

## PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Neospora caninum* EM CAPRINOS NO ESTADO DE ALAGOAS, BRASIL

Giulliano Aires Anderlini<sup>1</sup>  
Eduardo Bento Faria<sup>2</sup>  
Aline Melo da Silva<sup>3</sup>  
José Wilton Pinheiro Júnior<sup>4</sup>  
Rômulo Menna Barreto Valença<sup>5</sup>  
Giovana Patrícia de Oliveira e Souza Anderlini<sup>6</sup>  
Rinaldo Aparecido Mota<sup>7</sup>

### RESUMO

Objetivou-se com este estudo determinar a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caprinos no estado de Alagoas, Brasil, além de identificar os fatores de risco associados à infecção pelo parasito. A pesquisa foi realizada em dez municípios, dos quais foram analisadas 24 propriedades de produção caprina com animais de aptidão mista. Foram coletadas amostras sanguíneas de 454 animais para pesquisa de anticorpos anti-*N. caninum* utilizando a técnica de Imunofluorescência Indireta. Em cada propriedade foi aplicado questionário investigativo com questões referentes ao sistema de produção e manejo nutricional, reprodutivo e sanitário. A soroprevalência encontrada foi de 5,3% com 62,5% das propriedades apresentando pelo menos um animal positivo. Não foi observada associação significativa para as variáveis referentes aos fatores de risco pesquisados. A existência de focos de infecção nas diferentes Mesorregiões do estado indica a presença de *N. caninum* nos rebanhos e a necessidade de diagnóstico do parasito em propriedades com histórico de distúrbios reprodutivos.

**Palavras-chave:** Neosporose, *Neospora caninum*, caprinos, sorodiagnóstico, fatores de risco.

## PREVALENCE OF ANTIBODIES ANTI- *Neospora caninum* IN GOATS IN THE STATE OF ALAGOAS, BRAZIL

### ABSTRACT

The objective of this work was to determine the prevalence and identify the risks concerning to *Neospora caninum* infection in goats of the state of Alagoas, Brazil. The research was performed on 24 farms of goat breeding from ten municipalities. A total of 454 sera sample from goats were examined by anti-*N. caninum* antibodies using an indirect immunofluorescence antibody test (IFAT). All farm were also investigated by questionnaires about system of production, nutritional, reproductive and sanitary management. The

<sup>1</sup> Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário CESMAC. [giulliano.anderlini@hotmail.com](mailto:giulliano.anderlini@hotmail.com) Rodovia Divaldo Suruagy, Marechal Deodoro/Alagoas.

<sup>2</sup> Doutorando do Programa de Pós-Graduação do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE. [edufarvet@gmail.com](mailto:edufarvet@gmail.com)

<sup>3</sup> Médica Veterinária Autônoma. Alagoas. [aline\\_zte@hotmail.com](mailto:aline_zte@hotmail.com)

<sup>4</sup> Professor Adjunto da Unidade Acadêmica de Garanhuns – Universidade federal Rural de Pernambuco/UAG-UFRPE. [jrwilton@uag.ufrpe.br](mailto:jrwilton@uag.ufrpe.br)

<sup>5</sup> Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário CESMAC. [rmbvalenca@ig.com.br](mailto:rmbvalenca@ig.com.br)

<sup>6</sup> Docente do Curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário CESMAC. [giosouza@msn.com](mailto:giosouza@msn.com)

<sup>7</sup> Professor Adjunto do Departamento de Medicina Veterinária - Universidade Federal Rural de Pernambuco/UFRPE. Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, CEP: 52171-900, Recife, PE, Brazil. Tel.: 81 3320-6425 Fax: 81 3320-6402. [rinaldo.mota@hotmail.com](mailto:rinaldo.mota@hotmail.com) **Autor para Correspondência.**

serological prevalence was 5.3% with 62.5% of farms presenting at least one seropositive animal. No significant association was observed to variables of risk factors searched in this study. The existence of infection foci in different mesoregions of the State indicate presence of *N. caninum* in farms and importance of diagnosis of neosporosis in farms with reproductive problems.

