

Frequência de Anticorpo Anti-*Neospora caninum* em Cães do Município de Seropédica, Estado do Rio de Janeiro

Frequency of anti-*Neospora caninum* Antibodies in Dogs in the Seropédica Municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil

Matheus Dias Cordeiro^{*a}; Leila Maria Rosa dos Santos^b; Aline Nascimento Furtado de Freitas^c; Jenevaldo Barbosa da Silva^d; Aivaldo Henrique da Fonseca^e; Bruna de Azevedo Baêta^e

^aUniversidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Práticas de Desenvolvimento Sustentável. RJ, Brasil.

^bUniversidade Federal Rural do Rio de Janeiro. RJ, Brasil.

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Medicina Veterinária. RJ, Brasil.

^dUniversidade Federal do Vale do Jequitinhonha e Mucuri. RJ, Brasil.

^eUniversidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Programa Stricto Sensu em Ciências Veterinárias. RJ, Brasil.

*E-mail: mathcordeiro@hotmail.com

Resumo

Neospora caninum é um protozoário de grande importância, responsável por causar neuropatias em canídeos e abortamento em bovinos. A prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* é consideravelmente diferente entre países e entre as regiões geográficas do Brasil, apresentando uma ampla variação de soropositividade entre hospedeiros definitivos e intermediários. Neste sentido, o estudo objetivou avaliar a frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães do município de Seropédica, Rio de Janeiro, a fim de obter informações relativas aos cães residentes de uma área periurbana. Foram coletadas amostras sanguíneas de 271 cães com diferentes idades, ambos os sexos e predominantemente sem raça definida. Para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* foi realizado o ensaio de imunoabsorção enzimática indireto (ELISA indireto) *in house* a partir do soro desses animais. A prevalência geral de anticorpos anti-*N. caninum* encontrada nos cães do município de Seropédica foi de 37,64% (102/271). Nenhuma variável analisada (sexo, raça, idade, acesso a rua, acesso à pastagem ou curral e soropositividade para *Toxoplasma gondii*) apresentou-se estatisticamente associada ($p > 0,05$) com a soropositividade dos animais. O presente estudo indica a presença de anti-*N. caninum* em cães e serve para evidenciar a necessidade de criação de um programa de controle da infecção para cães nessa área periurbana.

Palavras-chave: Neosporose. Sorologia. Cães. Periurbana

Abstract

Neospora caninum is a protozoan of great importance, responsible for causing neuropathies in canids and abortion in cattle. The prevalence of anti-*N. caninum* antibodies is considerably different between countries and between geographic regions of Brazil, with a wide range of seropositivity between definitive and intermediate hosts. Therefore, the study aimed to evaluate the frequency of anti-*N. caninum* in dogs from the municipality of Seropédica, state of Rio de Janeiro, in order to obtain information regarding dogs resident in a peri-urban area. Blood samples were collected from 271 dogs of different ages, both sexes and predominantly mixed breed. In order to detect anti-*N. caninum* IgG antibodies, an indirect enzyme immunosorbent assay (indirect ELISA) was performed in house from the serum of these animals. The general prevalence of anti-*N. caninum* antibodies found in dogs in the municipality of Seropédica was 37.64% (102/271). No variable analyzed (sex, race, age, access to the street, access to pasture or corral and seropositivity for *Toxoplasma gondii*) was statistically associated ($p > 0.05$) with the animals' seropositivity. The present study indicates the presence of anti-*N. caninum* in dogs, and should serve to highlight the need to create an infection control program for dogs in this peri-urban area.

Keywords: Neosporosis. Serology. Dogs. Periurban area

1 Introdução

Neospora caninum é um protozoário coccídeo pertencente à família Sarcocystidae, onde os canídeos podem atuar como hospedeiro intermediário e definitivo, afetando principalmente filhotes e cães jovens (DUBEY, 1999). Foi descrito a primeira vez como formações císticas causadoras de encefalomielite e miosite em cães (BJERKAS; MOHN, S.; PRESTHUS, 1984), entretanto, também pode parasitar animais silvestres como hospedeiros intermediários, além de bovinos causando aborto e morte perinatal, sendo de grande importância econômica (CUNHA FILHO et al., 2008; GOODSWEN; KENNEDY; ELLIS, 2013).

