

Comunicação

[Communication]

Anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos de leite do sudoeste do estado do Paraná

[Antibodies to *Neospora caninum* in dairy cattle in Southwest of Paraná State]

G. Camillo¹, G. Cadore¹, A.S. Cezar¹, G. Toscan¹, P. Bräunig², L.A. Sangioni², F.S.F. Vogel²

¹Aluno de pós-graduação - UFSM – Santa Maria, RS

²Universidade Federal de Santa Maria

Av. Roraima, 1000

97105-900 – Santa Maria, RS

Neospora caninum (Apicomplexa, Sarcocystidae) é um protozoário de grande relevância para a bovinocultura por estar envolvido com problemas reprodutivos, sendo considerado um dos principais agentes determinantes de abortos em bovinos (Anderson et al., 1991). A infecção é caracterizada por perdas reprodutivas em fêmeas, podendo determinar morte embrionária durante o primeiro terço da gestação e abortos durante o segundo. No terço final da gestação, a infecção dificilmente resulta em morte fetal e abortos, mas sim em nascimento de bezerros persistentemente infectados (PI), o que também pode ocorrer no segundo terço gestacional. Os animais PI, clinicamente normais, são soropositivos e abrigam o parasito encistado em vários tecidos, sendo, dessa forma, considerados portadores do agente. Apresentam grande importância epidemiológica ao manterem o agente no rebanho (Dubey, 2003). A possível reativação da infecção em fêmeas prenhes persistentemente infectadas, provavelmente, está relacionada à imunossupressão fisiológica da gestação e pode resultar em transmissão transplacentária do agente ao feto. Na maioria dos animais, a infecção não é capaz de induzir imunidade protetora, e as consequências reprodutivas da infecção podem ocorrer repetidas vezes durante a vida dos animais infectados (Innes et al., 2002).

O ciclo biológico de *N. caninum*, segundo McAllister et al. (1998), envolve hospedeiros definitivos e intermediários. Os primeiros abrigam o agente e se caracterizam por excretar oocistos nas fezes, os quais esporulam no

ambiente e são infectantes para os hospedeiros intermediários. Estes, por sua vez, ingerem os oocistos esporulados e desenvolvem cistos teciduais. O protozoário consegue disseminar-se nos rebanhos pela transmissão horizontal – que ocorre quando os bovinos ingerem oocistos esporulados –, e pela transmissão vertical da vaca gestante para o feto, a qual apresenta grande importância na manutenção do protozoário em rebanhos, uma vez que a maioria das infecções congênicas resulta no nascimento de bezerros persistentemente infectados (Tees e Williams, 2005).

Tendo em vista a importância da infecção por *N. caninum* em propriedades leiteiras, o presente estudo visou detectar a prevalência deste protozoário em rebanhos do sudoeste do estado do Paraná. Para isso, foi realizado um levantamento sorológico, a partir de 1778 amostras de soro de fêmeas bovinas, enviadas a um laboratório de doenças parasitárias. As amostras de soro foram provenientes de 132 propriedades, distribuídas em 13 municípios da região sudoeste do estado do Paraná, independentemente de histórico de problemas reprodutivos no rebanho.

As amostras de soro foram testadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI). O anticorpo secundário utilizado foi o anti-IgG[®] bovino, conjugado com a fluoresceína (Anti-IgG[®] bovina conjugada com a fluoresceína (FITC): Affinity Purified Antibody Fluorescein. Clopper Road 910, Gaithersburg, MD 20878 USA. www.kpl.com). Consideraram-se positivas as

Recebido em 19 de agosto de 2010

Aceito em 20 de dezembro de 2010

E-mail: giovanacamillo@yahoo.com.br

amostras de soro para as quais se observou completa fluorescência da superfície dos taquizoítos de *N. caninum*, na diluição de 1:100. Além disso, investigou-se, junto aos médicos veterinários ou proprietários requisitantes dos exames, se houve, em algum momento, a utilização de vacinação para a neosporose bovina nos rebanhos dos quais provieram as amostras.

A ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* foi de 24,2% (431/1778 animais). No estado do Paraná, alguns levantamentos soroepidemiológicos foram realizados com índice de prevalência variando de 21,6% a 54,5% (Guimarães Junior et al., 2004). Variações na ocorrência de anticorpos para este protozoário podem ser em consequência do ponto de corte e da amostragem utilizada. Ogawa (2000), ao analisar 385 amostras de soro de bovinos leiteiros da região norte do estado do Paraná pela técnica de RIFI, observou 11,7% de animais soropositivos para o protozoário *N. caninum*. No Rio Grande do Sul, Corbellini et al. (2002), pela técnica de RIFI, encontraram 11,2% (25/223) de amostras soropositivas para *N. caninum*. Gondim et al. (1999) avaliaram 447 amostras de soro de bovinos por RIFI, no estado da Bahia, e detectaram prevalência de 14,1%. No presente estudo, foram consideradas positivas as amostras com títulos iguais ou acima de 100, e o percentual de positivos (24,2%) verificado foi mais alto que o encontrado nos estudos citados, nos quais os autores também utilizaram RIFI, porém com título ≥ 200 como ponto de corte.

Há estudos em que o método de diagnóstico sorológico utilizado foi o ELISA, (Locatelli-Dittrich et al., 2001). Nesse caso, os autores avaliaram a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em propriedades de leite no estado do Paraná e detectaram prevalência de 34,8%. Sartor et al. (2005) examinaram, por ELISA, 408 amostras de soro de bovinos de leite provenientes do estado de São Paulo e obtiveram prevalência de 35,5% (145/408). A detecção de anticorpos anti-*N. caninum* nesses dois estudos foi superior à encontrada neste trabalho. Sabe-se que tanto a RIFI como o ELISA são as técnicas mais utilizadas para a pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* no soro sanguíneo com boa sensibilidade e especificidade. Dessa forma, variações podem ocorrer em virtude de alguns fatores como: i. diluição do soro; ii. densidade óptica utilizada e iii. amostragem.

