

## SOROPREVALÊNCIA E CINÉTICA MENSAL DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora* SP. EM ÉGUAS GESTANTES

DANIELE C.S. HOFFMANN KORMANN<sup>1</sup>; ROSÂNGELA LOCATELLI-DITTRICH<sup>2</sup>; ROSÁRIA R.T.B. RICHARTZ<sup>3</sup>; JOAQUIM ANTUNES<sup>4</sup>; JOÃO RICARDO DITTRICH<sup>5</sup>; LIA FL. PATRÍCIO<sup>6</sup>

**ABSTRACT:-** HOFFMANN KORMANN, D.C.S.; LOCATELLI DITTRICH, R.; RICHARTZ, R.R.T.B.; ANTUNES, J.; DITTRICH, J.R.; PATRÍCIO, L.F.L. [Seroprevalence and month dynamic of *Neospora* sp. antibodies in pregnant mares]. Soroprevalência e cinética mensal de anticorpos anti-*Neospora* sp. em éguas gestantes. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, supl. 1, p. 335-338, 2008. Laboratório Regional de Diagnóstico, Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina, Rodovia SC 301, km 0, Pirabeiraba, Joinville, SC, Brasil. E-mail: daniele@cidasc.sc.gov.br

In order to evaluate the seroprevalence and the dynamic of anti-*Neospora* antibodies in pregnant mares, serum samples from 14 animals in the 8<sup>th</sup>, 9<sup>th</sup>, 10<sup>th</sup> and 11<sup>th</sup> month of pregnancy were analyzed using indirect immunofluorescence technique. Samples diluted 1:50 showed higher seroprevalence on the 8<sup>th</sup> month (57%) and higher seropositive conversion on the 10<sup>th</sup> month. 85,7% of the mares were positive for *Neospora* sp. on at least one month of pregnancy, and seven from that total were positive on the 11<sup>th</sup> month, three of which showed the highest titles of 1:200 and 1:400. For the samples diluted 1:100 the highest seroprevalence was found on the 11<sup>th</sup> month (29%) and the 10<sup>th</sup> month showed the highest seropositive conversion. 64% of the mares were seropositive on at least one month of pregnancy, four of them on the 11<sup>th</sup> month. There was a marked variation for the serum levels of anti-*Neospora* antibodies indicating the need to test pregnant mares between the 8<sup>th</sup> and the 11<sup>th</sup> month of pregnancy for neosporosis in order to monitor the sanitary condition of these animals.

**KEY WORDS:** *Neospora* sp., pregnant mares, antibodies, seroprevalence, dynamic.

### RESUMO

O presente estudo teve por objetivos avaliar a soroprevalência e a dinâmica dos anticorpos anti-*Neospora* sp. em éguas gestantes. Foram analisadas, pela técnica de imunofluorescência indireta, amostras séricas de 14 fêmeas no 8<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup>, 10<sup>o</sup> e 11<sup>o</sup> meses de gestação. Foram utilizados os pontos de corte 1:50 e 1:100. Na diluição 1:50, o 8<sup>o</sup> mês de gestação foi o que apresentou a maior soroprevalência (8/14 = 57%), e o 10<sup>o</sup> mês foi o

que apresentou o maior número de conversões soropositivas. Do total das éguas testadas, 12 (85,7%) apresentaram soropositividade em pelo menos um mês de gestação. Deste total de positivas, sete foram soropositivas nos 11<sup>o</sup> mês de gestação, das quais três apresentaram a maior titulação: 1:200 e 1:400. Na diluição 1:100, o 11<sup>o</sup> mês foi o que apresentou a maior soroprevalência (4/14 = 29%), e o 10<sup>o</sup> e 11<sup>o</sup> meses foram os que apresentaram o maior número de conversões soropositivas. Do total das éguas testadas, nove (64%) foram soropositivas em pelo menos um mês de gestação, sendo que quatro foram soropositivas no 11<sup>o</sup> mês de gestação. Verificou-se uma acentuada flutuação dos níveis séricos de anticorpos anti-*Neospora* sp., indicando-se que o exame sorológico de neosporose em éguas prenhes deve ser realizado no 8<sup>o</sup> e no 11<sup>o</sup> meses de gestação, para monitorar a sanidade da fêmea gestante.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Neospora* sp., éguas gestantes, anticorpos, soroprevalência, dinâmica.

<sup>1</sup> Laboratório Regional de Diagnóstico, Companhia Integrada de Desenvolvimento Agrícola de Santa Catarina (CIDASC), Rodovia SC 301 km 0 Pirabeiraba, Joinville, SC 89239-400, Brasil. E-mail: daniele@cidasc.sc.gov.br

<sup>2</sup> Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua dos Funcionários, 1540, Curitiba, PR 80035-050, Brasil. E-mail: roslocdi@ufpr.br

<sup>4</sup> Médico Veterinário Autônomo, Curitiba, PR.

