

# FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Neospora caninum* em CÃES DO MUNICÍPIO DE ILHÉUS, BAHIA

VANESSA CARVALHO SAMPAIO DE MAGALHÃES,<sup>1</sup> PATRÍCIA MARA LOPES SICUPIRA,<sup>2</sup>  
LUIS FERNANDO PITA GONDIM<sup>3</sup> E ALEXANDRE DIAS MUNHOZ<sup>4</sup>

1. Médica veterinária autônoma, Mestranda em Ciência Animal pela UESC

2. Mestranda em Ciência Animal pela UESC e médica veterinária do Centro de Controle de Zoonoses de Ilhéus, BA.

3. Departamento de Patologia e Clínicas, Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia

4. Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais da Universidade Estadual de Santa Cruz – E-mail: munhoz@uesc.br

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo determinar a frequência de cães soropositivos para *Neospora caninum*, no município de Ilhéus, BA, e a influência da procedência dos cães com soropositividade. Coletaram-se 161 amostras de sangue dos animais, as quais foram testadas por meio da reação de imunofluorescência indireta, empregando-se um ponto de corte de 1:50. Na análise estatística foi utilizado o teste do qui-quadrado com correção de Yates. Detectaram-

se dezenove (11,8%) cães soropositivos para o parasito, sendo que, entre os positivos, 21,9% eram errantes e 9,3% domiciliados ( $p = 0,1$ ). Os animais residentes em áreas urbanas apresentaram uma maior soropositividade para o parasito quando comparados com os animais da área periurbana ( $p=0,03$ ). Os resultados são indicativos da presença de *N. caninum* na região estudada.

**PALAVRAS-CHAVES:** Caninos, fatores de risco, neosporose, prevalência.

## ABSTRACT

### FREQUENCY OF ANTI-*Neospora caninum* ANTIBODIES IN DOGS AT MUNICIPALITY ILHEUS, BAHIA

The aim of this study was to determine the frequency of *Neospora caninum* antibodies in dogs at Ilheus Municipality, in the State of Bahia, as well as the influence of the dogs' habitat on their seropositivity. A total of 161 blood samples were collected and the indirect immunofluorescence reaction was conducted, with a cut-off of 1:50. The statistical analysis was conducted based on

the chi-square test as corrected by Yates. A seropositivity of 19 (11.8%) samples was determined, whereas 21.9% were stray animals and 9.3% house pets ( $p=0.1$ ). The dogs in urban areas had a higher seropositivity than those periurban areas ( $p=0.03$ ). Such results indicate the presence of *N. caninum* in the region.

**KEY WORDS:** Canine, neosporosis, prevalence, risk factors.

## INTRODUÇÃO

*Neospora caninum* é um protozoário do filo apicomplexa, pertencente à família Sarcocystidae. Os cães constituem um dos seus hospedeiros defini-

tivos (McALLISTER et al., 1998). Após ingerirem cistos teciduais, os cães eliminam oocistos não-esporulados nas fezes (FARIAS, 2002) que uma vez esporulados podem infectar bovinos, levando à ocorrência de abortamentos (THURMOND et al.,

1997) e, conseqüentemente, a prejuízos econômicos consideráveis (MELO et al., 2001).

A distribuição da infecção em cães é cosmopolita (FARIAS, 2002), com relatos na Europa (PASQUALI et al., 1998; VA'CLAVEK et al., 2007), Ásia (SAWADA et al., 1998), África (JARDINE & DUBEY, 1992), América (BASSO et al., 2001) e na Oceania (BARBER et al., 1997). No Brasil, há relatos em todas as regiões (SOUZA et al., 2002; CAÑÓN-FRANCO et al., 2003; MELO et al., 2003; ANDREOTTI et al., 2004; FERNANDES et al., 2004).

