

# CÃES SORORREAGENTES A *Neospora caninum* (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE) ATENDIDOS EM UMA CLÍNICA VETERINÁRIA NA CIDADE DO RIO DE JANEIRO, RJ\*

Lianna Maria de Carvalho Balthazar<sup>1+</sup>, Paulo Daniel Sant'Anna Leal<sup>2</sup>, Walter Leira Teixeira Filho<sup>3</sup> e Carlos Wilson Gomes Lopes<sup>4</sup>

**ABSTRACT.** Balthazar L.M. de C., Leal P.D.S., Teixeira Filho W.L. & Lopes C.W.G. [Seropositive dogs for *Neospora caninum* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) in a Veterinary Clinic in the City of Rio de Janeiro, RJ.] Cães sororreagentes a *Neospora caninum* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) atendidos em uma clínica veterinária na cidade do Rio de Janeiro, RJ. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(Supl.2): 48-51, 2013. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Anexo 1, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus Seropédica, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: liannavet@yahoo.com.br

This study aimed to determine the presence of antibodies against *Neospora caninum* and the distribution among the different age groups in dogs from Barra da Tijuca in the City of Rio de Janeiro, Brazil. Serum samples from 402 animals attended at CTI-Veterinário were analyzed by Immunofluorescence Antibody test (IFAT), using as cut off 1:50. The frequency of seropositive animals was 8.46 % (34/ 402). In the present study there was a significant difference ( $p=0.014$ ) when was compared seropositivity animals according to different age groups where animals with  $\leq 10$  years old had 2.35 more choice of becoming infected when compared with young ones. The results show the first record of the exposure of dogs to *N. caninum* in the studied region.

KEY WORDS. *Neospora caninum*, dogs, age, frequency, RIFI, Rio de Janeiro.

**RESUMO.** O objetivo desse estudo foi verificar a presença de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães procedentes da região da Barra da Tijuca, cidade do Rio de Janeiro, RJ, e determinar a soropositividade nas diferentes faixas etárias. Amostras de soro de 402 animais atendidos no CTIVeterinário foram analisadas através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizando como ponto de corte 1:50. A frequência de animais soropositivos foi de 8,46% (34/402). No presente estudo observou-se diferença significativa ( $p=0,014$ ) em relação à soropositividade em função da faixa etárias, onde animais com idade  $\leq 10$  anos tiveram 2,35 mais

chances de se tornarem infectados, quando comparados com animais mais novos. Os resultados obtidos evidenciam o primeiro relato da presença da exposição de cães a *N. caninum* na região estudada.

PALAVRAS-CHAVE. Cães, *Neospora caninum*, frequência, RIFI, Rio de Janeiro.

## INTRODUÇÃO

*Neospora caninum* é um protozoário do filo Apicomplexa, família Sarcocystidae, intracelular obrigatório, formador de cisto. Este protozoário infecta canídeos domésticos e selvagens, ruminantes e equinos (McAllister et al. 1998). Todos os pro-

\* Recebido em 11 de outubro de 2013.

Aceito para publicação em 12 de novembro de 2013.

<sup>1</sup> Médica-veterinária. MSc. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Anexo 1 do Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. <sup>+</sup>Autora para correspondência, E-mail: liannavet@yahoo.com.br - bolsista FAPERJ.

<sup>2</sup> Médico-veterinário. DSc. CTIVeterinário, Avenida das Américas, 3939, Shopping Esplanada - Bl.2 Lj. 1, Barra da Tijuca, RJ 22631-000, Brasil. E-mail: paulodaniel@ctiveterinario.com.br

<sup>3</sup> Biólogo, PhD. Departamento de Parasitologia Animal (DPA), IV, Anexo 1, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: leira@ufrj.br

<sup>4</sup> Médico-veterinário. PhD, LD, DPA, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7. Seropédica, 23897-970, RJ. E-mail: lopescw@ufrj.br - bolsista CNPq.

tozoários da família Sarcocystidae têm carnívoros como hospedeiros definitivos (HD) e uma ou mais espécies de possíveis presas como hospedeiros intermediários (HI). Assim como *Toxoplasma gondii*, necessita de dois hospedeiros. Cães, coiotes, dingos e lobos cinzentos foram os principais HD já confirmados para *N. caninum*, podendo eliminar oocistos nas fezes (McAllister et al. 1998, Gondim et al. 2004, Wapenaar et al. 2006, King et al. 2010, Dubey et al. 2011).

