

SOROPOSITIVIDADE PARA *Neospora caninum* E ASSOCIAÇÃO AO ABORTAMENTO E NATIMORTOS EM REBANHOS LEITEIROS DO SUDESTE DA BAHIA, BRASIL*

Neospora caninum SEROPOSITIVITY AND ASSOCIATION WITH ABORTIONS AND STILLBIRTHS IN DAIRY CATTLE FROM SOUTHEASTERN BAHIA, BRAZIL

Gideão da Silva Galvão¹, Luís Fernando Pita Gondim², Maria Júlia Salim Pereira³, Uillians Volkart de Oliveira⁴ e Alexandre Dias Munhoz⁵

ABSTRACT. Galvão, G.da S., Gondim, L.F.P., Pereira, M.J.S., de Oliveira, U.V. & Munhoz, A.D. [*Neospora caninum* seropositivity and association with abortions and stillbirths in dairy cattle from Southeastern Bahia, Brazil]. Soropositividade para *Neospora caninum* e associação ao abortamento e natimortos em rebanhos leiteiros do sudeste da Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33(4):234-237, 2011. Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Rodovia Ilhéus-Itabuna, Km 16, Salobrinho, Ilhéus, 45662000, BA, Brasil. E-mail: munhoz@uesc.br

This study aimed to determine the presence of antibodies against *Neospora caninum* and the association between seropositivity and cases of abortion and stillborn in dairy cattle belonging to the Southeast of Bahia, Brazil. Serum samples were collected from 755 cattle with ages equal or superior to five months. Serology was performed by an indirect immunofluorescence test with a cutoff of 1:200. The Fisher exact test was used with a significance level of 5% to determine the association between seropositivity and cases of abortion and stillborn calves. The frequency of seropositive animals in herds was 13% (98/755), with titles ranging from 1:200 to 1:3200. Antibodies against *N. caninum* were detected in 18 (94.7%) of 19 farms, with positivity ranging from 1.1 to 63.6%. The history of abortion ($p=0.005$) and stillbirth ($p=0.012$) were significantly associated with seropositivity, being respectively, 3.76 and 7.44 times more frequent in seropositive cows. The results show the exposure of cattle to *N. caninum* in the studied microrregion and indicate that neosporosis should be included in the differential diagnosis of bovine abortion in the region.

KEY WORDS. Cattle, neosporosis, prevalence.

RESUMO. Este estudo teve como objetivo verificar a presença de anticorpos contra *Neospora caninum* e a associação entre a soropositividade e os

casos de abortamentos e de bezerras natimortos em rebanhos leiteiros pertencentes à região Sudeste da Bahia, Brasil. Amostras de soro de 755 bovinos

*Recebido em 02 de março de 2011.

Aceito para publicação em 30 de junho de 2011.

¹Médico-veterinário. *M.Ci.Ani.*, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR-465 km-07, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: galvaovet@gmail.com - bolsista CAPES

²Médico-veterinário. *PhD*, Departamento de Patologia e Clínicas, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Av. Ademar de Barros, 500, Ondina, Salvador, BA 40170-110, Brasil. E-mail: pita@ufba.br

³Médica-veterinária. *Dr.Ci.Ani.*, Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRRJ, BR-465 km-07, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: m.salim@ufrj.br

⁴Médico-veterinário. Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000. - bolsista CNPq. E-mail: uvolkart@hotmail.com

⁵Médico-veterinário. *Dr.CsVs*, Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, UESC, Rodovia Ilhéus-Itabuna, km 16, Salobrinho, Ilhéus, BA 45662-000. E-mail: munhoz@uesc.br

com idades a partir de cinco meses foram submetidas à técnica de reação de imunofluorescência indireta com ponto de corte de 1:200. O teste exato de Fisher foi utilizado com nível de significância de 5%. A frequência de animais soropositivos nos rebanhos foi de 13% (98/755), com títulos variando de 1:200 a 1:3200. Anticorpos contra-*N. caninum* foram detectados em 18 (94,7%) das 19 propriedades, com positividade variando de 1,1 a 63,6%. O histórico de abortamento ($p=0,005$) e a ocorrência de natimortos ($p=0,012$) foram significativamente associados à soropositividade, sendo respectivamente, 3,76 e 7,44 vezes mais frequente em vacas soropositivas. Os resultados obtidos evidenciam a exposição de bovinos ao agente na microrregião estudada, devendo-se incluir o parasito no diagnóstico diferencial nos possíveis casos de abortamento bovino na região.

