolhimento e pela compreensão.

Ao Dr. Carlos Estevão, por todo o acolhimento, paciência e compromisso que teve comigo quando precisei de ajuda.

À minha orientadora, Dra. Alessandra dos Santos Belo Reis, que além de amiga tornou-se uma pessoa mais que essencial para minha formação acadêmica. Seus exemplos de dedicação, empenho e simplicidade ecoam dentro de mim como ensinamentos que vou levar pelo resto da vida.

Ao meu coorientador, Msc. Leonardo Reis Silva por todos os ensinamentos compartilhados e preparação profissional.

Aos meus pais, Ivana e Clésio, pela vida. Ao meu irmão mais velho Nicolas, por sempre cuidar de mim e estar comigo nos momentos mais difíceis, por suas palavras de acolhimento e atenção.

Aos professores Diego Ambrosini, Paulo César Magalhães, Alyne Lima e João Maria do Amaral Júnior.

Aos colegas de faculdade e agora parceiros de profissão por todas as experiências trocadas durante esse trajeto.

“Bendito é aquele que semeia livros e faz o povo pensar.”

(ALVES, C. Espumas Flutuantes, 1870).

RESUMO

A neosporose é uma das principais enfermidades reprodutivas que acometem os sistemas de criação de ruminantes em todo o mundo, sendo amplamente associada a abortamentos e perdas econômicas significativas. O protozoário *Neospora caninum* tem como hospedeiros definitivos os canídeos e uma variedade de mamíferos e aves como hospedeiros intermediários, dos quais o búfalo doméstico se destaca por sua elevada soroprevalência, especialmente em regiões onde é criado em consórcio com outras espécies. Considerando a relevância produtiva do Amapá e a escassez de estudos regionais, este trabalho teve como objetivo investigar a soroprevalência de *N. caninum* em rebanhos de bovinos leiteiros e bubalinos localizados em três propriedades distintas nos municípios de Porto Grande, Ferreira Gomes e Laranjal do Jari. Foram coletadas um total de 27 amostras sanguíneas de bovinos e bubalinos, entre 3 e 8 anos, algumas com histórico de aborto. As amostras foram processadas pelo método DOT-ELISA utilizando o kit ImmunoComb® (Biogal®). O estudo evidenciou a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em todos os rebanhos avaliados, reforçando a circulação do parasito na região e destacando a importância do monitoramento sorológico como ferramenta essencial para o manejo sanitário e para a mitigação de perdas reprodutivas nas propriedades. Os resultados obtidos contribuem de forma pioneira para o entendimento epidemiológico da neosporose no estado do Amapá e servem como alicerce para estudos posteriores envolvendo o impacto da doença e monitoramento sorológico nos sistemas produtivos locais.

Palavras-chave: Neosporose, sorologia, gado, búfalos, Amazônia.

ABSTRACT

Neosporosis is one of the most important reproductive diseases affecting ruminant production systems worldwide, widely associated with abortions and substantial economic losses. The protozoan *Neospora caninum* has canids as its definitive hosts and a variety of mammals and birds as intermediate hosts, among which the domestic buffalo stands out due to its high seroprevalence, particularly in regions where it is raised alongside other species. Considering the productive relevance of the state of Amapá and the scarcity of regional studies, this research aimed to investigate the seroprevalence of *N. caninum* in dairy cattle and buffalo herds located on three farms in the municipalities of Porto Grande, Ferreira Gomes, and Laranjal do Jari. A total of 27 blood samples were collected from cattle and water buffalo aged 3 to 8 years, some with a history of abortion. Samples were processed using the DOT-ELISA method with the ImmunoComb® kit (Biogal®). The study confirmed the presence of anti-*N. caninum* antibodies in all evaluated herds, reinforcing the circulation of the parasite in the region and highlighting the importance of serological monitoring as an essential tool for sanitary management and mitigation of reproductive losses. The findings contribute pioneering epidemiological data on neosporosis in the state of Amapá and provide a foundation for future studies addressing the disease's impact and serological surveillance in local production systems.

Keywords: Neosporosis, serology, cattle, water buffaloes, Amazon.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Cisto tecidual de *N. caninum* em amostra histológica de sistema nervoso de um bezerro. A seta preta na imagem aponta para a parede celular. 16
- Figura 2** - Técnica de venopunção da veia coccígea em bovino utilizando tubos coletores estéreis com gel ativador de coágulo BD, Vacutainer® 22
- Figura 3** - Centrifugação de amostras sanguíneas. 23
- Figura 4** - Kit ImmunoComb portátil DOT ELISA Bovine *Neospora Caninum* da empresa BIOGAL®. 24
- Figura 5** - Presença de cães auxiliando o manejo sanitário da propriedade localizada no município de Ferreira Gomes. 25

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVO	13
2.1	Objetivo geral	13
2.2	Objetivo específico	13
3	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1	Importância econômica e epidemiológica da espécie bovina	14
3.2	Importância econômica e epidemiológica da espécie bubalina	14
3.3	Etiopatogenia	15
3.4	Sinais Clínicos e achados histopatológicos	16
3.5	Diagnóstico	18
3.6	Controle e Profilaxia	18
3.7	Soroprevalência da neosporose no Brasil e no mundo	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	22
5	RESULTADOS	25
6	DISCUSSÃO	26
7	CONCLUSÃO	28
	REFERÊNCIAS	29
	APÊNDICE A – Tabela dos Animais Testados	39
	APÊNDICE B – Etapas de Realização do Teste	41

1. INTRODUÇÃO

O agronegócio representa uma das principais atividades econômicas geradoras de renda no Brasil, sendo responsável por 23,2 % do Produto Interno Bruto (PIB) em 2024 (CNA, 2024). No quarto trimestre do mesmo ano o PIB referente ao setor apresentou crescimento de 1,81% em comparação ao ano anterior, atingindo a marca de 2,72 trilhões de reais, dos quais 819,26 bilhões de reais correspondem ao setor pecuário (CNA, 2024). O Brasil dispõe do maior rebanho comercial de bovinos do mundo (ARAÚJO *et al.*, 2012) e do maior rebanho de bubalinos das Américas (IBGE, 2024) com valores estimados em 238.180.757 cabeças e 1.805.145 cabeças, respectivamente (IBGE, 2024).

Tais espécies desempenham um papel crucial para segurança alimentar, geração de renda e empregos diretos e indiretos (CNA, 2025), no que tange a espécie bubalina, suas características zootécnicas como elevada capacidade de conversão alimentar, adaptabilidade aos mais diversos sistemas de criação, docilidade, prolificidade, precocidade e longevidade, faz com que o búfalo ganhe cada vez mais destaque no setor pecuário mundial como fonte alternativa de carne e leite (VIEIRA *et al.*, 2011; MISHRA *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2020).

No entanto, ambas as espécies podem ser acometidas pelas mesmas enfermidades e parasitoses, variando conforme o país, região e sistema de criação em que estão inseridas, o que compromete a rentabilidade do setor produtivo (BATISTA *et al.*, 2018). Dentre as enfermidades reprodutivas que acometem os animais de produção, a neosporose tem sido amplamente descrita como uma das principais causas de aborto e perdas embrionárias em ruminantes domésticos (DUBEY *et al.*, 2017; REICHEL *et al.*, 2013; HORCAJO *et al.*, 2023), as estimativas médias dos custos anuais decorrentes das perdas ocasionadas pelo agente etiológico ultrapassa 1,298 bilhões de dólares, podendo chegar a 2,380 bilhões de dólares (REICHEL *et al.*, 2015).

A indústria leiteira sofre com aproximadamente dois terços das perdas anuais, equivalentes a 842,9 milhões de dólares, com média de 1600 dólares por propriedade, enquanto para a indústria de corte totaliza apenas 150 dólares por propriedade (REICHEL *et al.*, 2015). A perda de bezerras assim como os custos como mão de obra especializada, substituição de animais com elevada carga parasitária, descarte de animais com falha reprodutiva e queda da produção leiteira são exemplos de custos indiretos relacionados à neosporose (LEFKADITIS *et al.*, 2020). *Neospora caninum*, agente etiológico responsável por desencadear a doença, trata-se

de um protozoário intracelular cosmopolita pertencente ao filo apicomplexa que tem como hospedeiro definitivo os canídeos, e como hospedeiro intermediário uma variedade de aves e mamíferos, dentre os quais o búfalo doméstico atua como um dos principais reservatórios do parasito devido à elevada soroprevalência nos rebanhos (BATISTA *et al.*, 2018) tendo grande importância em regiões onde as espécies são criadas em consórcio (SHEFFER *et al.*, 2013), a exemplo do estado do Amapá.

Dessa forma, o monitoramento sorológico trata-se de um fator crucial para o desenvolvimento de um setor produtivo mais assertivo e sustentável garantindo a sanidade dos rebanhos e otimizando os índices reprodutivos (GUIDO *et al.*, 2016), pois a identificação dos patógenos circulantes permite inferir a respeito das doenças predominantes naquela população, direcionando as medidas profiláticas e terapêuticas adequadas para mitigar riscos associados aos patógenos envolvidos, uma vez que a esta enfermidade não apresenta tratamento específico ou de eficácia comprovada (LIU *et al.*, 2020).