**Key words:** Neosporosis, *Neospora caninum*, goat, serological diagnosis, risk factors.

## PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-*Neospora caninum* EN CABRAS EN EL ESTADO DE ALAGOAS, BRASIL

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia e identificar los riesgos relacionados a infección por *Neospora caninum* en el ganado caprino en el estado de Alagoas, Brasil. La investigación fue realizada en 24 explotaciones de cabras con razas de doble propósito en diez ciudades. Un total de 454 muestras de sueros caprinos fueron examinados para la investigación de anticuerpos anti-*N. caninum* por la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta. También fueron aplicados cuestionarios sobre el sistema de producción, nutrición, manejo reproductivo y sanitario. La prevalencia de infección fue de 5,3% con 62,5% de las explotaciones con al menos un animal seropositivo. No se encontró asociación significativa entre las variables de los factores riesgo con la infección. La existencia de focos de infección en diferentes sitios del estado de Alagoas indica la presencia de *N. caninum* en los rebaños y la necesidad de un diagnóstico de parásitos en las propiedades con un historial de trastornos de la reproducción.

**Palabras-clave:** neosporosis, *Neospora caninum*, caprinos, serodiagnóstico, factores de riesgo.

### INTRODUÇÃO

A neosporose é reconhecida como protozoose causada pelo *Neospora caninum* (*N. caninum*) parasito intracelular obrigatório, pertencente ao filo Apicomplexa, família Sarcocystidae. A doença é descrita principalmente associada a casos de abortamentos e mortalidade neonatal em bovinos. *N. caninum* é considerado um dos patógenos mais eficientemente transmitidos pela via transplacentária nesta espécie (1). Entretanto, diversos estudos relataram o isolamento do agente em tecidos de ovinos (2), caprinos (3), búfalos (4) e animais silvestres (5,6) assumindo importância como doença da esfera reprodutiva nestas espécies.

Os hospedeiros intermediários (bovinos, cães, ovinos, caprinos e diversos animais silvestres) adquirem a infecção por ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados, caracterizando a transmissão horizontal ou pós-natal. No entanto, a transmissão transplacentária, também denominada transmissão vertical ou congênita, se caracteriza como a principal via para os bovinos e também foi demonstrada experimentalmente em outras espécies como cães (7,8) gatos (9), ovelhas (10) e camundongos (11).

Estudos de prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos foram realizados na América do Sul (12,13) e outros países como Sri Lanka (14) e Jordânia (15), porém ainda em número pouco expressivo se comparado ao número de investigações sorológicas da neosporose na espécie bovina.

Os principais fatores de risco para infecção por *N. caninum* em caprinos investigados nos estudos são: sexo (13) e a idade dos animais, presença de cães (15) e sistema de manejo nas propriedades (16).

Número restrito de casos de abortamentos ou doença congênita foram relacionados à infecção por *N. caninum* em caprinos. Deste modo, são necessários estudos para determinar o papel do agente como causa natural de abortamentos em pequenos ruminantes, notadamente em caprinos, visto que além do isolamento do parasito em produtos de abortamento e identificação de lesões placentárias em animais naturalmente infectados, tem-se observado recentemente que inoculações experimentais durante a gestação podem provocar condições semelhantes às observadas em bovinos (17-20).

O presente estudo investigou a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos no estado de Alagoas, bem como os fatores de risco associados à neosporose na espécie.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no estado de Alagoas que é dividido em três Mesorregiões: Leste Alagoano, Agreste Alagoano e Sertão Alagoano e em 13 Microrregiões Geográficas (21). Para efeito de cálculo da amostra, considerou-se prevalência esperada de 50%, limite de confiança mínima de 95% e erro estatístico de 5%. Com base nestes indicadores o tamanho amostral (n) mínimo para o estudo seria de 385 animais (22). No entanto, foram colhidas 454 amostras (40 machos e 414 fêmeas) procedentes de 24 propriedades em 10 municípios, para garantir a representatividade do estudo.

