

UNIVERSIDADE CASTELO BRANCO  
ESPECIALIZAÇÃO *latu-sensu*  
PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO BOVINOS

**NEOSPOROSE BOVINA**

Fabiana Aznar

Rio de Janeiro, out. 2006

FABIANA AZNAR

Aluna do curso de Especialização *latu-sensu* Produção e Reprodução de Bovinos

## **NEOSPOROSE BOVINA**

Trabalho monográfico de conclusão do curso de Especialização *latu sensu* Produção e Reprodução em Bovinos (TCC), apresentado à UCB como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Produção e Reprodução em Bovinos, sob a orientação do Prof. Msc. Athos de Assumpção Pastore.

Rio de Janeiro, Out. 2006

## **NEOSPOROSE BOVINA**

Elaborado por Fabiana Aznar

Aluna do curso de Especialização *latu-sensu* Produção e Reprodução  
em Bovinos

Foi analisado e aprovado com

grau: .....

Rio de Janeiro, ..... de ..... de 2006

---

Membro

---

Membro

---

Professor Orientador  
Presidente

Rio de Janeiro, Out. 2006

## SUMÁRIO

1- Resumo/Abstract.....	Pag. 04
2- Histórico .....	Pag. 05
3- Sinais Clínicos .....	Pag. 05
4- Prevalência .....	Pag. 08
5- Diagnóstico .....	Pag. 09
6- IFAT – Teste de anticorpo fluorescente direto; ELISA – ensaio imunoabsorvente ligado à enzima .....	Pag. 12
7- Nat – Teste de Aglutinação de Neospora .....	Pag. 14
8- Patogênese do Abortamento .....	Pag. 15
9- Neospora Caninum: patógeno primário em bovinos .....	Pag. 18
10- Impacto Econômico .....	Pag. 20
11- Transmissão, Epidemiologia e Controle .....	Pag. 22
12- Referências .....	Pag. 26

AZNAR, Fabiana. **Neosporose em Bovinos**. 2006. f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Produção e Reprodução em Bovinos) – Universidade Castelo Branco – Centro de Ciências Biológicas – Piracicaba, 2006.

### **Resumo:**

O *Neospora caninum* é um dos grandes patógenos que acometem os bovinos e os cães, ocasionalmente causam infecções clínicas em eqüinos, caprinos, ovinos e cervos. O cão doméstico é o único hospedeiro definitivo conhecido para o *N.caninum*. No gado, o protozoário constitui uma das maiores causas de abortamento em muitos países, sendo também um dos parasitas de transmissão mais eficiente, podendo infectar até mesmo 90% do rebanho. Conferir imunidade protetora contra o abortamento nas vacas com infecção persistente constitui um desafio considerável.

**Palavras-chave:** causas de abortamento, infecção clínica, *Neospora caninum*, neosporose bovina. protozoário.

### **Abstract:**

The *Neospora Caninum* is one of the large pathogens which can infect bovine and canine, also occasionally causing clinical infections in equine, goats, ovine and deers. The pet dog is the only definite host known to carry the *Neospora Caninum*. In the cattle, the protozoan constitutes one of the highest causes of abortion in many countries, being also one of the parasites of biggest transmission, able to infect up to 90% of the herd. It is therefore, a considerably great challenge to give protective immunity against abortion in cows.

**Key words:** causes of abortion, clinical infection, *Neospora caninum*, bovine neosporosis, protozoan

## **1- Introdução**

A neosporose é uma doença dos animais, causada pelo protozoário *Neospora caninum*. Embora sua importância derive da agressividade da doença clínica que ele desencadeia em cães e em bovinos, podendo também afetar eqüinos, caprinos, ovinos e cervos, porém, de maneira menos freqüente.

Já houve relatos de achados de anticorpos para o *N.caninum* em quatis, cervos de cauda branca, búfalos d'água, camelos, gatos, raposas e outros canídeos selvagens. Houve também primatas infectados experimentalmente, mas por outro lado não existe nenhuma evidência de infecção pelo protozoário em humanos. (Dubey, 1998)

## **2- Sinais Clínicos**

O *Neospora caninum* provoca abortamento tanto do gado leiteiro, quanto do gado de corte. Vacas de qualquer idade podem abortar a partir dos 3 meses até o final da gestação, sendo que a maioria dos abortamentos ocorrem entre os 5 ou 6 meses de gestação. (Anderson et al, 1991)

Os fetos podem morrer no interior do útero, ou mesmo serem absorvidos, mumificados, autolisados. Animais prematuros, podem nascer vivos com sinais clínicos, ou até nascer clinicamente normais mas serem infectados de maneira persistente. (Anderson et al, 1991)

Os abortamentos induzidos pela neosporose ocorrem ao longo do ano (Anderson et al., 1991), sendo que na Holanda, eles ocorrem particularmente

durante os meses de verão. Na Califórnia observou-se o abortamento mais freqüentemente no inverno, permanecendo por mais ou menos 6 meses.

Ainda na Holanda, durante o início dos anos 90, a neosporose foi identificada em 17% de 2.053 casos de abortamento bovino (Wouda, Moen et al., 1997) e foi encontrada em uma porção similar de fetos nos anos subseqüentes (W. Wouda, 2001)

Tanto rebanhos leiteiros quanto rebanhos de corte com anticorpos para *N. caninum* (soropositivos) estão mais sujeitos ao abortamento que as vacas soronegativas (Pare et al., 1997; Thurmond e Hietala, 1997; Moen et al., 1998; Wouda, Moen, 1998) e até 95% dos bezerros nascidos de vacas soropositivas serão congenitamente infectados e clinicamente normais.

A idade da mãe, o número de lactações e o histórico de abortamento foram relatados como fatores que não afetam a taxa de infecção congênita embora esta conclusão seja contradita por outros relatos nos quais demonstrou-se que a transmissão vertical era mais eficiente em vacas mais jovens que em vacas mais idosas (Wouda, Moen e Schukken, 1998).