PALAVRAS-CHAVE. Bovinos, neosporose, prevalência.

INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um protozoário intracelular obrigatório, que infecta diversos mamíferos e aves (Dubey 2003, Dubey et al. 2007, Costa et al. 2008). Em bovinos Thilsted & Dubey (1989) detectaram *N. caninum* em um rebanho com histórico de aborto persistente no Novo México, EUA e, desde então, o parasito é apontado como uma das principais causas de abortamento bovino em todo o mundo (Dubey 2003).

O abortamento é o único sintoma de neosporose em vacas adultas, ocorrendo com maior frequência entre 5° e 6° mês de gestação. Nestas circunstâncias, o feto pode morrer no útero, ser absorvido, mumificado, autolisado, natimorto; podendo nascer vivo doente ou normal, porém cronicamente infectado (Dubey 2003).

As prevalências de anticorpos anti-*N. caninum* encontradas em propriedades leiteiras em alguns estudos do Brasil e no mundo variam de 2,9 a 89% (Gondim et al. 1999, Dijkstra et al. 2001, Canada et al. 2004, Bartels et al. 2006, Munhoz et al. 2006) e a presença do agente associado a ocorrência de abortamento é descrita por vários autores (Bartels et al. 1999, Wouda et al. 1999, Corbellini et al. 2002).

Bovinos infectam-se por ingestão de oocistos esporulados no ambiente (De Marez et al. 1999) ou por transmissão transplacentária, que se refere a passagem do parasito via placenta de uma vaca com infecção persistente para o feto (Trees & Williams 2005).

Embora a neosporose seja um problema comum em muitos países com produção leiteira intensiva (Dubey 2003), envolvendo animais de origem europeia (Bartels et al. 2006), poucas são as pesquisas em vacas leiteiras mestiças que passam por pouca pressão produtiva, o que motivou a realização deste estudo, cujo objetivo foi verificar a presença de anticorpos contra *N. caninum* em rebanhos leiteiros do Sudeste da Bahia, Brasil e sua associação com casos de abortamentos e natimortos.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos municípios de Ilhéus e Itabuna, inseridos na Microrregião Ilhéus-Itabuna (Altitude de 47 m; Latitude Sul 14°70' e Longitude Oeste 39°03'), no Estado da Bahia no período de março de 2008 a outubro de 2009. Foi utilizada uma amostra não probabilística de 755 animais, com idade mínima de cinco meses, provenientes de 19 propriedades leiteiras selecionadas a partir do cadastro da Agência de Defesa Agropecuária do Estado da Bahia (ADAB). Em cada propriedade foram coletadas amostras de pelos menos 20% do rebanho (Wouda et al. 1999). Critérios, como histórico de abortamento ou problemas reprodutivos, não foram utilizados na seleção dos animais.

A coleta de sangue foi realizada por punção das veias jugular ou coccígea, utilizando-se tubo sem anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 350 x g por 10 minutos, para obtenção do soro e, posteriormente realizada a reação dede imunofluorescência indireta (RIFI), segundo Yamane et al. (1997), com ponte de corte de 1:200 (Dubey & Lindsay 1996).

Uma entrevista semi-estruturada foi realizada, com os responsáveis das propriedades, para obtenção de dados sobre a ocorrência de abortos e de natimortos e um banco de dados foi montado no programa EPI INFO 3.5.1 (Dean & Arnet 2008), no qual foi realizado o teste exato de Fisher (Sampaio 1998) com nível de significância estabelecido em 5%, para avaliar a associação da soropositividade com a presença de abortamentos e bezerros natimortos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, dos 755 soros testados, 13% (98/755) foram positivos para anticorpos contra-*N. caninum* (Tabela 1), sendo 67 vacas, cinco novilhas e 26 bezerros. Os títulos variaram de 1:200 a 1:3200 e 94,7% (18/19) das propriedades apresentaram ao

Tabela 1. Frequência de bovinos soropositivos para *Neospora caninum*, distribuídos por propriedades, na microrregião Ilhéus-Itabuna, Estado da Bahia