Os animais foram incluídos em três grupos etários: GI =  $\leq$  12 meses, GII = 13-24 meses e GIII =  $>$  24 meses. Quanto à região de origem, foram utilizados rebanhos oriundos de propriedades situadas nas três Mesorregiões alagoanas: Leste, Agreste e Sertão.

Para o exame sorológico foi utilizada a técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizando-se anticorpos anti-IgG-caprina conjugado ao isotiocianato de fluoresceína. Os testes foram realizados de acordo com o método descrito por Camargo (23). As reações sorológicas foram consideradas positivas quando apresentaram fluorescência total na diluição 1:50 (24).

Para o estudo dos fatores de risco foram aplicados questionários constituídos por perguntas objetivas, que contemplaram características gerais da propriedade e do rebanho, sistema de manejo, situação sanitária do rebanho e manejo reprodutivo. Para identificar os fatores de risco associados à infecção por *N. caninum* foi empregada a análise univariada para as variáveis de interesse pelo teste qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher (25). Utilizou-se o programa Epi-Info (26) para a execução dos cálculos estatísticos com nível de significância de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Das 454 amostras analisadas pela RIFI foi observado que 24 (5,3%) foram positivas e 430 (94,7%) negativas. Dentre os animais positivos, nove (37,5%) animais apresentaram título 50; dez (41,7%) título 100; quatro (16,7%) título 200 e um (4,1%) título 400.

Das 24 propriedades, 62,5% apresentaram pelo menos um animal positivo, enquanto dos dez municípios analisados, seis (60,0%) apresentaram animais soropositivos. Quanto ao sexo, as fêmeas apresentaram 5,3% de positividade e os machos 5,0%. Quanto às Mesorregiões, as prevalências foram de 4,6% no Leste, 6,0% no Agreste e 4,1% no Sertão.

O sistema de manejo extensivo foi o que apresentou maior prevalência (16,7%), seguido pelos sistemas semi-intensivo (5,0%) e intensivo (2,9%). Os rebanhos compostos por menos de 50 caprinos apresentaram 6,0% de animais positivos, enquanto plantéis entre 50-100

animais apresentaram 4,2%. Não foram observados animais positivos nos rebanhos com mais de 100 cabeças. Nas propriedades com menos de 30 hectares (ha) foi observado 5,5% de positividade, seguida por criatórios entre 30-200 ha (9,2%) e acima de 200 ha (3,0%).

Não foram observadas associações significativas na análise univariada para nenhuma das variáveis analisadas que incluíram idade e sexo dos animais, região, tamanho da propriedade, número de animais, sistema de criação, presença de cães nas propriedades, circulação de cães de propriedades vizinhas, acesso de cães aos locais de armazenagem de alimentos e presença de animais silvestres nas propriedades.

As variáveis relacionadas ao manejo reprodutivo e higiênico-sanitário também não foram significativas na análise univariada. Porém, das 24 propriedades, 15 (62,5%) apresentavam distúrbios reprodutivos, dos quais o abortamento foi o mais frequente (66,7%), seguido por retenção de placenta (6,7%).

Os fatores relacionados ao hospedeiro definitivo como presença de cães nas propriedades, circulação de cães de propriedades vizinhas, circulação de animais silvestres nas fazendas, além do acesso de cães aos locais de estocagem de alimentos também não foram significativas na análise univariada.