Outros sinais clínicos além do abortamento foram apenas relatados em bezerros com menos de 2 meses de idade e incluem sinais neurológicos, instabilidade em se levantar e peso por ocasião do nascimento abaixo da média. Os membros posteriores, anteriores, ou ambos, podem estar fletidos ou em hiperextensão e o exame neurológico pode revelar ataxia, reflexos patelares diminuídos e perda de propriocepção consciente. Exoftalmia e uma aparência assimétrica dos olhos podem se manifestar e ocasionalmente defeitos congênitos, podendo inclusive ocorrer hidrocéfalo e estreitamento da medula espinal (Dubey e Linday, 1990; Barr, Conrad et al., 1991; Dubey, 1993; Dubey et al., 1998).

Os abortamentos podem ser epidêmicos ou endêmicos. Em alguns rebanhos, os resultados mostram relatos de até 33% das vacas leiteiras abortando em alguns poucos meses (Mc Allister et al., 1996; Wouda, Bartels, 1999). Esses abortos foram definidos como sendo epidêmicos se caso mais de 10% das vacas em situação de risco abortarem no período de 6 a 8 semanas (Wouda, 1999). Uma pequena proporção (menos de 5%) das vacas podem ter repetido os abortamentos em consequência da neosporose (Anderson et al., 1995).

Abortamentos e mortes neonatais foram reportadas em bovinos de corte da Austrália, Canadá, Estados Unidos (Dubey e Lindsay, 1990; Mc Allister et al., 2000) e Bélgica, mas sabe-se pouco comparativamente à doença.

Um dos mais bem documentados estudos a esse respeito é o de Mc Allister et al., (2000), no qual 43 (21%) entre 208 vacas abortaram ou deram à luz bezerros não viáveis. Destas, 16 abortaram dentro de 3 semanas e as lesões histopatológicas indicativas de infecção por neosporose foram encontradas em 14 fetos; o parasita foi revelado por meio de imunohistoquímica de 4 a 9 fetos examinados. O parasita foi isolado em cultura de células cerebrais de um dos bezerros. A sorologia das amostras coletadas nos dias 14 a 85 a partir da primeira observação de abortamento mostrou que 79% tinham os anticorpos ao *Neospora caninum* na primeira amostra e mais 3% (6 vacas) soroconverteram antes da segunda amostragem.

A determinação dos valores de avidéz de IgG indicaram que as vacas haviam adquirido a infecção durante a prenhez. Trinta e sete (31%) das vacas com uma baixa avidéz (menos que 50) tiveram uma prenhez anormal em contraste com uma (6%) das 16 vacas com alta avidéz de IgG (mais que 50). A

maioria dos abortamentos ocorreu durante o terceiro trimestre. Investigações epidemiológicas sugeriram que as vacas se tornaram infectadas após a ingestão de alimento contaminado com oocistos de *Neospora caninum* quando estavam com 5 ou 6 meses de gestação.

Um outro estudo bem documentado a respeito do desempenho reprodutivo após uma série de abortamentos associados ao *Neospora caninum* foi realizado em 354 cabeças de gado de corte no Canadá. Durante os 3 anos subseqüentes foi colhido sangue do rebanho por 4 vezes e foram avaliados os desempenhos reprodutivos. Em 1997, depois de terminado o resultado inicial, apenas 57,9% (205 de 354) das vacas estavam prenhes, tendo 40% perdido seus fetos durante o procedimento. No momento do abortamento, 81% de todas as fêmeas em reprodução tinham anticorpos para o *Neospora caninum*. Durante a estação seguinte de monta, 22,2% das vacas não tiveram diagnóstico de prenhez e na segunda estação de monta, após as perdas iniciais, não foram relatados aumento de risco de abortamento, partos prematuros ou ausência de prenhez.

### **3- Prevalência**

As infecções por *Neospora caninum* foram relatadas em muitas partes do mundo, incluindo a Austrália, Nova Zelândia, Europa, Coréia, Japão, Tailândia e nas Américas. Os abortamentos e a mortalidade neonatal de bovinos relacionados à neosporose foram descritos na Argentina, Austrália, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, Costa Rica, Dinamarca, França, Alemanha, Hungria, Irlanda, Israel, Itália, Japão, Coréia, México, Holanda, Nova

Zelândia, Polônia, Portugal, Espanha, África do Sul, Suécia, Reino Unido, Estados Unidos e Zimbábue. (Wouda, Bartels e Moen, 1999)

A prevalência sorológica no gado varia, dependendo do país, região, tipo do teste sorológico usado e nível de corte utilizado para a determinação da exposição e do histórico do abortamento. A prevalência mais alta parece ocorrer em vacas secas de rebanhos leiteiros da Califórnia, com alta de 87% das vacas soropositivas em alguns rebanhos. (Pare et al., 1998)

#### **4- Diagnóstico**

A demonstração de anticorpos contra a neosporose no soro de uma vaca abortante é um indicativo da exposição ao parasita, mas mesmo assim um exame do feto é necessário para um diagnóstico mais acertado de *Neospora* (Jenkins et al., 2002). O cérebro, o coração, o fígado, a placenta e os fluídos corporais ou o soro são os melhores espécimes para a histopatologia e a sorologia e as taxas diagnósticas são mais altas se múltiplos tecidos forem examinados.

Embora as lesões histopatológicas características de neosporose possam ser encontradas em vários órgãos, o cérebro fetal é o mais consistentemente afetado, e por ser de grande valia o exame de amostras muito autolíticas. Caracteristicamente ocorre uma encefalite focal, não supurativa, com grau variado de necrose focal.

A hepatite é mais comum em abortamentos epizooticos do que em abortamentos esporádicos (Wouda, Moen et al., 1997). As lesões podem também estar presentes na placenta, mas os parasitas são tipicamente difíceis de encontrar.