Fazenda	Número de Bovinos examinados	Positivos	Porcentagem	Total de bovinos por propriedade
1	11	7	63,6	14
2	44	13	29,5	66
3	55	7	12,7	250
4	94	1	1,1	203
5	22	3	13,6	43
6	24	2	8,3	41
7	27	4	14,8	45
8	12	2	16,7	18
9	88	7	8	216
10	73	16	21,9	133
11	35	6	17,1	120
12	47	4	8,5	67
13	14	3	21,4	60
14	29	2	6,9	42
15	129	15	11,6	277
16	12	3	25	33
17	4	1	25	18
18	18	0	0	52
19	17	2	11,8	66
Total	755	98	13	1764

menos um animal positivo, o que evidencia uma ampla exposição do parasito nos rebanhos. Estes resultados são semelhantes aos observados por Gondim et al. (1999), Corbellini et al. (2006) e Munhoz et al. (2006).

Valores mais altos de soropositividade foram relatados na Holanda com 39,4% de reagentes (Dijkstra et al. 2001), Alemanha 49%, Espanha 63%, Holanda 76% (Bartels et al. 2006) e na Califórnia 45% (Anderson et al. 1995). Embora o processo de amostragem e o tamanho de amostra devam ser considerados, tal diferença pode ser atribuída a um maior nível de tecnificação das propriedades que, possuem animais de maior produtividade e que sofrem maior pressão produtiva, estando estes propensos ao recrudescimento da infecção e justificando a diferença nos resultados.

Por outro lado, as diferenças nos padrões raciais, no manejo e no sistema de criação, bem como diferenças regionais e climáticas, interferem diretamente na dinâmica da infecção por *N. caninum*, o que dificulta uma comparação direta dos estudos, assim como o uso de diferentes provas sorológicas e pontos de corte distintos (Dubey et al. 2007).

No presente estudo, os dados sobre o histórico de abortos e natimortos foram obtidos de 418 e 408 vacas, respectivamente. O histórico de abortamento foi relatado em 4,78% (20/418) e de natimortos em 1,71% (7/408). Observou-se uma associação significativa entre a exposição ao agente e a presença de abortos ($p=0,005$) e a ocorrência de natimortos ($p=0,012$). O histórico de abortamento foi 3,76 vezes mais frequente em vacas soropositivas em rela-

ção às soronegativas, o que se assemelha aos estudos de Paré et al. (1997) e Wouda et al. (1998). A presença de natimortos relatada foi 7,44 vezes mais frequente em vacas soropositivas (Tabela 2).

Tabela 2. Número de bovinos segundo diagnóstico sorológico para *Neospora caninum* e histórico de aborto nos bovinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia.

<i>Neospora caninum</i>	Aborto		Total
	Presença	Ausência	
+	8	55	62
-	12	343	346
Total	20	398	418

$p=0,005$

Tabela 3. Número de bovinos segundo diagnóstico sorológico para *Neospora caninum* e histórico de natimortos nos bovinos na microrregião de Ilhéus e Itabuna, Estado da Bahia.

<i>Neospora caninum</i>	Natimorto		Total
	Presença	Ausência	
+	4	58	62
-	3	343	346
Total	7	401	408

$p=0,012$

Os estudos que evidenciam a associação do agente aos abortamentos bovinos e casos de natimortos, em geral utilizam animais de origem europeia criados em sistema intensivo de produção. Desta forma, embora no presente trabalho também tenham sido identificadas estas associações, o mesmo foi realizado em rebanhos constituídos por animais mestiços e, em sistemas de manejo em que a pressão produtiva e conseqüentemente o estresse tendem a ser menores; isso pode justificar o baixo número de relatos de abortamentos nestes animais (Tabela 2), e reforça o fato que o abortamento é um fenômeno multifatorial. Torna-se, portanto, necessária a realização de estudos que avaliem a infecção por *N. caninum* em rebanhos mestiços associados aos quadros de abortamento.

Logo, a possibilidade de exposição de bovinos ao protozoário *N. caninum*, a ampla distribuição nos rebanhos estudados e a associação com os casos de abortamentos e natimortalidades remetem a necessidade de inclusão do parasito no diagnóstico diferencial nos casos de abortamento nos rebanhos leiteiros do sudeste da Bahia.