O trabalho trata-se de um estudo pioneiro e tem por finalidade pesquisar a soroprevalência de *Neospora caninum* em rebanhos de bubalinos e bovinos leiteiros criados nos municípios de Porto Grande, Ferreira Gomes e Laranjal do Jari, Ap.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

A pesquisa tem por finalidade investigar a soroprevalência de *N. caninum* em rebanhos de bubalinos e bovinos nos municípios de Porto Grande, Ferreira Gomes e Laranjal do Jari, Ap.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a soroprevalência de *Neospora caninum* em um rebanho bubalino, leite e corte, criado em áreas de várzea no município de Ferreira Gomes, Ap.
- Determinar a soroprevalência de *Neospora caninum* em um rebanho de bovinos leiteiros criados em terra firme nos municípios de Porto Grande e Laranjal do Jari, Ap.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância econômica e epidemiológica da espécie bovina

O gado bovino possui fundamental importância no setor agropecuário global, contribuindo significativamente para a nutrição humana, economia de países e práticas agrícolas através do fornecimento de recursos essenciais como carne, leite, couro e força de trabalho (TAYE *et al.*, 2017; GILBERT *et al.*, 2018).

Em bovinos, *N. caninum* é considerado um dos principais agentes causadores de aborto nos rebanhos que pode se manifestar de três formas distintas: abortos esporádicos, endêmicos e epidêmicos (REICHEL *et al.*, 2013). Os abortos de padrão epidêmico são considerados os mais devastadores do ponto de vista econômico e podem atingir proporções superiores a 10% das vacas gestantes de uma propriedade (DUBEY *et al.*, 2007). Abortos de padrão endêmico também são considerados dispendiosos (HALL *et al.*, 2005), podendo estar associados não apenas à perda de bezerros como também à redução da produção leiteira (THURMOND e HIETALA, 1997).

Em bovinos leiteiros, estima-se que a soroprevalência de *N. caninum* seja 50% superior quando comparada a bovinos de corte, com média de 16,1% para o gado leiteiro e 11,5% para o gado de corte (REICHEL *et al.*, 2013).

3.2 Importância econômica e epidemiológica da espécie bubalina

O búfalo doméstico compreende duas principais subespécies, os búfalos d'água ou búfalos de rio (*Bubalus bubalis bubalis*) e os búfalos do pântano (*Bubalus bubalis kerebau*) que diferem geneticamente entre si pelo respectivo cariótipo de 50 e 48 cromossomos (Colli *et al.*, 2018).

Devido a sua elevada capacidade de conversão alimentar e adaptabilidade aos mais diversos sistemas de criação, a espécie bubalina tem ganhado cada vez mais destaque no setor pecuário mundial (MISHRA *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2020), além de suas outras características zootécnicas desejáveis como docilidade, prolificidade, precocidade e longevidade (VIEIRA *et al.*, 2011). Em uma análise retrospectiva entre os anos de 1968 e 2018, constatou-se um aumento de 97,9% em sua população mundial, com uma taxa média de crescimento de 14,7% ($\pm 5\%$) a cada 10 anos (MINERVINO *et al.*, 2020). Em países cuja disponibilidade de alimentos de elevado valor nutricional é precária ou deficiente, a espécie desempenha um papel fundamental

para a segurança alimentar de famílias de baixa renda, pelo fornecimento de leite, carne e força de trabalho, sendo considerada a espécie pecuária mais importante nesse contexto (MISHRA *et al.*, 2015).

No entanto, o búfalo doméstico pode ser acometido pelas mesmas doenças e parasitoses que o gado bovino (BATISTA *et al.*, 2018) a exemplo da neosporose, em que a espécie desempenha um papel crucial para a manutenção do ciclo biológico do parasito com uma soroprevalência de três a quatro vezes superior ao gado bovino (REICHEL *et al.*, 2015)

Em regiões em que ambas as espécies são criadas em consórcio, a soroprevalência na primeira tende a ser mais elevada, aumentando os riscos de aborto na população bovina (MOORE *et al.*, 2014).

3.3 Etiopatogenia

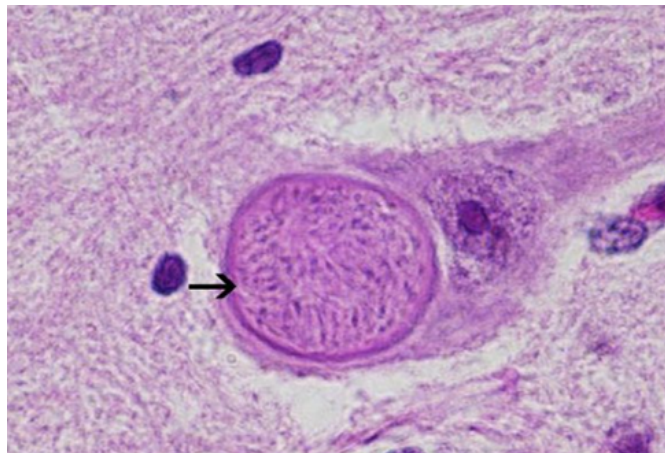
Neospora caninum trata-se de um coccídeo pertencente ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, família Sarcocystidae, que tem como hospedeiro definitivo os canídeos selvagens e domésticos e como hospedeiro intermediário uma gama de mamíferos e aves (BARROS *et al.*, 2018), sendo considerado um dos principais agentes responsáveis por desencadear aborto em sistemas de criação de animais no mundo inteiro (DUBEY *et al.*, 2017; REICHEL *et al.*, 2013; HORCAJO *et al.*, 2023).

Tal parasito compartilha características semelhantes ao protozoário *Toxoplasma gondii*, diferindo conforme sua gama de hospedeiros, antigenicidade, patogenicidade e fatores de virulência (NAZARI *et al.*, 2020). Conforme Monteiro (2017) e Taylor (2017), *N. caninum* apresenta uma morfologia variável de acordo com o seu estágio evolutivo, seus oocistos possuem formato subsférico medindo aproximadamente 12 μm , que ao esporular apresentam dois esporocistos com quatro esporozoítos, já os taquizoítos são envoltos por um vacúolo parasitóforo e possuem caráter ovóide ou lunar, medindo em torno de $6 \times 2 \mu\text{m}$ (Taylor *et al.*, 2017). Os cistos teciduais do parasito são definidos pelos mesmos autores como estruturas ovoides de paredes bem definidas e espessas (até 4 μm), medindo em torno de 107 μm , envolvendo em seu interior bradizoítos os quais possuem formato alongado e núcleo subterminal (**figura 1**).

Seu ciclo biológico se inicia quando um hospedeiro intermediário ingere água ou alimentos contaminados por oocistos esporulados, podendo permanecer viáveis no ambiente por um período de até 6 meses (WINZER *et al.*, 2020). Ao chegar no intestino, os esporozoítos

presentes nos oocistos penetram os enterócitos e se diferenciam em taquizoítos, os quais por meio de fissão binária sofrem replicação e migram para outros tecidos, especialmente no sistema nervoso central e sistema cardiovascular, nesse período, ocorre ainda transmissão transplacentária, caso fêmeas gestantes entrem em contato com água ou alimentos contaminados (TAYLOR et al., 2017).

Figura 1. Cisto tecidual de *N. caninum* em amostra histológica de sistema nervoso de um bezerro. A seta preta na imagem aponta para a parede celular.



Fonte: DUBEY *et al.* (2006).

Em seus tecidos alvos formam-se os cistos teciduais contendo bradizoítos, que ao serem ingeridos por seus hospedeiros definitivos completam o ciclo biológico do parasito, além disso, os canídeos podem ainda participar do ciclo enteroepitelial ao ingerir oocistos esporulados, sendo considerados, portanto, hospedeiros completos para essa espécie de coccídeo (TAYLOR *et al.*, 2017).

3.4 Sinais clínicos e achados histopatológicos

A identificação de sinais clínicos referentes à neosporose é considerada uma tarefa desafiadora na grande maioria dos casos devido à inespecificidade (RIMAYYANTI *et al.*, 2025). Em fêmeas gestantes o único sinal clínico aparente de infecção é a ocorrência de aborto no primeiro trimestre de gestação, podendo ainda ocorrer entre o quinto e o sexto mês (ROSBOTTOM *et al.*, 2011; DUBEY e SCHARES, 2011).

Em bezerros, as manifestações clínicas têm sido observadas somente em animais com idade inferior a dois meses (UESAKA *et al.*, 2018), incluindo perda de peso, ataxia, alterações de propriocepção e diminuição do reflexo patelar (MALAGUTI *et al.*, 2012). Outras sintomatologias como exoftalmia ou assimetria do globo ocular (AROCH *et al.*, 2008) e anomalias congênitas como estenose da medula espinhal e hidrocefalia também foram reportadas (KAMALI *et al.*, 2014).

A ocorrência de aborto decorrente da infecção por *N. caninum* aparenta ser rara e menos frequente em bubalinos quando comparada a espécie bovina (AURIEMMA *et al.*, 2014), no entanto, o monitoramento das taxas de aborto nessa espécie por vezes é subnotificado visto que os animais tendem a serem criados em regiões economicamente menos desenvolvidas onde o monitoramento reprodutivo por vezes é ineficaz (REICHEL *et al.*, 2015). Estudos demonstram que a presença de anticorpos contra *Neospora caninum* em búfalas leiteiras com histórico de aborto tem sido consideravelmente maior em relação àquelas sem nenhum histórico de falha reprodutiva (NASIR *et al.*, 2011).

