

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*NEOSPORA CANINUM* E ESTUDO DOS FATORES DE RISCO EM CÃES DE CUIABÁ E VARZÉA GRANDE-MT, ATENDIDOS EM HOSPITAL VETERINÁRIO

Michelle Igarashi¹
Luciana Aparecida dos Santos¹
Alexandre Mendes Amude¹
Livia Saab Muraro¹
Daniel Moura Aguiar²
Andréia Lima Tome Melo²
Thábata dos Anjos Pacheco²
Risía Lopes Negreiros³
Rafael Rodrigues da Silva¹

RESUMO

Neospora caninum é um protozoário intracelular obrigatório de distribuição mundial, responsável por doenças neuromusculares em cães. Os cães são os hospedeiros definitivos do *N. caninum* e são fundamentais na transmissão do parasito aos outros animais. Nos cães a neosporose é responsável por doenças neuromusculares, cardíacas, pulmonares e dérmicas. O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães atendidos na rotina hospitalar do Hospital Veterinário da Universidade de Cuiabá, assim como associar os principais fatores de risco para a infecção. Foram analisadas 199 amostras de soro de cães, por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com ponto de corte de 1:50. Dessas amostras 82,5% foram provenientes de Cuiabá, 15% do município de Várzea Grande e 2,3% de localidades vizinhas. Foram encontrados anticorpos anti-*N. caninum* em 31 amostras (15,6%) com títulos que variaram entre 50 e 1600. Das variáveis analisadas, somente tipo de alimentação (caseira ou mista) apresentou associação com a presença de anticorpos ($p < 0,05$). Os resultados indicam que os cães das localidades estudadas estão expostos ao *N. caninum* e que umas das medidas de controle da infecção deve incluir a uma alimentação restrita com ração comercial.

Palavras-chave: neosporose canina, imunofluorescência, alimentação.

OCURRENCE OF ANTIBODIES ANTI-*Neospora caninum* AND STUDY OF RISK FACTORS IN DOGS FROM CUIABÁ AND VÁRZEA GRANDE – MT, TREATED IN THE VETERINARY HOSPITAL

ABSTRACT

Neospora caninum is an obligate intracellular protozoan of worldwide distribution, it is responsible for neuromuscular diseases in domestic dogs. Dogs are the definitive host of *N. caninum* and are fundamental in the parasite transmission to other animals. Neosporosis in dogs is responsible for the neuromuscular, heart, lung and dermal diseases. The purpose of this study was to determine the prevalence of anti-*N. caninum* antibody in dogs treated at the hospital routine, in the Veterinary Hospital of the University of Cuiabá, as well as associate

¹ Departamento Doenças Parasitárias de Animais, Medicina Veterinária Preventiva, Universidade de Cuiabá. Contato principal para correspondência.

² Universidade Federal de Mato Grosso

³ INDEA

its major risk factors to infection. 199 serum samples from dogs were analyzed by indirect immunofluorescence assay (IFA) with cut off of 1:50. 82.5 % of these samples were from Cuiabá, 15 % from Várzea Grande and 2.3 % from neighboring towns. Anti - *N. caninum* antibodies were found in 31 samples (15.6%) with titles ranging from 50 to 1600. From the variables only type of food (homemade or mixed) presented association to the presence of antibodies ($p < 0.05$). The results confirm that the dogs from these cities are exposed to *N. caninum* and that some of the control measures of the infection in the studied area would include a restricted feed of pet food.

Keywords: canine neosporosis, immunofluorescence, feed.

OCURRENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *Neospora caninum* Y ESTUDIO DE LOS FACTORES DE RIESGO EN PERROS EN CUIABÁ Y VARZEA GRANDE-MT, SERVIDO EN HOSPITAL VETERINARIO

RESUMEN

Neospora caninum es un protozoario intracelular obligatorio de distribución en todo el mundo, responsable de enfermedades neuromusculares en los perros domésticos. Los perros son considerados el huésped definitivo del *N. caninum* y son fundamentales en la transmisión de otros animales. La neosporosis en perros es responsable de las enfermedades neuromusculares, corazón, pulmón y dérmicos. El objetivo de este trabajo fue determinar la prevalencia de anti-*N. caninum* en perros tratados en la rutina del hospital, el Hospital Veterinario de la Universidad de Cuiabá, e involucrar a los principales factores de riesgo para la infección . 199 muestras de suero de los perros se analizaron mediante un ensayo de inmunofluorescencia indirecta (IFI) con punto de corte 1:50. El 82.5% de estas muestras eran de Cuiabá, el 15% de Varzea Grande, 2.3% de localidades vecinas. Se encontraron anticuerpos anti -*N. caninum* en 31 muestras (15.6%) con títulos que van de 50 a 1600. Sólo la variable tipo alimento (casero o mixto) se asoció con la presencia de anticuerpos ($p < 0,05$). Los resultados confirman que los perros están expuestos al *N. caninum* y que algunas de las medidas de control para la prevención de la infección incluye una ración de alimento restringido.