Os humanos podem se infectar pela ingestão acidental de oocistos nas fezes de canídeos ou pela ingestão de carne crua

ou malcozida, assim como na toxoplasmose, entretanto, não há evidências para que seja considerada uma zoonose. Alguns estudos já relataram a presença de anticorpos IgG anti-*N. caninum* em humanos portadores do vírus da imunodeficiência humana, não podendo descartar a possibilidade de ocorrer infecção parasitária (OSHIRO et al., 2015).

Do ponto de vista epidemiológico, a prevalência de anticorpos anti-*N. caninum* é consideravelmente diferente entre países e entre as regiões geográficas do Brasil, apresentando uma ampla variação de soropositividade entre hospedeiros definitivos e intermediários (GOODSWEN; KENNEDY; ELLIS, 2013). O objetivo do presente estudo foi avaliar a frequência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães do município de Seropédica, a fim de obter informações relativas aos cães residentes de uma área periurbana.

2 Material e Métodos

Este estudo foi desenvolvido a partir de banco de soros caninos procedentes de do Município de Seropédica, estado do Rio de Janeiro, realizou-se um estudo epidemiológico analítico transversal para avaliação do perfil de anticorpos da classe IgG anti-*N. caninum*. O projeto original foi realizado de acordo com os princípios básicos para pesquisa envolvendo animais segundo o comitê de ética da pesquisa da UFRRJ/ COMEP processo número 23083.008239/2010-31.

No período compreendido entre Novembro de 2010 e Março de 2011 foram coletadas amostras sanguíneas de 271 cães do município de Seropédica, Rio de Janeiro. Os cães possuíam idades diferentes, ambos os sexos, aparentemente saudáveis e predominantemente sem raça definida (SRD). As amostras de sangue foram obtidas a partir da punção da veia cefálica utilizando seringas estéreis e transferido para tubos estéreis sem anticoagulantes. Em seguida, essas amostras foram centrifugadas e o soro obtido foi armazenado em tubos de polipropileno e permaneceram à -20 °C até o momento da prova sorológica.

Para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum* foi realizado o ensaio de imunoabsorção enzimática indireto (ELISA indireto) *in house* de acordo com o descrito por Lasri et al. (2004). Para controles positivos e negativos foram utilizadas amostras sanguíneas de cães previamente testados para detecção de anticorpos IgG anti-*N. caninum*, oriundos de Seropédica, RJ. O ponto de corte (cutoff) para o ensaio foi determinado utilizando a distribuição t-Student com um grau de confiança de 99,99%, segundo a média mais três vezes o desvio padrão dos valores da densidade óptica (DO) dos controles negativos (FREY; CANZIO; ZURAKOWSKI, 1998).

3 Resultados e Discussão

O resultado da sorologia das amostras testadas foi confrontado segundo a raça (puro ou sem raça definida), sexo, idade (menor ou maior que 3 anos), acesso à pasto ou curral, acesso à rua e positividade para *Toxoplasma gondii* segundo os resultados publicados em Cunha et al. (2016). O estudo das associações entre as variáveis de interesse foi realizado por meio do Teste Exato de Fisher. As análises foram realizadas com o auxílio do programa computacional BioEstat 5.0.

A prevalência geral de anticorpos anti-*N. caninum* encontrada nos cães do município de Seropédica foi de 37,64% (102/271). A frequência e número absoluto de positivos são mostrados no Quadro.

Quadro 1 - Correlação entre os dados obtidos na pesquisa e a soropositividade para anticorpos anti-*Neospora* de cães coletados no município de Seropédica, RJ

Variáveis	Positivo	Negativo	Total
	N	N	
Total	102	168	271
Acesso à Rua			
Não	30	61	91
Sim	71	107	178
Acesso ao Pasto e/ou Curral			
Não	49	101	150
Sim	32	53	85
Sexo			
Fem	50	87	137
Masc	32	68	100
Raça			
SRD	60	114	174
Raça definida	21	40	61
Idade			
>36m	48	88	136
<36m	36	60	96
IgG anti-<i>Toxoplasma gondii</i>			
Negativo	58	100	158
Positivo	44	68	112

Fonte: dados da pesquisa.