Hospedeiros definitivos e intermediários silvestres representam um importante papel na epidemiologia da neosporose, por contaminar o ambiente, ou servindo como reservatório, influenciando consideravelmente a ocorrência da doença nos animais domésticos (Sobrino et al. 2008, Reiterová et al. 2009, André et al. 2010, Goodswen et al. 2013).

Em casos de cães portadores de *N. caninum*, observaram-se a concomitância de outros agentes etiológicos (Bresciani et al. 2007, Guimarães et al. 2009, Coelho et al. 2013), onde a imunossupressão natural ou iatrogênica pode acentuar a infecção. A transmissão congênita é uma das formas mais importantes de infecção. Cadelas infectadas podem transmitir esse agente etiológico para os seus fetos e, ninhadas sucessivas dessa mesma cadela podem nascer infectadas. Não existem evidências de que haja predisposição racial ou de sexo para essa enfermidade (Dubey & Lindsay 1996).

Cães de qualquer idade podem desenvolver sinais clínicos da neosporose (Bjerkas et al. 1984, Dubey 2003), entretanto, são em sua maioria hospedeiros assintomáticos (Pasquali et al. 1998). Porém, a neosporose clínica em animais adultos pode ocorrer em função da reativação de uma infecção anterior, associada a imunossupressão causada por vacinação com vírus atenuado. Entretanto, Barber & Trees (1996) indicaram que esse coccídeo pode ser encontrado em vários órgãos (coração, pulmões e fígado) durante a fase aguda e somente restrita ao SNC, na fase crônica (Patitucci et al. 1997).

Não há relatos de casos da doença em humanos, embora já tenham sido detectados anticorpos para *N. caninum* em pacientes HIV positivo e evidência sorológica de exposição a *N. caninum* (Lobato et al. 2006), sem contudo associá-lo como uma infecção zoonótica.

O presente trabalho tem como objetivo verificar a frequência de anticorpos contra *N. caninum* através da RIFI em cães da Barra da Tijuca, município do Rio de Janeiro, RJ, e determinar a importância

das diferentes faixas etárias como fator de risco ao agente etiológico estudado.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 402 amostras da soroteca do Centro de Terapia e Emergência Veterinária Ltda (CTI Veterinário), situado na avenida das Américas, 3939 bloco 2 loja I, Barra da Tijuca, município do Rio de Janeiro, RJ. Estas amostras foram obtidas atendendo aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais, de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal atendendo ao CEUA/IV/UFRRJ n. 044/2014. Os exames sorológicos e a análise dos dados obtidos foram realizados no Laboratório de Coccídios e Coccidioses (LCC), DPA/IV/UFRRJ, Campus Seropédica, RJ.

No LCC, os soros foram acondicionados em criotubos de 2 ml, em duplicata, identificados e mantidos sob a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento da realização da sorologia. Foi utilizada a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (Camargo, 1974) em microscópio triocular Epifluorescente modelo Lab. A1 Axio Zeiss (RFA) com ponto de corte de 1:50 (Dubey et al. 1998). As lâminas para realização da RIFI, com taquizoítas de *N. caninum*, foram obtidas da empresa IMUNODOT Diagnósticos Ltda (Riberão Preto, SP) e o conjugado (anti-IgG canino marcado com isotiocianato de fluoresceína da Sigma-Aldrich, (São Paulo, SP), diluição de 1:32 em PBS estéril com pH de 7,4.

Para análise estatística, um banco de dados foi montado com os questionários dos 402 animais, utilizando-se o programa Epi Info 7 ([www.cdc.gov](http://www.cdc.gov)), no qual foi realizado o teste exato de Fisher (Sampaio 1998) com nível de significância estabelecido em 5%, para avaliar a associação da soropositividade em função da idade.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Este é o primeiro relato de ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães da Zona Oeste da cidade do Rio de Janeiro, RJ. Através da RIFI, foram observados anticorpos contra *N. caninum* em 8,46% (34/402) dos animais. O percentual de animais positivos foi bem variado (Dubey & Lindsay 1996, Rasmussen & Jensen 1996, Sawada et al. 1998, Patitucci et al. 2001, Hornok et al. 2006, Reiterová et al. 2009), inclusive em diferentes regiões do Brasil. Souza et al. (2002) no Paraná observou que 21,6% dos cães da área rural; Azevedo et al. (2005) observaram que 8,4% dos cães de Campina Grande, PB; Cunha Filho et al. (2008) em Pelotas, RS, 5,5% (6/109) nos cães urbanos; Lavras, MG, Guimarães et al. (2009) encontraram 3,1% de animais positivos; na região da Serra de Botucatu, SP, Moraes et al. (2008) observaram 25,8%, enquanto que Benetti et al. (2008) em Cuiabá, MT, detectaram a presença deste agente etiológico em 45% dos animais. Essa variação foi menos acentuada em animais de áreas urbanas, inclusive em animais mantidos domiciliarmente como o observado neste trabalho.