Palabras clave: neosporosis canina, inmunofluorescencia, pienso.

INTRODUÇÃO

Neospora caninum é um parasito coccídeo, obrigatoriamente intracelular, responsável pela neosporose, que tem emergido como uma grave doença em bovinos e cães de todos os continentes (1). Cães (*Canis lupus familiaris*) (2), coiotes (*Canis latrans*) (3), dingo (*Canis lupus dingo*) (4) e lobos cinzentos (*Canis lupus*) (5) são considerados os hospedeiros definitivos do *N. caninum* e importantes na transmissão do protozoário a outros animais. O agente é considerado umas das principais causas de abortos entre bovinos (1), e em cães a neosporose pode ocasionar alterações neuromusculares, cardíacas, pulmonares e lesões cutâneas (6,7).

No Brasil, a prevalência de anticorpos contra *N. caninum* pode variar de 4 a 54,2% em cães de diferentes regiões do país (8,9). A soroprevalência em cães revela índices que variam com o habitat, a idade, o convívio dos cães com bovinos, a dieta e a técnica sorológica utilizada, entre outros fatores (10). Segundo Sicupira et al. (11), Jesus et al. (12), Ferroglio et al. (13) e Wouda et al. (14) alguns fatores de risco como a ingestão de prováveis hospedeiros

intermediários pelos cães (roedores, pássaros e outros mamíferos), o consumo de alimentos caseiros crus ou mal cozidos, a ingestão direta de oocistos e o contato de cães e bovinos em áreas rurais que permitem a ingestão de membranas fetais e fluidos de animais infectados, podem contribuir para a transmissão horizontal do parasito aos cães.

Na região sudoeste do Estado de Mato Grosso, soroprevalência de 67,6% (37/25) de *N. caninum* foi relatada (15) em cães rurais, evidenciando a presença dos cães na epidemiologia dos bovinos e outras espécies animais da região.

O objetivo desse estudo foi investigar a ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães da área urbana de Cuiabá e Várzea Grande, Mato Grosso e identificar alguns fatores de risco (sexo, idade, procedência, raça) associados à presença de *N. caninum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Entre o período de janeiro de 2010 a julho de 2013 foram obtidas 199 amostras de soro de cães, de ambos os sexos e sem raça definida, atendidos na rotina da clínica médica de pequenos animais do Hospital Veterinário da Universidade de Cuiabá, UNIC. A população de cães hospitalares foi proveniente do município de Cuiabá e Várzea Grande. O programa Epi-Info 6.04 foi usado para o cálculo amostral com prevalência esperada de 50%, precisão mínima de 10% e intervalo de confiança (IC) de 95% de acordo com Thrusfield (16).

Durante a coleta de sangue, cada cão foi identificado e os proprietários foram convidados a responderem um questionário epidemiológico com informações sobre o animal e o ambiente. Desse questionário foram retiradas as variáveis: origem dos cães (urbanos, rurais ou periurbanos), raça, idade, sexo, tipo de alimentação (comercial, caseira+comercial, caseira), contato com bovinos ou outros hospedeiros intermediários (roedores, pássaros), hábitos de caça e observação de sinais neurológicos.

A pesquisa de anticorpos contra *N. caninum* foi realizada por meio da técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), utilizando como antígeno a cepa Nc-BAHIA de *N. caninum* segundo a técnica descrita por Thrusfield (16), com ponto de corte de 50. Em todas as lâminas foram adicionados como controle soros caninos positivos e negativos. As reações foram consideradas positivas, quando os taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total. Reações com fluorescência parcial ou apical foram interpretadas como negativas. As amostras consideradas positivas passaram por sucessivas diluições na razão dois para obtenção do título.

As análises de associação foram realizadas pelos testes de Qui-quadrado ou Exato de Fisher quando necessário ($p < 0,05$) para associar os resultados da sorologia com fatores de risco ou variáveis analisadas.

O procedimento de coleta de amostras foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Cuiabá (Registro nº 029 CEP/UNIC - protocolo nº 2010-020)

RESULTADOS

Os resultados mostram que *N. caninum* está presente em 15,6% (31/199) dos cães avaliados, com título de 50 em 4% (8/31) dos animais, 100 em 2% (4/31), 200 em 6,5% (13/31), 400 em 2,5% (5/31) e somente 1 dos 31 (0,5% cães apresentou título de 1600).

Os resultados de frequências e a análise de associação das diferentes variáveis com a sorologia para *N. caninum* estão apresentados na Tabela 1.

