

# DISTRIBUIÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Neospora caninum* EM VACAS LEITEIRAS DOS MUNICÍPIOS DE RESENDE E RIO CLARO, ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL\*

ALEXANDRE D. MUNHOZ<sup>1</sup>; WALTER FLAUSINO<sup>2</sup>; ROGÉRIO T. DA SILVA<sup>3</sup>; CLÁUDIO R.R. DE ALMEIDA<sup>4</sup>; CARLOS W.G. LOPES<sup>2</sup>

**ABSTRACT:** - MUNHOZ, A.D.; FLAUSINO, W.; SILVA, R.T. DA; ALMEIDA, C.R.R. DE; LOPES, C.W.G [Distribution of anti-*Neospora caninum* antibodies in dairy cows at Municipalities of Resende and Rio Claro in the State of Rio de Janeiro, Brazil]. Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 3, p. 101-104, 2006. Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail lopesw@ufrj.br

This study aimed to verify the prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dairy cows from municipalities of Resende and Rio Claro, both located at sulfluminense dairy belt. A total of 29 farms from Resende and 28 from Rio Claro were randomly selected. To evaluate the association between herds and animals against the etiological agent  $\chi^2$  tests were used. Seventy eight animals at Resende (25.74%, confidence intervals(IC) at 95%: 15.7-25.8%) had anti-*N. caninum* antibodies, while 53 animals (20.38%, IC 21-31.1 %) at Rio Claro ( $p=0.16$ ). No association between positive animals in relationship to municipalities was observed. When considered properties, 26 (89.7%, IC: 76, 3-94.9%) at Resende and 24 (85.71%, IC: 67.3-96%) at Rio Claro had at least a positive animal. This demonstrated that anti-*N. caninum* antibodies were observed among dairy cows at both municipalities. In spite of abortions were observed with relative frequency in endemic areas of *N. caninum*, they were not observed in the present study.

**KEY WORDS:** *Neospora caninum*, dairy cows, endemic region.

## RESUMO

Este estudo objetivou verificar a prevalência de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas e rebanhos nos municípios de Resende e Rio Claro, localizados na bacia leiteira Sul Fluminense. Um total de 29 propriedades em Resende e 28 em Rio Claro foi selecionado de forma aleatória, nas quais 303 e 260 vacas respectivamente foram selecionadas por conveniência. Para avaliar a associação entre a soropositividade e o município de origem dos animais, o teste do  $\chi^2$  foi utilizado. Setenta e oito vacas (25,74%, Intervalo de Confiança a 95%

(IC): 15,7-25,8%) tiveram anticorpos contra *N. caninum* em Resende, enquanto 53 (20,38%, IC: 21-31,1%) em Rio Claro, não sendo verificada associação ( $p=0,16$ ) entre a positividade dos animais e o município de origem. Quanto às propriedades 26 (89,7%, IC: 76,3-94,9%) em Resende e 24 (85,71%, IC: 67,3-96%) em Rio Claro tiveram pelo menos um animal positivo, o que demonstra que *N. caninum* encontra-se amplamente difundido nos rebanhos leiteiros nos dois municípios estudados. Apesar de abortos serem encontrados com relativa frequência em áreas endêmicas para *N. caninum*, estes não foram observados no presente estudo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Neospora caninum*, bovinos leiteiros, região endêmica.

## INTRODUÇÃO

*Neospora caninum* é um parasito intracelular obrigatório, confundido com *Toxoplasma gondii* por ter características semelhantes até 1988 (HEMPHIL et al., 1996). O parasito é apontado como uma das principais causas de abortos em bo-

\* Sob auspícios do CNPq; FAPERJ.

<sup>1</sup> Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Bahia. E-mail: munhoz@uesc.br

<sup>2</sup> Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: flausino@ufrj.br e lopesw@ufrj.br

<sup>3</sup> EMATER-Rio, Rua Coronel Braziel, 33, Resende, RJ 27542-150.