Agradecimentos. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Programa Nacional de Cooperação Acadêmica - Novas Fronteiras (PROCAD nº 1512/2007 - NF/CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) e Universidade Federal da Bahia (UFBA).

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. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 207:1206-1210, 1995.
- Bartels C.J.M., Wouda W. & Schukken Y.H. Risk factors for *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in the Netherlands (1995–1997). *Theriogenology*, 52: 247-257, 1999.
- Bartels C.J.M., Ruiz-Santa-Quitera J.A., Arnaiz-Seco I., Björkman C., Frössling J., Von Blumröder D., Conraths F.J., Schares G., Van Maanen C., Wouda W. & Ortega-Mora L.M. Supranational comparison of *Neospora caninum* seroprevalences in cattle in Germany, The Netherlands, Spain and Sweden. *Vet. Parasitol.*, 137:17-27, 2006.
- Canada N., Carvalheira J., Meireles C.S., Correia da Costa J.M. & Rocha A. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dairy cows and its consequences for reproductive management. *Theriogenology*, 62:1229-1235, 2004.
- 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. *Vet. Parasitol.*, 103:195-202, 2002.
- Corbellini L.G., Smith D.R., Pescador C.A., Schmitz M., Correa A., Steffen D.J. & Driemeier D. Herd-level risk factors for *Neospora caninum* seroprevalence in dairy farms in southern Brazil. *Prev. Vet. Med.*, 74:130-141, 2006.
- Costa K.S., Santos S.L., Uzêda R.S., Pinehiro A.M., Almeida M.A.O., Araújo F.R., McAllister M.M. & Gondim L.F.P. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 38:157-159, 2008.
- Dean A.G. & Arner T. Epi Info: Epidemiology of program office. Disponível em: <http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>. Acesso em: 20 ago. 2008
- De Marez T., Liddell S., Dubey J.P., Jenkins M.C. & Gasbarre L. Oral infection of calves with *Neospora caninum* oocysts from dogs: Humoral and celular immune responses. *Int. J. Parasitol.*, 29:1647-1657, 1999.
- Dijkstra Th., Barkema H.W., Eysker M. & Wouda W. Evidence of post-natal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. *Int. J. Parasitol.*, 31:209-215, 2001.
- Dubey J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, 41:1-16. 2003.
- Dubey J.P. & Lindsay D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 67:1-59. 1996.
- Dubey J.P., Schares G. & Ortega-Mora L.M. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 20:323-367, 2007.
- Gondim L.F.P., Sartor I.F., Hasegawa M. & Yamane I. Sero-prevalence of *Neospora caninum* in dairy cattle in Bahia, Brazil. *Vet. Parasitol.*, 86:71-75, 1999.
- Munhoz A.D., Flausino W., Silva R., Almeida C.R.R. & Lopes C.W.G. Distribuição de anticorpos contra *Neospora caninum* em vacas leiteiras dos municípios de Resende e Rio Claro, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 15:101-104, 2006.
- Paré J., Thurmond M.C. & Hietalla S.K. *Neospora caninum* antibodies in cows during pregnancy as a predictor of congenital infection and abortions. *J. Parasitol.*, 83:82-87, 1997.
- Sampaio I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, Belo Horizonte. 1998. 221p.
- Trees A.J. & Williams D.J. Endogenous and exogenous trans-placental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Trends Parasitol.*, 21:558-561, 2005.
- Thilsted J.P. & Dubey J.P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. *J. Vet. Diagn. Invest.* 1:205-209, 1989.
- Wouda W., Moen A.R. & Schukken Y.H. Abortion risk in progeny of cows that experienced a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*, 49:1311-1316, 1998.
- Wouda W., Bartels C.J.M. & Moen A.R. Characteristics of *Neospora caninum*-associated abortion storms in dairy herds in The Netherlands (1995-1997). *Theriogenology*, 52:233-245, 1999.
- Yamane I., Kokuho T., Shimura K., Eto M., Shibahara T. & Haritani M. In vitro isolation and characterization of a bovine *Neospora* species in Japan. *Res. Vet. Sci.*, 63:77-80, 1997.