A análise das variáveis acesso à rua, hábitos de caça, ingestão de carne crua, ingestão de vísceras, origem, contato com outros cães, bovinos e roedores não apresentaram associação com a presença de anticorpos contra *N. caninum* ($p > 0,05$). Apenas a variável tipo de

alimentação mostrou-se significativa ($p=0,04$), indicando que em cães que se alimentam exclusivamente de comida caseira a soroprevalência foi maior.

Tabela 1. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães do município de Cuiabá e Várzea Grande-MT, e análise de associação com as variáveis estudadas.

| Fatores | Categoria | Cães positivos n (%) | Cães negativos n (%) | OR (95% IC) | P |
|-------------------------|-----------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|------|
| Acesso a rua | Sim | 15 (17) | 73 (82) | 1.22 (0.53-2.81) | 0.61 |
| | Não | 16 (14) | 95 (85) | | |
| Hábitos de caça | Sim | 5 (16.6) | 25 (83.3) | 1.10 (0.33-3.40) | 0.85 |
| | Não | 26 (17.1) | 143 (84.6) | | |
| Ingestão de carne crua | Sim | 5 (11.3) | 39 (88.6) | 0.66 (0.21-1.98) | 0.42 |
| | Não | 26 (16.7) | 129 (83.8) | | |
| Ingestão de vísceras | Sim | 4 (13.8) | 25 (86.2) | 0.85 (0.23-2.85) | 0.77 |
| | Não | 27 (15.9) | 143 (84.1) | | |
| Alimentação caseira | | 3 (37.5) | 5 (62.5) | 1.00 | 0.04 |
| Caseira+ração | | 14 (18.4) | 62 (81.6) | 0.38 | |
| Ração | | 14 (12.2) | 101 (87.8) | 0.23 | |
| Origem não informado | | 1 (50.0) | 1 (50.0) | 1.00 | 0.10 |
| Peri-urbano | | 3 (33.3) | 6 (66.7) | 0.50 | |
| Rural | | 2 (18.9) | 9 (81.8) | 0.22 | |
| Urbano | | 25 (14.1) | 152 (85.9) | 0.16 | |
| Contato com outros cães | Sim | 31 (16.0) | 162 (84.0) | Não definido | 0.28 |
| | Não | 0 (0.00) | 6 (100) | | |
| Contato com bovinos | Sim | 2 (20.0) | 8 (80.0) | 1.38 (0.0*- 7.58*) | 0.69 |
| | Não | 29 (15.3) | 160 (84.7) | | |
| Contato com roedores | Sim | 5 (22.7) | 17 (77.3) | 1.71 (0.50-5.52) | 0.32 |
| | Não | 26 | 151 | | |

DISCUSSÃO

Devido às manifestações clínicas severas da neosporose, principalmente em filhotes congenitamente infectados com paralisia ascendente e hiperextensão rígida (6,17,18) e mesmo diante de casos clínicos isolados, torna-se necessário o estudo relacionado à neosporose canina na região de Cuiabá e Várzea Grande, a qual apresenta poucos dados sobre a doença.

No Brasil, a prevalência de anticorpos contra *N. caninum* varia entre 4,3 a 58,9% em cães de diversas regiões do país (19). Nesse estudo 15,6% dos cães apresentaram anticorpos anti *N. caninum*. Benetti et al. (15), ao analisarem 37 amostras de cães encontraram 67,6% de amostras com anticorpos anti *N. caninum* na região sudoeste do Estado de Mato Grosso porém, todos os cães eram de propriedades rurais de bovinos leiteiros. Melo et al. (20) em 406 cães do município de Cuiabá-MT, observaram 6,6% de amostras soropositivas.

Nesse estudo, cães alimentados somente com comida caseira podem apresentar maior risco (OR=1.00) de adquirir o protozoário do que aqueles que ingerem alimentos mistos (caseiro+ração) ou aqueles animais que ingerem somente ração comercial, devido a maior exposição desses animais a carne ou vísceras contaminadas com cistos teciduais. Bresciani et al. (21) e Teixeira et al. (22) observaram também a alimentação caseira como um fator de risco que contribui para a soropositividade dos animais.

A pesquisa demonstrou que os 31 animais soropositivos apresentavam contato com outros cães e 15 possuíam acesso as ruas, dois fatores de risco que poderiam aumentar as chances de infecção ao parasito, porém que não foram estatisticamente significativos. Bandini

et al. (23) relataram que a infecção de cães por *N. caninum* ocorre principalmente pela ingestão de cistos teciduais e não pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes, confirmando a importância dos resultados da presente pesquisa no risco da ingestão de carne crua ou mal passada na dieta de cães.

CONCLUSÃO

Por meio desse estudo foi verificado que a variável alimentação representa um fator de risco que favorece a infecção com uma maior ocorrência de anticorpos para o protozoário *N. caninum* em cães urbanos provenientes dos municípios de Cuiabá e Várzea Grande, MT. Outros estudos sobre o parasito no Estado do Mato Grosso são necessários para melhor compreensão da infecção.

