

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**NEOSPOROSE EM BOVINOS DE CORTE CRIADOS
EXTENSIVAMENTE NA ZONA DA MATA PARAIBANA**

Michele Flávia Sousa Marques
Médica Veterinária

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**NEOSPOROSE EM BOVINOS DE CORTE CRIADOS
EXTENSIVAMENTE NA ZONA DA MATA PARAIBANA**

Michele Flávia Sousa Marques
Orientador: Prof. Dr. Suedney de Lima Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

M357n Marques, Michele Flávia Sousa.

Neosporose em bovino de corte criados extensivamente na zona da mata
paraibana. / Michele Flávia Sousa Marques. - Areia: UFPB/CCA, 2015.
39 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Centro de Ciências Agrárias.
Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

Bibliografia.

Orientador (a): Suedney de Lima Silva.

1. Bovino de corte - doenças 2. *Neospora caninum* 3. Protozooses em animais I.
Silva, Suedney de Lima (Orientador) II. Título.

UFPB/CCA

CDU: 636.2.09(043.3)

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

MICHELE FLÁVIA SOUSA MARQUES – Nasceu em Porto Velho – RO em 27 de junho de 1991, Médica veterinária graduada pela Universidade Federal da Paraíba (2014), onde desenvolveu atividades de monitoria para Fisiologia Animal (2010-2011), participou dos projetos: Desenvolvimento da Caprinocultura Leiteira no Cariri Paraibano Através do Manejo Sanitário de Ordenha (2011-2012) e Projeto de Inclusão Digital nos Assentamentos Rurais de Areia-PB. Oficina: Saúde Animal e Medicina veterinária preventiva (2012-2013) e no Subprojeto: Morfologia renal da *Bradypus variegatus* (Bicho preguiça comum) (2012-2013). Atualmente possui vínculo empregatício pela mesma instituição, na função de auxiliar de veterinária e zootecnia desde 2013.

EPÍGRAFE

Portanto, não se preocupem com o dia de amanhã,
Pois o dia de amanhã terá suas preocupações.
Basta a cada dia a própria dificuldade.
Mateus 6:34

DEDICATÓRIA

Aos meus familiares e amigos
Que sempre me apoiaram
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pelo dom da vida, pela saúde e sabedoria para conduzir mais esta etapa de minha formação acadêmica e chegar ao fim com êxito e satisfação.

Aos meus familiares e amigos por todo apoio e motivação.

Ao meu inestimável companheiro, parceiro e amado noivo Guilherme Santana de Moura pela força, apoio e companheirismo, por ter acompanhado e auxiliado de perto cada momento, foi muito importante e decisivo.

Ao programa de pós graduação em ciência animal-UFPB, ao meu orientador Suedney de Lima Silva pela oportunidade e por todo o conhecimento aprimorado, aos professores que se envolveram e ao laboratório de doenças infectocontagiosas da UFRPE pelo apoio.

A todos que participaram direta e indiretamente deste trabalho! Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
RESUMO GERAL –	12
ABSTRACT	12
CONSIDERAÇÕES GERAIS	13
Etiologia e Ciclo do Protozoário	14
Fatores de Risco.....	15
Mecanismo de Infecção	16
Sinais Clínicos	17
Diagnóstico	17
Controle e Profilaxia.....	19
CAPÍTULO 1.....	21
Congenital encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in a calf associated with <i>Neospora caninum</i> in Paraíba – Brazil	
RESUMO	22
ABSTRACT	22
INTRODUCTION	23
CASE REPORT	23
REFERENCES	25
CAPÍTULO 2.....	28
Frequência de anticorpos anti- <i>Neospora caninum</i> em rebanho bovino na Zona da Mata Paraibana	
RESUMO	28
ABSTRACT	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAL E MÉTODOS	29
RESULTADOS	30

DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÃO	31
Agradecimentos.....	31
Referências	32
CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Titulação de anticorpos IgG anti- <i>Neospora caninum</i> pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em bovinos do município de São José dos Ramos, Estado da Paraíba, Brasil, 2015.....	30
---	----

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1. Intense vacuolization (status spongiosus) in spinal gray matter (asterisk) and foci of lymphoplasmacytic inflammation (arrow). Hematoxylin-Eosin staining. 40x magnification..... 25
- Fig. 2. Mononuclear inflammation foci surrounding parasitic cysts (arrow) in cervical spinal cord. Hematoxylin-Eosin staining. 200x magnification.....26