Cães expostos ao parasito geralmente são assintomáticos. Uma vez com doença clínica, os sintomas associados ao sistema nervoso são os mais frequentes e sua manifestação depende do local parasitado (PASQUALI et al., 1998). Há também relatos de dermatites, cardiomiosite e pneumonia (POLI et al., 1998). Cadelas com infecção subclínica podem transmitir verticalmente *N. caninum* a seus fetos. Ninhadas sucessivas podem nascer infectadas (DUBEY, 1999). Animais de qualquer idade podem ser infectados, porém os casos mais severos de neosporose ocorrem em filhotes infectados congenitamente (DUBEY & LINDSAY, 1996).

Fatores de risco já foram estudados para a infecção em cães. Segundo WOUDA et al. (1999), anticorpos contra *N. caninum* são frequentemente encontrados em cães de área rural quando comparados aos da urbana. WANHA et al. (2005) observaram que a prevalência aumenta com a idade e VA'CLAVEK et al. (2007) não verificaram diferença significativa entre o sexo e raças.

Este estudo teve como objetivo verificar a presença de anticorpos contra *N. caninum* em cães na região, bem como analisar sua associação em animais domiciliados e errantes pertencentes à área periurbana ou urbana, no município de Ilhéus, Bahia.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Município de Ilhéus, inserido na Microrregião Ilhéus-Itabuna, no Estado da Bahia, no período de agosto de 2006 até agosto de 2007. Fizeram parte do estudo 161

cães (machos e fêmeas) adultos escolhidos por conveniência.

Categorizaram-se os cães em errantes (capturados, em vias públicas, pelo Centro de Controle de Zoonoses – CCZ), domiciliados (amostrados em sua residência ou durante o atendimento no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Santa Cruz-UESC) e, conforme o local de sua procedência, em área urbana ou periurbana (de acordo com a divisão distrital do Município), segundo FERNANDES et al. (2004).

Realizou-se a coleta de sangue por meio de punção da veia cefálica, sendo este colocado em um tubo de vidro siliconizado (vacutainer®), sem anticoagulante. O material foi identificado, mantido sob refrigeração e enviado ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da UESC, para centrifugação a 350 x g por dez minutos. Acondicionou-se o soro em criotubos de 2,0 mL, mantidos sob a temperatura de -20° C. Encaminharam-se as amostras ao Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses nos Animais, da Universidade Federal da Bahia, para a produção de antígeno de *N. caninum* e para a aplicação da técnica de imunofluorescência indireta (IFI), visando à detecção de anticorpos contra o parasito, segundo metodologia descrita por YAMANE et al. (1998).

Taquizoítos da cepa NC-1 (DUBEY et al., 1988) foram mantidos em monocamadas de células Vero, cultivadas em meio RPMI com L-glutamina contendo 5% de soro equino e antibióticos (penicilina e estreptomicina). Quando cerca de 80% das células estavam infectadas, os taquizoítos eram removidos, purificados por meio de passagens em seringa acoplada a filtro de 5 µm e diluídos em PBS para uma concentração final de 500–1.000 taquizoítos/µL. Colocaram-se os taquizoítos em lâminas de doze poços de 5 mm, sendo submetidas à secagem em estufa a 37° C e fixadas em metanol e congeladas a -20° C até a realização dos testes.

Testaram-se os soros dos cães em uma diluição inicial de 1:50, sendo empregada como ponto de corte, como proposto por DUBEY et al. (1988). Acrescentaram-se os soros às lâminas contendo antígeno, incubando-se a 37° C por trinta minutos, sendo lavados por cinco minutos em uma cuba

contendo PBS. Em seguida, foram adicionados aos poços anticorpos anti-IgG de cão conjugados ao isotiocianato de fluoresceína (FITC antidog IgG, Sigma™). As lâminas foram incubadas e lavadas como descrito na etapa anterior. Montaram-se as lâminas com glicerina e lamínula, para exame em microscópio binocular BX 51 (Olympus™) com sistema de epifluorescência, sendo considerada positiva uma completa fluorescência na periferia dos taquizoítos (DUBEY et al., 1988). Em cada lâmina empregaram-se controles negativo e positivo, que consistiram de soros pré e pós-infecção de um cão que recebeu tecido bovino contendo cistos de *N. caninum* (GONDIM et al., 2005).