<sup>5</sup> Departamento de Zootecnia, UFPR, Curitiba, PR.

<sup>6</sup> Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFPR, Curitiba, PR.

A neosporose é uma doença que acomete bovinos, cães, ovinos, caprinos, cervos, búfalos e equinos. A doença nos equinos é causada pelos protozoários *Neospora caninum* e *N. hughesi*, parasitos intracelulares obrigatórios (HOANE et al., 2006; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006a). Nesses animais, a forma clínica da doença caracteriza-se por aborto, doença neonatal, visceral, e encefalomielite (LINDSAY, 2001; CIARAMELLA et al., 2004).

Anticorpos anti-*Neospora* sp. têm sido detectados nos equinos dos EUA e Nova Zelândia (CHEADLE et al., 1999; DUBEY, 2003), na Coreia do Sul (GUPTA et al., 2002), na França (PITEL et al., 2001; PITEL et al., 2003), Itália (CIARAMELLA et al., 2004) e Suécia (JAKUBEK et al., 2006). Nesses países a soroprevalência variou de 1% a 47%, em cavalos sadios (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b).

No Brasil existem alguns estudos de soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora* sp. em equinos (DUBEY et al., 1999; LOCATELLI-DITTRICH et al., 2006b; HOANE et al., 2006; VILLALOBOS et al., 2006), entretanto, nenhum avaliou a cinética e o comportamento dos anticorpos durante um determinado período de tempo e nem sua importância na defesa imune frente ao protozoário *Neospora* sp.

Esse trabalho foi realizado devido à inexistência de dados sobre a cinética de anticorpos anti-*Neospora* sp. em éguas gestantes. Assim, os objetivos desse estudo foram avaliar a soroprevalência e a dinâmica de anticorpos anti-*Neospora* sp. em éguas prenhes do 8º ao 11º mês de gestação; e determinar o melhor período gestacional para se realizar o diagnóstico sorológico.

As amostras de sangue foram obtidas de éguas gestantes da raça Puro Sangue Inglês de um haras localizado na Região Metropolitana de Curitiba. As coletas de sangue foram realizadas de 14 éguas no 8º, 9º, 10º e 11º meses de gestação, identificadas como E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8, E9, E10, E11, E12, E13 e E14.

O teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) foi utilizado para a detecção de anticorpos circulantes específicos contra antígenos de *Neospora* sp. As lâminas de IFI foram preparadas de acordo com Locatelli-Dittrich et al. (2006a). Os pontos de corte utilizados foram 1:50 e 1:100.

Para o ponto de corte 1:50, verificou-se que no 8º mês de gestação 57% (8/14) das éguas foram soropositivas ao protozoário *Neospora* sp. No 9º mês de gestação, a soroprevalência foi de 29% (4/10); seguindo-se de 50% no 10º e 11º meses de gestação. Assim, o 8º mês foi o que apresentou a maior soroprevalência e o 9º mês a menor soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora* sp. (Tabela 1). Analisando-se o 8º, 9º, 10º e 11º mês de gestação, das 14 éguas analisadas, 12 (12/14 = 86%) foram soropositivas em pelo menos em um dos meses de gestação. Dessas 12 soropositivas, 3 (25%) tiveram títulos de 1:50, 2 (17%) títulos de 1:100, cinco (42%) títulos de 1:200 e 2 (17%) títulos de 1:400 (Tabela 2). No 11º mês de gestação apenas 7 éguas foram soropositivas (50%), das quais 3 (43%) apresentaram títulos 1:50, uma (14%) título 1:100, 2 (29%) títulos 1:200, e uma (14%) 1:400 (Tabela

Tabela 1. Soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora* sp. conforme as titulações finais no 8º, 9º, 10º e 11º meses de gestação das éguas.

Éguas por período de gestação	Animais		Soroprevalência
	Soropositivos	Soronegativos	
8º mês	5/14 (1:50)	6/14	35,71%
	1/14 (1:100)		7,14%
	2/14 (1:200)		14,28%
	0/14 (1:400)		0
9º mês	3/14 (1:50)	10/14	21,42%
	0/14 (1:100)		0
	1/14 (1:200)		7,14%
	0/14 (1:400)		0
10º mês	4/14 (1:50)	7/14	28,57%
	0/14 (1:100)		0
	2/14 (1:200)		14,28%
	1/14 (1:400)		7,14%
11º mês	3/14 (1:50)	7/14	21,42%
	1/14 (1:100)		7,14%
	2/14 (1:200)		14,28%
	1/14 (1:400)		7,14%

Método: IFI (Imunofluorescência indireta).