<sup>4</sup> EMATER-Rio, Av. Independência, 279. Rio Claro, RJ 27460-000.

vinos (DUBEY, 2003). No Reino Unido, estudos em gado leiteiro têm estimado que a neosporose é responsável por 12,5% dos abortos bovinos (DAVISON et al., 1999), comparado com 15-20% na Holanda (WOUDA et al., 1997) e 20-43% na Califórnia, EUA (ANDERSON et al., 1995; TRESS et al., 1999). Enquanto que no Brasil, a associação entre a positividade e abortos já foi constatada por Stobbe (1999), Locatelli-Dittrich et al. (2001) e Corbellini et al. (2002).

Tanto o gado leiteiro como o de corte tem sido relatado como portadores de *N. caninum*. Em algumas regiões a prevalência de anticorpos chega a ser de 100% (DUBEY, 1999). Diversos estudos têm demonstrado que a infecção por *N. caninum* em bovinos tem sido freqüente em todas as regiões do Brasil, a exceção da Região Norte (PITUCO et al., 1998; GONDIM et al., 1999b; STOBBE, 1999; REZENDE et al., 1999; HASEGAWA, 2000; OGAWA, 2000; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2001; MELO et al., 2001; COSTA et al., 2001; SILVA et al., 2002; CORBELLINI et al., 2002; RAGOZO et al., 2002; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004).

A realização deste estudo teve como objetivo verificar a distribuição de anticorpos contra *N. caninum* em vacas e rebanhos e sua associação com os municípios de origem, Resende e Rio Claro, localizados na bacia leiteira Sul-fluminense.

## MATERIALE MÉTODOS

Dados obtidos nas propriedades localizadas nos Municípios de Resende, e Rio Claro, ambos situados na Mesorregião Sul-Fluminense, Microrregião do Vale do Paraíba Sul-fluminense, no Estado do Rio de Janeiro foram utilizados para este estudo. Tanto as propriedades, quanto os animais utilizados foram os que já estavam cadastrados na campanha de vacinação de febre aftosa do ano de 2000, presentes no Escritório da Defesa Sanitária Animal de Resende e na EMATER-Rio Claro. O estudo foi desenvolvido entre agosto de 2001 a maio de 2003 e as propriedades selecionadas foram visitadas uma única vez para coleta das amostras de sangue.

Para o cálculo do tamanho da amostra de propriedades utilizou-se uma estimativa de prevalência (p) de 93,65% e um erro tolerável de 8,65%, com Intervalo de Confiança de 95% de acordo com os trabalhos de Gondim et al. (1999); Melo et al. (2001). No final fizeram parte do estudo um total de 29 propriedades em Resende e 28 propriedades em Rio Claro, selecionadas de forma aleatória. O cálculo para se obter um número representativo tanto das propriedades, quanto dos animais, foi realizado com auxílio do programa Epi Info 2000 (DEAN; ARNET, 2002).

Foram selecionadas para o estudo fêmeas que já iniciaram sua fase reprodutiva, com idade igual ou superior a três anos. A amostra foi calculada também com base nos trabalhos de Gondim et al. (1999); Melo et al. (2001), com uma estimativa de prevalência de 16,69%, erro tolerável de 4,69% com um Intervalo de Confiança de 95%, sendo coletados amostras de sangue de 303 vacas em Resende e 260 em Rio Claro, selecionadas por conveniência.

O sangue foi obtido por punção da veia mamária nas vacas. O material foi identificado e mantido em refrigeração até seu processamento. O processamento das amostras e a análise dos dados obtidos foram realizados no Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Projeto Sanidade Animal (EMBRAPA/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Após a retração do coágulo, o sangue foi centrifugado a 350g por 10 minutos para a separação do soro e este foi acondicionado em criotubos de 2,0 ml, identificados e mantidos sob a temperatura de -20°C até o momento da realização dos exames. Para detecção dos anticorpos anti-*N. caninum*, foi utilizado o teste de "ELISA" indireto (Herdcheckâ, IDEXX Laboratories Inc. EUA).