Em um estudo de inoculação experimental realizado em búfalas prenhes com idade gestacional entre 70 e 90 dias, demonstrou-se que os fetos abortados apresentavam lesões similares, embora menos intensas, àquelas observadas na espécie bovina, como resposta inflamatória não supurativa no cérebro e em outros órgãos como coração, pulmão, fígado, rins e na placenta das fêmeas (KONRAD *et al.*, 2012).

Em outro estudo, os fetos abortados apresentavam em seu sistema nervoso necrose focal, aderência perivascular e nódulos nas glias, além de lesões cardíacas como infiltrado mononuclear com áreas mínimas de necrose (AURIEMMA *et al.*, 2014). A encefalite não supurativa trata-se da lesão histológica encontrada com maior frequência, correspondendo a 66,7% das lesões encontradas em fetos de bezerros bovinos abortados em decorrência da neosporose (HOFMEISTER *et al.*, 2025).

Diversos fatores agindo de maneira isolada ou sinérgica são responsáveis por desencadear o aborto em ruminantes soropositivos para neosporose, tais como: A proliferação do parasito lesionando a placenta ou tecidos fetais essenciais; insuficiente oxigenação ou nutrição do feto em decorrência dos danos placentários; liberação de prostaglandinas maternas causando luteólise e, portanto, aborto; alterações de imunidade placentária associada à liberação de citocinas

pró-inflamatórias de origem materna que podem culminar com a rejeição fetal (MARUGAN-HERNANDEZ, 2017).

3.5 Diagnóstico

O diagnóstico para neosporose é considerado dispendioso e desafiador, pois além da inespecificidade de sinais clínicos, outras patologias são responsáveis por desencadear perdas gestacionais no rebanho (RIMAYANTI *et al.*, 2025). Os testes sorológicos como Imunofluorescência Direta, Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e Aglutinação Direta são indicados para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum* e são capazes de indicar se a infecção se trata de um evento recente ou crônico (TAYLOR *et al.*, 2017). Testes imunohistoquímicos de tecidos fetais como cérebro, coração e fígado também têm sido amplamente utilizados para o diagnóstico de neosporose em rebanhos (GONZÁLEZ-WARLETA *et al.*, 2018).

O Dot-ELISA trata-se de uma técnica utilizada com menor frequência, no entanto, dada as suas características de fácil execução e elevada eficácia, a técnica possui grande vantagem em comparação a outros métodos tradicionais por não exigir o uso de aparatos sofisticados, podendo ainda ser empregada a campo (PINHEIRO, 2001; PINHEIRO *et al.*, 2006; BLANCO *et al.*, 2014; MAJEWSKI *et al.*, 2020; de OLIVEIRA *et al.*, 2025).

A técnica consiste na sensibilização das membranas de nitrocelulose com antígeno específico para posterior adição de anticorpos marcados com peroxidase para que dessa forma haja a formação de cor (BLANCO *et al.*, 2014). Um estudo comparativo a respeito da eficácia entre o Dot-ELISA e Imunofluorescência indireta (RIFI) demonstrou uma concordância de 95,5% entre os testes para detecção de anticorpos de *N. caninum* em amostras de soro sanguíneo de 44 bovinos, além de apresentar uma sensibilidade de 100% e especificidade de 92% (BLANCO *et al.*, 2014).

3.6 Controle e Profilaxia

Atualmente, não há tratamento ou vacina de eficácia comprovada capaz de curar ou prevenir a neosporose em ruminantes (MARUGAN-HERNANDEZ, 2017), e em razão de sua importância econômica, a adoção de medidas profiláticas tornam-se o método mais apropriado para controle da enfermidade (RIMAYANTI *et al.*, 2025), no entanto, para instituir um programa de controle eficaz faz-se necessário comparar o valor de aquisição dos testes e a adoção das

medidas profiláticas com às perdas econômicas induzidas por *N. caninum* (LIU *et al.*, 2020), além disso, as medidas preventivas para o controle devem ser direcionadas para evitar a reativação dos bradizoítos em animais infectados (MARUGAN-HERNANDEZ, 2017) .

A investigação e monitoramento sorológico são consideradas etapas prévias cruciais para o estabelecimento de medidas preventivas voltadas para neosporose (GUIDO *et al.*, 2016), restringir o acesso livre de cães as áreas destinadas a alimentação do gado assim como evitar que consumam fetos abortados ou anexos fetais impede a transferência horizontal entre o hospedeiro definitivo e intermediário, bloqueando o ciclo biológico do parasito (MARUGAN-HERNANDEZ, 2017; SILVA & MACHADO, 2016).

A adoção de medidas extremas como o abate de animais infectados ou de elevada carga parasitária torna-se viável apenas em rebanhos com baixa incidência da doença, pois impede que animais contaminados sejam utilizados para reposição (HADDAD *et al.*, 2005), devendo-se adotar medidas de quarentena e triagem antes da introdução de novos animais (LEFKADITIS *et al.*, 2020).

A utilização de vacinas para a prevenção e controle da doença tem sido alvo de discussão nos últimos anos, não havendo evidências a respeito de sua efetividade contra a proliferação do agente e diminuição das taxas de aborto (MARUGAN-HERNANDEZ, 2017; RIMAYANTI *et al.*, 2025). Estudos experimentais demonstraram resultados promissores com o uso de vacinas utilizando taquizoítos atenuados ou menos virulentos (HEMPHILL *et al.*, 2016), tais como Nc-Nowra, Nc-Spain1H e isolados argentino Nc-6, que demonstraram redução significativa nos índices de aborto em rebanhos de vacas bovinas (IMHOF *et al.*, 2024)

Entretanto, outros autores consideram a utilização de vacinas inativadas ou de subunidades mais adequadas uma vez que as vacinas vivas oferecem a manutenção do parasito e favorecem a reincidência da patogenicidade no rebanho (HOU *et al.*, 2023).

3.7 Soroprevalência da neosporose no Brasil e no mundo

Mundialmente, a soroprevalência média de anticorpos contra *N. caninum* nos rebanhos bubalinos corresponde a 48%, sendo considerada elevada em relação a porcentagem existente na população bovina (REICHEL *et al.*, 2015), cujo os valores correspondem a 16,1% para bovinos de leite e 11,5% para bovinos de corte (REICHEL *et al.*, 2013), a nível mundial essa

porcentagem para a espécie bubalina varia de 0 a 88,3% entre os países como pode ser visto na **tabela 1** (de BARROS *et al.*, 2020).

Em estudos avaliando a média global por meio de testes sorológicos em rebanhos bovinos com histórico de aborto, estima-se que a soroprevalência esteja em torno de 47% (NAYERI *et al.*, 2022); outros estudos realizados com bovinos leiteiros demonstram que 43,8% das fêmeas com histórico de aborto foram positivas para neosporose (KLAUCK *et al.*, 2015).

Tabela 1. Soroprevalência mundial de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em bubalinos

Região	País	Toxoplasma	Neospora
América do Sul	Argentina	25.4%	42.2% - 64%
América do Sul	Brasil	1.1% - 50.47%	14.6% - 88.02%
América do Sul	Peru	17.1% - 35.7%	0.0%
América do Sul	Venezuela	-	30.4%
América do N. e Central	México	-	24.3%
América do N. e Central	Trinidad e Tobago	7.8%	-
Europa	República Tcheca	0.0% - 20%	9.09% - 40%
Europa	Itália	13.7%	20.2% - 51%
Europa	Romênia	6.6% - 9.64%	68.5%
Europa	Turquia	87.79%	-
Ásia	China	0.0% - 16.78%	0.0%
Ásia	Índia	2.91%	9.97% - 50%
Ásia	Irã	8.8% - 14.33%	17.7% - 62.3%
Ásia	Israel	-	66.7% - 77.8%
Ásia	Laos	-	68.9% - 78.5%
Ásia	Paquistão	13.74% - 14%	42.8% - 78.84%
Ásia	Filipinas	1.9%	3.8% - 27.3%

Ásia	Tailândia	-	4.5% - 9.1%
Ásia	Vietnã	3%	1.5%
África	Egito	16% - 74.5%	68%
África	Zimbábue	5.6%	-
África	Quênia	-	50%
Oceania	Austrália	-	88.3%

Fonte: Adaptado de BARROS *et al.* (2020).

Estudos posteriores utilizando PCR em amostras de leite cru oriundas de bovinos e bubalinos leiteiros infectados naturalmente demonstraram uma soroprevalência de 13,8% e 12%, respectivamente (TUYGUN *et al.*, 2025).

No Brasil, poucos estudos descrevem a soroprevalência do parasito em rebanhos bubalinos, sendo que as taxas têm variado entre 19,1% e 88,8% (FUJII *et al.*, 2001; de SOUZA *et al.*, 2001; GENNARI *et al.*, 2005; SILVA *et al.*, 2014; de BRASIL *et al.*, 2015). Estudos realizados no estado do Pará, região Norte do país, demonstram que a soroprevalência de *N. caninum* varia entre 44% a 55,5%, quando realizado por meio do teste ELISA (da SILVA *et al.*, 2014; da SILVA *et al.*, 2017) Na região Nordeste, estudos conduzidos nos estados da Paraíba, Maranhão e Pernambuco demonstraram soroprevalência média de 19,1%, 27,5% e 35,4% respectivamente (de BRASIL *et al.*, 2015; OLIVEIRA *et al.*, 2018; RODRIGUES *et al.*, 2022) enquanto em outras regiões do país os valores oscilam entre 49 e 88% (FUJII *et al.*, 2001; SOUZA *et al.*, 2001; GENNARI *et al.*, 2005; de BRASIL *et al.*, 2015).