A frequência de positivos encontrada no presente estudo é maior do que a observada por Acosta et al. (2016), Balthazar et al. (2013), Bresciani et al. (2007), Jesus et al. (2006), Sousa et al. (2012) em que por meio da técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) observaram 12,05% nos municípios de Salvador e Lauro Freitas, 15,7% em Araçatuba, 4,2% em Alagoas, 8,46% no município do Rio de Janeiro e 11,76% no Espírito Santo, respectivamente. Entretanto, é menor do que a descrita por Benetti et al., (2008), foi observada uma frequência de 45% de soropositividade entre os cães no município de Cuiabá.

Nenhuma variável analisada apresentou-se estatisticamente associada ($p > 0,05$) com a soropositividade dos animais. Embora não estatisticamente significativo, anticorpos para *N. caninum* e *T. gondii* foram detectados em 16,30% (44/270). Esses dados não corroboram com os já descritos por Acosta et al. (2016), que observaram apenas 0,53% (1/187) apresentando anticorpos para ambos coccídios. No entanto, existem estudos que revelam a ocorrência de reatividade cruzada entre *N. caninum* e *T. gondii* na utilização de testes como ELISA (MACEDO et al., 2013), sendo necessários mais estudos nessa região que relacionem essa possibilidade de reação cruzada, dado a relação estreita entre esses protozoários pertencentes ao filo Apicomplexa.

Outro dado importante de se destacar, apesar de estatisticamente não haver associação, é o acesso dos animais positivos a rua e principalmente aos pastos ou currais. Pesquisas como o presente estudo são importantes, pois a disseminação de *N. caninum* se dá por meio das fezes de cães infectados, que contamina água e alimentos e podem ser ingeridos por outros

animais, como bovinos, que são susceptíveis ao protozoário (GOODSWEN; KENNEDY; ELLIS, 2013), causando um prejuízo econômico devido às alterações reprodutivas nesses animais. Dessa forma, através dos dados apresentados, se torna possível a criação de um programa a fim de diminuir a infecção por esse agente, principalmente em áreas onde contém a presença de bovinos.

Alguns autores relataram associação entre a idade do animal e a frequência de cães reagentes ao *N. caninum* (CANNON-FRANCO et al., 2004; MOURA et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2004) sendo menor em cães menores de 12 meses. Desta forma, os autores descrevem que a idade pode estar correlacionada com o aumento das possibilidades de contato com fontes de infecção para neosporose, sugerindo uma exposição pós-natal ao agente (MOURA et al., 2011). No entanto, o presente estudo não verificou essa associação, possivelmente devido ao pequeno número de animais menores de 12 meses, não sendo possível uma comparação estatística com essa faixa etária separadamente. Na rotina clínica, *N. caninum* pode afetar cães de todas as idades, causando complicações neurológicas, porém outros sinais não-neurológicos, como miosite, dermatite, pancreatite, pneumonia e hepatite podem surgir (DIDIANO et al., 2019).

Assim como no presente estudo, Jesus et al. (2006) também não verificaram associação entre as variáveis idade, sexo e raça e a soropositividade dos cães para *N. caninum*.

Esse é o primeiro relato de ocorrência de anticorpos anti-*N. caninum* em cães no município de Seropédica. O município de Seropédica ocupa as posições 33ª em situação domiciliar urbana e a 8ª em situação domiciliar rural, podendo ser considerada uma área periurbana, já que corresponde à uma área onde atividades rurais e urbanas se misturam. A existência de famílias em assentamentos exercendo atividade pecuária como a produção de leite e derivados, à fins de subsistência e comercialização pode justificar a preocupação com a presença de cães infectados nessa área, aumentando o risco de infectar rebanhos bovinos e levar à grandes perdas econômicas (ZEGARRA et al., 2007).

Devido a alta na positividade encontrada no presente estudo, medidas de controle devem se concentrar na transmissão vertical e horizontal para limitar simultaneamente a contaminação ambiental e a transmissão para hospedeiros intermediários (SILVA; MACHADO, 2016).

4 Conclusão

O presente estudo indica a presença de anti-*N. caninum* em cães no município de Seropédica - estado do Rio de Janeiro, e deve servir para evidenciar a necessidade de criação de um programa de controle da infecção para cães nessa área periurbana.