Para verificar a associação entre o resultado da sorologia e as origens dos animais foram utilizados os testes estatísticos do  $\chi^2$  com correção de Yates e o de Fischer (SAMPAIO, 1998; DEAN; ARNET, 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência de anticorpos contra *N. caninum* encontrada nos rebanhos foi de (26/29) 89,7%, IC: 72,6-97,8% e (24/28) 85,71%, IC: 67,3-96 em Resende e Rio Claro respectivamente, sendo que a positividade variou de 11,1 a 62,5% em Resende e de 10 a 60% em Rio Claro. Quanto à freqüência de vacas positivas foram detectados anticorpos anti-*N. caninum* em (78/303) 25,7%, IC: 21-31,1%, dos animais amostrados em Resende e em (53/260) 20,4%, IC: 15,7-25,8% nas vacas do Município de Rio Claro. Não foi observada diferença significativa ( $p=0,16$ ) entre o número de animais positivos segundo o Município de origem (Tabela 1).

Não se observou diferença na positividade para *N. caninum* entre rebanhos e animais, o que difere dos achados de Sanderson et al. (2000) que verificaram em um estudo no Noroeste dos EUA uma similaridade de manejo e comportamento regional das propriedades de acordo com avaliação do estado de origem, onde os autores foram incapazes de controlar o efeito do Estado na regressão logística.

Tabela 1. Soroprevalência de *Neospora caninum* em vacas leiteiras nos Municípios de Resende e Rio Claro, Bacia leiteira Sul-fluminense, Estado do Rio de Janeiro.

Município	Animais		Prevalência nos animais	Propriedades		Prevalência nas propriedades		
	n	Positivos		n	Positivas (%)	Média	Mínima	Máxima
Resende	303	78	25,74 <sup>a</sup>	29	26 (89,66) <sup>b</sup>	23,41	11,1	62,5
Rio Claro	260	53	20,38	28	24 (85,71)	19,72	10	60,0

<sup>a</sup> p = 0,16; <sup>b</sup> p = 0,96

Estudos têm demonstrado uma positividade em animais variando de 11,2 até 36,7% (PITUCO et al., 1998; GONDIM et al., 1999; STOBBE, 1999; REZENDE et al., 1999; HASEGAWA, 2000; OGAWA, 2000; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2001; MELO et al., 2001; COSTA et al., 2001; SILVA et al., 2002; CORBELLINI et al., 2002; RAGOZO et al., 2002; GUIMARÃES JÚNIOR et al., 2004), não tendo sido nunca observada a ausência de animais positivos. Assim, os resultados observados em Resende e Rio Claro encontram-se em faixa intermediária.

Vale ressaltar que no presente estudo e nos de Gondim et al. (1999), Melo et al. (2001), Coberllini et al. (2002) e Guimarães Júnior et al. (2004) foram observadas altas prevalências em rebanhos, superiores a 85%, demonstrando uma ampla disseminação deste agente etiológico nos rebanhos do país.

As características da região, do sistema de manejo e tipo de produção das propriedades, a forma de escolha dos animais e rebanhos, a representatividade da amostra, nem sempre são bem detalhados nos estudos realizados no Brasil. Além disto, padrões diferentes de propriedades, manejo, animais, teste sorológico e ponto de corte, tendem a dificultar qualquer tipo de comparação. Contudo, uma observação interessante foi que nos estudos de Pituco et al. (1998), Stobbe (1999) e Locatelli-Dittrich et al. (2001), cuja seleção baseou-se em propriedades/animais com histórico de abortamento, a prevalência de animais soropositivos foi maior que 34%, sendo superior aos demais resultados acima citados, indicando que a escolha das propriedades por conveniência tendo o abortamento como critério pode ter um peso em superestimar os resultados em relação às propriedades selecionadas de forma aleatória.