NEOSPOROSE EM BOVINOS DE CORTE CRIADOS EXTENSIVAMENTE NA ZONA DA MATA PARAIBANA

RESUMO GERAL – Estudos acerca da identificação e diagnóstico da neosporose em rebanhos bovinos vem se destacando por todo o mundo, por ser caracterizada como um dos diagnósticos diferenciais importantes para problemas reprodutivos e resultar em consideráveis perdas econômicas. Neste trabalho relata-se um caso de encefalomielite congênita e polirradiculoneurite, causada pelo *Neospora caninum* em um bezerro macho com seis meses de idade, o qual foi eutanasiado e o diagnóstico confirmado com a PCR. Sendo este, o relato de maior tempo de sobrevivência de um bezerro infectado congenitamente pelo *Neospora caninum* e um prenúncio para que se iniciem o mais rápido possível a triagem dos rebanhos paraibanos para que se identifique sua situação sanitária. Neste sentido, o segundo trabalho objetivou determinar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em um rebanho bovino na Zona da Mata Paraibana, a partir da coleta de 68 amostras testadas para a presença de anticorpos contra *N. caninum*, pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Um total de 45 (66,2%) amostras foram negativas e 23 (33,8%) apresentaram anticorpos anti-*N. caninum*. Os títulos de anticorpos variaram entre 200 e 3.200. A alta presença de anticorpos anti-*N. caninum* associado ao histórico de problemas reprodutivos, evidenciam a presença do agente no rebanho e acendem um alerta quanto a urgência de mais estudos no Estado, incluindo outras espécies envolvidas na epidemiologia dessa infecção para que medidas de controle e prevenção possam ser adotadas e as perdas econômicas minimizadas.

Palavras-chave: *Neospora caninum*, aborto, protozoário, encefalomielite, polirradiculoneurite, RIFI.

NEOSPOROSIS IN BEEF CATTLE IN PARAÍBA “ZONA DA MATA”

ABSTRACT - Studies on identification and diagnosis of neosporosis in cattle has been increasing worldwide, being characterized as an important differential diagnosis for reproductive problems, resulting in considerable economic losses. This paper reports a case of congenital and poliradiculoneurite encephalomyelitis *Neospora caninum*—associated in a 6-months-old male calf, which diagnosis was confirmed by PCR after euthanasia. This is the longest survival time reported of a congenitally infected calf by *Neospora caninum* and highlight the need of begin Paraíba's herds screening as soon as possible to identify their sanity status. This way, the second study aimed to determine the presence of anti-*N. caninum* antibodies in a beef cattle herd in Paraíba “Zona da Mata” mesorregion. Were tested 68 samples for presence of anti-*N. caninum* antibodies by Indirect Immunofluorescence Reaction in Infectious Diseases Laboratory at the Federal Rural University of Pernambuco. A total of 66.2% (45/68) were negative and 33.8% (23/68) were positive. Antibody titers ranged from 200 up to 3,200. The high presence of anti-*N. caninum* antibodies associated to history of reproductive problems, show agent's presence in the herd and highlight the urgency for more research in Paraíba state, including other species involved in the epidemiology of infection for better control and prevent to reduce losses.

Keywords: *Neospora caninum*, abortion, protozoa, encephalomyelitis.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Etiologia e Ciclo do Protozoário

Há anos a neosporose vem se destacando em rebanhos bovinos por todo o mundo, por ser caracterizada como um dos diagnósticos diferenciais importantes para problemas reprodutivos, como o aborto. Tem como agente etiológico o protozoário coccídico *Neospora caninum*, um parasita intracelular obrigatório pertencente ao filo apicomplexa, família *Sarcocystidae* (FARIAS, 2002). Este protozoário apresenta três estágios de desenvolvimento, que são os taquizoítos, bradizoítos e oocistos (BRINKER, 2012). Seu ciclo de vida é do tipo heteróximo, em que a reprodução sexuada ocorre no hospedeiro definitivo e a assexuada nos hospedeiros intermediários.

São considerados hospedeiros definitivos o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) (MCALLISTER et al., 1998), o coiote (*Canis latrans*), o lobo cinzento (*Canis lupus*) e o dingo (*Canis lupus dingo*) (GOODSWEN; KENNEDY; ELLIS, 2013), e como principais hospedeiros intermediários o bovino e também, o cão, havendo confirmação de infecção natural em antílope, bisão, búfalo, caprino, camelo, equino, cervo, coiote, felinos selvagens, guaxinim, javali, lagomorfos, lobo, mamíferos marinhos, ovinos, raposa, rinoceronte, roedores e veado (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

A fase sexuada acontece nos hospedeiros definitivos infectados após consumirem tecidos contendo os parasitas na forma cística, oriundos de hospedeiros intermediários. Após a ingestão dos cistos, ocorre a multiplicação sexuada no interior das células intestinais e liberação de oocistos não esporulados nas fezes, os quais podem esporular no ambiente entre 24 a 72 horas, dependendo das condições de umidade, temperatura e oxigenação (GONDIM; GAO; MCALLISTER, 2002). Sua parede é espessa e permite que os esporocistos sobrevivam em condições ambientais por longo tempo (GOODSWEN; KENNEDY; ELLIS, 2013).

Já a fase assexuada, ocorre quando o hospedeiro intermediário se infecta ingerindo água e alimentos contaminados com fezes contendo oocistos esporulados, que se rompem no estômago do hospedeiro intermediário, liberando os esporozoítos, que invadem os tecidos, sofrem multiplicação

assexuada originando taquizoítos móveis, que são encontrados em desenvolvimento dentro de vacúolos parasitóforos de várias células como macrófagos, fibroblastos, miócitos (MULLER et al., 2002), células cerebrais, células do endotélio vascular, células renais e hepatócitos (DUBEY et al., 2002).

