

## Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais<sup>1</sup>

José R. Modolo<sup>2\*</sup>, Anee V.M. Stachissini<sup>2</sup>, Solange M. Gennari<sup>3</sup>, Jitender P. Dubey<sup>4</sup>, Helio Langoni<sup>2</sup>, Carlos R. Padovani<sup>5</sup>, Lígia V. Barrozo<sup>5</sup> e Bárbara L.S. Leite<sup>2</sup>

**ABSTRACT.-** Modolo J.R., Stachissini A.V.M., Gennari S.M., Dubey J.P., Langoni H., Padovani C.R., Barroso L. & Leite B.L.S. 2008. [Frequency of antibodies anti-*Neospora caninum* in sera of goats of the State São Paulo and its relationship with flock management.] Freqüência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de caprinos do estado de São Paulo e sua relação com o manejo dos animais. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 28(12):597-600. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Cx. Postal 524, Rubião Júnior s/n, Botucatu, SP 18618-000, Brazil. E-mail: jrmodolo@fmvz.unesp.br

In order to assess the frequency of dairy goats seropositive for *Neospora caninum* in the state of São Paulo, and its relationship with age, sex, presence of dogs and reproductive problems in goat pens, serum samples were obtained from 923 goats of both sexes older than 3 months of age. Samples were collected in 17 properties located in different municipalities. *Neospora* agglutination test (NATe<sup>®</sup>25) was used to determine the presence of *Neospora caninum* in all animals. Epidemiological and reproductive data were obtained through a questionnaire which was administered in all goat pens. Significance level was set at 5% for all statistical tests. *N. caninum* positivity rate was 19.77%. Only one of the properties had no seropositive animal revealing *N. caninum* diffusion in the state. Seropositivity frequency did not correlate with sex, age, or reproductive problems. However, the presence of dogs was associated with a higher frequency of *N. caninum* seropositivity. A choroplethic map with hatch patterns showing the geographical distribution of goats seropositive for *Neospora caninum* may considerably contribute to geographic epidemiological studies and the development of disease control strategies.

**INDEX TERMS:** *Neospora caninum*, occurrence; goats, dogs, epidemiological variables, reproductive problems, geographic distribution.

<sup>1</sup> Recebido em 26 de março de 2008.

Aceito para publicação em 26 de junho de 2008.

Sob os auspícios de suporte financeiro da Fundação para o Desenvolvimento da Universidade Estadual Paulista (Fundunesp).

<sup>2</sup> Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Cx. Postal 524, Botucatu, SP 18618-000, Brasil.

\*Autor para correspondência: jrmodolo@fmvz.unesp.br

<sup>3</sup> Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo (USP), Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva 87, São Paulo, SP 05508-270, Brasil.

<sup>4</sup> Animal Parasitic Diseases Laboratory, United States Department of Agriculture, Beltsville, Maryland, USA.

<sup>5</sup> Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, SP 18618-000, Brasil.

**RESUMO.-** Com o objetivo de se avaliar a freqüência de caprinos leiteiros soropositivos para *Neospora caninum*, no estado de São Paulo, e se verificarem possíveis associações com idade, sexo e problemas reprodutivos, nos capris, e, também, presença de cães, nas propriedades, foram obtidos soros de 923 caprinos de ambos os sexos e idade acima de 3 meses. Os animais eram provenientes de 17 propriedades de diferentes municípios. Para o diagnóstico, foi utilizado o teste de aglutinação para *Neospora* (NATe<sup>®</sup>25), e, em todos os capris, aplicou-se um inquérito a partir do qual se obtiveram informações epidemiológicas e de esfera reprodutiva. Todos os resultados estatísticos

foram discutidos no nível de 5% de significância. Assim, chegou-se à conclusão de que a frequência percentual de positividade para *N. caninum* foi de 19,77%, e, em apenas uma propriedade, não houve registro de animal soropositivo, o que revela difusão do agente, no Estado. Não foram verificadas diferenças significativas entre frequências de positividade quanto ao sexo, idade ou problemas reprodutivos. Porém, ressalta-se que a presença de cães, nos capris, foi associada a uma maior frequência de caprinos soropositivos a *N. caninum*. A representação geográfica da distribuição de caprinos soropositivos para o protozoário, em mapa coroplético em hachuras, pode implicar em um ganho considerável para estudos da epidemiologia geográfica, na elaboração de um planejamento de controle da enfermidade.