Esta observação está de acordo com os estudos de Dannatt (1997), Schares et al. (1999b), Stenlund et al. (1999) e Maley et al. (2001), onde verificaram que a sensibilidade do teste sorológico para animais escolhidos ao acaso é menor do que para animais que acabaram de abortar, sendo este o maior problema para o encontro de animais com infecção crônica podendo, gerar resultados falso-negativos, subestimando os estudos de soroprevalência.

Como relatado na metodologia do presente estudo o mesmo foi realizado em animais em fase reprodutiva, que de acordo com Jensen et al. (1999) vacas velhas tendem a obter níveis de anticorpos mais estáveis devido à prolongada estimulação antigênica depois de repetidas recrudescências da infecção, contrariando Dannatt (1997) que relatou que resultados falso-negativos podem ser encontrados em menor escala em bezerros com infecção vertical, devido aos altos títulos de anticorpos observados, que em bovinos adultos.

A prevalência de anticorpos contra *N. caninum* em ambos os municípios foi alta nos rebanhos estudados, sugerindo que o parasito encontra-se em convívio com os bovinos desta região já há algum tempo, não sendo observados casos de abortamento no presente estudo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, M.L.; PALMER, C.W.; THURMOND, M.C.; PICANSO, J.P.; BLANCHARD, P.C.; BREITMEYER, R.E.; LAYTON, A.W.; McALLISTER, M.M.; DAFT, B.M.; KINDE, H.; READ, D.H.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A.; BARR, B.C. Evaluation of abortions in cattle attributable to neosporosis in selected dairy herds in California. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 207, n. 9, p. 1206-1210, 1995.
- CORBELLINI, L.G.; DRIEMEIER, D.; CRUZ, C.F.E.; GONDIM, L.F.P.; WALD, V. Neosporosis as cause of abortion in dairy cattle in Rio Grande do Sul, Southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 103, n. 3, p. 195-202, 2002.
- COSTA, G.H.N.; CABRAL, D.D.; VARANDAS, N.P.; SOBRAL, E.A.; BORGES, F.A.; CASTAGNOLLI, K. C. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-Toxoplasma gondii em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. *Semina, Ciências Agrárias*, v. 22, n. 1, p. 57-62, 2001.
- DANNATT, T. *Neospora caninum* antibody levels in an endemically-infected dairy herd. *Cattle Practitioner*, v. 5, p. 335-337, 1997.
- DAVISON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Significance of *Neospora caninum* in British dairy cattle determined by estimation of seroprevalence in normally calving cattle and aborting cattle. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 1, p. 1189-1194, 1999.
- DEAN, A.G.; ARNER, T. Epi Info: Epidemiology of program office. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>> Acesso em: 20 abr. 2002.
- DUBEY, J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean Journal of Parasitology*, v. 41, n. 1, p. 1-16, 2003.
- DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999.
- GONDIM, L.F.P.; SARTOR, I.F.; HASEGAWA, M.; YAMANE, I. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 86, n. 1, p. 71-75, 1999.
- GUIMARÃES Jr, J.S.; SOUZA, S.L.P.; BERGAMASCHI, D.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of *Neospora caninum* and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 124, n. 1-2, p. 1-8, 2004.
- HASEGAWA, M.Y. *Soroprevalência de anticorpos contra Neospora caninum em bovinos de corte e em cães rurais da região de Avaré – SP*. 2000. 50f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, “Julio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2000.
- HEMPHILL, A.; GOTTSTEIN, B.; KAUFMANN, H. Adhesion and invasion of bovine endothelial cells by *Neospora caninum*. *Parasitology*, v. 112, n. 2, p. 183-197, 1996.
- JENSEN, A.M.; BJORKMAN, C.; KJELDSSEN, A.M.; WEDDERKOPP, A.; WILLADSEN, C.; UGGLA, A.; LIND, P. Association of *Neospora caninum* seropositivity with gestation number and pregnancy outcome in Danish dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, v. 40, n. 3-4, p. 151-163, 1999.