Referências

- ACOSTA, I.C.L. et al. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs from rural properties surrounding a biological reserve, Espírito Santo, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v.25, n.4, p.536-539, 2016. doi:10.1590/S1984-29612016075.
- BALTHAZAR, L.M. et al. Cães sororreagentes a *Neospora caninum* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) atendidos em uma clínica veterinária na cidade do Rio de Janeiro, RJ. *Braz. J. Vet. Med.*, v.35, n. Supl 2, p.48-52, 2013.
- BENETTI, A. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães no município de Cuiabá, Mato Grosso. *Ciênc. Anim. Bras.*, v. 9, p.177-180, 2008.
- BJERKÅS, I.; MOHN, S.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Zeitschrift Parasitenkunde*, v. 70, n. 2, p. 271-274, 1984. doi:10.1007/BF00942230
- BRESCIANI, K. D. S. et al. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em cães de Araçatuba - SP. *ARS Vet.*, v.23, n.1, p.40-46, 2007.
- CANNON-FRANCO, W. et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in the urban area of Monte Negro, Rondonia, Brazil. *Vet. Res. Communic.*, v.28, n.2, p.113-8, 2004. doi: 10.1023/b:verc.0000012114.71235.73.
- CUNHA FILHO, et al. 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.*, v.17, n.1, p.301-306, 2008.
- CUNHA, N.C. et al. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em cães no estado do Rio de Janeiro. *Rev Bras. Med. Vet.*, v. 38, n. Supl. 3, p. 4, 2016.
- DIDIANO A. et al. Canine central nervous system neosporosis: clinical, laboratory and diagnostic imaging findings in six dogs. *Vet. Record Case Rep.*, v.8, n.1, p.1-7, 2019. doi:10.1136/vetreccr-2019-000905
- DUBEY, J. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, v.84, n.3-4, p.349-367, 1999. doi: 10.1016/s0304-4017(99)00044-8.
- FREY, A.; CANZIO, J.D.; ZURAKOWSKI, D. A statistically defined endpoint titer determination method for immunoassays. *J. Immunol. Methods*, v.2, n.21: p.35-41, 1998. doi:10.1016/s0022-1759(98)00170-7
- GOODSWEN, S.J.; KENNEDY, P.J.; ELLIS, J.T. A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: from the past to the present. *Infect. Genetics Evolution*, v.13, p.133-50, 2013. doi: 10.1016/j.meegid.2012.08.012
- JESUS, E. 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. Scie.*, v.43, p.5-10, 2006.
- LASRI, S. et al. Comparison of three techniques for the serological diagnosis of *Neospora caninum* in the dog and their use for epidemiological studies. *Vet. Parasitol.*, v.123, n.1-2, p.25-32, 2004. doi:10.1016/j.vetpar.2004.05.025.
- MACÊDO, A.G., et al. SAG2A protein from *Toxoplasma gondii* interacts with both innate and adaptive immune compartments of infected hosts. *Parasit Vectors*, v. 6, p. 163, 2013. doi:10.1186/1756-3305-6-163
- MOURA, A. B. et al. *Neospora caninum* antibodies and risk factors in dogs from Lages and Balneário Camboriú, SC. *Arq.*

Bras. Med. Vet. Zootec., v. 63, p. 262-265, 2011.

OLIVEIRA, J. *et al.* Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in the urban area of Campo Grande, MS, Brazil. *Rev Bras. Parasitol. Vet.*, v. 13, n. 4, p. 155-158, 2004.

OSHIRO, L. *et al.* *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* serodiagnosis in human immunodeficiency virus carriers. *Rev Soc. Bras. Med. Trop.l.*, v.48, p.568-572, 2015.

SILVA, R.C.; MACHADO, G.P. Canine neosporosis: perspectives

on pathogenesis and management. *Vet. Med. (Auckland, N.Z.)* v.7, p.59-70, 2016. doi:10.2147/VMRR.S76969

SOUSA, M.E.D. *et al.* Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs in the state of Alagoas, Brazil. *Rev Bras. Parasitol. Vet.*, v.21, p.287-290, 2012.

ZEGARRA, J.J.Q. *et al.* Aspectos da produção leiteira em pequenas unidades de produção familiar no assentamento Mutirão Eldorado em Seropédica, Rio de Janeiro. *Rev Bras. Ciênc. Vet.*, v.14, n.1, 2007