A soroprevalência média de *N. caninum* em rebanhos bovinos brasileiros equivale a 14,9%, entretanto, tal valor não pode ser considerado definitivo em decorrência do baixo título de corte (IFAT 1:25) (CERQUEIRA-CÉZAR *et al.*, 2017). Tal afirmativa se deve a grande disparidade de dados dentro de uma mesma região (CERQUEIRA-CÉZAR *et al.*, 2017), apenas na região sudeste o estado do RJ conta com o menor índice de prevalência, equivalente a 6,7% enquanto o estado de MG o maior com 97,2% (CERQUEIRA-CÉZAR *et al.*, 2017), dessa forma, mesmo após a elevação do título de corte (IFAT 1:200) nota-se a elevada soroprevalência nos rebanhos de Minas Gerais, detectando anticorpos contra *N. caninum* em 23 de 24 rebanhos, com média de soroprevalência individual de 21,6% (BRUHN *et al.*, 2013).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi desenvolvido em três fazendas distintas nos municípios de Laranjal do Jari, Porto Grande e Ferreira Gomes, escolhidas por sua relevância epidemiológica e pelo histórico de abortamento. As propriedades visitadas foram previamente contatadas e selecionadas mediante autorização dos responsáveis, considerando-se também critérios de acessibilidade e representatividade produtiva regional.

As fazendas de Laranjal do Jari (Fazenda A) e Porto Grande (Fazenda B), ambas em áreas de terra firme, possuíam como principal atividade a bovinocultura leiteira em sistema de criação semi-intensivo, enquanto a propriedade localizada no município de Ferreira Gomes (Fazenda C), situada em área de várzea, exercia como principal atividade econômica a bubalinocultura em sistema de criação extensivo.

Para a realização do presente trabalho, foram selecionados 12 bovinos leiteiros, sendo cinco animais de Laranjal do Jari e sete animais de Porto Grande, e 15 bubalinos no município de Ferreira Gomes, todos machos e fêmeas, com idade entre 3 e 8 anos de vida, na fase reprodutiva, e algumas fêmeas que foram selecionadas apresentavam histórico de aborto. As coletas ocorreram durante o manejo sanitário estabelecido por cada propriedade, obtendo-se as amostras sanguíneas mediante a venopunção da veia jugular ou da veia coccígea, utilizando tubos coletores estéreis com gel ativador de coágulo (BD, Vacutainer®) (**Figura 2**).

Figura 2. Técnica de venopunção da veia coccígea em bovino utilizando tubos coletores estéreis com gel ativador de coágulo BD, Vacutainer®.



Fonte: Arquivo Pessoal.

Após a aquisição do material biológico, as amostras foram mantidas sob refrigeração (4 e 8 °C) em caixas isotérmicas e, em seguida, foram centrifugadas a 2000 rpm durante 10 minutos (Figura 3) em Centrifuga Daiki® 80-2b-dm Digital 12x15ml. Após centrifugação, o soro sanguíneo foi retirado utilizando pipetas Pasteur descartáveis de 4 ml, acondicionadas em microtubos tipo Eppendorf® e armazenados a -20 °C no Laboratório de Análises Clínicas do IFAP *campus* Porto Grande até a realização dos testes sorológicos.

Figura 3. Centrifugação de amostras sanguíneas. **(A)** Amostras organizadas no equipamento. **(B)** Centrifuga calibrada em 2000 rpm por 10 minutos.



Fonte: Arquivo pessoal.

A análise sorológica foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas do IFAP, *campus* Porto Grande, utilizando o kit ImmunoComb portátil DOT ELISA Bovine *Neospora Caninum* da empresa BIOGAL® (**figura 4**), o qual é baseado no princípio de imunoenensaio em fase sólida DOT-ELISA que possui sensibilidade de 100% e especificidade de 92%. O kit contém dois componentes principais, sendo: uma placa reveladora contendo um total de 72 poços, organizados em seis linhas nomeadas de A a F e doze colunas numeradas de 1 a 12; e um cartão plástico em formato de pente com 12 dentes, cada qual contendo em círculo de tonalidade escura o antígeno purificado de *Neospora caninum*.

Figura 4. Kit ImmunoComb portátil DOT ELISA Bovine *Neospora Caninum* da empresa BIOGAL®.



Fonte: Arquivo pessoal.

O processamento das amostras se deu de acordo com as recomendações do fabricante conforme descreve o Apêndice B. Os resultados obtidos foram tabulados no Excel e posteriormente submetidos à análise estatística por meio do Teste Exato de Fisher utilizando-se o software SAS/STAT (SAS Institute, 2013, versão 9.4).

5. RESULTADOS

De acordo com os resultados obtidos na pesquisa, um total de seis amostras foram reagentes para detecção de anticorpos anti-*Neospora caninum*, das quais três pertenciam à população bovina e três à população bubalina resultando, respectivamente, em uma soroprevalência de 23,07% (3/13) e 21,42% (3/14) (Apêndice A). Em todas as propriedades foram encontradas pelo menos uma amostra positiva, sendo duas de bovinos na Fazenda A, uma amostra de bovino positiva na Fazenda B e três amostras positivas de bubalinos na Fazenda C. Três bubalinos apresentaram reação suspeita (fracamente positiva), que devem ser testados novamente em 30 dias.

Em todas as propriedades visitadas, notou-se o consórcio do rebanho com outras espécies de animais, utilizadas para fins de trabalho ou subsistência, tais como caninos, equinos, caprinos, suínos, ovinos e aves (**Figura 5**). Entretanto, nas propriedades em que se criavam bovinos, notou-se uma segregação mais eficiente das espécies, através de edificações responsáveis por reduzir o contato entre os animais, tais como canis, galinheiros e piquetes, enquanto na propriedade onde se criavam bubalinos, os animais apresentavam grande dispersão e contato com propriedades vizinhas.

Por meio do Teste Exato de Fisher, inferiu-se a ausência de associação estatisticamente significativa entre a espécie animal (Bovino e Bubalino) e a soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* ($p = 1.0000$).

Figura 5. Presença de cães auxiliando o manejo sanitário da propriedade localizada no município de Ferreira Gomes.



Fonte: Arquivo Pessoal.

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho, a soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* nos rebanhos do estado do Amapá foi de 23,07% para a população bovina e 21,42% para a população bubalina. Em uma análise estatística comparando os resultados por meio do teste exato de Fisher, não se constatou diferença significativa entre os valores, embora a média encontrada para a espécie bovina fosse superior àquela encontrada na espécie bubalina.

Em todas as propriedades notou-se a criação consorciada com pelo menos outras duas espécies animais voltadas para fins de trabalho ou subsistência, tais como caninos, equinos, caprinos, suínos e aves. Entretanto, notou-se uma relação interespecífica mais evidente, assim como maior dispersão do rebanho na propriedade em que os bubalinos eram criados. Tais eventos aumentam os fatores de risco associados à infecção por *N.caninum* nos rebanhos.

Algumas características do estudo, tais como baixo N amostral e escolha de apenas uma propriedade para avaliar o rebanho bubalino, podem justificar a menor soroprevalência encontrada para a espécie, sendo necessários estudos posteriores para determinar de maneira mais acurada a soroprevalência de bubalinos no estado do Amapá.

No que tange a população bovina, Majewski *et al.* (2020) em um trabalho avaliando a soroprevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em pequenas propriedades rurais no Rio Grande do Sul, encontrou um percentual de 20% em rebanhos bovinos leiteiros utilizando o kit ImmunoComb portátil (DOT ELISA Bovine *Neospora Caninum* da empresa BIOGAL®).

Bryrem *et al.* (2012), avaliando a performance do kit Neospora Ab Test, IDEXX® para detecção de anticorpos de *N. caninum* em amostras de leite desnatado, também obtiveram resultados similares, com uma soroprevalência de 18,3%. Gharekhani e Yakhchali (2019), utilizando o kit comercial ID Screen® Neosporosis em amostras de leite oriundas das províncias de Hamedan, no oeste do Irã, obtiveram uma porcentagem de 23,8% de amostras positivas para anticorpos anti-*Neospora caninum*.

Tais resultados apresentam um perfil semelhante em relação à soroprevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em rebanhos leiteiros ao utilizarem testes rápidos por meio da técnica de Dot-ELISA, sendo os resultados similares àqueles encontrados no presente estudo, cuja soroprevalência equivale a 23,07%.

A respeito da espécie bubalina, Brasil *et al.* (2015), em um estudo realizado no estado da Paraíba, encontraram uma soroprevalência de 19,1% por meio do teste de ELISA, enquanto Rodrigues *et al.* (2022) encontraram uma soroprevalência de 27,5% em um estudo realizado em populações bubalinas no estado do Maranhão. De Oliveira *et al.* (2018), por meio do Teste de Imunofluorescência Indireta, encontraram uma soroprevalência de 35,4% em amostras de soro sanguíneo de rebanhos bubalinos criados no estado de Pernambuco.