- LOCATELLI-DITTRICH, R.; SOCCOL, V.T.; RICHARTZ, R.R. GASINO-JOINEAU, M.E.; VINNE, R.; PINCKNEY, R.D. Serological diagnosis of neosporosis in a dairy herd of dairy cattle in southern Brazil. *Journal of Parasitology*, v. 87, n. 6, p. 1493-1494, 2001.
- MALEY, S.W.; BUXTON, D.; THOMSON, K.M.; SCHRIEFER, C.E.S.; INNES, E.A. Serological analysis of calves experimentally infected with *Neospora caninum*: a 1-year study. *Veterinary Parasitology*, v. 96, n.1, p. 1-9, 2001.
- MELO, C.B.; LEITE, R.C.; SOUZA, G.N.; LEITE, R.C. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em Bovinos de Minas Gerais. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.
- OGAWA, L. Estudo soroepidemiológico do *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos de pecuária leiteira da região norte do Estado do Paraná, 2000, 54f. Tese de Mestrado, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2000.
- PITUCO, E.M.; SOARES, J.A.G.; OKUDA, L.H.; STEFANO, E. Ocorrência de neosporose bovina em rebanhos com histórico de abortamentos no Brasil. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 65, p. 70, 1998.
- RAGOZO, A.M.A.; PAULA, V.S.O. DE; SOUZA, S.L.P. DE; GENNARI, S.M. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em soros de bovinos procedentes de seis estados brasileiros. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: CBPV, 2002. CD-ROM.
- REZENDE, P.C.B.; BELO, M.A.A. MARCHIORI, FILHO, M.; COSTA, A.J.; SILVEIRA, D.M. anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros de região nordeste do estado de São Paulo, Brasil. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 11, 1999, Salvador. Anais... Salvador: CBPV, 1999. p. 229.
- SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SANDERSON, M.W.; GAY, J.M.; BASZLER, T.V. *Neospora caninum* seroprevalence and associated risk factors in beef cattle in the northwestern United States. *Veterinary Parasitology*, v. 90, n. 1-2, p. 15-24, 2000.
- SCHARES, G.; RAUSER, M.; ZIMMER, K.; PETERS, M.; WURM, R.; DUBEY, J.P.; de GRAAF, D.C.; EDELHOFER, R.; MERTENS, C.; HESS, G.; CONRATHS, F.J. Serological differences in *Neospora caninum*-associated epidemic and endemic abortions. *Journal of Parasitology*, v. 85, n. 4, p. 688-694, 1999.
- SILVA, M.I.S.; ALVES, L.C.A.; FAUSTINO, M.A.G.; ALMEIDA, M.A.; PINHEIRO, M.A.; JESUS, E.E.V.; CUNHA, A.P.; NASCIMENTO, E.S.; LIMA, M.M. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros do município de Gravatá, Pernambuco. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 12, 2002, Rio de Janeiro. Anais... Rio de Janeiro: CBPV, 2002. CD-ROM.
- STENLUND, S.; KINDAHL, H.; MAGNUSSON, U.; UGGLA, A.; BJORKMAN, C. Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. *Veterinary Parasitology*, v. 85, n. 4, p. 227-234, 1999.
- STOBBE, N.S. *Estudo interativo entre a presença de anticorpos anti-Neospora caninum e a ocorrência de abortamentos em bovinos no noroeste do Estado de São Paulo, Brasil*. 1999. 44f. Tese (Doutorado), Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, 1999.
- TREES, A.J.; DAVISON, H.C.; INNES, E.A.; WASTLING, J.M. Towards evaluating the economic impact of bovine neosporosis. *International Journal for Parasitology*, v. 29, n. 8, p. 1195-1200, 1999.
- WOUDA, W.; MOEN, A.R.; VISSER, U.; VAN KNAPEN, F. Bovine fetal neosporosis: 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.

Recebido em 21 de outubro de 2005.

Aceito para publicação em 30 de abril de 2006.