Os bradizoítos ficam dentro de cistos teciduais e podem ficar em latência por meses ou anos, em tecidos nervosos centrais e periféricos restabelecendo o ciclo quando consumido pelo hospedeiro definitivo (MULLER et al., 2002).

Sua transmissão pode ser de duas formas: horizontal ou vertical. A via horizontal ocorre por meio da ingestão de oocistos presentes nos alimentos, água e pela prática da placentofagia pelos hospedeiros intermediários, comum em fêmeas primíparas. O cão constitui uma parte integrante importante nessa via de infecção, pois se observa a forte associação entre a presença de cães e ocorrência da neosporose em bovinos (GUIMARÃES; ROMANELLI, 2006). Já a via vertical ocorre de forma transplacentária, através da passagem de taquizoítos presentes no sangue da mãe para a placenta, infectando o feto que pode morrer no útero, ser absorvido, mumificado, autolisado, abortado (GOODSWEN; KENNEDY; ELLIS, 2013), nascer vivo com sinal clínico ou nascer clinicamente normal, mas infectado (DUBEY; SCHARES, 2006).

Fatores de Risco

Diversos fatores podem colocar rebanhos em risco e infecta-los, como a idade do animal, que pode aumentar o risco de ocorrência em animais senis e/ou com maior número de partos. A Presença de hospedeiro definitivo é outro fator relevante, visto que, a presença de cães nas fazendas aumenta a possibilidade da transmissão horizontal nos rebanhos. (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007), havendo estreita relação entre animais soropositivos à neosporose e a presença de cães (ASMARE et al., 2013; GHALMI et al., 2012).

O manejo reprodutivo é também relevante, já que o aborto é uma das principais consequências da infecção pelo *Neospora caninum* (ASMARE et al., 2013) e a transmissão vertical considerada a principal via de infecção e manutenção do agente no rebanho, esta pode ser do tipo endógena ou exógena. A infecção transplacentária endógena ocorre como resultado da recrudescência de uma infecção fetal persistente durante a gestação e a infecção

transplacentária exógena resulta da infecção durante a gestação de uma fêmea não infectada (TREES; WILLIAMS, 2005).

O tamanho do rebanho e sua aptidão também são considerados importantes, pois observou-se uma tendência ao aumento da prevalência de *N. caninum* em rebanhos com maior número de animais e em rebanhos com aptidão leiteira, (ASMARE et al., 2013; MOORE et al., 2009), possivelmente pela maior concentração de fêmeas, sendo estes os rebanhos mais estudados, restringindo as informações sobre rebanhos de corte.

Ainda, a presença de áreas alagadas e pastagens contaminadas com oocistos do *N. caninum* funcionam como meios de disseminação do agente no rebanho (FILHO, 2013) e o contato com animais selvagens, considerados hospedeiros definitivos, nas instalações também revela uma associação significativa na continuidade da transmissão (SOUSA et al., 2012).

Mecanismo de Infecção

A fisiopatogenia da infecção pelo *N. caninum* é complexo e, ainda, pouco elucidado, principalmente nos casos de aborto. Sabe-se que, a parasitemia é seguida pela invasão da placenta e do feto e sugere-se que o aborto ocorra quando o dano placentário primário induzido pelo parasita põe em risco a (GONZALO et al., 2004) sobrevivência fetal direta ou provoca a liberação de prostaglandinas maternas que por sua vez causa luteólise e aborto (DUBEY; SCHARES, 2006).

Nos casos de infecção fetal intrauterina sem a ocorrência do aborto, as informações acerca da fisiopatogenia são ainda mais escassas, sem dados recentes, no entanto, extremamente importantes, pois o nascimento de fêmeas infectadas é o principal meio para a manutenção do agente no rebanho (GONZÁLEZ-WARLETA et al., 2008).

Sabe-se que *N. caninum* invade células do hospedeiro e inicia o processo de multiplicação com a formação de pseudocisto contendo centenas de taquizoítos, os quais são liberados após a lise da célula (SOLDATI et al., 2004), atingem a circulação sanguínea e invadem outros tecidos, tendo predileção pelo SNC (DUBEY; SCHARES, 2006).

Apresenta como lesão mais característica a meningoencefalite não supurativa (NISHIMURA et al., 2015), que tem como principais características nos tecidos nervosos necroses multi-focais, glioses, degeneração walleriana dos axônios com presença de esferoides, podendo estes fenômenos de tipo degenerativo e inflamatório localizarem-se nas porções extra-medulares dos nervos espinhais e aglomerados de células mononucleares perivasculares, junto a cistos de *N. caninum* (BARR et al., 1990; BUXTON et al., 1997; MALAGUTI, 2011; MORALES et al., 2001; VARASCHIN et al., 2012).

