

## COMPARAÇÃO ENTRE O STATUS SOROLÓGICO DE POTROS CONGENTAMENTE INFECTADO E/OU NÃO POR NEOSPORA NO PRIMEIRO ANO DE VIDA

(Comparison between the serologic status of congenitally infected foals  
and/or not with *Neospora* in the first year of life)

Pedro de Souza QUEVEDO<sup>1\*</sup>; Bruna BACCEGA<sup>2</sup>

<sup>\*1</sup>Instituto de Estudos do Trópico Úmido (IETU) na Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará (UNIFESSPA); <sup>2</sup>Dpto de Microbiologia e Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas.

\*E-mail: [pedro.quevedo@unifesspa.edu.br](mailto:pedro.quevedo@unifesspa.edu.br)

### RESUMO

Protozoários do gênero *Neospora* adquiriram grande importância ao serem incriminados como causa de aborto em bovinos, ingressando assim, no grupo de patógenos de relevância em medicina veterinária. Atualmente são conhecidas duas espécies potencialmente patogênicas, a saber, *N. hughesi* e *N. caninum*. A primeira espécie é relacionada a distúrbios neurológicos em potros e a segunda concorre como possível causa de aborto também em equinos. São conhecidas duas formas de transmissão deste Apicomplexa, a vertical ou transplacentária e a horizontal. Sabidamente fatores referentes ao parasita e ao hospedeiro interferem na eficiência tanto da infecção como na confecção de uma resposta imune efetiva, que culmine com a produção de anticorpos específicos ao imunógeno desafiante. Neste sentido o presente trabalho buscou verificar se as imunoglobulinas produzidas pelo concepto ainda em sua vida intrauterina, mediante desafio endógeno, persistem em seu organismo no seu primeiro ano de vida. Para tal, utilizou-se como forma de diagnóstico a pesquisa de anticorpos via Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Foi realizado acompanhamento sorológico de potros congenitamente infectado e livres de *Neospora* spp. ao nascimento e aos 12 meses de idade. Constatou-se que 40% dos potros congenitamente infectados apresentavam IgG contra *Neospora* spp. aos 12 meses e, entre os potros soronegativos ao nascimento 28% produziram IgG específico ao final de seu primeiro ano de vida. Estes resultados apontam que a presença de imunoglobulinas específicas anti-*Neospora* spp. ao final do primeiro ano de vida dos potros, independe do status sorológico materno, indicando que a via de infecção horizontal é importante para equinos.

**Palavras-chave:** Imunofluorescência indireta, equinos, transmissão horizontal.

### ABSTRACT

Protozoa of the genus *Neospora* acquired great importance to be incriminated as a major cause of abortion in cattle in some regions of the planet, thus joining in relevant pathogens group in veterinary medicine. Currently known are two potentially pathogenic species, namely *N. hughesi* and *N. caninum*. The first kind is related to neurological disorders in foals and the second competes as a possible cause of abortion also in horses. Two are known forms of transmission of this Apicomplexa, vertical or placenta and the horizontal. Known factors related to the parasite and the host interfere with the efficiency of both the infection and the manufacture of an effective immune response, culminating in the production of specific

\*Endereço para correspondência:  
[pedro.quevedo@unifesspa.edu.br](mailto:pedro.quevedo@unifesspa.edu.br)

antibodies to challenging immunogen. In this sense, the present study was to ascertain whether the immunoglobulins produced by the fetus still in its intrauterine life through endogenous challenge, persist in your body in its first year of life. Therefore, we used as a means of diagnosis for antibodies via Immunofluorescence Assay (IFA). Was conducted serological monitoring of congenitally infected foals and free of *Neospora* spp. birth until they fulfilled: 12 months of age. It was found that 40% of congenitally infected foals had IgG against *Neospora* spp. at 12 months, and among seronegative foals at birth 28% produced specific IgG to the end of their first year of life. These results indicate that the presence of specific anti-*Neospora* spp. immunoglobulins. the end of the first year of foals, independent of maternal HIV status, indicating that the horizontal infection pathway is important for horses.