Dos 402 animais avaliados, a idade se mostrou como um fator predisponente, pois quanto mais velhos os animais mais susceptíveis a exposição ao patógeno (Tabela 1). e, dentro os positivos, apenas dois dos animais tiveram sinais clínicos neurológicos.

Com os resultados obtidos neste trabalho, observou-se que em animais domiciliados a frequência de animais sororreagentes a *N.caninum* foi baixa. Apesar de baixa, esta frequência aumentou com a idade, por se observar um maior número de animais positivos entre os mais velhos. Apesar de só haver dois dos animais sororreagentes a *N. caninum* com quadro clínico neurológico, seria recomendável a inclusão do diagnóstico desse agente etiológico no diagnóstico diferencial entre as doenças neurológicas em cães atendidos em clínicas veterinárias.

**Agradecimentos.** Ao CTI-Veterinário por ceder gentil-

Tabela 1. Importância da faixa etária em cães sororreagentes a *Neospora caninum* na região metropolitana do Rio de Janeiro, RJ.

Características	Animais		Valor de p	RR <sup>a</sup>	IC 95% <sup>b</sup>
	Sorologia <sup>c</sup>	Valores			
3 meses – ≤10 anos	Negativa: Positiva:	249 (62) <sup>d</sup> 16 (04)	0,0221	1,082	1,007 a 1,162
>10 – 19 anos	Negativa: Positiva:	19 (30) 18 (04)			
Total		402 (100)			

<sup>a</sup> RR= Risco relativo; <sup>b</sup> Usando aproximação de Katz; <sup>c</sup> RIFI; <sup>d</sup> Valores relativos em percentagem.

mente a soroteca e as informações clínicas dos 402 cães para serem utilizadas nesse trabalho e ao CNPq pelo apoio prestado a esta pesquisa.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andre M.R., Adania C.H., Teixeira R.H.F., Silva K.F., Jusi M.M.G., Machado S.T.Z., de Bortolli C.P., Falcade M., Sousa L., Alegretti S.M., Felipe P.A.N., & Machado R.Z. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in Captive Neotropical and Exotic Wild Canids and Felids. *J. Parasitol.*, 96:1007-1009, 2010.

Azevedo S.S., Batista C.S.A., Vasconcellos S.A., Aguiar D.M., Ragozo A.M.A., Rodrigues A.A.R., Alves C.J. & Gennari S.M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Res. Vet. Sci.* 79:51-56, 2005.

Barber J.S. & Trees A. J. Clinical aspects of 27 cases of neosporosis in dogs. *Vet. Rec.*, 139:439-443, 1996.

Benetti A.H., Toniollo G.H., Santos T.R., Gennari S.M., Costa A.J. & Dias R.A. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora Caninum* em cães no Município de Cuiabá, Mato Grosso. *Cienc. Anim. Bras.*, 9:177-180, 2008.

Bjerkas L., Mohn S.F. & Presthus J. Unidentified cyst-form-

ing Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenk.*, 70:271-274, 1984.

Bresciani K.D.S., Costa A.J., Nunes C.M., Serrano A.C.M., Moura A.B., Stobbe N.S., Perri S.H.V., Dias R.A. & Gennari S.M. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em cães de Araçatuba-SP. *Ars Vet.*, 23:40-46, 2007.

Camargo M.E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Rev. Bras. Patol. Clin.* 10:143-169, 1974.

Coelho W.M.D., Apolinário Coelho J., Teixeira W.F.P., Coelho N.M.D., Oliveira G.P., Lopes W.D.Z., Cruz B.C., Maciel W.G., Soares V.E. & Bresciani K.D.S. Detection of co-infections by *Leishmania (L.) chagasi*, *Trypanosoma evansi*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs. *Ars Vet.*, 29:169-174, 2013.

Cunha Filho N.A., Lucas A.S., Pappen F.G., Ragozo A.M.A., Gennari S.M., Lúcia Junior T. & Farias N.A.R. Fatores de risco e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, BRASIL. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17(supl.1):301-306, 2008.