Sinais Clínicos

O principal sinal clínico sugestivo da infecção por *N. caninum* em rebanhos, é o aborto, que pode ocorrer em qualquer idade e em qualquer época do ano (GARCÍA, 2003), podendo ainda, apresentar natimortos e má formação congênita, como microcefalia, hidrocefalia e hipoplasia cerebelar. Em bovinos jovens, o quadro clínico sugestivo de neosporose é a presença de sinais neurológicos e de poliomiosite (PATRÍCIO, 2008) e os sinais clínicos da síndrome neurológica aparecem geralmente dentro de três a cinco dias (WOUDA, 2000).

Os sinais neurológicos podem ser evidenciados por deformações nos membros torácicos ou pélvicos, com ocorrência de flexão ou hiperextensão destes membros, ataxia, diminuição dos reflexos patelares, perda da consciência proprioceptiva dos membros, paralisia, opistótono e incoordenação, exoftalmia ou aparência assimétrica nos olhos, cegueira e deformações associadas com lesões de células nervosas embrionárias (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2003).

Diagnóstico

O diagnóstico clínico do *N. caninum* não é fácil, principalmente nos animais cronicamente infectados, devido à inexistência de sinais específicos, devendo a suspeita ser confirmada pelo diagnóstico laboratorial, que pode ser realizado pelo método direto (detecção do antígeno) ou indireto (detecção de anticorpos) (CARDOSO, 2010).

Para o diagnóstico em animais vivos que apresentam clínica compatível com a doença, o exame de escolha é a sorologia. Os métodos sorológicos podem ser realizados por meio de Reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ensaios imunoenzimáticos (ELISA), immunoblot (IB) e aglutinação direta usando taquizoítos intactos ou antígenos de taquizoítos (DUBEY et al., 2002; DUBEY; SCHARES, 2011). A Reação de Imunofluorescência Indireta é considerado o teste de referência, com os quais outros métodos de diagnóstico são comparados. Este teste é baseado no princípio de fixação de taquizoítos de *N. caninum* em lâminas de microscopia, que são incubadas inicialmente com soros diluídos e em uma segunda etapa, com anticorpos ligados a fluoresceína (conjugado). Esses anticorpos são direcionados contra as imunoglobulinas da espécie animal sob investigação. A reação é avaliada pela observação da reação em microscopia de fluorescência (BJÖRKMAN; UGGLA, 1999).

Na técnica histopatológica, realizada principalmente em tecidos do SNC do feto bovino, podem-se observar lesões compatíveis com a doença como meningoencefalite necrosante multifocal, miocardite, miosite, nefrite, hepatite, pneumonia e adrenalite focal não supurativa caracterizada pela presença de células mononucleares (THILSTED; DUBEY, 1989). No entanto, as lesões histopatológicas demonstradas pela coloração hematoxilina e eosina (HE), como a encefalite, não é técnica específica, sendo necessária a realização de provas que associam especificidade e sensibilidade para o correto diagnóstico.

A coloração de cortes histológicos com HE demonstram a necrose multifocal associada a infiltrado inflamatório mononuclear no SNC, sendo utilizada como triagem diagnóstica para encefalite, porém a histopatologia não é uma análise específica, por este tipo de lesão tecidual poder ser causado por diversos patógenos (vírus, bactérias e outros parasitas). Esse estudo histopatológico prévio, onde são selecionados fragmentos de SNC com lesões sugestivas de neosporose melhoram a eficácia do diagnóstico de outras técnicas complementares como a imunohistoquímica (IHQ) e a Reação em Cadeia de Polimerase (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000).

O diagnóstico definitivo é feito pela demonstração do parasita em amostras biológicas (sangue, liquor, saliva, urina, humor aquoso, fragmentos de órgãos colhidos por biopsia ou necropsia) por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR), que apesar da sua sensibilidade analítica, pode não ser

suficiente para fechar o diagnóstico, pois a maioria das infecções ocorre sem a manifestação clínica, sendo necessário associar as lesões histopatológicas características nos tecidos com a presença do parasita (DUBEY; SCHARES, 2006), a IHQ, que apresenta elevada especificidade e baixa sensibilidade analítica (MALAGUTI, 2011), e o bioensaio que corresponde ao isolamento dos parasitos por inoculação em animais de laboratório ou cultura celular (DUBEY; SCHARES, 2006, 2011).

Controle e Profilaxia

O conhecimento de fatores de risco associados à infecção por *N. caninum* em rebanhos bovinos é importante para o desenvolvimento e estabelecimento de medidas de controle da mesma (DUBEY; SCHARES, 2011).

Uma das formas de controlar o agente no rebanho consiste em identificar as vacas sorologicamente positivas e descartá-las, evitando assim a transmissão vertical e continuidade do ciclo horizontal. No entanto, essa medida pode se tornar impraticável em rebanhos com alta prevalência. No caso de animais de alto valor zootécnico, a vaca positiva poderá vir a ser utilizada como doadora de embriões utilizando-se receptoras negativas, como alternativa de evitar a transmissão vertical e após o parto a transmissão horizontal (MALAGUTI, 2011).