## DISCUSSÃO

A baixa prevalência encontrada neste estudo (5,3%) corrobora com os achados encontrados em estudos similares realizados no Brasil, que evidenciaram 6,4% em caprinos no estado de São Paulo (12), 3,3% na Paraíba (27), 1,05% no Rio Grande do Norte (28) e 1,96% na Bahia (29). Em contraste, estudo com caprinos leiteiros na Bahia observaram 15% de soropositividade (16). A prevalência no presente estudo assemelha-se à encontrada em outros países, como descrito por Naguleswaran et al. (14) no Sri Lanka (0,6%), Moore et al. (13) na Argentina (6,6%) e Al-Majali et al. (15) na Jordânia (5,7%).

Sharif et al. (30) realizaram estudo de soroprevalência em ovinos e caprinos para *T. gondii* no Iran e justificaram a baixa prevalência encontrada na espécie caprina pelo fato desses animais pastejarem a parte mais alta de gramíneas e pequenos arbustos, mantendo-se com a boca longe do solo e portanto com menor risco de ingestão de oocistos. De maneira similar, sugere-se que a baixa prevalência observada neste estudo, possa ser creditada aos animais das propriedades estudadas serem criados em regime extensivo e sem suplementação alimentar em comedouros. Este fato propiciaria o pastejo em gramíneas mais altas o que dificultaria o acesso aos oocistos do parasito presentes no solo.

Apesar de a prevalência geral neste estudo ter sido baixa, 15 (62,5%) propriedades apresentavam pelo menos um animal soropositivo, o que indica a presença do parasito nos rebanhos caprinos estudados. Al-Majali et al. (15) referiram que pequenos rebanhos apresentaram prevalência significativamente maior quando comparados a grandes rebanhos. Este achado foi atribuído ao fato das propriedades de maior porte apresentarem boas condições higiênico-sanitárias e de manejo e, portanto, melhores condições de promover sanidade do rebanho. No presente estudo, 15 propriedades possuíam rebanhos com menos de 50 animais (62,5%), indicando que após a infecção dos animais, mesmo pequenos rebanhos caprinos estão sujeitos aos prejuízos com a neosporose.

Embora não tenha sido significativa na análise univariada, observou-se maior prevalência (16,7%) de animais positivos criados em sistema de manejo extensivo. Observa-se a campo que em propriedades desta natureza os animais geralmente percorrem maiores distâncias na busca por alimentos. Nessas propriedades o controle de canídeos (domésticos e selvagens) deve ser realizado, pois os mesmos podem contaminar a pastagem (31).

A variável sexo neste estudo também não apresentou associação significativa em relação à infecção na análise univariada. Roberts et al. (32) afirmaram que sob condições

controladas de laboratório é evidente a dicotomia na suscetibilidade entre machos e fêmeas, demonstrando que as diferenças fisiológicas das fêmeas, como de caráter hormonal, desempenham papel importante na determinação da suscetibilidade às infecções parasitárias. Esse fato não foi verificado no presente estudo, indicando que no sistema de manejo extensivo outros fatores devem ser mais decisivos na infecção em detrimento de diferenças fisiológicas entre machos e fêmeas.

Não foi observada nas propriedades amostradas associação significativa para a infecção em relação às diferentes faixas etárias. Figliuolo et al. (12), Uzêda et al. (16) e Moore et al. (13) também não encontraram influência da idade dos animais na ocorrência da neosporose caprina, sugerindo que a transmissão vertical pode ser mais frequente que a horizontal na espécie. Entretanto, Al-Majali et al. (15) descreveram maior prevalência em animais com mais de quatro anos de idade, sinalizando a idade como fator de risco.

Dubey et al. (31) indicaram que o clima pode ser considerado como fator de risco para esporulação e sobrevivência dos oocistos de *N. caninum*, principalmente nos casos de temperatura elevada onde a esporulação dos oocistos pode ocorrer de forma mais rápida. Apesar da ausência de significância estatística entre as regiões de Alagoas estudadas, o clima do Nordeste brasileiro, de forma geral, é quente e úmido, sugerindo que existe certa tendência de que a transmissão da infecção nos rebanhos nordestinos possa ser favorecida pelas condições climáticas peculiares da região.