Dubey J.P. & Lindsay D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 67:1-59, 1996.

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. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 193:1259-1263, 1988.

Dubey J.P. *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, 41:1-16, 2003.

Dubey J., Jenkins M., Rajendran C., Miska K., Ferreira L., Martins J., Kwok O. & Choudhary S. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. *Vet. Parasitol.*, 181:382-387, 2011.

Gondim L.F.P., McAllister M.M., Pitt W.C. & Zemlicka D.E. Coyotes (*Canis latrans*) are definite hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 34:159-161, 2004.

Goodswen S., Kennedy P. & Ellis J. A Review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: From the past to the present. *Infect. Gen. Evol.*, 13:133-150, 2013.

Guimarães A.M., Rocha C.M.B.M., Oliveira T.M.F.S., Rosado I.R., Morais L.G., Santos R.R.D. Fatores associados à soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em cães atendidos em nove clínicas veterinárias do município de Lavras, MG. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 18(supl. 1):49-53, 2009.

Hornok S., Edelhofer R., Fok É., Berta K., Fejes P., Répási A. & Farkas R. Canine neosporosis in Hungary: Screening for seroconversion of household, herding and stray dogs. *Vet. Parasitol.*, 137:197-201, 2006.

King J.S., Šlapeta J., Jenkins D.J., Al-Qassab S.E., Ellis J.T. & Windsor P.A. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 40:945-950, 2010.

Lobato J., Silva D.A.O., Mineo T.W.P., Amaral J.D.H.F., Segundo G. R.S., Costa-Cruz J.M., Ferreira M.S., Borges A.S. & Mineo J.R. Detection of Immunoglobulin G antibodies to *Neospora caninum* in humans: high seropositivity rates in patients who are infected by human immunodeficiency virus or have neurological disorders. *Clini. Vac. Immunol.*, 13:84-89, 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*. *Int. J. Parasitol.*, 28:1473-1478, 1998.
- Moraes C.C.G., Megid J., Pituco E.M., Okuda L.H., Del Fava C., de Stefano E. & Crocci A.J. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da microrregião da Serra de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 3(17):1-6, 2008.
- Pasquali P., Mandara M.T., Adamo F., Ricci G., Polidori G.A. & Dubey J.P. Neosporosis in a dog in Italy. *Vet. Parasitol.*, 77:297-299, 1998.
- Patitucci A.N., Pérez M.J., Rozas M.A. & Israel K.F. Neosporosis canine: detection of sera antibodies in rural and urban canine population of Chile. *Arch. Med. Vet.*, 33:227-232, 2001.
- Rasmussen K. & Jensen A.L. Some epidemiologic features of canine neosporosis in Denmark. *Vet. Parasitol.*, 62:345-349, 1996.
- Reiterová K., Špilovská S., Antolová D. & Dubinský P. *Neospora caninum*, potential cause of abortions in dairy cows: The current serological follow-up in Slovakia. *Vet. Parasitol.*, 159:1-6, 2009.
- Sampaio I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. FEPMVZ, Belo Horizonte, 1998. 221p.
- Sawada M., Park C.H., Kondo H., Morita T., Shimada A., Yamane I. & Umemura T. Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. *J. Vet. Med. Sci.*, 60:853-854, 1998.
- Sobrino R., Dubey J.P., Pabón M., Linarez N., Kwok O.C., Millán J., Arnal M. C., Luco D. F., López-Gatius F., Thulliez P., Gortázar C. & Almería S. *Neospora caninum* antibodies in wild carnivores from Spain. *Vet. Parasitol.*, 155:190-194, 2008.
- Souza S.L.P., Guimarães Jr J.S., Ferreira F., Dubey J.P. & Gennari S.M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Parana. *J. Parasitol.*, 88:408-409, 2002.
- Wapenaar W., Jenkins, M.C., O'Handley R.M. & Barkema H.W. *Neospora caninum*-like oocysts observed in feces of free-ranging red foxes (*Vulpes vulpes*) and coyotes (*Canis latrans*). *J. Parasitol.*, 92:1270-1274, 2006.
- Guimarães A.M., Rocha C.M.B.M., Oliveira T.M.F.S., Rosado I.R. Morais L.G. & Santos R.R.D. Fatores associados à soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em cães atendidos em nove clínicas veterinárias do município de Lavras, MG. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 18(supl. 1):49-53, 2009.