AGRADECIMENTOS

Esse trabalho foi financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Mato Grosso (FAPEMAT).

REFERÊNCIAS

1. Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clin Microbiol Rev. 2007;20:323-67.
2. Mcallister MM, Dubey JP, Lindsay DS, Jolley WR, Wills RA, Mcguire AM. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol. 1998;28:1473-8.
3. Gondim LFP, Mcallister MM, Pitt WC, Zemlicka DE. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol. 2004;34:159-61.
4. King JS, Slapeta J, Jenkins DJ, Al-Qassab SE, Ellis JT, Windsor PA. Australian dingos are definitive hosts of *Neospora caninum*. Int J Parasitol. 2010;40:945-50.
5. Dubey JP, Jenkins MC, Ferreira LR, Choudharya S, Verma SK, Kwok OCH, et al. Isolation of viable *Neospora caninum* from brains of wild gray wolves (*Canis lupus*). Vet Parasitol. 2014;201:150-3.
6. Dubey JP. Neosporosis in cattle. J Parasitol. 2003;89:42-56.
7. Mcinnes LM, Irwin P, Palmer DG, Ryan UM. In vitro isolation and characterization of the first canine *Neospora caninum* isolate in Australia. Vet Parasitol. 2006;137:355-63.
8. Romanelli PR, Freire RL, Vidotto O, Marana ERM, Ogawa L, De Paula VSO, et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná State, Brazil. Res Vet Sci. 2007;82:202-7.
9. Figueredo LA, Dantas-Torres F, Faria EB, Gondim LF, Simões-Matos L, Bramdão-Filho SP, et al. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. Vet Parasitol. 2008;157:9-13.
10. Cañon-Franco WA, Bergamaschi DP, Labruna MB, Camargo LMA, Souza SLP, Silva JCR, et al. Prevalence of antibodies anti-*Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. Vet Parasitol. 2003;115:71-4.

11. Sicupira PML, Magalhães VCS, Galvão GS, Pereira MJS, Gondim LFP, Munhoz AD. Factors associated with infection by *Neospora caninum* in dogs in Brazil. *Vet Parasitol.* 2012;185:305-8.
12. Jesus EEVD, Santos POM, Barbosa MVF, Pinheiro AM, Gondim LFP, Guimarães JE, et al. Frequência de anticorpos anti- *Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, Estado da Bahia-Brasil. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2006;43:5-10.
13. Ferroglio E, Pasino M, Ronco F, Bena A, Trisciuglio A. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in urban and rural dogs in north-west Italy. *Zoonoses Public Health.* 2007;54:135-9.
14. Wouda W, Dijkstra T, Kramer AMH, Van Maanen C, Brinkhof JMA. Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int J Parasitol.* 1999;29:1677-82.
15. Benetti AH, Schein FB, Santos TR, Toniollo GH, Costa AJ, Mineo JR, et al. Pesquisa de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos leiteiros, cães e trabalhadores rurais da região Sudoeste do Estado de Mato Gross. *Rev Bras Parasitol Vet.* 1995;18:29-33.
16. Thrusfield M. *Veterinary Epidemiology.* 2nd ed. Oxford: Blackwell Science Ltd; 1995.
17. Ruehlmann D, Poddel M, Oglesbee M, Dubey JP. Canine neosporosis: a case report and literature review. *J Am Anim Hosp Assoc.* 1995;31:174-83.
18. Lindsay DS, Dubey JP, Duncan RB. Confirmation that dogs are definitive host for *Neospora caninum*. *Vet Parasitol.* 1999;82:327-33.
19. Gennari SM. *Neospora caninum* no Brasil: situação atual da pesquisa. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2004;13:23-7.
20. Melo ALT, Silva GCP, Aguiar DM. Soroprevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da cidade de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Semina Cienc Agrar.* 2012;33:1507-14.
21. Bresciani KDS, Costa AJ, Nunes CM, Serrano ACM, Moura AB, Stobbe NS, et al. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudos de fatores de risco em cães de Araçatuba-SP. *ARS Vet.* 2007;23:40-6.
22. Teixeira MA, Araujo FAP, Silva RG, Stobbe NS. Soroepidemiologia de *Neospora caninum* em cães de área urbana no município de Porto Alegre-RS. *Rev Bras Cienc Vet.* 2012;19:154-7.
23. Bandini LA, Alves Neto AF, Pena HFJ, Cavalcante GT, Schares G, Nishi, SM, et al. Experimental infection of dogs (*Canis familiaris*) with sporulated oocysts of *Neospora caninum*. *Vet parasitol.* 2011;176:151-6.

Recebido em: 25/04/2014

Aceito em: 14/10/2015