**TERMOS DE INDEXAÇÃO:** *Neospora caninum*, ocorrência, caprinos, cães, variáveis epidemiológicas, problemas reprodutivos, distribuição geográfica.

## INTRODUÇÃO

A neosporose é uma enfermidade abortiva, causada por um protozoário parasita, *Neospora caninum*, muito similar, em sua estrutura, a *Toxoplasma gondii*; antigenicamente, ambos são distintos (Dubey 2003). O agente apresenta, em seu ciclo de vida, um hospedeiro intermediário, dentre os quais os caprinos, e um hospedeiro definitivo, os canídeos - cães, lobos e coiotes (McAllister et al. 1998, Basso et al. 2001, Gondin et al. 2004).

É causa importante e comum de abortamentos, endêmicos e epidêmicos, em bovinos criados com manejo intensivo (Anderson et al. 1995), mas sua ocorrência em caprinos e ovinos também deve ser considerada; em relação a estes, já foi descrita como associada a nascimentos de filhotes fracos e prematuros (Barr et al. 1992, Dubey et al. 1992, Lindsay et al. 1995, Buxton et al. 1997, Jolley et al. 1999, Corbellini et al. 2001).

No estado de São Paulo, utilizando a reação de imunofluorescência indireta como diagnóstico, encontra-se, na literatura, apenas um estudo sobre prevalência de *N. caninum* na espécie caprina, realizado por Figliuolo et al. (2004).

Considerando-se que a neosporose pode levar a sérios problemas reprodutivos, na espécie caprina, e que os dados sobre prevalência e epidemiologia dessa enfermidade são bastante escassos, objetivou-se, com o presente estudo: (a) estimar a frequência de ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum*, em caprinos do estado de São Paulo e a distribuição geográfica dos focos - uma propriedade com pelo menos um animal infectado e (b) verificar associações entre positividade do agente e faixa etária, sexo, problemas reprodutivos nos capris e, também, presença de cães nas propriedades.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram colhidas amostras de sangue de 923 caprinos, de ambos os sexos (51 machos e 872 fêmeas), com idade acima de 3

meses, compondo três faixas etárias: menores de 1 ano (181), de 1-4 anos (618) e maiores que 4 anos (124). Os animais eram provenientes de 17 propriedades voltadas para a produção de leite, com manejo intensivo, localizadas em diferentes municípios do estado de São Paulo (Fig.1). Os soros obtidos foram mantidos a -20°C, até a realização do diagnóstico.

Durante o período das colheitas de sangue, foi aplicado um inquérito sobre saúde, para levantamento epidemiológico relacionado à idade e sexo de cada animal amostrado, à presença de cães, no local, e aos problemas reprodutivos em cada capril, como abortamentos, natimortalidade e nascimento de filhotes fracos e prematuros. Para a pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum*, utilizou-se o NAT (*Neospora Agglutination Test*), de acordo com Romand et al. (1998), com taquizoítos da cepa NC-1 de *N. caninum*. O ponto de corte utilizado foi a diluição 1:25.

O estudo da proporção da frequência de ocorrência de *N. caninum*, nas propriedades, foi realizado considerando-se a distribuição binomial de probabilidades para a construção do intervalo de 95% de confiança da proporção de positividade. As associações entre a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum*, em caprinos, e os dados epidemiológicos sobre sexo e idade, assim como presença de cães e falhas reprodutivas, no capril, foram verificadas pelo teste de Goodman para contrastes entre populações multinomiais e dentre as mesmas (Goodman 1964, 1965).

A visualização da distribuição geográfica das frequências de positividade de anticorpos anti-*N. caninum*, nos municípios dos capris pesquisados, foi feita por meio da aplicação do Sistema de Informações Geográficas (SIG), IDRISI32 (Eastman 1999).

## RESULTADOS

A frequência de ocorrência de anticorpos para *Neospora caninum* foi de 17,44% (IC 95%: 14,99-19,89%); dos 161 animais examinados, 923 foram positivos para o agente microbiológico.