**Key words:** Indirect immunofluorescence, equine, horizontal transmission.

## INTRODUÇÃO

O gênero *Neospora* foi identificado no final do século passado, quando *Neospora caninum* foi apontado como agente causador de encefalomielite em cães (BJERKAS *et al.*, 1984, DUBEY *et al.*, 1988, DUBEY *et al.*, 1988a).

Duas são as espécies de protozoários do gênero *Neospora* capazes de infectar equinos, *N. caninum* e *N. hughesi* (MARSH *et al.*, 1998, WOBESER *et al.*, 2009, TOSCAN *et al.*, 2010). A presença de imunoglobulinas da classe G contra *Neospora* spp. em equinos já foi relatada em diferentes áreas do mundo (DUBEY *et al.*, 1999, VARDELEON *et al.*, 2001, PITEL *et al.*, 2003, KLIGLER *et al.*, 2007, MOURA *et al.*, 2013; CRUZ *et al.*, 2019).

Embora a via transplacentária de infecção seja reconhecida em potros, pouco se sabe a respeito de possíveis diferenças sobre os efeitos patogênicos das duas espécie do protozoário em cavalos (VILLALOBOS *et al.*, 2006, TOSCAN *et al.*, 2010, ANTONELLO *et al.*, 2012, QUEVEDO *et al.*, 2015).

Ainda que a espécie *N. hughesi* tenha sido incriminada como causadora de enfermidade neurológica e aborto em equinos, aspectos referentes a prevalência, possibilidade de abortos em gestações subsequentes, produtos inviáveis e manutenção de resposta imunológica necessitam ser melhor elucidados (KLIGLER *et al.*, 2007, WOBESER *et al.*, 2009, TOSCAN *et al.*, 2010, ANDERSON *et al.*, 2019).

O longo período gestacional das éguas e o elevado valor de seus produtos requerem dos criadores e técnicos constante atenção. Para minimizar perdas embrionárias, mortes fetais e o nascimento de produtos inviáveis é que pesquisas verificando a importância de *Neospora* spp. para equinos e sua possível relação com problemas reprodutivos se fazem necessárias (PITEL *et al.*, 2003, VILLALOBOS *et al.*, 2006).

No presente trabalho foram testados soros de potros antes da ingestão de colostro e aos 12 meses de idade, a fim de verificar a presença de anticorpos contra *Neospora* spp., durante o primeiro ano de vida. Também avaliamos se existe ou não relação entre o *status* sorológico materno e a presença de anticorpos após 12 meses de vida.

## MATERIAL E MÉTODOS

\*Endereço para correspondência:  
[pedro.quevedo@unifesspa.edu.br](mailto:pedro.quevedo@unifesspa.edu.br)

O projeto foi submetido à Comissão Ética em Experimentação Animal (CEEA), da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), processo nº 23110.004837/2012-28, e obteve parecer favorável à sua execução, considerando ser o assunto pertinente e a metodologia compatível com os princípios éticos em experimentação animal e objetivos propostos.

Amostras de soro foram colhidas a partir de 40 éguas e seus respectivos potros da raça Puro Sangue Inglês, oriundos de um Haras localizado no Sul do Brasil. As éguas não apresentavam histórico de problemas reprodutivos e foram consideradas aptas para a temporada reprodutiva, através de exame ginecológico prévio. Éguas e potros foram examinados rotineiramente por um veterinário e todos os nascimentos foram testemunhados.

Todos os animais foram mantidos em regime de pastejo contínuo, com acesso a água e suplemento mineral, em um mesmo lote até o desmame dos potros. Na ocasião do desmame, os animais foram transferidos de pasto e permaneceram sob as mesmas condições em lote único até os 12 meses.

A coleta de sangue dos potros foi realizada por venopunção da jugular, em dois momentos. O primeiro momento imediatamente após o nascimento, portanto, antes da ingestão de colostro, e o segundo momento quando os potros atingiram a idade média de um ano.

Após a coleta, o sangue total foi centrifugado a 2500 rpm durante 10 minutos para retração do coágulo e obtenção do soro, o qual foi armazenado a -20 °C até ser testado. A pesquisa de imunoglobulina G (IgG) anti-*Neospora* spp. foi realizada com teste indireto, reação de Imunofluorescência indireta (RIFI) (CONRAD *et al.*, 1993).