As variáveis relacionadas ao hospedeiro definitivo do parasito não foram significativas no presente estudo. Entretanto, a presença de cães é considerada fundamental para a infecção dos animais. Estudos recentes descrevem surtos epidêmicos de abortamentos por *N. caninum* em caprinos por transmissão horizontal mediante a contaminação do alimento dos animais com fezes de cães contendo oocistos (15, 16), reforçando a importância dos cães na cadeia epidemiológica da doença.

A existência de propriedades com casos de abortamentos e animais positivos para anticorpos anti-*N. caninum* verificada neste estudo indicam provável envolvimento do agente na ocorrência dos abortamentos. Contudo, o diagnóstico definitivo deve ser firmado por técnicas diretas de diagnóstico para demonstrar a presença do parasito nos fetos abortados, visando implementar medidas de controle e profilaxia possibilitando, assim, reduzir os prejuízos econômicos causados com a neosporose caprina. A infecção experimental de *N. caninum* em cabras gestantes induziu abortamentos, morte fetal e natimortos semelhante ao que ocorre em bovinos naturalmente infectados, reforçando a preocupação da neosporose como doença da esfera reprodutiva em caprinos e o impacto negativo da doença nos criatórios.

## CONCLUSÃO

O presente estudo investigou pioneiramente a prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em caprinos no estado de Alagoas. Embora não tenham sido identificados fatores de risco estatisticamente significantes relacionados à infecção, a existência de focos de infecção nas diferentes Mesorregiões do estado indica a presença do parasito nos criatórios, constituindo-se em agente infeccioso preocupante envolvido em distúrbios reprodutivos nos rebanhos caprinos na região estudada.

## REFERÊNCIAS

1. Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. Korean J Parasitol. 2003;41:1-16.

2. Woods LW, Anderson ML, Swift PK, Sverlow KW. Systemic neosporosis in a California black-tailed deer (*Odocoileus hemionus columbianus*). *J Vet Diagn Invest.* 1994;6:508-10.
3. Barr BC, Anderson ML, Woods LW, Dubey JP, Conrad PA. Neospora-like protozoal infections associated with abortion in goats. *J Vet Diagn Invest.* 1992;4:365-7.
4. Rodrigues AAR, Gennari SM, Aguiar DM, Sreekumar C, Hill DE, Miska KB, et al. Shedding of *Neospora caninum* oocysts by dogs fed tissues from naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) from Brazil. *Vet Parasitol.* 2004;124:139-50.
5. Ferroglio E, Wambwa E, Castiello M, Trisciuglio A, Prouteau A, Pradere E, et al. Antibodies to *Neospora caninum* in wild animals from Kenya, East Africa. *Vet Parasitol.* 2003;118:43-9.
6. Dubey JP, Thulliez P. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in wild animals. *J Parasitol.* 2005;91:1217-8.
7. Dubey JP, Lindsay DS. Transplacental *Neospora caninum* infection in dogs. *Am J Vet Res.* 1989;50:1578-9.
8. Cole RA, Lindsay DS, Blagburn BL, Sorjonen DC, Dubey JP. Vertical transmission of *Neospora caninum* in dogs. *J Parasitol.* 1995;81:208-11.
9. Dubey JP, Lindsay DS. Transplacental *Neospora caninum* infection in cats. *J Parasitol.* 1989;75:765-71.
10. McAllister MM, McGuire AM, Jolley WR, Lindsay DS, Trees AJ, Stobart RH. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. *Vet Pathol.* 1996;33:647-55.
11. Cole RA, Lindsay DS, Blagburn BL, Dubey JP. Vertical transmission of *Neospora caninum* in mice. *J Parasitol.* 1995;81:730-2.
12. Figliuolo LPC, Genari SM, Pena HFJ, Athayde ACR, Silva MLCR, Azevedo SS. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Rumin Res.* 2004;55:29-32.
13. Moore DP, Yaniz MG, Odeon AC, Cano D, Leunda MR, Spath EAJ, et al. Serological evidence of *Neospora caninum* infections in goats from La Rioja Province, Argentina. *Small Rumin Res.* 2007;73:256-8.
14. Naguleswaran A, Hemphill A, Rajapakse RP, Sager H. Elaboration of a crude antigen ELISA for serodiagnosis of caprine neosporosis: validation of the test by detection of *Neospora caninum*-specific antibodies in goats from Sri Lanka. *Vet Parasitol.* 2004;126:257-62.
15. Al-Majali AM, Jawasreh KI, Talafha HA, Talafha AQ. Neosporosis in sheep and different breeds of goats from southern Jordan: prevalence and risk factors analysis. *Am J Anim Vet Sci.* 2008;3:47-52.