Algumas medidas para minimizar a transmissão horizontal seria evitar o acesso dos cães as fontes de alimento e água dos bovinos e manter silos e depósitos de ração fechados. Precauções quanto à remoção de restos de placentas, fetos abortados e bezerros mortos nas pastagens, bem como animais mortos de qualquer idade dificultam a ingestão pelos cães e canídeos silvestres, impedindo que os mesmos se contaminem e deem continuidade ao ciclo. Também é uma medida profilática manter o controle na propriedade da entrada de cães errantes (LINDSAY; DUBEY; DUNCAN, 1999; DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007).

Testes sorológicos nos animais antes de introduzi-los no rebanho devem ser realizados, principalmente em regiões com alta prevalência ou em regiões sem informações, com a finalidade de evitar a entrada de animais infectados na propriedade (FARIAS, 2002).

Atualmente não há tratamento eficaz, entretanto, pesquisas feitas na Espanha vêm desenvolvendo uma vacina a partir de um novo isolado de *N. caninum* (Nc-Espanha 1H). Este isolado foi obtido do cérebro de uma bezerra congenitamente infectada, porém assintomática. Estudos envolvendo bioensaio em laboratórios demonstraram seu comportamento não virulento em camundongos (BALB/c), experimentalmente infectados. Resultados parciais demonstraram que o grupo que recebeu imunização com 5×10^5 taquizoitos Nc-Espanha 1H apresentou transmissão vertical de apenas 2,3% enquanto que, no grupo que não recebeu imunização, a transmissão vertical foi de 89,1%. Além disso, limitou completamente a infecção cerebral (ROJO-MONTEJO et al., 2012).

CAPÍTULO 1

Congenital encephalomyelitis and polyradiculoneuritis in a calf associated with *Neospora caninum* in Paraíba – Brazil

Encefalomielite e polirradiculoneurite congênita associada à *Neospora caninum* no Estado da Paraíba

Michele Flávia Souza Marques*¹, Guilherme Santana De Moura¹, Karla Campos Malta², Ruy Brayner De Oliveira Filho², Ricardo Barbosa Lucena¹, Sara Vilar Dantas Simões¹, Suedney De Lima Silva¹

Department of Veterinary Sciences, Federal University of Paraíba, Brazil, Areia – PB, 58397-000¹

Large Animals Sector – Veterinary Hospital, Federal University of Paraíba, Brazil, Areia – PB, 58397-000²

* Corresponding author:

Michele Flávia Sousa Marques
Center of Agricultural Sciences – UFPB
Department of Veterinary Sciences
Rod. PB079, km 12
Areia-PB, Brazil
58397-000
E-mail: michele_flavia4@hotmail.com

RESUMO

O trabalho relata um caso de encefalomielite e polirradiculoneurite congênita em um bezerro associado a infecção por *Neospora caninum*. O bezerro apresentava ataxia nos membros posteriores, ausência de reflexos pupilares e de resposta a ameaça, estrabismo ventral, déficits de sensação sobre a superfície da cabeça, reflexo diminuído da córnea e redução do tônus e da motilidade lingual. Devido à deterioração progressiva da condição clínica, o bezerro foi sacrificado "in extremis". Nenhuma lesão macroscópica foi observada na necropsia. Espongiose e áreas focais de gliose foram encontradas no tronco cerebral e na medula espinal. Múltiplos focos de inflamação mononuclear circundando cistos parasitários foram encontrados na medula espinal cervical. Bandas de 249pb consistente com *N. caninum* foram amplificadas por PCR no cérebro e na medula espinal confirmando o diagnóstico. Este trabalho relata o primeiro caso diagnosticado de encefalite, mielite e polirradiculoneurite congênita causada pelo *Neospora caninum* no Estado da Paraíba.

Palavras chave: Neosporose, ruminantes, sinais clínicos, patologia, diagnóstico

ABSTRACT

This paper reports a case of encephalitis and congenital polyradiculoneuritis *Neospora caninum*-associated. The calf had ataxia in hind limbs, absence of pupillary reflexes and menace response, ventral strabismus, sensation deficits over surface of the head, corneal reflex decreased and a reduction of tongue tone and motility. Due to progressive deterioration in clinical condition, the calf was euthanized "in extremis". No gross lesions were observed at necropsy. Status spongiosus and focal areas of gliosis were present in the brain stem and spinal cord. Multiples foci of mononuclear inflammation surrounding parasitic cysts were found in cervical spinal cord. Bright bands of 249pb consistent with *N. caninum* were amplified by PCR in brain and spinal cord confirming the diagnosis. This this paper reports the first diagnosed case of congenital neosporosis encephalitis, myelitis and polyradiculoneuritis in Paraíba State.

Keywords: Neosporosis, ruminants, clinical signs, pathology, diagnosis

INTRODUCTION

Congenital neosporosis is characterized by transplacental transmission of protozoan *Neospora caninum*, through the passage of circulating tachyzoites from maternal blood into placenta and fetus and, once infected, depending on gestational age, can be born with neurological clinical signs due to encephalomyelitis (ANDERSON; ANDRIANARIVO; CONRAD, 2000), caused by parasite tropism to central nervous system.