Os dados foram tabulados no pacote estatístico EPI INFO (DEAN & ARNET 2002) e anali-

sados mediante o teste estatístico do qui-quadrado com correção de Yates (SAMPAIO 1998).

## RESULTADOS

No presente estudo, encontraram-se anticorpos contra-*N. caninum* em dezenove (11,8%) dos 161 cães. Sobre a distribuição da infecção por *N. caninum* em cães domiciliados ou não, pôde-se observar uma maior porcentagem de animais soropositivos nos errantes (21,9%) que nos domiciliados (9,3%),  $p=0,1$  (Tabela 1). Os animais provenientes de área periurbana apresentaram uma soropositividade de 7,5% e os da área urbana 20% ( $p=0,03$ ), com 3,06% mais chance de infecção (Tabela 2).

**TABELA 1.** Distribuição da infecção por *Neospora caninum* em cães domiciliados ou não, no município de Ilhéus, BA

Cães	<i>Neospora caninum</i>		Total
	Positivos	Negativos	
Domiciliados	12 (9,3%)	117(90,7%)	129 (80,1%)
Errantes	7 (21,9%)	25 (78,1%)	32 (19,9%)
Total	19 (11,8%)	142 (88,2%)	161 (100%)

$p=0,1$

**TABELA 2.** Distribuição da infecção por *Neospora caninum* em cães, de acordo com a área de origem destes, no município de Ilhéus, BA

Origem dos cães	<i>Neospora caninum</i>		Total
	Positivos	Negativos	
Área periurbana	8 (7,5 %)	98 (92,5 %)	106 (65,8 %)
Área urbana	11 (20 %)	44 ( 80 %)	55 (34,2 %)
Total	19 (11,8%)	142 ( 88,2%)	161 (100%)

$p=0,03$  OR= (1,05 < 3,06 < 9,07)

## DISCUSSÃO

A presença de anticorpos contra *N. caninum* em cães, observada em Ilhéus, foi similar à de outros estudos realizados em diferentes regiões do Brasil – CAÑÓN-FRANCO et al. (2003) e AGUIAR et al. (2006) no Norte; MINEO et al.

(2004) e FERNANDES et al. (2004) no Sudeste; ALMEIDA (2004) e JESUS et al. (2006) no Nordeste e, no Sul, por SOUZA et al. (2002), diferindo de outros achados como os de ANDREOTTI et al. (2004) –, em que 30% das amostras analisadas foram positivas na região Centro-Oeste, assim como no Nordeste, por MELO et al. (2003).

Ainda que os resultados comparados com a literatura remetam a certo grau de similaridade, eles sempre devem ser confrontados com cautela, dadas as diferenças observadas no tipo de teste sorológico empregado, no ponto de corte, na origem e no número de animais amostrados.

A soropositividade verificada nos animais errantes foi o dobro da dos domiciliados. Trata-se de resultados que são similares aos de GENNARI et al. (2002), os quais observaram 9,8% de cães soropositivos domiciliados e 24,7% em cães errantes. Também MINEO et al. (2004) constataram uma maior soroprevalência em cães errantes. MELO et al. (2003) observaram uma alta prevalência em cães recolhidos por um abrigo. Demonstra-se, assim, que na população canina a influência da origem e a condição de sua vida são fatores de risco à infecção, visto que é maior a chance de exposição dos animais errantes à carne e vísceras contaminadas e oocistos esporulados, em relação aos domiciliados que, de forma geral, são alimentados principalmente com rações comerciais e têm acesso restrito à rua (MELO et al., 2005).

No Sul da Itália, PARADIES et al. (2007) registraram uma soroprevalência de 15% em animais oriundos de um abrigo, resultado superior ao observado por CRINGOLI et al. (2002), de 6,4%, na mesma região, provavelmente em virtude de os cães do abrigo serem frequentemente representados por animais errantes capturados nas ruas.

Os valores encontrados para anticorpos contra *N. caninum* na área urbana foram superiores aos encontrados na periurbana. Tal resultado difere dos verificados por FERNANDES et al. (2004), que encontraram quase o dobro de positividade em cães de origem periurbana. Esse resultado decorre de um maior acesso à rua por parte dos animais e da possibilidade de ingestão de pequenos mamíferos e pássaros que são hospedeiros intermediários em potencial (WOUDA et al., 1999; JESUS et al., 2006).