Esses resultados se assemelham àqueles descritos pelo presente trabalho, que detectou uma soroprevalência de 21,42% para a espécie bubalina, além de corroborar os dados encontrados por Silva *et al.* (2017), que, utilizando o teste de imunofluorescência indireta, encontraram uma maior soroprevalência na população bovina em relação à população bubalina (55% e 44%, respectivamente), sem diferença estatística significativa entre ambas.

Entretanto, os valores permaneceram abaixo da soroprevalência mundial, cuja média equivale a 48% (REICHEL *et al.*, 2015). O resultado vai de encontro àquele proposto por de Oliveira *et al.* (2025), que avaliou a soroprevalência de anticorpos anti-*N.caninum* em 22 rebanhos bubalinos no estado do Paraná, por meio do kit ImmunoComb portátil DOT ELISA Bovine *Neospora Caninum* BIOGAL®, encontrando uma média de 60,46%.

Os resultados obtidos também contrastam com grande parte dos achados disponíveis em estudos científicos, que encontraram uma soroprevalência mais elevada na população bubalina em relação à população bovina (SHEFFER *et al.*, 2013; MOORE *et al.*, 2014; REICHEL *et al.*, 2015; CERQUEIRA-CÉZAR *et al.*, 2017).

A utilização do teste DOT-ELISA demonstrou ser uma ferramenta eficiente e aplicável a campo, permitindo identificar animais sororreagentes e subsidiar o diagnóstico situacional das propriedades avaliadas. Diante da inexistência de tratamento eficaz e indisponibilidade de vacinas no mercado, os resultados obtidos reforçam a importância da vigilância sorológica e da adoção de medidas de biossegurança como pilares fundamentais para reduzir o risco de transmissão e mitigar os impactos negativos nos rebanhos. Lefkaditis *et al.* (2020) descrevem o monitoramento sorológico para reposição de animais como uma das medidas preventivas necessárias para o controle da Neosporose nos rebanhos, assim como a adoção de medidas sanitárias tais como a restrição do acesso de cães às áreas destinadas ao gado, descarte adequado de fetos abortados e anexos placentários, controle regular do suprimento de água e alimentos, adoção de quarentena e a remoção de animais infectados do rebanho.

7. CONCLUSÃO

O presente estudo contribuiu de forma pioneira para a determinação da soroprevalência de *Neospora caninum* em rebanhos bovinos e bubalinos no estado do Amapá, cujo a soroprevalência média equivale, respectivamente, a 23,07% e 21,42% para as espécies além de estudo oferecer subsídios relevantes para futuras investigações e para o aprimoramento das práticas sanitárias voltadas ao controle da neosporose no estado do Amapá e na região Norte do Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALSHAMMARI, Ayed; MARZOK, Mohamed; GATTAN, Hattan S.; SALEM, Mohamed; AL-JABR, Omar A.; SELIM, Abdelfattah. **Serosurvey and associated risk factors for Neospora caninum infection in Egyptian water buffaloes (*Bubalus bubalis*)**. Scientific Reports, v. 13, n. 1, 2023. DOI: 10.1038/s41598-023-50087-3.

ARAÚJO, H. S. et al. **Aspectos econômicos da produção de bovinos de corte**. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, Goiânia, v. 42, n. 1, p. 82–89, jan./mar. 2012.

AURIEMMA, Clementina; LUCIBELLI, Maria; BORRIELLO, Giorgia; CARLO, Esterina; MARTUCCIELLO, Alessandra; SCHIAVO, Lorena; GALLO, Amalia; BOVE, Francesca; CORRADO, Federica; GIRARDI, Santa; AMOROSO, Maria; ĀDEGLI UBERTI, Barbara; GALIERO, Giorgio. **PCR detection of Neospora caninum in water buffalo foetal tissues**. Acta Parasitologica, v. 59, n. 1, p. 1-4, 2014. DOI: 10.2478/s11686-014-0201-y.

AZAM, Sarwar; SAHU, Abhisek; PANDEY, Naveen Kumar; NEUPANE, Mahesh; VAN TASSELL, Curtis P; ROSEN, Benjamin D; GANDHAM, Ravi Kumar; RATH, Subha Narayan; MAJUMDAR, Subeer S. **Advancing the Indian cattle pangenome: characterizing non-reference sequences in *Bos indicus***. Journal of Animal Science and Biotechnology, v. 16, n. 1, 2025. DOI: 10.1186/s40104-024-01133-1.

BERNARDES, Juliana Correa; JUKEVICZ, Rafaela Maria Boson; SOUFEN, Fernando Pietrini; CALDART, Eloiza Teles; MARTINS, Thais Agostinho; DE SOUZA LIMA NINO, Beatriz; DE SOUZA RODRIGUES, Fernando; DE BARROS, Luiz Daniel; GARCIA, João Luis. **Vertical transmission of Neospora caninum from three generations of naturally infected dairy cattle from Brazil**. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, v. 58, p. 101216, 2025. DOI: 10.1016/j.vprsr.2025.101216.

BIOGAL. *ImmunoComb – Bovine Antibody Test Kit*. Disponível em: <https://www.biogal.com/products/immunocomb/>. Acesso em: 07 Set. 2025.

BLANCO, Rafael D.; FIDELIS, Cintia F.; ARAUJO, Leandro S.; HENAO, Adriana M.; CARDONA, Jose A.; GUIMARÃES, Jose D.; VARGAS, Marlene I.; PATARROYO, Joaquin H.. **Desenvolvimento e padronização do Dot-ELISA usando peptídeos recombinantes para o diagnóstico sorológico de Neospora caninum**. Pesquisa Veterinária Brasileira, v. 34, n. 8, p. 723-727, 2014. DOI: 10.1590/S0100-736X2014000800002.

BRASIL, Arthur Willian de Lima; PARENTONI, Roberta Nunes; FEITOSA, Thais Ferreira; BEZERRA, Camila de Sousa; VILELA, Vinicius Longo Ribeiro; PENA, Hilda Fátima de

Jesus; AZEVEDO, Sergio Santos de. **Risk factors for Toxoplasma gondii and Neospora caninum seropositivity in buffaloes in Paraiba State, Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 24, n. 4, p. 459-463, 2015. DOI: 10.1590/S1984-29612015066.

CHRYSSAFIDIS, Andreas L.; CANTÓN, Germán; CHIANINI, Francesca; INNES, Elisabeth A.; MADUREIRA, Ed H.; SOARES, Rodrigo M.; GENNARI, Solange M.. **Abortion and foetal lesions induced by Neospora caninum in experimentally infected water buffaloes (Bubalus bubalis).** Parasitology Research, v. 114, n. 1, p. 193-199, 2015. DOI: 10.1007/s00436-014-4178-0.

CHRYSSAFIDIS, Andreas L.; SOARES, Rodrigo M.; RODRIGUES, Aline A. R.; CARVALHO, Nelcio A. T.; GENNARI, Solange Maria. **Evidence of congenital transmission of Neospora caninum in naturally infected water buffalo (Bubalus bubalis) fetus from Brazil.** Parasitology Research, v. 108, n. 3, p. 741-743, 2011. DOI: 10.1007/s00436-010-2214-2.

CIUCA, Lavinia; BORRIELLO, Giuliano; BOSCO, Antonio; D'ANDREA, Luigi; CRINGOLI, Giuseppe; CIARAMELLA, Paolo; MAURELLI, Maria Paola; DI LORIA, Antonio; RINALDI, Laura; GUCCIONE, Jacopo. **Seroprevalence and Clinical Outcomes of Neospora caninum, Toxoplasma gondii and Besnoitia besnoiti Infections in Water Buffaloes (Bubalus bubalis).** Animals, v. 10, n. 3, p. 532, 2020. DOI: 10.3390/ani10030532.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). *Pecuária de corte*. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/areas-de-atuacao/pecuaria-de-corte>. Acesso em: 8 Nov. 2025.

CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL (CNA). *VBP da agropecuária deve recuar 1,9% em 2024, mesmo com leve melhora em alguns preços*. Disponível em: <https://www.cnabrazil.org.br/publicacoes/vbp-da-agropecuaria-deve-recuar-1-9-em-2024-mes-mo-com-leve-melhora-em-alguns-precos>. Acesso em: 8 Nov. 2025.

COLLI, Licia; *et al.* **New Insights on Water Buffalo Genomic Diversity and Post-Domestication Migration Routes From Medium Density SNP Chip Data.** Frontiers in Genetics, v. 9, 2018. DOI: 10.3389/fgene.2018.00053.

CONRAD, Patricia A.; SVERLOW, Karen; ANDERSON, Mark; ROWE, Joan; BONDURANT, Robert; TUTER, Gwen; BREITMEYER, Richard; PALMER, Chuck; THURMOND, Mark; ARDANS, Alex; DUBEY, J. P.; DUHAMEL, Gerald; BARR, Bradd. **Detection of Serum Antibody Responses in Cattle with Natural or Experimental Neospora Infections.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 5, n. 4, p. 572-578, 1993. DOI: 10.1177/104063879300500412.