Two types of vertical transmission are described in literature, endogenous and exogenous. Endogenous transplacental infection occurs as a result of recrudescence of persistent infection during pregnancy, and exogenous transplacental infection results from infection during pregnancy in an uninfected cow (TREES; WILLIAMS, 2005). However, mechanisms of latent infection reactivation and its relation to parasite virulence is still poorly elucidated (CARDOSO, 2010).

Factors that may influence vertical transmission include: gestational age, level and duration of parasitemia during pregnancy, maternal effective immune responses, fetal immune responses development, immunosuppression caused by infectious agents or variations in progesterone levels (INNES et al., 2001).

This paper reports the first diagnosed congenital neosporosis case in a calf on Paraíba State – Brazil.

CASE REPORT

A 6-month-old, male Nelore calf, 104 kg weight, was sent to the Large Animals Clinic of Federal University of Paraíba, Department of Veterinary Sciences, Areia, Paraíba, Brazil, reporting incoordination since 60th day of life, observed in hind limb and progressively getting worse over months. The calf came from a herd in extensive grazing system, with no vaccinating history against reproductive diseases and occurrence of abortions and stillborn.

During physical examination were identified proprioceptive deficit in forelimb and hind limb, absence of menace response and pupillary reflexes, ventral strabismus, sensation deficits in skin, decreased corneal reflex and tongue tone and motility reduced. Small myoclonus in hind limb was observed. The animal stayed at the hospital for 17 days and, due to neurological deficits, showed progressive clinical deterioration, being euthanized in extremis.

Necropsy was performed immediately after euthanasia, but no gross lesions were observed. Tissue samples from multiple organs including brain and cervical, dorsal and lumbar spinal cord were collected and fixed in 10% neutral buffered formalin, embedded in paraffin, and stained with hematoxylin and eosin (H&E) for routine histologic examination. Brain and medullar tissue samples were frozen and sent to Infectious Diseases Laboratory at Federal Rural University of Pernambuco to perform PCR. Microscopically, were observed neuritis, multifocal infiltration

of lymphocytes and plasma cells on spinal nerves roots, axonal degeneration in some portions of nerves, intense vacuolization (status spongiosus) in various sections of spinal gray matter (Figure 1).

Mononuclear inflammation foci surrounding parasitic cysts were found in cervical spinal cord (Figure 2), spinal ganglions were also infiltrated by lymphocytes and plasma cells, brainstem (cerebellar peduncle) had marked vacuolization of white matter, some perivascular cuffs and discrete hemorrhage and small gliosis foci.

Microscopic lesions were compatible with those produced by apicomplexan protozoan. Genomic DNA was extracted from tissues to perform PCR using a commercially available kit according to manufacturer's instructions. Amplification products were visualized by 1% agarose gel electrophoresis and blue green staining under UV light. Bright bands of 249pb consistent with *N. caninum* were amplified in brain and spinal cord confirming diagnosis.

Presented data confirm the first bovine congenital encephalomyelitis and polyradiculoneuritis *N. caninum*-induced case in Paraiba – Brazil. Neurological signs, as well as histological lesions observed, are similar to those described by Dos Santos et al. (2006) and Dubey & Schares (2006) in bovine neosporosis cases. Weakness and ataxia were probably due to cervical myelitis and polyradiculoneuritis *N.caninum*-induced and cranial nerve deficits were associated with identified lesions in brainstem region.

Histological lesions suggested transplacental transmission. Visualization of serious injuries in nerve tissue and presence of mononuclear cell infiltration, gliosis, myelitis, encephalitis, parasite cysts and multifocal necrosis are such as described in infected animals during intrauterine life (DOS SANTOS et al., 2006; COSTA et al., 2014). Congenital neosporosis is characterized by transplacental transmission of *Neospora caninum* (DUBEY et al., 2013), due to passage of tachyzoites in mother's blood to placenta and then, infecting fetus. These fetuses may die in uterus, absorbed, mummified, autolyzed or even aborted (GOODSWEN; KENNEDY; ELLIS, 2013). In some cases, animal born healthy but infected or born with clinical signs, dying hours after birth or few weeks later. The longest survival time reported is 4 weeks (ILLANES et al., 1994). According to Innes et al., (2001) when infection occurs in the second trimester of pregnancy there is a greater likelihood that fetus borns with nerve damage and clinical signs.

Currently, most veterinarians recognize neosporosis as a differential diagnosis for bovine abortion (ASMARE et al., 2013), but little information is available about intrauterine infection dynamics, among them, occurrence of recrudescence. In addition, rapid and effective diagnosis should be performed to identify presence of *Neospora caninum* in bovine herds and so, appropriate sanitary measures will be adopted.

Due sanitary problems and economic losses that neosporosis can cause, is highly recommend screening herds in this state, identify seropositive animals and understand disease epidemiology to adopt appropriate prevention and control measures.