Levantamentos soroepidemiológicos da infecção por *N. caninum* realizados no Brasil têm demonstrado resultados variáveis. Parte dessa variabilidade pode ser relacionada ao número de amostras coletadas, ao número de rebanhos avaliados, às características dos rebanhos e ao histórico de problemas reprodutivos. No entanto, existe o consenso de que a infecção por este protozoário está amplamente disseminada no Brasil.

Outro fator importante a ser discutido diz respeito à reatividade cruzada de *N. caninum* com outros protozoários toxoplasmatíneos, principalmente *N. hughesi* e *Hammondia heydorni*, o que pode resultar em ocorrência de falsos-positivos para *N. caninum* nos testes diagnósticos. Isso pode ser atribuído à proximidade filogenética entre estes protozoários, que pode determinar algum grau de reatividade sorológica cruzada pela presença de epitopos comuns a estes (Gondim et al., 2009). No entanto, todas as amostras de soro que apresentaram fluorescência apical foram consideradas negativas.

A frequência de detecção de anticorpos anti-*N. caninum* encontrada no presente estudo assume grande relevância, uma vez que todas as amostras coletadas foram de fêmeas e que a presença de soropositivas certamente interfere no desempenho reprodutivo e produtivo do rebanho. Assim, propriedades nas quais existem animais soropositivos apresentam maior taxa de descarte comparadas às propriedades livres desse agente.

Deve-se salientar que, pelo caráter da infecção, a sorologia positiva indica que estes animais são portadores do agente. Entretanto, a presença de anticorpos em animais não portadores pode existir em decorrência da imunidade passiva e da vacinação com vacinas inativadas. Quanto à interferência de imunidade passiva, neste estudo só foram incluídas amostras de animais com idade acima de 12 meses. Assim, dificilmente algum animal ainda poderia apresentar anticorpos oriundos de imunidade passiva. Quanto à vacinação, investigou-se se os proprietários vacinavam os animais do rebanho contra a neosporose bovina. Todos os requisitantes dos exames afirmaram que não havia sido utilizada vacinação nos rebanhos dos quais provieram as amostras. Além disso, sabe-se que, até o momento, a inserção da vacina

disponível no mercado brasileiro é irrisória, e, dessa forma, dificilmente poderia haver interferência desta nos dados de prevalência de *N. caninum* no Brasil, sendo, portanto, irrelevante do ponto de vista epidemiológico.

Por fim, os resultados obtidos sugerem a disseminação da infecção por *N. caninum* no rebanho leiteiro do sudoeste do Paraná. Estes resultados reforçam a necessidade de estudos subsequentes, focados, principalmente, em

métodos de diagnóstico que possibilitem a diferenciação sorológica precisa entre *N. caninum* e *H. heydorne* e em estratégias de controle da neosporose, principalmente no que se refere à produção de uma vacina que confira proteção frente à infecção transplacentária por *N. caninum*.

Palavras-chave: bovino, *Neospora caninum*, prevalência, imunofluorescência indireta

ABSTRACT

Since November 2007 until May 2009, 1,778 serum samples of cattle from dairy herds of the Southwest of Paraná State, Brazil, were used for search of anti-Neospora caninum antibodies. The frequency of seropositive animals, assessed by IFAT, was 24.2% (431/1,778), showing a relatively high occurrence in the studied population. These results show that Neospora. caninum is widely distributed in the dairy cattle in the Southwest of Paraná State. The presence of Neospora caninum in a herd is worrisome, since this protozoan is closely related with reproductive disorders and low milk production in cattle.

Keywords: cattle, Neospora caninum, prevalence, indirect immunofluorescence

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, M.L.; BLANCHARD P.C.; BARR, B.C. et al. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v.198, p.241-244, 1991.
- CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.F.E. et al. Neosporosis as a cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, southern Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.103, p.195-202, 2002.
- DUBEY, J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, v.41, p.1-16, 2003.
- GONDIM, L.F.P.; SARTOR, I.F.; HASEGAWA, M. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.86, p.71-75, 1999.
- GONDIM, L.F.; LINDSAY, D.S.; McALLISTER, M.M. Canine and bovine *Neospora caninum* control sera examined for cross-reactivity using *N. caninum* and *N. hughesi* indirect fluorescent antibody tests. *J. Parasitol.*, v.95, p.86-88, 2009.
- GUIMARÃES JÚNIOR, J.S.; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P. et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v.124, p.1-8, 2004.
- INNES, E.A.; ANDRIANARIVO, A.G.; BJÖRKMAN, C. et al. Immune responses to *Neospora caninum* and prospects for vaccination. *Trends Parasitol.*, v.18, p.497-504, 2002.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V.T.; RICHARTZ, R.R. et al. Serological diagnosis of neosporosis in a herd of dairy cattle in Southern Brazil. *J. Parasitol.*, v.87, p.1493-1494, 2001.
- McALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S. et al. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, v.28, p.1473-1478, 1998.
- OGAWA, L. *Estudo soropidemiológico de Neospora caninum e Toxoplasma gondii em bovinos de pecuária leiteira da região norte do estado do Paraná*. 2000. 54f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.
- SARTOR, I.F.; GARCIA FILHO, A.; VIANNA, L.C. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros e de corte da região de Presidente Prudente, SP. *Arq. Inst. Biol.*, v.72, p.413-418, 2005.
- TREES, A.J.; WILLIAMS, D.J. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol.*, v.21, p.558-561, 2005.