A maior soroprevalência, no presente estudo, para os cães da área urbana pode ser explicada pelo fato de todos os animais errantes estarem alocados nessa área. Já os cães da área periurbana não eram oriundos de propriedades com criação de bovinos. A prevalência de anticorpos contra *N.*

*caninum* nesses cães é maior, pela facilidade de exposição ao parasito, pela ingestão de placentas ou de tecido fetal e de fluidos de bovinos positivos (SAWADA et al., 1998; WOUDA et al., 1999; BASSO et al., 2001; FERNANDES et al., 2004; SARGER et al., 2006).

A exposição de cães por *N. caninum*, em Ilhéus, torna pertinente a inclusão do agente como diagnóstico diferencial de desordens, principalmente, neurológicas, neste município, associado a novos estudos para observação do comportamento epidemiológico da enfermidade na região.

## CONCLUSÃO

Verificou-se a presença de cães expostos a *Neospora caninum* no município de Ilhéus, em que os pertencentes à área urbana são mais susceptíveis à infecção, em decorrência de sua população errante.

## AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Diagnóstico das Parasitoses nos Animais (UFBA), pela atenção e disponibilidade; à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB); ao CNPq.

## REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M.; CAVALCANTE, G. T.; RODRIGUES, A. A. R.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; CAMARGO, E. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle and dogs from Western Amazon, Brazil, in association with some possible risk factors. **Veterinary Parasitology**, v. 142, n. 1-2, p. 71-77, 2006.
- ALMEIDA, M. A. O. Epidemiologia de *Neospora caninum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, Supl., p. 38-40, 2004.
- ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R. D.; PIRES, P. P.; SILVA, E. A. Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, Center-Western Region, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, n. 3, p. 129-131, 2004.
- BARBER, J. S.; GASSER, R. B.; ELLIS, J.; REICHEL, M. P.; MCMILLAN, D.; TREES, A. J. Prevalence of antibodies