REFERENCES

- ANDERSON, M. .; ANDRIANARIVO, A. .; CONRAD, P. . Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417–431, jul. 2000.
- ASMARE, K. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. **Veterinary parasitology**, v. 193, n. 1-3, p. 85–94, 31 mar. 2013.
- CARDOSO, J. M. S. **Aspectos epidemiológicos da infecção por *Neospora caninum* em bovinos leiteiros da região do Vale do Paraíba Paulista**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2010.
- COSTA, R. C. et al. Histological and immunohistochemical characterization of the inflammatory and glial cells in the central nervous system of goat fetuses and adult male goats naturally infected with *Neospora caninum*. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, 2014.
- DUBEY, J. P. et al. Congenital transmission of *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Veterinary parasitology**, v. 196, n. 3-4, p. 519–22, 23 set. 2013.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 1–34, 31 ago. 2006.
- 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. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, n. 1, p. 133–150, 2013.
- ILLANES, O. et al. *Neospora*-induced congenital myelitis and polyradiculoneuritis in a one-month-old Holstein calf. **Canadian Veterinary Journal**, v. 35, n. 10, p. 653–654, 1994.
- INNES, E. A. et al. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 13, p. 1523–1534, 2001.
- MILLET EVANGELISTA DOS SANTOS, A. P. et al. *Neospora caninum* in the Parana State , Brazil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 27, n. 1, p. 111–113, 2006.
- TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 12, p. 558–561, 2005.

Fig. 1 Intense vacuolization (status spongiosus) in spinal gray matter (asterisk) and foci of lymphoplasmacytic inflammation (arrow). Hematoxylin-Eosin staining. 40x magnification.