Na Figura 1, observa-se a distribuição geográfica da frequência de positividade, nas 17 propriedades avalia-

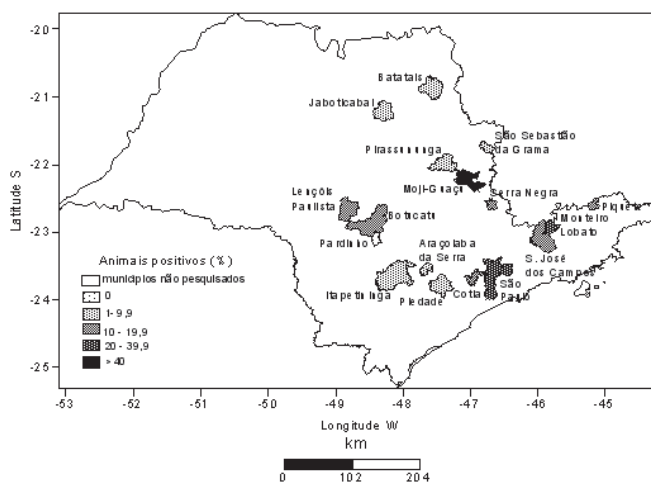


Fig.1. Representação geográfica da positividade de anticorpos anti-*Neospora caninum* em capris pesquisados no estado de São Paulo.

**Quadro 1. Distribuição da porcentagem de caprinos positivos a anticorpos anti-*Neospora caninum*, pela NAT (325), por capril. São Paulo**

Capril	Município	Presença de cães	Total de animais estudados	Nº de animais positivos	Animais positivos (%)
1	Serra Negra	Sim	128	22	17,19
2	Araçoiaba da Serra	Sim	63	3	4,76
3	Itapetininga	Não	78	5	6,41
4	Batatais	Sim	106	9	8,49
5	Jaboticabal	Sim	75	5	6,67
6	Piedade	Não	37	2	5,40
7	Cotia	Sim	37	5	13,51
8	São Paulo	Não	78	28	35,90
9	Mogi-Guaçu	Sim	70	54	77,14
10	Monteiro Lobato	Sim	25	7	28,00
11	Piquete	Sim	16	2	12,50
12	São José dos Campos	Sim	43	7	16,28
13	Pirassununga	Não	59	2	3,39
14	Lençóis Pta.	Não	33	4	12,12
15	São Sebastião da Gramma	Sim	29	2	6,90
16	Pardinho	Não	21	0	0,00
17	Botucatu	Não	25	4	16,00
Total	-		923	161	17,44

**Quadro 2. Frequência relativa (%) da presença de anticorpos anti-*Neospora caninum*, em caprinos do estado de São Paulo, pela NAT (325), segundo sexo, faixa etária, presença de cães e falhas reprodutivas. São Paulo**

Variável	Total de animais	Nº de animais positivos	Frequência relativa (%)	Resultado do teste estatístico
Sexo				
Macho	51	9	17,6	P>0,05
Fêmea	872	152	17,4	
Faixa etária				
< 1 ano	181	23	12,7	
1 - 4 anos	618	121	19,6	P<0,05
> 4 anos	124	17	13,7	
Cães no capril				
Presença	592	116	19,6	P>0,05
Ausência	331	45	13,6	
Falhas reprodutivas				
Sim	592	113	19,1	P>0,05
Não	331	48	14,5	

das quanto à ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum*. Dasquelas, apenas uma não teve animais soropositivos para *N. caninum* e, nos focos, a frequência variou de 3,39% a 77,14% (Quadro 1).

No Quadro 2, observa-se o resultado do teste estatístico de associação entre as variáveis sexo e idade dos caprinos, presença de cães e falhas reprodutivas. Não se verificou associação significativa entre a positividade dos animais e sexo, faixa etária dos mesmos e falhas reprodutivas (p>0,05). Constatou-se que a presença de cães, nos capris, está associada a uma maior frequência de animais sorologicamente positivos a *N. caninum* (p<0,05).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A escassez de dados de ocorrência de *Neospora caninum*, em caprinos, dificulta comparações sobre prevalência. A

frequência de anticorpos anti-*N. caninum* (17,44%) deste estudo, foi bastante superior aos 6,34% encontrados por Figliuolo et al. (2004), também em rebanhos do estado de São Paulo. No entanto, os autores citados utilizaram a NAT, com ponto de corte de 1:50. A comparação de valores de soroprevalência, utilizando-se técnicas com sensibilidade, especificidade e valor preditivo, pontos de corte e equipamentos laboratoriais diferentes, deve ser feita com cautela, evitando-se falhas de interpretação, que podem decorrer das variações, durante o processo diagnóstico.

No estudo de Figliuolo et al. (2004), das 19 propriedades testadas, apenas 8 (42,1%) apresentaram focos, enquanto que, em 16 das 17 propriedades aqui estudadas, foram observados anticorpos anti-*N. caninum*, o que revela sua ampla difusão no estado de São Paulo. No entanto, devem-se levar em consideração, além das técnicas utilizadas, as condições ambientais diversas, que também podem contribuir para prevalência do microorganismo.