A imunohistoquímica pode ser utilizada para demonstrar o *Neospora* dentro das lesões, mas o método tende a encontrar aplicação limitada devido a infreqüência dos parasitas presentes. Entretanto, foi sugerido que todos os tecidos que apresentem lesões sejam tratados imunohistoquimicamente a fim de excluir a neosporose. Ocasionalmente, o *Neospora* pode ser demonstrado apenas nos tecidos extraneurais. (Boger e Hattel, 2003)

Vários testes sorológicos (revisados em Björkman e Ugla, 1999; Dubey, 1999) podem ser utilizados para a detecção dos anticorpos contra a neosporose, incluindo vários ELISAs, o teste de anticorpo fluorescente indireto (IFAT) e o teste de aglutinação para *Neospora* (NAT).

Imunocolorações são úteis para a detecção de anticorpos específicos pra neospora e um teste de avidéz – ELISA feito para distinguir infecções recentes crônicas em bovinos foi lançado com a promessa de distinção entre abortamentos endêmicos e epidêmicos (Mc Allister et al., 2000).

Nos fetos, a presença de um anticorpo para a neosporose pode estabelecer um diagnóstico de infecção por *Neospora caninum*, mas um resultado negativo é menos informativo porque a síntese de anticorpo no feto é dependente do estágio da gestação, nível de exposição e do tempo entre a infecção e o abortamento (Barr et al., 1995; Wouda, Dubey e Jenkins, 1997). Mesmo um título IFAT tão baixo como 1:25 deve ser encarado como específico para infecção por *Neospora caninum* em fetos o diagnóstico pode ser melhorado através de imunocolorações e análises das reações aos antígenos dos taquizoítos específicos para o *Neospora caninum*.

Embora o soro ou fluido fetal possam ser utilizados para o diagnóstico sorológico, o fluido peritoneal parece ser o melhor. (Söndgen et al., 2001)

Em bezerros, a presença de anticorpos no soro pré colostrado é indicativo de infecção congênita. O nível definitivo de anticorpos bovinos em um dado teste que possa ser considerado diagnóstico para a neosporose não foi estabelecido, tanto por causa das flutuações nos títulos em animais persistentemente infectados quanto pela pequena quantidade de informações a respeito dos soros dos bovinos não infectados. Além disso, os ensaios sorológicos, assim como os valores ou títulos de absorbância ou ambos podem variar de acordo com a composição do antígeno, anticorpos secundários e outros reagentes. (Conrad, Sverlow et al., 1993)

Portanto, pode ser necessário selecionar os valores de corte de maneira arbitrária, de modo a obter-se a sensibilidade e a especificidade necessárias em uma determinada aplicação. A idade e a classificação do animal podem afetar também a seleção do valor de corte (Barr et al., 1995; Dubey et al., 1998; Wouda, Dubey, 1998).

Embora o *Neospora caninum* esteja estreitamente relacionado ao *Toxoplasma gondii*, *Sarcocystis spp* e outros apicomplexanos, a reação cruzada não constitui um grande problema (Dubey et al., 1996; Wouda et al., 1998). Os títulos de anticorpos são mais altos, em geral, em vacas que abortaram devido à neosporose que nas vacas que mantiveram uma gestação normal; entretanto, um título em um indivíduo geralmente pode ser usado como fator isolado para a determinação da etiologia de um abortamento (e.g., Dubey et al., 1998).

Foram feitos progressos consideráveis em relação à definição dos antígenos de *Neospora caninum*, bem como nas provas específicas para a detecção do DNA do referido parasita (Dubey, 1999) o gene pNc-5 é o mais largamente utilizado para a detecção qualitativa ou quantitativa do DNA de

*Neospora caninum* em fetos abortados. A eficiência do diagnóstico pela reação em cadeia de polimerase (PCR) é dependente do laboratório individual, da autólise do feto e dos procedimentos de amostragem. Vale notar que o DNA do *Neospora caninum* pode ser detectado por PCR em tecido cerebral do bovino abortado submetido à fixação por formalina e embebido em parafina.

O *Toxoplasma gondii* e o *Sarcocystis cruzi* são dois outros protozoários que devem ser considerados no diagnóstico diferencial do abortamento por protozoários em bovinos. A imunohistoquímica e a detecção do DNA do parasita por PCR pode distingui-lo do *Neospora caninum*. O *Sarcocystis cruzi* forma equizontes no endotélio vascular e raramente (menos que 0,1%) e encontrado em cérebros de fetos abortados (Anderson et al., 1991), enquanto o *Neospora caninum* é geralmente encontrado nos tecidos extravasculares. Além disso, não há equizontes imaturos na infecção por *Neospora caninum*, em contraste com as infecções por *Sarcocystis cruzi*.

## **5- IFAT – Teste de anticorpos fluorescente direto; ELISA, ensaio imunoabsorbente ligado à enzima.**

Até recentemente, o *T. gondii* não era considerado um agente de abortamento em bovinos (Dubey, 1986), mas já foi detectado DNA de *T. gondii* em 5% dos fetos bovinos abortados que eles submeteram a exames na Suíça.

De 83 fetos bovinos investigados quanto a infecções por *Neospora caninum* e *T. gondii* através do uso de vários procedimentos de diagnósticos, foi detectado o DNA de *Neospora* em 24 e DNA de *T. gondii* em 4; em um

feto, o DNA de ambos os parasitas estavam presentes. Além disso, encontraram anticorpos contra *T. gondii* em 2 bezerros mortos, sugerindo a infecção transplacentária. (Sager et al. 2001)

Nenhum dos parasitas foi cultivado in vitro a partir dos tecidos de 27 dos 83 fetos disponíveis. Em um estudo mais recente do mesmo laboratório, foi encontrado DNA de Neospora em 50 (21%) e DNA de *T. gondii* em 1 (menos que 1%) de 242 fetos abortados em teste. (Sager et al. 2001)

Também foi encontrado DNA de *T. gondii* em 2 e DNA de Neospora em 16 dos 40 fetos com encefalite histologicamente confirmada na Austrália. Mais recentemente, o *T. gondii* foi isolado de 2 fetos bovinos abortados, sendo 1 em Portugal e 1 nos Estados Unidos. Existe, portanto, uma necessidade de revisão da prevalência da infecção transplacentária por *T. gondii* em bovinos. (Canada et al., 2002)