1). Para o ponto de corte 1:100, verificou-se que no 8º mês de gestação 21% (3/14) das éguas foram soropositivas ao protozoário *Neospora* sp. No 9º mês de gestação, a soroprevalência foi de 7% (1/10); seguindo-se de 21% (3/14) no 10º mês e 29% (4/14) no 11º mês de gestação. Assim, o 11º mês foi o que apresentou maior taxa de soroprevalência e o 9º mês a menor taxa (Tabela 1). Analisando-se o 8º, 9º, 10º e 11º meses de gestação, das 14 éguas analisadas, nove (9/14 = 64%) foram soropositivas em pelo menos um mês de gestação. Dessas 9 soropositivas, 2 (22%) obtiveram títulos de 1:100, 5 (56%) títulos de 1:200 e 2 (22%) títulos de 1:400 (Tabela 2). No 11º mês de gestação apenas 4 éguas foram soropositivas (29%), das quais uma (25%) apresentou título 1:100, 2 (50%) títulos de 1:200 e uma (25%) título de 1:400 (Tabelas 1 e 2).

Tabela 2. Resultados sorológicos anti-*Neospora* sp. das éguas em meses de gestação.

Éguas/Pontos de corte	8º mês		9º mês		10º mês		11º mês	
	1:50	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100	1:50	1:100
E1	NEG	NEG	NEG	NEG	1:50	NEG	NEG	NEG
E2	NEG	NEG	NEG	NEG	1:50	NEG	1:100	1:100
E3	1:200	1:200	1:50	NEG	1:50	NEG	NEG	NEG
E4	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
E5	NEG	NEG	NEG	NEG	1:200	1:200	1:200	1:200
E6	1:100	1:100	NEG	NEG	NEG	NEG	1:50	NEG
E7	1:50	NEG	1:50	NEG	NEG	NEG	1:200	1:200
E8	1:50	NEG	1:50	NEG	NEG	NEG	1:400	1:400
E9	NEG	NEG	NEG	NEG	1:200	1:200	1:50	NEG
E10	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
E11	1:50	NEG	NEG	NEG	1:50	NEG	NEG	NEG
E12	1:50	NEG	1:200	1:200	NEG	NEG	NEG	NEG
E13	1:200	1:200	NEG	NEG	1:400	1:400	1:50	NEG
E14	1:50	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG

Método: IFI (Imunofluorescência indireta).

NEG: reação negativa.

Quanto à cinética dos anticorpos anti-*Neospora* sp. no 8°, 9°, 10° e 11° mês de gestação, verificou-se uma acentuada flutuação no ponto de corte 1:50 com 86% de soroprevalência e baixa flutuação no ponto de corte 1:100 com 64% de soroprevalência (Tabela 2).

Pitel et al. (2001), Ciaramella et al. (2004) e Locatelli-Dittrich et al. (2006b), também verificaram uma diminuição na soroprevalência, quando a diluição aumentou de 1:50 para 1:100.

Na verificação mensal da soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora* sp. em éguas gestantes, considerando amostras positivas na diluição 1:50, o 8° mês de gestação compreendeu na maior soroprevalência e o 9° mês na menor soroprevalência. Considerando as amostras séricas de éguas positivas na diluição 1:100, o 11° mês compreendeu na maior soroprevalência e o 9° mês na menor soroprevalência.

Sabe-se que após o aborto nos bovinos, os títulos de anticorpos das vacas geralmente são elevados. Locatelli-Dittrich (2002) observou que os títulos das éguas que abortaram fetos infectados por *N. caninum* não foram altos. Nas vacas pode ocorrer uma instabilidade temporária na concentração de anticorpos de *N. caninum*, e mesmo um resultado sorológico negativo da mãe, não exclui a possibilidade do aborto. Uma soroconversão recente ao parasito também pode resultar em títulos mais baixos, como os encontrados por Locatelli-Dittrich (2002), para as éguas, pois esta pode corresponder a fase de janela imunológica.

Permanece incerto o motivo pelo quais as éguas gestantes deste estudo se tornaram negativas e, algumas novamente soropositivas, durante o acompanhamento sorológico. Em bovinos, os níveis de anticorpos específicos para *N. caninum* podem persistir durante toda a vida do animal mas podem também flutuar, estando muitas vezes abaixo do limite de detecção dos testes sorológicos (DUBEY; SCHARES, 2006).