DA SILVA, Jenevaldo Barbosa; DOS SANTOS, Priscilla Nunes; DE SANTANA CASTRO, Gustavo Nunes; DA FONSECA, Adivaldo Henrique; BARBOSA, José Diomedes. **Prevalence Survey of Selected Bovine Pathogens in Water Buffaloes in the North Region of Brazil.** Journal of Parasitology Research, v. 2014, p. 1-4, 2014. DOI: 10.1155/2014/603484.

DA SILVA, Jenevaldo Barbosa; NICOLINO, Rafael Romero; FAGUNDES, Gisele Maria; DOS ANJOS BOMJARDIM, Henrique; DOS SANTOS BELO REIS, Alessandra; DA SILVA LIMA, Danillo Henrique; OLIVEIRA, Carlos Magno Chaves; BARBOSA, José Diomedes; DA FONSECA, Adivaldo Henrique. **Serological survey of Neospora caninum and Toxoplasma gondii in cattle (Bos indicus) and water buffaloes (Bubalus bubalis) in ten provinces of Brazil.** Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, v. 52, p. 30-35, 2017. DOI: 10.1016/j.cimid.2017.05.005.

DE AQUINO DINIZ, Lanna Vivien; MINUTTI, Ana Flávia; DE SOUZA LIMA NINO, Beatriz; COSTA, Letícia Ramos; BOSCULO, Maria Rachel Melo; DE ALMEIDA, Breno Fernando Martins; GARCIA, João Luis; DE BARROS, Luiz Daniel. **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. DOI: 10.1007/s11250-019-01828-y.

DE BARROS, Luiz Daniel; BOGADO, Alexey Leon Gomel; FURLAN, Daniella; DE MELO JARDIM, Andressa; OKANO, Werner; DA SILVA, Luiz César; PEREIRA, Célio Eduardo Sargentim; BRONKHORST, Dalton Evert; CARDIM, Sérgio Tosi; GARCIA, João Luis. **Effects of Neospora caninum on reproductive parameters in dairy cows from a closed herd in Brazil.** Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, v. 23, p. 100524, 2021. DOI: 10.1016/j.vprsr.2020.100524.

DE BARROS, Luiz Daniel; GARCIA, João Luis; BRESCIANI, Katia Denise Saraiva; CARDIM, Sérgio Tosi; STORTE, Victor Sesnik; HEADLEY, Selwyn Arlington. **A Review of Toxoplasmosis and Neosporosis in Water Buffalo (Bubalus bubalis).** Frontiers in Veterinary Science, v. 7, 2020. DOI: 10.3389/fvets.2020.00455.

DEVENS, B. A. **Neosporose canina: biologia, etiologia, sinais clínicos, diagnóstico e controle.** *PUBVET*, Londrina, v. 4, n. 40, ed. 145, art. 975, 2010.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M.. **Epidemiology and Control of Neosporosis and Neospora caninum** . *Clinical Microbiology Reviews*, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2007. DOI: 10.1128/CMR.00031-06.

DUBEY, J.P.. **Toxoplasmosis in sheep—The last 20 years.** *Veterinary Parasitology*, v. 163, n. 1-2, p. 1-14, 2009. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.02.026.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.. **Neosporosis in animals—The last five years.** *Veterinary Parasitology*, v. 180, n. 1-2, p. 90-108, 2011. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.031.

FUJII, T.U; KASAI, N; NISHI, S.M; DUBEY, J.P; GENNARI, S.M. **Seroprevalence of Neospora caninum in female water buffaloes (Bubalus bubalis) from the southeastern region of Brazil.** *Veterinary Parasitology*, v. 99, n. 4, p. 331-334, 2001. DOI: 10.1016/S0304-4017(01)00474-5.

FUJII, T.U; KASAI, N; NISHI, S.M; DUBEY, J.P; GENNARI, S.M. **Seroprevalence of Neospora caninum in female water buffaloes (Bubalus bubalis) from the southeastern region of Brazil.** *Veterinary Parasitology*, v. 99, n. 4, p. 331-334, 2001. DOI: 10.1016/s0304-4017(01)00474-5.

GENNARI, Solange M.; RODRIGUES, Aline A.R.; VIANA, Rinaldo B.; CARDOSO, Elyzabeth C.. **Occurrence of anti-Neospora caninum antibodies in water buffaloes (Bubalus bubalis) from the Northern region of Brazil.** *Veterinary Parasitology*, v. 134, n. 1-2, p. 169-171, 2005. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.05.064.

GHAREKHANI, Jamal; YAKHCHALI, Mohammad. **Neospora caninum infection in dairy farms with history of abortion in West of Iran.** *Veterinary and Animal Science*, v. 8, p. 100071, 2019. DOI: 10.1016/j.vas.2019.100071.

GIVENS, D.I.. **MILK Symposium review: The importance of milk and dairy foods in the diets of infants, adolescents, pregnant women, adults, and the elderly.** *Journal of Dairy Science*, v. 103, n. 11, p. 9681-9699, 2020. DOI: 10.3168/jds.2020-18296.

GONDIM, Luís F. Pita; MCALLISTER, Milton M.. **Experimental Neospora caninum Infection in Pregnant Cattle: Different Outcomes Between Inoculation With Tachyzoites**

and Oocysts. Frontiers in Veterinary Science, v. 9, 2022. DOI: 10.3389/fvets.2022.911015.

GOODSWEN, Stephen J.; KENNEDY, Paul J.; ELLIS, John T.. **A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present.** Infection, Genetics and Evolution, v. 13, p. 133-150, 2013. DOI: 10.1016/j.meegid.2012.08.012.

GUARINO, A; FUSCO, G; SAVINI, G; DI FRANCESCO, G; CRINGOLI, G. **Neosporosis in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in southern Italy.** Veterinary Parasitology, v. 91, n. 1-2, p. 15-21, 2000. DOI: 10.1016/S0304-4017(00)00239-9.

HEMPHILL, ANDREW; AGUADO-MARTÍNEZ, ADRIANA; MÜLLER, JOACHIM. **Approaches for the vaccination and treatment of *Neospora caninum* infections in mice and ruminant models.** Parasitology, v. 143, n. 3, p. 245-259, 2016. DOI: 10.1017/s0031182015001596.

HORCAJO, Pilar; CORONADO, Montserrat; PASTOR-FERNÁNDEZ, Iván; COLLANTES-FERNÁNDEZ, Esther; RICO-SAN ROMÁN, Laura; REYES-PALOMARES, Armando; ORTEGA-MORA, Luis-Miguel. **Whole-transcriptome analysis reveals virulence-specific pathogen–host interactions at the placenta in bovine neosporosis.** Frontiers in Immunology, v. 14, 2023. DOI: 10.3389/fimmu.2023.1198609.

HOU, Yingying; CHEN, Min; BIAN, Yuan; ZHENG, Xi; TONG, Rongsheng; SUN, Xun. **Advanced subunit vaccine delivery technologies: From vaccine cascade obstacles to design strategies.** Acta Pharmaceutica Sinica B, v. 13, n. 8, p. 3321-3338, 2023. DOI: 10.1016/j.apsb.2023.01.006.

HUANG, Mao; YIN, Yanwen; SHI, Kaichuang; ZHANG, Hongtao; CAO, Xinru; SONG, Xingju. ***Neospora caninum* seroprevalence in water buffaloes in Guangxi, China.** Animal Biotechnology, v. 34, n. 7, p. 3274-3279, 2023. DOI: 10.1080/10495398.2022.2126369.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agropecuária em 2025. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bubalinos/br>> Acesso em 7 de set. 2025.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agropecuária em 2025. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos/br>> Acesso em 12 de set. 2025.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agropecuária em 2025. Disponível em <<https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/bovinos-abatidos/br>> Acesso em 12 de set. 2025.

KLAUCK, Vanderlei; MACHADO, Gustavo; PAZINATO, Rafael; RADAVELLI, Willian M.; SANTOS, Daiane S.; BERWAGUER, Jean Carlo; BRAUNIG, Patricia; VOGEL, Fernanda F.; DA SILVA, Aleksandro S.. **Relation between Neospora caninum and abortion in dairy cows: Risk factors and pathogenesis of disease.** Microbial Pathogenesis, v. 92, p. 46-49, 2016. DOI: 10.1016/j.micpath.2015.12.015.

KONRAD, J.L.; MOORE, D.P.; CRUDELI, G.; CASPE, S.G.; CANO, D.B.; LEUNDA, M.R.; LISCHINSKY, L.; REGIDOR-CERRILLO, J.; ODEÓN, A.C.; ORTEGA-MORA, L.M.; ECHAIDE, I.; CAMPERO, C.M.. **Experimental inoculation of Neospora caninum in pregnant water buffalo.** Veterinary Parasitology, v. 187, n. 1-2, p. 72-78, 2012. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.12.030.

LEFKADITIS, M.; MPAIRAMOGLOU, R.; SOSSIDOU, A.; SPANOUDIS, K.; TSAKIROGLOU, M.. **Neospora caninum, A potential cause of reproductive failure in dairy cows from Northern Greece.** Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, v. 19, p. 100365, 2020. DOI: 10.1016/j.vprsr.2019.100365.