Tentativas de isolamento de Neospora viável por bioensaio em camundongos ou por culturas celulares têm sido mal sucedidos e pouco se sabe sobre a viabilidade antigênica entre os isolados de *Neospora caninum*, especialmente aqueles obtidos de animais saudáveis. Muitas tentativas de isolamento de Neospora têm sido mal sucedidas porque a maioria desses microorganismos morre dentro dos fetos quando estes sucumbem à infecção. Provavelmente por esta razão, Conrad, Barr et al. (1991) recuperaram Neospora apenas em 2 dos 49 fetos com infecção confirmada por *Neospora caninum* e em ambos os casos, os cistos tissulares estavam presentes. É mais fácil isolar o Neospora a partir dos tecidos neurais dos bezerros a termo infectados pela via congênita, talvez porque há mais probabilidade de

presença dos cistos tissulares e porque os cistos tissulares são mais resistentes à autólise que os taquizoítos. (Conrad, Barre t al., 1993)

## **6- NAT – Teste de Aglutinação de Neospora**

A recuperação de 4 isolados de *Neospora caninum* conforme pesquisa não é usual. O isolado NC-LIVBI foi obtido de um bezerro natimorto que era soropositivo, mas não tinha organismos histologicamente demonstráveis em seus tecidos. A mãe e o bezerro não possuíam quaisquer anticorpos detectáveis ao MASTAZIME–ELISA no momento do parto e 2 semanas depois, porém, ela sobreviveu durante uma gestação subsequente. O isolado NC–PVI foi obtido de um bezerro congenitamente infectado com sinais clínicos, o qual foi eutanasiado quando deitou, aos 45 dias de vida. Este é o maior período de tempo que um bezerro infectado com *Neospora* apresentando sinais clínicos sobreviveu. (Davison, Guy et al., 1999)

O isolamento de *Neospora* de um bezerro de 8 meses de idade também é interessante por diversas razões. Em primeiro lugar, a mãe foi diagnosticada como tendo recentemente adquirido uma infecção por *Neospora* com base na detecção de altos títulos de anticorpos IgG e IgM aos 230 dias de gestação. (Fioretti et al., 2000)

Em segundo lugar, embora tenha nascido um bezerro sadio aos 280 dias de gestação, a placenta continha focos inflamatórios e foi isolado o *Neospora caninum* viável por bioensaios em camundongos. (Fioretti et al., 2000)

Terceiro, é que cistos de *Neospora* de parede espessa foram encontrados diretamente no cérebro do bezerro, depois de sua eutanásia aos 8

meses de idade e o *Neospora* viável foi recuperado em camundongos e em cultura de células, embora o bezerro estivesse clinicamente normal. Esta é a primeira demonstração de *Neospora caninum* em um bovino normal de mais de 2 meses de idade. (Fioretti et al., 2000)

O isolamento de *Neospora* do cérebro de uma vaca de 2 anos de idade foi o primeiro isolamento de *Neospora caninum* em uma vaca adulta. A vaca já havia abortado por duas vezes fetos infectados com o *Neospora*, que sofreram eutanásia 24 dias após o segundo abortamento. Embora os parasitas não fossem demonstráveis em secções histológicas do cérebro infectado, continha encefalite branda não supurativa; a não ser por esse fato, a vaca era clinicamente normal. (Sawada et al, 2000)

## **7- Patogênese do Abortamento**

Atualmente, já se estabeleceu firmemente que a transmissão vertical (transplacentária) é o modo mais comum de infecção por *Neospora* em bovinos (Anderson et al., 1997). Inclusive, vacas soropositivas são mais sujeitas ao abortamento que aquelas que são soronegativas (Wouda, 1998; Trees, 1999). Estas observações sugerem fortemente a reativação da infecção latente, mas pouco se sabe sobre qualquer mecanismo de reativação nos bovinos.

É provável, entretanto, que haja uma parasitemia durante a prenhez, levando à infecção fetal, embora o *Neospora* ainda não tenha sido identificado em secções histológicas de vacas adultas. Existe apenas um relato de isolamento de *Neospora* viável no cérebro de uma vaca adulta e em um outro relato, o DNA foi identificado por PCR nos tecidos de vacas adultas, mas estes achados não foram ainda confirmados. Embora seja razoável a

especulação de que a imunossupressão induzida pela gestação ou mesmo que as alterações nos níveis hormonais possam reativar os cistos tissulares latentes de *Neospora caninum*, tal mecanismo não foi demonstrado para a neosporose. (Sawada et al., 2000)

Em um estudo elegantemente planejado envolvendo 18 reprodutoras naturalmente infectadas em um rebanho sueco, acompanharam as flutuações de anticorpos antes, durante e após a parturição. Destas, 13 vacas foram acompanhadas durante a segunda gestação. Cinco gestações terminaram em abortamento e 2 bezerros natimortos. Três das cinco vacas que abortaram fizeram-no durante a primeira gestação e duas abortaram durante a segunda gestação. No geral, os títulos de anticorpos foram mais altos em vacas que abortaram que naquelas que não abortaram. Este padrão de aumento de abortamentos foi o mesmo em ambos os grupos de vacas. (Stenlund et al., 1999)

Embora a prenhez não tenha sido sincronizada, os títulos de anticorpos tiveram seu pico entre 4 a 5 meses da parturição e então, entraram em declínio a partir de dois meses após a parturição em todas as dezoito vacas, sugerindo uma reativação da infecção latente no meio da gestação. (Stenlund et al., 1999)

Observações similares foram feitas na Espanha, onde se estudou mensalmente as flutuações dos títulos de anticorpos durante a prenhez em 32 vacas soropositivas, sendo que dez das quais abortaram e 22 não. Houve um aumento nos títulos de anticorpos durante o segundo trimestre, sendo este aumento no título mais proeminente nas vacas que abortaram do que nas que pariram normalmente. (Quintanilla-Gonzalo et al., 2000)