Concordando com os autores citados, não foi verificada associação significativa entre presença de anticorpos anti-*N. caninum* e sexo ou faixa etária, indicando a presença do agente de forma homogênea, nos rebanhos paulistas.

Com relação à ocorrência de falhas reprodutivas, nos capris, não foi comprovada diferença significativa quanto à presença de anticorpos anti-*N. caninum*.

Um resultado interessante da presente pesquisa diz respeito à maior frequência de animais positivos para *N. caninum*, quando relatada a presença de cães, na propriedade. Animais de 10 capris coabitavam com cães e apresentaram taxas de positividade variando de 4,77% a 76,06%. Nos outros sete, onde não foi relatada a presença do hospedeiro definitivo, a variação na positividade de anticorpos anti-*N. caninum* foi de 0% a 35,9%. Esse dado reforça a importância epidemiológica dos cães na transmissão de *N. caninum* também na espécie caprina, contribuindo, assim, para o estudo da prevenção da enfermidade.

No presente trabalho, verificou-se, ainda, que a visualização dos resultados de ocorrência, por meio da representação cartográfica dos dados, em mapa coroplético em hachuras, pode implicar em um ganho considerável para estudos da epidemiologia geográfica, na elaboração de um programa de planejamento de controle da enfermidade.

## REFERÊNCIAS

- Anderson M.L., Palmer C.W., Thurmond M.C., Picanso J.P., Blanchard P.C., Breitmeyer R.E., Layton A.W., McAllister M., Daft B., Kinde H., Read D.H., Dubey J.P., Conrad P.A. & Barr B.C. 1995. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 207(9):1206-1210.
- Barr B.C., Anderson M.L., Woods L.W., Dubey J.P. & Conrad P.A. 1992. *Neospora*-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J. Vet. Diagn. Invest.* 4:365-367.
- Basso W., Venturini L., Venturini M.C., Hill K.O., Shen S.K. & Dubey J.P. 2001. First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. *J. Parasitol.* 87:612-618.

- Buxton D., Maley S.W., Thomson K.M., Trees A.J. & Innes E.A. 1997. Experimental infection of non-pregnant and pregnant sheep with *Neospora caninum*. J. Comp. Pathol. 117(1):1-16.
- Corbellini L.G., Colodel E.M. & Driemeier D. 2001. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. J. Vet. Diagn. Invest. 13(5):416-419.
- Dubey J.P. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J. Parasitol. 41(1):1-16.
- Dubey J.P., Acland H.M. & Hamir A.N. 1992. *Neospora caninum* (Apicomplexa) in a stillborn goat. J. Parasitol. 78(3):532-534.
- Eastman J.R. 1999. IDRISI: A Grid-Based Geographic Analysis System. 32nd ed. Clark University Graduate School of Geography, Worcester.
- Figliuolo L.P., Rodrigues A.A.R., Viana R.B., Aguiar D.M., Kasai N. & Gennari S.M. 2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. Small Ruminant Res. 55:29-32.
- Gondim L.F.P., McAllister M.M., Pitt W.C. & Zemlicka D.E. 2004. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 34:159-161.
- Goodman L.A. 1964. Simultaneous confidence intervals for contrasts among multinomial populations. Ann. Math. Stat. 35:716-725.
- Goodman L.A. 1965. On simultaneous confidence intervals for multinomial proportions. Techometrics 9:247-254.
- Jolley W.R., McAllister M.M., McGuire A.M. & Wills R.A. 1999. Repetitive abortion in *Neospora*-infected ewes. Vet. Parasitol. 82:251-257.
- Lindsay D.S., Rippey N.S., Powe T.A., Sartin E.A., Dubey J.P. & Blagburn B.L. 1995. Abortions, fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachyzoites of *Neospora caninum*. Am. J. Vet. Res. 56(9):1176-1180.
- McAllister M.M., Dubey J.P., Lindsay D.S., Jolley W.R., Wills R.A. & McGraham A.M. 1998. Dogs are definitive host of *Neospora caninum*. Int. J. Parasitol. 28(9):1473-1478.
- Romand S., Thulliez P. & Dubey J.P. 1998. Direct agglutination test for serologic diagnose of *Neospora caninum*. Parasitol. Res. 84:50-53.