Como antígenos foram utilizados taquizoítos de *N. caninum* da cepa padrão NC-1, cultivados em células Vero em meio RPMI, enriquecido com soro fetal de bovino 10%, L-glutamina, piruvato, penicilina e estreptomicina.

Para confecção das lâminas sensibilizadas, o cultivo celular com taquizoítos de NC-1 foi acondicionado em tubos do tipo Falcon e submetido a centrifugação, a uma rotação de 1500rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi removido com auxílio de pipeta de Pasteur e o *pellet* ressuspensão em solução tampão fosfato salino (PBS) (VARDELEON *et al.*, 2001). O conteúdo homogeneizado ressuspensão em PBS, foi contado em câmara de Neubauer espelhada. Convencionou-se que o material utilizado para confecção de lâminas sensibilizadas deveria ter contagem entre 500 e 1000 taquizoítos por microlitro (taq./µL) (QUEVEDO *et al.*, 2015).

A solução era então depositada em lâminas, próprias para RIFI, na quantidade de 10µL por orifício (VARDELEON *et al.*, 2001). O material foi seco em temperatura ambiente e, posteriormente, fixado em metanol a 100% e armazenado em -20 °C até o momento de ser utilizado.

As amostras controle foram previamente testadas por Ensaio de Imunoabsorbância Ligado a Enzima (ELISA). A técnica utilizou como antígeno proteína recombinante NcSRS2, presente à superfície da membrana de *N. caninum*, amplificada em *Pichia pastoris* (PINHEIRO *et al.*, 2013).

Para execução da RIFI foi utilizado anti-IgG equino conjugado com fluoresceína (SIGMA®) como anticorpo secundário na reação. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio de fluorescência, aumento 400x, modelo BX-FLA Olympus®. As amostras

\*Endereço para correspondência:  
[pedro.quevedo@unifesspa.edu.br](mailto:pedro.quevedo@unifesspa.edu.br)

testadas foram consideradas positivas quando os taquizoítos apresentaram fluorescência periférica total. Foram considerados não reagentes ou negativos quando a fluorescência foi apical ou ausente (PARE *et al.*, 1995).

As éguas tiveram o soro sanguíneo coletado no terço final da gestação. Foi utilizado ponto de corte de 1:50 (VILLALOBOS *et al.*, 2006, ANTONELLO *et al.*, 2012, MOURA *et al.*, 2013, QUEVEDO *et al.*, 2015). Posteriormente o soro das genitoras de potros reagentes foram titulados, para verificação da diluição máxima que ainda apresentavam anticorpos contra *Neospora* spp.

Ao nascimento, os potros foram considerados positivos quando reagentes em diluição de 1:16 (LOCATELLI-DITTICH *et al.*, 2006, ANTONELLO *et al.*, 2012, QUEVEDO *et al.*, 2015). Aos 12 meses de idade a diluição inicial, do soro sanguíneo dos potros, utilizada foi de 1:50 (VILLALOBOS *et al.*, 2006, ANTONELLO *et al.*, 2012, MOURA *et al.*, 2013).

A comparação entre o *status* sorológico dos potros aos 12 meses de vida em relação ao das éguas, foi realizada com o emprego do teste do Qui-quadrado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 40 potros acompanhados no experimento, 15 (37,5%) foram infectados ainda na vida intrauterina por *Neospora* spp., apresentando IgG contra o protozoário antes mesmo da ingestão de colostro.

Considerando uma possível similaridade referente ao comportamento da infecção em bovinos e equinos, devemos ponderar a época da gestação e via de infecção que estas éguas foram desafiadas pelo antígeno. Estes fatores podem influenciar diretamente a transmissão vertical, visto que, a exposição primária de vacas adultas não gestantes parece não causar infecção permanente ou incita uma resposta imune eficaz, que pode prevenir a transmissão transplacentária de *Neospora* spp. (MCALLISTER, 2001).

Após um ano de vida, seis potros congenitamente infectados ainda apresentavam IgG, correspondendo a 40% do total de animais reagentes ao nascimento.