Um aumento no título de anticorpos aos 5, 6 ou 7 meses de gestação também foi observado e pode estar relacionado a estímulos antigênicos mais altos oriundos da multiplicação do parasita no feto. Observações similares foram feitas em nove vacas naturalmente infectadas das quais sendo que uma abortou o feto infectado com 124 dias de gestação, sendo que o mesmo estava vivo aos 118 dias de gestação. Cinco dessas vacas deram à luz a bezerros não infectados. (Guy et al., 2001)

Os anticorpos tiveram um pico alguns dias antes do abortamento na vaca que o sofreu e entre 22 a 36 semanas, nas vacas que deram à luz a bezerros infectados. (Guy et al., 2001)

Por outro lado, nas vacas que deram à luz a bezerros não infectados não houve mudanças nos valores dos anticorpos durante toda a gestação. (Guy et al., 2001)

Tentativas de detectar a parasitemia por PCR e de detectar anticorpos de baixa avidéz através de um teste ELISA de avidéz resultaram em insucessos, a não ser por um aumento de anticorpos IgG, mas nenhum parâmetro examinado constituiu um indicativo de infecção congênita em vacas persistentemente infectadas. (Guy et al., 2001)

Pouco se sabe no presente momento sobre a patogênese nas vacas após a infecção através da via digestiva por oocistos, embora eles sejam infectantes para os bovinos por esta via (Trees et al., 1996).

Os resultados dos experimentos em vacas leiteiras ou de corte inoculadas parenteralmente com taquizoítos de *Neospora caninum* (Dubey, Lindsay et al., 1999; Barr et al., 1991) indicaram que o feto pode tornar-se infectado e às vezes doente por volta de 4 semanas após a inoculação do parasita. Mesmo numa fase inicial, foram encontradas lesões na placenta e no

sistema nervoso central, sendo a encefalite apresentada como a principal lesão.

A extensão do dano placentário devido tanto à multiplicação do *Neospora caninum* quanto às respostas proinflamatórias imunes ou ambas, não é conhecido. Alguns resultados indicam que a idade gestacional pode determinar o resultado da infecção. Cinco dos fetos de vacas inoculadas com o *Neospora caninum* com 10 semanas de gestação morreram no interior do útero, enquanto todas as 6 vacas similarmente inoculadas com 30 semanas de gestação pariram bezerros infectados por Neosporose, porém, clinicamente normais. Nenhum dos bezerros de outras 6 vacas inoculadas por volta de 9 semanas antes do início da prenhez estava infectado com o *Neospora*. Estes resultados sugerem uma maior susceptibilidade dos fetos imaturos à multiplicação do *Neospora caninum*. (Dubey, Lindsay et al., 1999; Barr et al., 1991)

Em outro estudo, vacas prenhes foram inoculadas com taquizoítos de *Neospora* aos 70 (grupo 1), 140 (grupo 2) e 210 (grupo 3) dias de gestação. Todos produziram bezerros normais, mas o bezerro nascido das vacas do grupo 1 não estavam infectados, ao passo que os nascidos pertencentes aos grupos 2 e 3 estavam infectados, sugerindo importantes influências relacionadas à idade gestacional.

### **8- *Neospora caninum*: um patógeno primário em bovinos**

*Neospora caninum* é um dos organismos de maior eficiência quanto à transmissão transplacentária. Em alguns rebanhos, até 90% dos bovinos foram infectados e a maioria dos bezerros que nasceram afetados

congenitamente com o *Neospora* permaneceram saudáveis. (Thurmond et al., 1999)

Isto tem suscitado um debate se o *Neospora* é uma causa primária de abortamento em bovinos ou mais um saprófita oportunista. (Barr, Anderson et al, 1991)

O peso da evidência, atualmente, indica que o *Neospora* é um patógeno primário. Entretanto, existe a necessidade de se distinguir entre as infecções clínicas e as não clínicas. Nos relatos iniciais de Barr et al. (1991), os seguintes critérios foram estabelecidos para o diagnóstico de abortamento por *Neospora caninum*. (Barr, Anderson et al, 1991)

Primeiro, os fetos apresentavam lesões histopatológicas, geralmente de encefalite, em uma proporção na qual o *Neospora* podia ser demonstrado. Na opinião do autor, a identificação dos organismos nas lesões é uma boa evidência para a etiologia das lesões. (Buxton et al., 2002)

Adicionalmente, o abortamento foi induzido em vacas experimentalmente infectadas. A porcentagem de fetos que tiveram o *Neospora caninum* histologicamente detectável e nenhuma lesão é desconhecida e então a detecção do DNA do *Neospora* sozinho em um feto abortado pode não ser suficiente para estabelecer a relação de causa e efeito. (Buxton et al., 2002)

Fatores do hospedeiro (citoquinas, hormônios) que podem contribuir para a patogênese da infecção por *Neospora* não foram ainda estabelecidos em um relato, porém, foi feito um relato com a associação entre o *Neospora* e a soropositividade ao vírus da diarréia bovina, mas outros não conseguiram encontrar tal relação. (Buxton et al., 2002)

## 9- Impacto Econômico

Além dos custos diretamente envolvidos na perda fetal, há os custos indiretos, incluindo os serviços dos profissionais, além de despesas com estabelecimento de um diagnóstico, repetição do cruzamento, possibilidade de perda da produção leiteira, e também o custo de reposição caso as vacas que abortarem tiverem que ser descartadas. (Cramer et al., 2002)

As perdas pós-natais devido à neosporose são de difícil documentação porque não há efeitos patológicos óbvios nos casos adultos, restando apenas a perda fetal. (Cramer et al., 2002)

Em um estudo retrospectivo de um rebanho leiteiro composto por 2.000 vacas na Califórnia, as vacas consideradas soropositivas para o *Neospora* foram descartadas 6 meses antes que as vacas negativas para o *Neospora*. O rebanho já tinha um histórico de abortamentos associados ao *Neospora caninum*. (Cramer et al., 2002)