LI, Mengwei; HASSAN, Faiz-ul; GUO, Yanxia; TANG, Zhenhua; LIANG, Xin; XIE, Fang; PENG, Lijuan; YANG, Chengjian. **Seasonal Dynamics of Physiological, Oxidative and Metabolic Responses in Non-lactating Nili-Ravi Buffaloes Under Hot and Humid Climate.** Frontiers in Veterinary Science, v. 7, 2020. DOI: 10.3389/fvets.2020.00622.

MAJEWSKI *et al.* Emprego do kit portátil rápido ELISA para pesquisa de Neospora caninum em bovinos leiteiros de pequenas propriedades rurais./ Use of a rapid ELISA portable kit for researching Neospora caninum in milk cattle of small rural properties. Brazilian Journal of Development, vol. 6, no. 10, 1 Jan. 2020, pp. 83270-83280. Disponível em <<https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BRJD/article/view/19085>>.

MARUGAN-HERNANDEZ, V.. **Neospora caninum and Bovine Neosporosis: Current Vaccine Research.** Journal of Comparative Pathology, v. 157, n. 2-3, p. 193-200, 2017. DOI: 10.1016/j.jcpa.2017.08.001.

MICHELIZZI, Vanessa N.; DODSON, Michael V.; PAN, Zengxiang; AMARAL, M Elisabete J; MICHAL, Jennifer J.; MCLEAN, Derek J.; WOMACK, James E.; JIANG, Zhihua. **Water Buffalo Genome Science Comes of Age.** International Journal of Biological Sciences, p. 333-349, 2010. DOI: 10.7150/ijbs.6.333.

MISHRA, B.P.; DUBEY, P.K.; PRAKASH, B.; KATHIRAVAN, P.; GOYAL, S.; SADANA, D.K.; DAS, G.C.; GOSWAMI, R.N.; BHASIN, V.; JOSHI, B.K.; KATARIA, R.S.. **Genetic analysis of river, swamp and hybrid buffaloes of north-east India throw new light on phylogeography of water buffalo** *(Bubalus bubalis)*. **Journal of Animal Breeding and Genetics**, v. 132, n. 6, p. 454-466, 2015. DOI: 10.1111/jbg.12141.

MOORE, D.P.; KONRAD, J.L.; SAN MARTINO, S.; REICHEL, M.P.; CANO, D.B.; MÉNDEZ, S.; SPÄTH, E.J.L.; ODEÓN, A.C.; CRUDELI, G.; CAMPERO, C.M.. **Neospora caninum serostatus is affected by age and species variables in cohabiting water buffaloes and beef cattle**. **Veterinary Parasitology**, v. 203, n. 3-4, p. 259-263, 2014. DOI: 10.1016/j.vetpar.2014.04.011.

MURCIA-MONO, Cesar A.; FALLA-TAPIAS, Sergio; CABRERA-OSPINA, Britney K.; VARGAS-DOMÍNGUEZ, Jahir O.; BURGOS-PAZ, William O.. **Epidemiology of Bovine Neosporosis in Relation to Socioeconomic, Demographic, and Transmissibility Factors in Dual-Purpose Production Systems in Colombia**. **Epidemiologia**, v. 5, n. 4, p. 828-837, 2024. DOI: 10.3390/epidemiologia5040056.

NASIR, A.; ASHRAF, M.; KHAN, M. S.; YAQUB, T.; JAVEED, A.; AVAIS, M.; AKHTAR, F.. **Seroprevalence of Neospora caninum in Dairy Buffaloes in Lahore District, Pakistan**. **Journal of Parasitology**, v. 97, n. 3, p. 541-543, 2011. DOI: 10.1645/GE-2687.1.

NAYERI, Tooran; MOOSAZADEH, Mahmood; SARVI, Shahabeddin; DARYANI, Ahmad. **Neospora caninum infection in aborting bovines and lost fetuses: A systematic review and meta-analysis**. **PLOS ONE**, v. 17, n. 5, p. e0268903, 2022. DOI: 10.1371/journal.pone.0268903.

OLIVEIRA, Pollyanne Raysa Fernandes de; SOARES, Larice Bruna Ferreira; BORGES, Jonas de Melo; MOTA, Rinaldo Aparecido; PINHEIRO JUNIOR, José Wilton. **Prevalence and associated factors with Neospora caninum infection in female water buffaloes (Bubalus bubalis) from Pernambuco, Brazil**. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 4, p. 439-445, 2018. DOI: 10.1590/S1984-296120180063.

REICHEL, Michael P.; ALEJANDRA AYANEGUI-ALCÉRRECA, M.; GONDIM, Luís F.P.; ELLIS, John T.. **What is the global economic impact of Neospora caninum in cattle – The billion dollar question**. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133-142, 2013. DOI: 10.1016/j.ijpara.2012.10.022.

REICHEL, Michael P.; MCALLISTER, Milton M.; NASIR, Amar; MOORE, Dadin P.. **A review of Neospora caninum in water buffalo (Bubalus bubalis)**. Veterinary Parasitology, v. 212, n. 3-4, p. 75-79, 2015. DOI: 10.1016/j.vetpar.2015.08.008.

REICHEL, Michael P.; WAHL, Lloyd C.; ELLIS, John T.. **Research into Neospora caninum—What Have We Learnt in the Last Thirty Years?**. Pathogens, v. 9, n. 6, p. 505, 2020. DOI: 10.3390/pathogens9060505.

RIBEIRO, Claudia Mello; SOARES, Isabela Ribeiro; MENDES, Rodrigo Guerrero; DE SANTIS BASTOS, Paula Andrea; KATAGIRI, Satie; ZAVILENSKI, Renato Bacarin; DE ABREU, Hudson Felipe Porto; AFREIXO, Vera. **Meta-analysis of the prevalence and risk factors associated with bovine neosporosis**. Tropical Animal Health and Production, v. 51, n. 7, p. 1783-1800, 2019. DOI: 10.1007/s11250-019-01929-8.

RIMAYANTI, Rimayanti; KHAIRULLAH, Aswin; UTAMA, Suzanita; AHMAD, Riza; MULYATI, Sri; DAMAYANTI, Ratna; LESTARI, Tita; MUSTOFA, Imam; HERNAWATI, Tatik; WASITO, Wasito; MOSES, Ikechukwu; WARDHANI, Bantari; KURNIASIH, Dea; KUSUMARINI, Shelly; WIBOWO, Syahputra; YANESTRIA, Sheila; KUSALA, Muhammad; LISNANTI, Ertika; FAUZIAH. **Review of neosporosis: Disease insights and control approaches** Open Veterinary Journal, n. 0, p. 1, 2025. DOI: 10.5455/OVJ.2025.v15.i3.2.

RODRIGUES, Arlan Araujo; BRITO, Danilo Rodrigues Barros; KONO, Isabelli Sayuri; REIS, Sara Silva; NINO, Beatriz de Souza Lima; NASCIMENTO, Thiago Vinícius Costa; BARROS, Luiz Daniel de; GARCIA, João Luis; CUNHA, Ivo Alexandre Leme da. **Seroprevalence of Neospora caninum and risk factors associated with infection in water buffaloes (Bubalus bubalis) from Maranhão State, Brazil**. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports, v. 27, p. 100661, 2022. DOI: 10.1016/j.vprsr.2021.100661.

SAS INSTITUTE INC. SAS/STAT Software: The SAS System for Windows. Versão 9.4. Cary: SAS Institute Inc., 2013.

SCHARES, G; PETERS, M; WURM, R; BÄRWALD, A; J. CONRATHS, F. **The efficiency of vertical transmission of Neospora caninum in dairy cattle analysed by serological techniques**. Veterinary Parasitology, v. 80, n. 2, p. 87-98, 1998. DOI: 10.1016/s0304-4017%2898%2900195-2.

SELIM, Abdelfattah; ABDELHADY, Abdelhamed. **Neosporosis among Egyptian camels and its associated risk factors**. Tropical Animal Health and Production, v. 52, n. 6, p. 3381-3385, 2020. DOI: 10.1007/s11250-020-02370-y.

SILVA, J. B. da et al. **Prevalence survey of selected bovine pathogens in water buffaloes in the North region of Brazil.** *Journal of Parasitology Research*, v. 2014, art. 603484, p. 1–4, 2014. DOI: 10.1155/2014/603484

SOUSA FORMIGA, Victor Hugo Alves; ALVARES, Felipe Boniedj Ventura; ANJOS, Mariana Moreira; FREITAS, Jefferson Vieira; SILVA, Daiane Peixer; PARENTONI, Roberta Nunes; LIMA BRASIL, Arthur Willian; MEDEIROS, Gláucia Djojânia Azevêdo; FEITOSA, Thais Ferreira; VILELA, Vinícius Longo Ribeiro. **Seropositivity of Anti-Toxoplasma gondii and Anti-Neospora caninum Antibodies in Cattle Intended for Human Consumption in an Amazonian Area of North Brazil.** *Tropical Medicine and Infectious Disease*, v. 8, n. 7, p. 359, 2023. DOI: 10.3390/tropicalmed8070359.

SOUZA, Luciano Melo de; NASCIMENTO, Adjair Antonio do; FURUTA, Patricia Iriê; BASSO, Lúcia Mara Souza; SILVEIRA, Daniela Miyasaka da; COSTA, Alvimar José da. **Deteção de anticorpos contra Neospora caninum e Toxoplasma gondii em soros de bubalinos (Bubalus bubalis) no Estado de São Paulo, Brasil.** *Semina: Ciências Agrárias*, v. 22, n. 1, p. 39, 2001. DOI: 10.5433/1679-0359.2001v22n1p39.