Dos 25 potros que não apresentavam imunoglobulinas da classe G contra *Neospora* spp. ao nascimento (62,5%), sete passaram a apresentar níveis detectáveis aos 12 meses de idade (Tab. 01). Estes sete animais correspondem a 28% dos potros que não possuíam IgG anti-*Neospora* spp. ou que apresentavam níveis abaixo do detectável pela técnica empregada, ao nascimento. Os valores detectados apresentaram diferença estatística ( $p=0,0312$ ) evidenciando que o ambiente influencia na produção de anticorpos anti-*Neospora* possivelmente por disponibilizar formas infectantes aos potros.

**Tabela 01:** Relação entre o *status* sorológico dos potros ao nascimento e aos 12 meses.

<i>Status</i> sorológico ao nascimento	Reagentes aos 12 meses	Não reagentes aos 12 meses
Positivos	6/15	9/15

\*Endereço para correspondência:  
[pedro.quevedo@unifesspa.edu.br](mailto:pedro.quevedo@unifesspa.edu.br)

Negativos

7/25

18/25

Cumprе salientar que embora seja reconhecida a infecção de equinos por *N. hughesi* e *N. caninum*, testes sorológicos como a reação de imunofluorescência indireta não possibilita a diferenciação entre anticorpos produzidos pela infecção específica de uma das espécies (NAZIR *et al.*, 2018).

As 15 éguas reagentes geraram potros congenitamente infectados tiveram seus soros titulados. Dos 15 potros soropositivos ao nascimento, apenas 6 reagiram aos 12 meses de idade, correspondendo a 40% dos animais mantendo níveis detectáveis de IgG contra *Neospora* spp. ao longo de seu primeiro ano de vida (Tab. 02).

**Tabela 02:** Relação da titulação das éguas soropositivas que geraram potros positivos ao nascimento e aos 12 meses.

Titulação	Número de éguas reagentes (%)	Potros reagentes aos 12 meses
50	6/15 (40%)	3
100	4/15 (26,6%)	1
200	4/15 (26,6%)	1
400	1/15 (6,6%)	1

Diante dos resultados, evidenciou-se que via horizontal de infecção merece atenção para equinos, visto que, animais não infectados congenitamente passaram a apresentar anticorpos após o primeiro ano de vida.

Ambientes rurais frequentados por hospedeiros definitivos de *Neospora* spp., como cães domésticos (*Canis familiaris*) e canídeos selvagens (*Canis latrans*), representam um fator de risco de infecção por *Neospora* spp. para bovinos (MCALLISTER *et al.*, 1998; LINDSAY *et al.*, 1999; WOUDA *et al.*, 1999; GONDIM, *et al.*, 2004). Tais fatores devem ser avaliados em plantéis de haras, para que se verifique a importância de fatores de risco à ocorrência da infecção por *Neospora* spp. em equinos.

Alternativamente os resultados obtidos permitiram inferir que algumas éguas não reagentes na realidade eram positivas, mas seus níveis de anticorpos não foram detectáveis na diluição empregada e na ocasião em que seus soros foram testados (LOCATELLI-DITTICH *et al.*, 2006, ANTONELLO *et al.*, 2012). Partindo do mesmo pressuposto, pode-se extrapolar essa premissa ao ocorrido com uma parcela dos potros, que não reagiram ao momento do nascimento e após 12 meses de vida passaram a apresentar anticorpos contra *Neospora* spp.

Todavia a explicação mais viável para que potros filhos de éguas soronegativas apresentem anticorpos contra *Neospora* spp após um ano de vida, é a da infecção horizontal (TOSCAN *et al.*, 2010). Um aspecto a ser considerado nessa situação, é convívio dos potros com cães ou bovinos, indicando como fator de risco à infecção horizontal por esse parasita (MOURA *et al.*, 2003).

\*Endereço para correspondência:  
pedro.quevedo@unifesspa.edu.br

## CONCLUSÃO

Na população avaliada 40% dos potros oriundos de éguas com níveis detectáveis de anticorpos contra *Neospora* spp apresentaram anticorpos durante seu primeiro ano de vida. Potros nascidos de éguas não infectadas que passaram a apresentar IgG contra *Neospora* spp permitem inferir que a via horizontal de infecção pode ser importante para equinos. Uma vez reconhecida a via vertical e a possibilidade da via horizontal de infecção de equinos, necessário se faz um aprimoramento de técnicas de diagnóstico para a quantificação dos impactos causados ao desempenho reprodutivo de éguas e os efeitos deletérios aos potros.