Utilizando métodos idênticos aos considerados no estudo californiano, a soropositividade na *Neospora* não foi associada ao descarte em 3.416 vacas de 56 rebanhos leiteiros na Austrália. (Cramer et al., 2002)

O *Neospora caninum* pode afetar também a produção de leite. Em um estudo, vacas positivas para o *Neospora* de um rebanho de 2.000 vacas na Califórnia produziram aproximadamente 1 kg a menos de leite do que as suas companheiras de rebanho soronegativas. Em uma outra pesquisa, a exposição ao *Neospora* foi estimada como sendo a causadora de 3% a 4% do declínio da produção leiteira, ocasionando a perda de 128 dólares por vaca e por lactação em um rebanho de 700 vacas na Flórida. (Hernandez et al., 2001)

Contraditoriamente a estes dois relatos dos Estados Unidos, em um caso ampla soropositividade e controle da produção leiteira em 140 rebanhos leiteiros envolvendo 6.864 vacas em Ontário, Canadá, foi o índice de abortamento e não a soropositividade que afetou a produção de leite. As vacas soropositivas produziram a mesma quantidade de leite em comparação com as vacas soronegativas. (Pfeiffer et al., 2002)

O interessante a se notar foi o fato de que os métodos utilizados foram os mesmos que aqueles empregados no estudo da Califórnia. Entretanto, este assunto permanece incerto devido a um estudo na Nova Zelândia onde se constatou uma produção significativamente aumentada de leite em vacas soropositivas para o *Neospora caninum*. (Pfeiffer et al., 2002)

Todos estes resultados vem provar que, em geral, sabe-se menos sobre as causas do abortamento em gado leiteiro por causa da dificuldade em monitoração quando os pequenos fetos são expelidos no primeiro trimestre. Portanto, tendo em vista essas considerações, não há dados acurados a respeito das perdas induzidas por Neospora em gado de corte. (Pfeiffer et al., 2002)

Enquanto também não há nenhuma evidência direta de morbidade associada ao Neospora em bovinos adultos, foi demonstrado em um estudo soroepidemiológico, uma associação positiva entre o índice de anticorpos ao *Neospora caninum* do bezerro e o ganho de peso, perfazendo uma perda projetada de 15,62 dólares por bezerro. (Pfeiffer et al., 2002)

## **10- Transmissão, epidemiologia e controle**

A transmissão vertical é a principal via de infecção, mas também existe a transmissão pós-natal, e sem essa última via, a infecção por *Neospora caninum* em bovinos não teria se sustentado historicamente, visto que a transmissão vertical ocorre em menos de 100% dos casos. (Anderson et al, 1991)

Até hoje, parece não ter havido nenhuma transmissão vaca-a-vaca de *Neospora caninum*, como já foi demonstrado em um excelente estudo, onde foi relatado que 25 novilhas soronegativas foram estabuladas com outras 25 novilhas soropositivas desde o nascimento e suas progênes foram avaliadas quando à infecção por *Neospora caninum*. As novilhas soronegativas permaneceram soronegativas e deram à luz bezerros não infectados pelo Neospora. As novilhas soropositivas permaneceram clinicamente normais, mas deram à luz bezerros congenitamente infectados, onde 4 deles foram necropsiados e todos possuíam evidências histológicas de infecção por Neospora. (Anderson et al., 1997)

É improvável que o Neospora seja transmitido por via venérea, ou por transferência de embriões em bovinos, uma vez que a transferência de embriões é recomendada como um método de controle da transmissão vertical. (Bielanski et al., 2002)

Nesse importante estudo, a infecção por Neospora não foi demonstrável em nenhum dos 70 fetos ou bezerros nascidos de vacas soronegativas que receberam embriões de vacas soropositivas, enquanto 5 dos

6 bezerros resultantes da transferência de doadoras soronegativas para receptoras soropositivas foram infectados com o *Neospora caninum*. (Bielanski et al., 2002)

Foram confirmados todos esses dados, e demonstraram que todos os procedimentos comerciais de transferência de embriões também preveniram a transferência de *Neospora caninum* de vacas soropositivas para as vacas receptoras soronegativas. Adicionalmente, embriões bovinos pré-implantados são resistentes à infecção por Neospora. (Thurmond et al., 1995)

Já a transmissão lactogênica, embora considerada possível, não é epidemiologicamente importante, pois embora o Neospora seja eficiente transmitido verticalmente por várias gerações (Trees, 1996), o descarte pode ser um modo apropriado de tentar controlar e interromper a perpetuação da infecção.

Acumulam-se as evidências de que a transmissão via oocistos possa ser mais prevalente que a que se pensava inicialmente. Distúrbios de abortamento em vacas recentemente infectadas, como evidenciado pelos anticorpos de baixa avidéz e pela soroconversão em altas proporções dos bovinos, indicaram a transmissão de *Neospora caninum* pela via fecal-oral (Mc Allister et al., 1996; Wouda, 1998).

A transmissão horizontal também pode ocorrer em rebanhos que não estejam passando por distúrbios abortivos (Wouda, 1998).

Como os cães tornam-se infectados na natureza é ainda um fator desconhecido, pois pequenos animais predados pelo cão não foram identificados como hospedeiros naturais de *Neospora caninum*. (Trees, 1996)

Em uma pesquisa, foram encontrados 51% dos Fox Hounds alimentados com carne crua apresentando anticorpos para a Neospora ( Trees,

1996) e os oocistos de *Neospora* foram identificados nas fezes desses Fox Hounds.

Enquanto o consumo de fetos bovinos abortados não parece ser uma fonte considerável de infecção em cães (Wouda, 2002) deve-se ater no fato de que o consumo de membranas fetais pode ser a fonte de contaminação pelo parasita, uma vez que foram encontrados em placentas naturalmente infectadas, e cães alimentados com placentas de vacas soropositivas paridas podem abrigar oocistos.