O protozoário *Neospora caninum* é reconhecido como a maior causa de abortos e perdas neonatais em bovinos de vários países (DUBEY; SCHARES, 2006). Nos equinos, as consequências dessa infecção são pouco conhecidas e não se sabe ao certo se *N. caninum*, *N. hughesi*, ou ambos os protozoários infectam esses animais (HOANE et al., 2006).

Estudos adicionais sobre a prevalência dos parasitos *N. caninum* e *N. hughesi* em populações equinas são necessários antes de apreciar os reais impactos dessas espécies de protozoários na sanidade. Os dados relevantes obtidos deste trabalho referem-se a presença do agente *Neospora* sp. na população equina, ao diagnóstico sorológico de neosporose em éguas prenhes, que deve ser realizado no 8° e 11° mês de gestação para monitorar a sanidade da fêmea gestante, e que novas pesquisas devem ser prosseguidas. Os Médicos Veterinários devem estar atentos para essa doença emergente.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHEADLE, M.A.; LINDSAY, D.S.; ROWE, S.; DYKSTRA, C.C.; WILLIAMS, M.A.; SPENCER, J.A.; TOIVIO-KINNUCAN, M.A.; LENZ, S.D.; NEWTON, J.C.; ROLSMAN, M.D.; BLAGBURN, B.L. Prevalence of antibodies to *Neospora* sp. in horses from Alabama and characterization of an isolate recovered from a naturally infected horse. *International Journal for Parasitology*, v.29, n.10, p.1537-1543, 1999.
- CIARAMELLA, P.; CORONA, M.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; SANTORO, D.; Di LORIA, A.; RIGATO, R. Seroprevalence of *Neospora* spp. in asymptomatic horses in Italy. *Veterinary Parasitology*, v.123, n. 1-2, p.11-15, 2004.
- DUBEY, J.P.; KERBER, C.E.; GRANSTROM, D.E. Serologic Prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.215, n. 7, p.970-972, 1999.
- 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.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. *Veterinary Parasitology*, v.140, n. 1-2, p.1-34, 2006.
- GUPTA, G.D.; LAKRITZ, J.; KIM, J.H.; KIM, D.Y.; KIM, J.K.; MARSH, A.E. Seroprevalence of *Neospora*, *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis neurona* antibodies in horses from Jeju island, South Korea. *Veterinary Parasitology*, v.106, n. 3, p.193-201, 2002.
- HOANE, J.S.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; RIBEIRO, M.G.; BORGES, A.S.; YAI, L.E.O.; AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; BONESI, G.L.; HOWE, D.K. Prevalence of *Sarcocystis neurona* and *Neospora* spp. infection in horses from Brazil based on presence of serum antibodies to parasite surface antigen. *Veterinary Parasitology*, v.136, n. 2, p.155-159, 2006.
- JAKUBEK, E.B.; LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora* sp. infections in Swedish horses. *Veterinary Parasitology*, v.138, n. 3-4, p.194-199, 2006.
- LINDSAY, D.S. Neosporosis: an emerging protozoal disease of horses. *Equine Veterinary Journal*, v. 33, n. 2, p. 116-118, 2001.
- LOCATELLI-DITTRICH, R. *Diagnóstico sorológico, isolamento, cultivo e caracterização molecular de Neospora caninum em bovinos leiteiros e em equinos no Estado do Paraná, Curitiba - Brasil*. 2002. 184f. Dissertação (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, 2002.
- LOCATELLI-DITTRICH, R.; HOFFMANN, D.C.S.; DITTRICH, J.R. Neosporose Equina - Revisão. *Archives of Veterinary Science*, v. 11, n. 3, p. 1-10, 2006a.
- 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. Investigation of *Neospora* sp. and *Toxoplasma gondii* antibodies in mares and in precolostral foals from Parana state, Southern Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.135, n. 3-4, p.215-221, 2006b.
- PITEL, P.H.; PRONOST, S.; CHATAGNON, G.; TAINURIER, D.; FORTIER, G.; BALLEST, J.J.

- Neosporosis in bovine dairy herds from the west of France: detection of *Neospora caninum* DNA in aborted fetuses, seroepidemiology of *N. caninum* in cattle and dogs. *Veterinary Parasitology*, v.102, n.4, p.269-277, 2001.
- PITEL, P.H.; LINDSAY, D.S.; CAURE, S.; ROMAND, S.; PRONOST, S.; GARGALA, G.; MITCHELL, S.M.; HARY, C.; THULLIEZ, P.; FORTIER, G.; BALLEZ, J.J. Reactivity against *Sarcocystis neurona* and *Neospora* sp. by serum antibodies in healthy French horses from two farms with previous equine protozoal myeloencephalitis-like cases. *Veterinary Parasitology*, v.111, n.1, p. 1-7, 2003.
- 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, 372-375, 2006.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.