## AGRADECIMENTOS

Ao médico veterinário Friedrich Frey Jr. que muito auxiliou na viabilização deste projeto. A professora Fernanda Vogel e seu grupo de colaboradores, do Departamento de Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Rurais da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), por ceder gentilmente material indispensável a execução deste trabalho. Ao programa de pós-graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), por ceder gentilmente recurso e insumos indispensáveis ao desenvolvimento do trabalho. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

## REFERÊNCIAS

- ANDERSON, J.A.; ALVES, D.A.; CERQUEIRA-CÉZAR, C. K.; SILVA, A.F.; MURATA, F.H.A.; NORRIS, J.K.; HOWE, D.K.; DUBEY, J.P. Histologically, immunohistochemically, ultrastructurally, and molecularly confirmed neosporosis abortion in an aborted equine fetus. *Veterinary Parasitology*, v.270, p.20–24, 2019.
- ANTONELLO, A.M.; PIVOTO, F.L.; CAMILLO, G.; BRAUNIG, P.; SANGIONI, L.A.; POMPERMAYER, E.; VOGEL, F.S.F. 2012. The importance of vertical transmission of *Neospora* spp. in naturally infected horses. *Veterinary Parasitology*, v.187, p.367-370, 2012.
- BJERKAS, I.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoan causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd*, v.70, p.271-274, 1984.
- CONRAD, P.A.; BARR, C.; SVERLOW, K.W.; ANDERSON, M.; DAFT, B.; KINDE, H.; DUBEY, J.P.; MUNSON, L.; ARDANS, A. In vitro isolation and characterization of *Neospora* spp. from aborted bovine fetuses. *Parasitology*, v.106, n.3, p.239-249, 1993.
- CRUZ, I.; VINHAS, A.R.; DUBEY, J.P.; CARDOSO, L.; COTOVIO, M.; LOPES, A. Primeira ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* spp. em cavalos de Portugal. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, Jaboticabal*, v.28, n.1, p.161-163, 2019.

\*Endereço para correspondência:  
[pedro.quevedo@unifesspa.edu.br](mailto:pedro.quevedo@unifesspa.edu.br)

- 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.1269-1285, 1988.
- DUBEY, J.P.; HATTEL, A.L.; LINDSAY, D.S. TOPPER, M.J. Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: Isolation of the causative agent and experimental transmission. *American Veterinary Medical Association*, v.193, p.1259-1263, 1988a.
- DUBEY, J.P.; VENTURINI, M.C.; VENTURINI, L.; MCKINNEY, J.; PECORARO, M. Prevalence of antibodies to *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses from Argentina. *Veterinary Parasitology*, v.86, p.59–62, 1999.
- GONDIM, L.F.P.; MCALLISTER, M.M.; PITT, W.C.; ZEMLICKA, D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, v.34, p.159-161, 2004.
- KLIGLER, E.B.; SHKAP, V.; BANETH, G.; MILDENBERG, Z.; STEINMAN, A. Seroprevalence of *Neospora* spp. among asymptomatic horses, aborted mares and horses demonstrating neurological signs in Israel. *Veterinary Parasitology*, v.148, p.109-113, 2007.
- LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum* (Rapid communication). *Veterinary Parasitology*, v.82, p.327-333, 1999.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; DITTRICH, J.R.; RICHARTZ, R.R.T.B., GASINO-JOINEAU, M.E.; ANTUNES, J.; PINCKNEY, R.D.; DECONTO, I.; HOFFMANN, D.C.S.; THOMAZ-SOCCOL, V. Investigation of *Neospora* spp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Paraná state, southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.135, n.3/4, p.215-221, 2006.
- MCALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R.; WILLS, R.A.; MCGUIRE, A.M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology*, 28:1473-1478, 1998.
- MCALLISTER, M.M. Do cows protect fetuses from *Neospora caninum* transmission? *Trends in Parasitology*, v.17, n.1, p.6-11, 2001.
- MARSH, A.E.; BARR, B.C.; PACKHAM, A.E.; CONRAD, P.A. Description of a new *Neospora* species (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). *Journal of Parasitology*, v.84, n.5, p.983-991, 1998.
- MOURA, A.B.; SILVA, M.O.; FARIAS, J.A. VIEIRA-NETO, A.; SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; FONTEQUE, J.H.; BUNN, S. *Neospora* spp. antibodies in horses from two geographical regions of the state of Santa Catarina, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.22, n.4, p.597-601, 2013.
- NAZIR, M.M.; AYAZ, M.M.; AHMED, A.N.; RASHEED, I.; FARAZ, A.; AKRAM, Q.; AKHTAR, S.; MAQBOOL, A.; TABASSUM, S.; ZHENG, Y.; LINDSAY, D.S. Prevalence and risk factors for IgG antibodies to *Neospora* spp. in three types of equids from Southern Punjab, Pakistan, *Acta Tropica*, 2018.