Experimentalmente, encontrou-se cães abrigando apenas uns poucos oocistos após a ingestão de tecidos infectados e os oocistos de *Neospora* foram identificados em apenas uns poucos cães, naturalmente infectados. Entretanto, recentemente, cães alimentados com tecidos de vacas experimentalmente infectadas abrigavam mais de 100.000 oocistos de *Neospora caninum*. (Dijkstra et al., 2001)

Sabe-se que os cães podem hospedar oocistos em mais de uma ocasião. Partindo-se desse princípio, nunca deve ser permitida aos cães a ingestão de fetos abortados, membranas fetais ou bezerros mortos e, nem tampouco se deve permitir que os cães defequem em qualquer local de modo a facilitar a contaminação dos alimentos ou da água que possam ser subsequentemente ingeridos pelo gado. (Dijkstra et al., 2001)

Ainda são desconhecidas as drogas que podem prevenir a transmissão do parasita da mãe para o feto, mas as pesquisas nessa área continuam. (Trees e Williams, 2003)

As observações, tanto das vacas infectadas naturalmente quanto das vacas experimentalmente inoculadas com parasitas vivos antes da prenhez e subsequentemente desafiadas durante a prenhez indicam que a imunidade de

proteção à transferência congênita da infecção por *Neospora caninum* pode ser induzida em bovinos experimentalmente infectados. (Trees e Williams, 2003)

Correntemente não há nenhuma vacina que comprove a prevenção ao abortamento por *Neospora caninum* em bovinos, muito embora haja resultados encorajadores obtidos a partir de camundongos vacinados com parasitas mortos ou os seus produtos. A vacinação de ratas antes da prenhez com taquizoítos mortos de *Neospora* bloqueou a transferência transplacentária quando as ratas foram desafiadas durante a prenhez. (Nishikawa et al., 2002)

Experimentos iniciais em vacas prenhes vacinadas com taquizoítos mortos de *Neospora* misturados ao adjuvante POLYGEN e depois desafiadas com *Neospora caninum* não foram capazes de prevenir o abortamento ou a transmissão congênita do parasita. (Adrianarivo et al., 2000)

Há uma vacina sendo comercializada nos Estados Unidos com licença provisória utilizada para a prevenção de neosporose clínica em gados. Os relatos indicaram até agora que a vacina é segura em vacas sadias prenhes, entretanto existem dúvidas sobre a prevenção ao abortamento associado ao *Neospora*.

Sendo assim, a neosporose continua sendo uma infecção enigmática do gado. (Nishikawa et al., 2002)

## 11- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANARIVO A.G.; BARR B.C.; ANDERSON M.L.; ROWE J.D.; PACKHAM A.E.; SVERLOW K.W.; CONRAD P.A.(2000) Immune responses in pregnant cattle and bovine fetuses following experimental infection with *Neospora caninum*. **Res. Parasitol.** 87: 817-825.

ANDERSON, M. L.; PALMER, C. W.; THURMOND; M.C., PICANSO, J.P.; BLANCHARD, P.C.; BRETMAYER, R.E.; LAYTON, A.W.; McALLISTER, M.; DAFT, B.; 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.**, Schaumburg, v. 207, n. 09, p. 1206–1210, 1995.

ANDERSON M.L.; REYNOLDS J.P.; ROWE J.D, et al. (1997). Evidence of vertical transmission of *Neospora sp* infection in dairy cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.** 210: 1169-1172.

BARR, B.C.; CONRAD, P.A.; DUBEY, J.P.; ANDERSON, M.L. *Neospora*-like encephalomyelitis in a calf pathology, ultrastructure, and immunoreactivity. **J. Vet. Diagn. Invest.**, Columbia, v.03, p.36-46, 1991.

BIELANSKI A.; ROBINSON J.; PHIPPS-TODD B.. (2002). Effect of *Neospora caninum* on in vitro development of preimplantation stage bovine embryos and adherence to the zona pellucida. **Vet. Rec.** 150: 316-318.

BOGER L.A.; A.L. HATTEL. (2003). Additional evaluation of undiagnosed bovine abortion cases may reveal fetal neosporosis. **Vet. Parasitol.** 113: 1-6.

CANADA N.; MEIRELES C.S.; ROCHA A.; CORREIA DA COSTA J.M.; ERICKSON M.W., DUBEY J.P. (2002). Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally-infected aborted bovine fetuses. **J. Parasitol.** 88: 1247-1248.

CONRAD P.A.; BARR B.C.; SVERLOW K.W. et al. (1993). In vitro isolation and characterization of a *Neospora sp* from aborted bovine fetuses. **Parasitology** 106: 239-249.

DAVISON H.C.; GUY F.; TREES A.J.; et al. (1999). In vitro isolation of *Neospora caninum* from a stillborn calf in the UK. **Res. Vet Sci.** 67: 103-105.

DIJKSTRA T.; EYSKER M.; SCHARES G.; CONRATHS F.J.; WOUDA W.; BARKEMA H.W. (2001). Dogs shed *neosporea caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrums spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **Int. J. Parasitol.** 31; 747-752.

DUBEY, J.P.; LINDSAY D.S. (1996) A review of *Neospora caninum* and neosporosis. **Vet. Parasitol.** 67: 1-59.

DUBEY, J.P.; DOROUGH K.R.; JENSINS M.C.; LIDDELL S.; SPEER C,A.; KWOK O.C.H.; SHEN S.K. (1998) Canine neosporosis: Clinical signs, diagnosis, treatment and isolation of *Neospora caninum* in mice and cell culture. **Int. J. Parasitol.** 28: 1293-1304.

DUBEY, J.P. (1999) Neosporosis: the first decade of research. **Int. J. Parasitol.** 29: 1485-11488.

DUBEY, J.P. (1999) Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Vet. Parasitol.** 84: 349-367.

DUBEY, J.P.; HILL D.E.; LINDSAY D.S.; JENKINS M.C.;UGLA A.; SOEER C.A. (2002). *Neospora caninum* and *Hammondia heydomi* are separate species. **Trends Parasitol.** 18: 66-69.