SOUSA, M. E. et al. **Seroprevalence and risk factors associated with infection by Neospora caninum of dairy cattle in the state of Alagoas, Brazil.** *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n. 10, p. 1009–1013, 2012.

TUYGUN, Tuğçe; YIĞIT, Serbülent; GENÇAY TOPÇU, Elif Burcu; UMUR, Şinasi. **Molecular Detection of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in Naturally Infected sheep, cow, and buffalo Milk.** *Acta Parasitologica*, v. 70, n. 6, 2025. DOI: 10.1007/s11686-025-01169-x.

WESTON, J.F.; HEUER, C.; WILLIAMSON, N.B.. **Efficacy of a Neospora caninum killed tachyzoite vaccine in preventing abortion and vertical transmission in dairy cattle.** *Preventive Veterinary Medicine*, v. 103, n. 2-3, p. 136-144, 2012. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2011.08.010.

WILLIAMS, D. J. L.; HARTLEY, C. S.; BJÖRKMAN, C.; TREES, A. J.. **Endogenous and exogenous transplacental transmission of Neospora caninum – how the route of transmission impacts on epidemiology and control of disease.** *Parasitology*, v. 136, n. 14, p. 1895-1900, 2009. DOI: 10.1017/S0031182009990588.

WINZER, Pablo; MÜLLER, Joachim; IMHOF, Dennis; RITLER, Dominic; ULDRY, Anne-Christine; BRAGA-LAGACHE, Sophie; HELLER, Manfred; OJO, Kayode K.; VAN

VOORHIS, Wesley C.; ORTEGA-MORA, Luis-Miguel; HEMPHILL, Andrew. ***Neospora caninum*: Differential Proteome of Multinucleated Complexes Induced by the Bumped Kinase Inhibitor BKI-1294.** Microorganisms, v. 8, n. 6, p. 801, 2020. DOI: 10.3390/MICROORGANISMS8060801.

WOUDA, W.; MOEN, A. R.; VISSER, I. J. R.; VAN KNAPEN, F.. **Bovine Fetal Neosporosis: A Comparison of Epizootic and Sporadic Abortion Cases and Different Age Classes with Regard to Lesion Severity and Immunohistochemical Identification of Organisms in Brain, Heart, and Liver.** Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, v. 9, n. 2, p. 180-185, 1997. DOI: 10.1177/104063879700900212.

ZHANG, Y.; COLLI, L.; BARKER, J. S. F.. **Asian water buffalo: domestication, history and genetics.** Animal Genetics, v. 51, n. 2, p. 177-191, 2020. DOI: 10.1111/age.12911.

APÊNDICE A – TABELA DOS ANIMAIS TESTADOS

Ordem	Animal	Categoria	Sexo	Propriedade	Município	Data	Resultado
1	B22	Bovino	Fêmea	Fazenda Ouro Branco	Laranjal do Jari – AP	19/09/2025	Negativo
2	2	Bovino	Fêmea	Fazenda Ouro Branco	Laranjal do Jari – AP	19/09/2025	Negativo
3	12	Bovino	Fêmea	Fazenda Ouro Branco	Laranjal do Jari – AP	19/09/2025	Negativo
4	17	Bovino	Fêmea	Fazenda Ouro Branco	Laranjal do Jari – AP	19/09/2025	Positivo
5	51	Bovino	Fêmea	Fazenda Ouro Branco	Laranjal do Jari – AP	19/09/2025	Negativo
6	N12	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
7	N58	Bubalino	Macho	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
8	N94	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
9	1	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
10	9	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Suspeito
11	10	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
12	11 Mocinha	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
13	17	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Positivo
14	24	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Suspeito
15	54	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
16	59	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
17	96	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Positivo
18	101	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Positivo
19	107	Bubalino	Fêmea	Fazenda 2 Irmãos	Ferreira Gomes – AP	25/10/2025	Negativo
20	2	Bovino	Fêmea	Sítio Esplendor	Porto Grande – AP	07/11/2025	Negativo
21	6	Bovino	Fêmea	Sítio Esplendor	Porto Grande – AP	07/11/2025	Negativo
22	16	Bovino	Fêmea	Sítio Esplendor	Porto Grande – AP	07/11/2025	Negativo
23	18	Bovino	Fêmea	Sítio Esplendor	Porto Grande – AP	07/11/2025	Positivo
24	21	Bovino	Fêmea	Sítio Esplendor	Porto Grande – AP	07/11/2025	Negativo
25	23	Bovino	Fêmea	Sítio Esplendor	Porto Grande – AP	07/11/2025	Negativo
26	550	Bovino	Macho	Sítio Esplendor	Porto Grande – AP	07/11/2025	Negativo
27	42	Bovino	Fêmea	Fazenda Ouro Branco	Porto Grande – AP	19/11/2025	Positivo

Fonte: Dados da pesquisa (2025)

APÊNDICE B – ETAPAS DE REALIZAÇÃO DO TESTE

PASSO 1

- Estabilize a temperatura da sala teste a (20 - 25 °C) com termômetro.
- Retire o kit da geladeira e os componentes da embalagem.
- Deixe a placa de reação, o pente e a amostra em temperatura de (20 – 25 °C) por 90 minutos.
- E a placa de reação mais 10 minutos na placa de aquecimento (caso tenha).

PASSO 2

- Inverta a placa de reação e a amostra por 10 vezes.



PASSO 3

- **Perfure o(s) lacre(s) do(s) poço(s) da linha A**, com a pinça. Um poço para cada amostra.
- **Armazenagem da amostra:** Leite 2-8°C até 2 dia pós coleta, soro/plasma 2-8°C até 3 dias pós coleta. Se o teste for realizado após 3 dias da coleta, congelar as amostras a -20°C ou mais.
- Abrir 2 poços consecutivos para o soro controle negativo e positivo
- Pipete para o poço linha A: **Soro ou plasma e controles = 5 uL** ou **leite = 100 uL** (no máximo com 2 dias).
- **Movimente** o embolo da pipeta, para cima e para baixo, várias vezes.

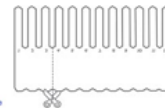


PASSO 4

OBS.- Retire o pente da embalagem, sem tocar na ponta

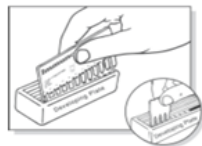


→ pontos adsorvidos anticorpo anti IgG bovino
→ pontos adsorvidos antígeno purificado de *Neospora caninum*



- Com tesoura, destaque do pente a quantidade exata de dentes conforme quantidade de amostras a serem testadas. (1 amostra/1 dente). (ver figura)
- Guarde cuidadosamente o restante do pente na embalagem com o sachê de sílica-gel.

Introduza o(s) dente(s) no (s) poço(s) da linha A.



Linha	Tempo de incubação (minutos)
A	10'

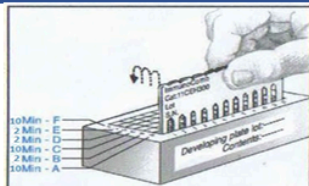
- Minutos 0, 2, 4, 6, 8, 10 movimente o pente, para cima e para baixo, 3-4 vezes.

PASSO 5

- Perfure o(s) poço(s) da linha B.
- Retire o pente do poço A.
- Encoste a ponta do dente em papel absorvente, para retirar o excesso de fluidos dos dentes.
- Introduza o(s) dente(s) no poço B.

Linha	Tempo de incubação (minutos)
B	2'

- Minutos 0, 1, 2 movimento o pente, para cima e para baixo, 3-4 vezes.

PASSO 6

- Repita os passos anteriores para os poços das linhas C, D, E, F e E. Observe o tempo em cada poço e o movimento do dente (tabela abaixo)

	Linha	Tempo de incubação (minutos)	Movimentar o pente nos tempos (minutos)
Amostra	A	10'	0, 2, 4, 6, 8,10
Lavagem	B	2'	0,1,2
Conjugado	C	10'	0, 2, 4, 6, 8,10
Lavagem	D	2'	0,1,2
Lavagem	E	2'	0,1,2
Cromógeno	F	10'	0, 2, 4, 6, 8,10
lavagem	Volta ao E	2'	0,1,2
Tempo Total		38'	

PASSO 7

- Após a última incubação no poço E, retire o pente, encoste a ponta em papel absorvente, deixe o pente secando com a frente para cima.
- Leia os resultados quando o pente estiver completamente seco (use a escala de cores – CombScale-disponível no kit).

**PASSO 8 – MODELO DE LAUDO****Amostra de leite:**

ESCORE	RESULTADO	RECOMENDAÇÕES
S0 (zero)	Negativo	--
S1	Suspeito	Repita o teste em 30-60 dias; em caso de aborto repita em 30 dias
≥S2	Positivo	--

Amostra de soro:

ESCORE	RESULTADO	RECOMENDAÇÕES
S0 (zero)	Negativo	--
S1	Negativo	--
S2	Suspeito	Repita o teste em 30-60 dias; em caso de aborto repita em 30 dias
≥S3	Positivo	--