\*Endereço para correspondência:  
[pedro.quevedo@unifesspa.edu.br](mailto:pedro.quevedo@unifesspa.edu.br)

- PARÉ, J.; HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* spp. infection in cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.7, n.2, p.273-275, 1995.
- PINHEIRO, A.F.; BORSUK, S.; BERNE, M.E.A.; PINTO, L.S.; ANDREOTTI, R.; ROOS, T.; ROLLOF, B.C.; LEITE, F.L. Expression of *Neospora caninum* NcSRS2 surface protein in *Pichia pastoris* and its application for serodiagnosis of *Neospora* infection. *Pathogens and Global Health*, v.107, n.3, p.116-121, 2013.
- PITEL, P.H.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; FOUCHER, N.; GARGALA, G.; MAILLARD, K.; THULLIEZ, P.; COLLOBERT-LAUGIER, C.; TAINTURIER, D.; FORTIER, G.; BALLEST, J.J. Investigation of *Neospora* spp. antibodies in aborted mares from Normandy, France. *Veterinary Parasitology*, v.118, p.1-6, 2003.
- QUEVEDO, P.S.; AVILA, L.F.C.; SAGGIN, A.; SILVEIRA, T.L.R.; FEIJÓ, L.S.; FREY JR, F.; CURCIO, B.R.; FARIAS, N.A.R. Verification of vertical transmission of *Neospora* spp. in horses. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.35, n.1, p.29-32, 2015.
- TOSCAN, G.; CADORE, G.C.; PEREIRA, R.C.F.; SILVA, G.B.; CEZAR, A.S.; SANGIONI, L.A.; OLIVEIRA, L.S.S.; VOGEL F.S.F. Neosporose equina: ocorrência de anticorpos anti-*Neospora* spp. e associação entre *status* sorológico de éguas e de suas crias. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.8, p.641-645, 2010.
- VARDELEON, D.; MARSH, A.E.; THORNE, J.G.; LOCH, W.; YOUNG, R.; JOHNSON, P.J. Prevalence of *Neospora hughesi* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from various geographical locations. *Veterinary Parasitology*, v.95, p.273-282, 2001.
- VILLALOBOS, E.M.C.; UENO, T.E.H.; SOUZA, S.L.P.; CUNHA, E.M.S.; LARA, M.C.C.S.H.; GENNARI, S.M.; SOARES, R.M. Association between the presence of serum antibodies against *Neospora* spp. and fetal loss in equines. *Veterinary Parasitology*, v.142, n.3/4, p.372-375, 2006.
- WOBESER, B.K.; GODSON, D.L.; REJMANEK, D.; DOWLING, P. Equine protozoal myeloencephalitis caused by *Neospora hughesi* in an adult horse in Saskatchewan. *The Canadian Veterinary Journal*, v.50, n.8, p.851-853, 2009.
- WOUDA, W.; DIJKSTRA, T.; KRAMER, A.M.H.; VANMAANEN, C.; BRINKHOF, J.M.A. Seroepidemiological evidence for relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *International Journal for Parasitology*, v.29, p.1677-1682, 1999.