- to *Neospora caninum* in different canid populations. **The Journal of Parasitology**, v. 83, n. 6, p. 1056-1058, 1997.
- BASSO, W.; VENTURINI, L.; VENTURINI, M. C.; MOORE, P.; RAMBEAU, M.; UNZAGA, J. M.; CAMPERO, C.; BACIGALUPE, D.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from beef-cattle farms, dairy farms, and from urban áreas of Argentina. **The Journal of Parasitology**, v. 87, n. 4, p. 906-907, 2001.
- CAÑÓN-FRANCO, W. A.; BERGAMASCHI, E. P.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; SOUZA, S. L. P.; SILVA, J. C. R.; PINTER, A.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil, **Veterinary Parasitology**, v. 115, n. 1, p. 71-74, 2003.
- CRINGOLI, G.; RINALDI, L.; CAPUANO, F.; BALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 4, p. 307-313, 2002.
- DEAN, A. G.; ARNET, T. Epi Info: Epidemiology of program office, 2002. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/eppiinfo/index.html>>. Acesso em: 17 set. 2007.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. A review of *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 67, n. 1-2, p.1-59, 1996
- DUBEY, J. P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 84, n. 3-4, p. 349-367, 1999.
- 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. **The Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 10, p.1259-1263, 1988.
- FARIAS, N. A. R. Neosporose: uma enfermidade a ser estudada. **Ciência e Tecnologia Veterinária**, v. 1, n. 1, p. 5-14, 2002.
- FERNANDES, B. C. T. M.; GENNARI, S. M.; SOUZA, S. L. P.; CARVALHO, J. M.; OLIVEIRA, W. G.; CURY, M. C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 1-2, p. 33-40, 2004.
- GENNARI, S. M.; YAI, L. E. O.; D'ÁURIA, S. N. R.; CARDOSO, S. M. S.; KWOK, O. C. H.; JENKINS, M. C.; DUBEY, J. P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 2-3, p. 177-179, 2002
- GONDIM, L. F. P.; McALLISTER, M. M.; GAO, L. Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, n. 1-2, p. 33-39, 2005.
- JARDINE, J. E.; DUBEY, J. P. Canine neosporosis in South Africa. **Veterinary Parasitology**, v. 44, n. 3-4, p. 291- 294, 1992
- JESUS, E. E. V. de; SANTOS, P. O. M.; BARBOSA, M. V. F.; PINHEIRO, A. M.; GONDIM, L. F. P.; GUIMARÃES, J. E.; ALMEIDA, M. A. O. de. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, Estado da Bahia, Brasil. **Brazilian Journal Research Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 5-10, 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*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.
- MELO, C. B., LEITE R. C.; LEITE, R. C. Infecção por *Neospora caninum* em cães e outros carnívoros. **Revista do CFMV**, v. 11, n. 35, p. 32-43, 2005.
- MELO, C. B.; LEITE, R. C.; SOUZA, G. N. Frequência de infecção por *Neospora caninum* em dois diferentes sistemas de produção de leite e fatores predisponentes à infecção em bovinos em Minas Gerais. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 10, n. 2, p. 67-74, 2001.
- MELO, C. B.; PINHEIRO, A. M.; OLIVEIRA, A. A.; DANTAS, M. D. M.; JESUS, E. E. V.; ALMEIDA, M. A. O.; REIS, A. V.; FEITOSA, A. S.; LEITE, R. C. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães em Aracaju, Sergipe. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA, 30., 2003, Manaus. **Anais...Amazonas: Sociedade de Medicina Veterinária de Amazonas**, 2003. p. 12.
- MINEO, T. W. P.; SILVA, D.A.O.; NÄSLUND, K.; BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A.; MINEO, J. R. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 414-417, 2004.
- PARADIES, P.; CAPELLI, G.; TESTINI, G.; CANTACESSI, C.; TREES, A. J.; OTRANTO, D. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 240-244, 2007

- PASQUALI, P.; MANDARA, M. T.; ADAMO, F.; RICCI, G.; POLIDORI, G. A.; DUBEY, J. P. Neosporosis em a Dog em Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 77, n. 4, p. 297-299, 1998.
- POLI, A.; MANCIANTI, F.; CARLI, M. A; STROSCIO, M. A.; KRAMER, L. *Neospora caninum* infection in a Bernese catle dog from Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 78, n. 2, p. 79-85, 1998.
- SAMPAIO, I. B. M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221 p.
- 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. **The Journal Veterinary Medical Science**, v. 60, n. 7, p. 853-854, 1998.
- SOUZA, S. L. P.; GUIMARÃES, J. S.; FERREIRA, F.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in dogs from dairy cattle farms in Paraná. **The Journal of Parasitology**, v. 88, n. 2, p. 408-409, 2002.
- THURMOND, M. C.; HIETALLA, S. K.; BLANCHARD, P. C. Herd-based diagnosis of *Neospora caninum*-induced endemic and epidemic abortion in cows and evidence for congenital and postnatal transmission. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, n. 1, p. 44-49, 1997.
- VA'CLAVEK, P.; SEDLA, K.; H°URKOVA, L.; VODRA'ZKA, P.; SEBESTA, R. S.; KOUDELA, B. Serological survey of *Neospora caninum* in dogs in the Czech Republic and a long-term study of dynamics of antibodies. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 1, p. 35-41, 2007
- WANHA, K.; EDELHOFER, R.; GABLER-EDUARDO, C.; PROSL, H. Prevalence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs and foxes in Austria. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 3-4, p.189-193, 2005.
- YAMANE, I.; SHIBAHARA, T.; KOKUHO, T.; SHIMURA, K.; HAMAOKA, T.; HARITANI, M.; CONRAD, P. A.; PARK, C. H.; SAWADA, M.; UMEMURA, T. An improved isolation technique for bovine *Neospora* species. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 10, n. 4, p. 364-368, 1998.

---

Protocolado em: 26 set. 2008. Aceito em: 10 dez. 2008.