DUBEY, J.P.; BARR B.C.; BARTA, J.R.; BJEKAS I.; BJÖRKMAN C.; BUXTON D.; ELLIS J.T.; GOTTSTEIN B.; HEMPHILL A.; HILL D.E.;HOWE D.K.; JENSINS M.C.; KOBAYASHI Y.;KOUDELA B.; MARSH A.E.; MATTSSON, J.G.; McALLISTER M.M.; MODRY D., OMATA Y; SYBLEY L.D.; SPEER C,A.; TREES, A.J.; UGGLA, A.; UPTON S.J.; WILLIAMS, D.J.;LINDSAY D.S. (2002) Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **Int. J. Parasitol.** 32: 929-946.

FIORETTI D.P.; ROSIGNOLI L.; RICCI G.; MORETTI A.; PASQUALI P.;POLIDORI G.G. (2000). *Neospora caninum* infection in a clinically healthy calf: parasitological study and serological follow-up. **J. Vet. Med. B.** 47: 47-53.

GONDIM L.F.P.; GAO L.; McALLISTER M.M. (2002). Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts. *J. Parasitol.* 88: 1159-1163.

GUY, C.S.; D.J.L. WILLIAMS; D.F. KELLY; J.W. McGARRY; F. GUY; C. BJÖRKMAN; R.F. SMITH; A.J. TREES. (2001). *Neospora caninum* in persistently infected, pregnant cows: spontaneous transplacental infection is associated with an acute increase in maternal antibody. *Vet. Rec.* 149: 443-449.

HERNÁNDEZ, J.; C. RISCO; A.DONOVAN. (2001). Association between exposure to *Neospora caninum* and milk production in dairy cows. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 219:632-635

LYNDSAY, D.S.; UPTON, S.J.; DUBEY, J.P. A structural study of the *Neospora caninum* oocyst. *Int. J. Parasitol*, Elmsford, v. 29, n.10, p. 1521-1523, 1999.

McALLISTER M. M.; PARMLEY S. F.; WEISS L. M.; WELCH V. J.; MC GUIRE A.M. (1996) Na immunohistochemical method for detecting bradyzoite antigen (BAGS) in *Toxoplasma gondii* – infected tissues crossreact with a *Neospora caninum* bradyzoite antigen. *T. Parasitology*. p. 354–355.

NISHIKAWA, Y.; T. MIKAMI; H. NAGASAWA. (2002). Vaccine development against *Neospora caninum* infection. *J. Vet. Med. Sci.* 64:1-5.

PARÉ J.; FECTEAU G.; FORTIN M.; MARSOLAIS G. (1998). Seroepidemiologic study of *neosporea caninum* in dairy herds. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 213; 1595-1598.

PFEIFFER, D.U.; N.B. WILLIAMSON; M.P. REICHEL; J.J. WICHTEL; W.R. TEAGUE. (2002). A longitudinal study of *Neospora caninum* infection on a dairy farm in New Zealand. *Prev. Vet. Med.* 54: 11-24.

QUINTANILLA-GOZALO, A.;J. PEREIRA-BUENO; A. SEIJAS-CARBALLEDO; E. COSTAS; L.M. ORTEGA-MORA. (2000). Observational studies in *Neospora caninum* infected dairy cattle: relationship infection-

abortion and gestational antibody fluctuations, in: Hemphill, A., Gottstein, B. A European perspective on *Neospora caninum*. ***Int. J. Parasitol.*** 30: 900-906.

SAGER H.; FISCHER I.; FURRER K.; et al. (2001). A Swiss case-control study to assess *Neospora caninum*-associated bovine abortions by PCR, histopathology and serology. ***Vet. Parasitol.*** 102: 1-15.

SAWADA M.; KONDO H.; TOMIOKA Y.; et al. (2000). Isolation of *Neospora caninum* from the brain of a naturally infected adult dairy cow. ***Vet. Parasitol.*** 90: 247-252.

SÖNDGEN P.; PETERS M.; BÄRWALD A.; et al. (2001). Bovine neosporosis: immunoblot improves foetal serology. ***Vet. Parasitol.*** 102: 279-290.

STENLUND, S.; H. KINDAHL; U. MAGNUSSON; A. UGGLA; C. BJÖRKMAN. (1999). Serum antibody profile and reproductive performance during two consecutive pregnancies of cows naturally infected with *Neospora caninum*. ***Vet Parasitol.*** 85: 227-234.

THURMOND M.C.; ANDERSON M.L.; BLANCHARD P.C. (1995). Secular and seasonal trends of *Neospora* abortion in California dairy cows. ***J. Parasitol.*** 81: 364-367.

THURMOND M.C.; HIETALA S.K. (1997). Effect of *Neospora caninum* infection on milk production in first-lactation dairy cows. ***J. Am. Vet. Med. Assoc.*** 210: 672-674.

THURMOND M.C.; HIETALA S.K. (1999). *Neospora Caninum* infection and abortion in cattle. 4: 425-431.

TREES, A. J.; DAVISON H. C.; INNES E. A., WASHINGTON J. M. (1996). Towards evaluating the economic impact of bovine Neosporosis. ***Int. T. Parasitol.*** p. 1195-1200.

TREES A.J.; WILLIAMS D.J.L. (2003). Vaccination against bovine neosporosis – the challenge is the challenge. ***J. Parasitol.*** 89: Supplement in press.

WOUDA, W.; MOEN, A.R.; SHUKKEN, Y.H. Abortion risk in progeny of cows after a *Neospora caninum* epidemic. *Theriogenology*, Stoneham, v.49, p.1311-1316, 1998.

WOUDA W.; DIJKSTRA T.; KRAMER A.M.H.; van MAANEN C.; BRINKHOF J.M.A. (1999). Seroepidemiological evidence for a relationship between *Neospora caninum* infections in dogs and cattle. *Int. J. Parasitol.* 29: 1677-1682.