16. Uzêda RS, Pinheiro AM, Fernández SY, Ayres MCC, Gondim LFP, Almeida MAO. Seroprevalence of *Neospora caninum* in dairy goats from Bahia, Brazil. *Small Rumin Res.* 2007;70:257-9.
17. Lindsay DS, Rippey NS, Powe TA, Sartin EA, Dubey JP, Blagburn BL. Abortions, fetal death, and stillbirths in pregnant pygmy goats inoculated with tachyzoites of *Neospora caninum*. *Am J Vet Res.* 1995;56:1176-80.
18. Dubey JP, Rigoulet J, Lagourette P, George C, Longeart L, LeNet JL. Fatal transplacental neosporosis in a deer (*Cervus eldi siamensis*). *J Parasitol.* 1996;82:338-9.
19. Corbellini LG, Colodel EM, Driemeier D. Granulomatous encephalitis in a neurologically impaired goat kid associated with degeneration of *Neospora caninum* tissue cysts. *J Vet Diagn Invest.* 2001;13:416-9.
20. Buxton D, McAllister MM, Dubey JP. The comparative pathogenesis of Neosporosis. *Trends Parasitol.* 2002;18:546-52.
21. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Brasil, Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão 2009. [cited 2009 Maio 16]. Available from: <<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/areaterritorial/principal.shtm>>.
22. Thrusfield MV. *Epidemiologia veterinária*. São Paulo: ROCA; 2004.
23. Camargo ME. Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Rev Bras Patol Clin.* 1974;10:143-71.
24. Helmick B, Otter A, McGarry J, Buxton D. Serological investigation of aborted sheep and pigs for infection by *Neospora caninum*. *Res Vet Sci.* 2002;73:187-9.
25. Zar JH. *Biostatistical analysis*. New Jersey: Prentice-Hall; 1999.
26. Dean AG, Dean JA, Coulomerier D, Brendel KA, Smith DC, Burto NAH, et al. *Epi Info, version 6: a word processing, data bases, and statistic program for epidemiology on microcomputers*. Center for Diseases Control and Prevention. Atlanta, Georgia, U.S.A.; 1994.
27. Faria EB, Gennari SM, Pena HF, Athayde AC, Silva ML, Azevedo SS. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Vet Parasitol.* 2007;149:126-9.
28. Lima JTR, Ahid SMM, Barrêto Júnior RA, Pena HFJ, Dias RA, Genari SM. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2008;45:81-6.
29. Silva MSA, Uzêda RS, Costa KS, Santos SL, Macedo ACC, Abe-Sandes K, et al. Detection of hammondia heydorni and related coccidia (*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*) in goats slaughtered in Bahia, Brazil. *Vet Parasitol.* 2009;162:156-9.

30. Sharif M, Gholami SH, Ziaei H, Daryani A, Laktarashi B, Ziapour SP, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran, during 2005. *Vet J.* 2007;174:422-4.
31. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20:323-67.
32. Roberts CW, Walker W, Alexander J. Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev.* 2001;14:476-88.

**Recebido em: 03/02/11**

**Aceito em: 17/10/11**