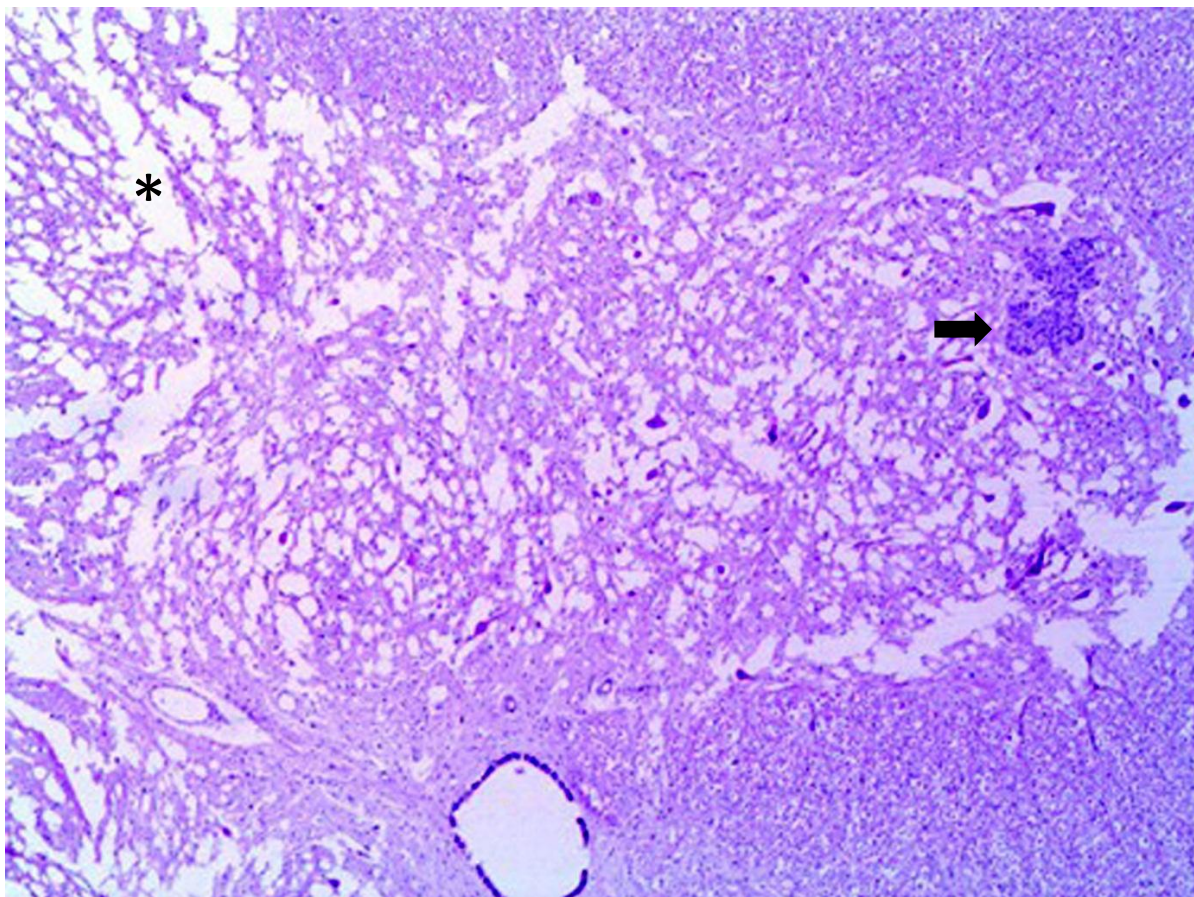
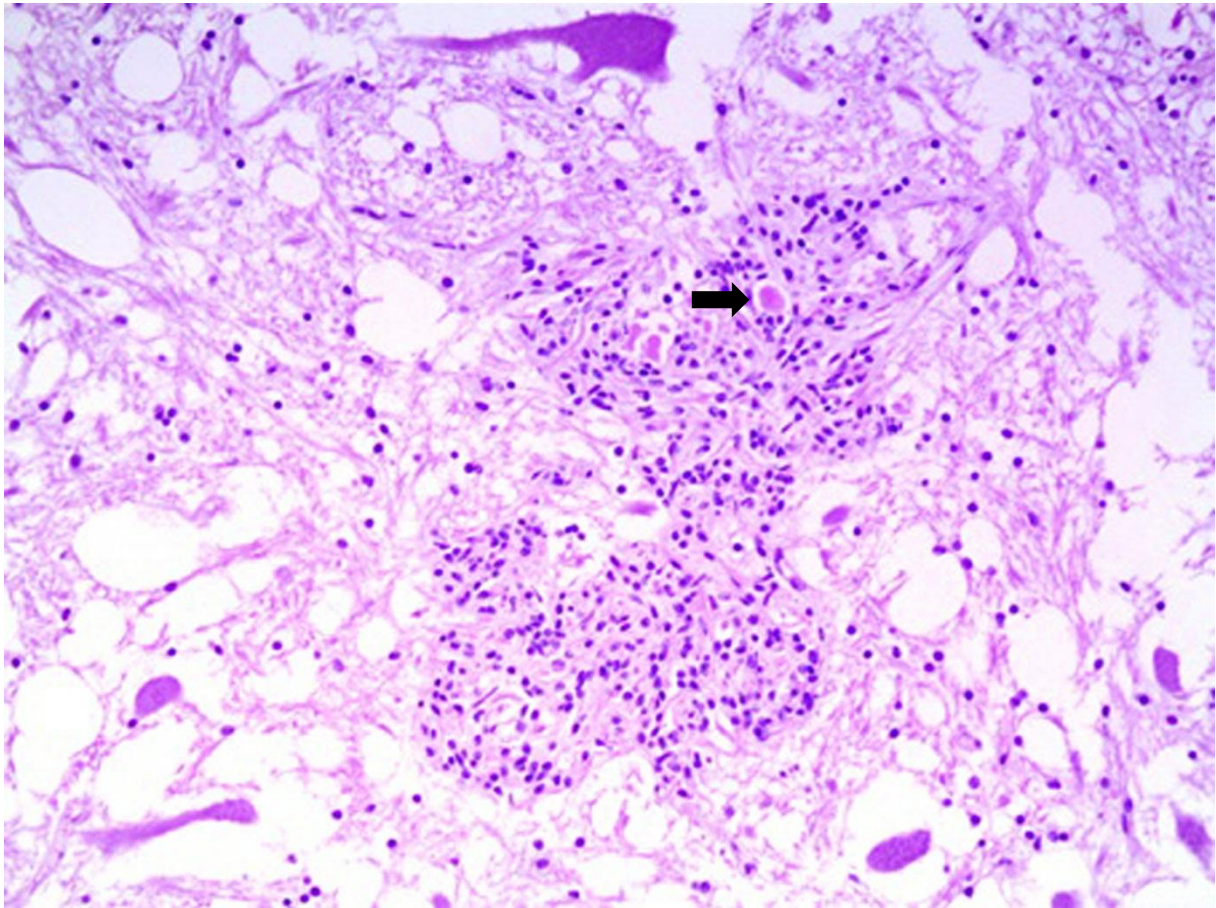


Fig. 2 Mononuclear inflammation foci surrounding parasitic cysts (arrow) in cervical spinal cord. Hematoxylin-Eosin staining. 200x magnification.



CAPÍTULO 2

Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em rebanho bovino na Zona da Mata Paraibana

MICHELE FLÁVIA SOUZA MARQUES¹, GUILHERME SANTANA DE MOURA¹, ADRIANNE MOTA DE ALCÂNTARA², RINALDO APARECIDO MOTA², SUEDNEY DE LIMA SILVA^{*1}

Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, Areia – PB, 58397-000¹

Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil, Recife – PE, 52171-900²

* Autor para correspondência:

Suedney Lima da Silva

Centro de Ciências Agrárias – UFPB

Departamento de Ciências Veterinárias

Rod. PB079, km 12

Areia-PB, Brasil

58397-000

E-mail: suedney@cca.ufpb.br

RESUMO

O protozoário coccídico *Neospora caninum* tem recebido crescente importância quanto a sua identificação direta ou indireta nos rebanhos para que, medidas de controle a partir destas informações possam ser adotadas e os prejuízos advindos dessa infecção minimizados. Sendo assim, objetivou-se, determinar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em uma propriedade na Zona da Mata Paraibana. Foram testadas 68 amostras de soro para a presença de anticorpos anti-*N. caninum* pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Um total de 66,2% (45/68) amostras foram negativas e 33,8% (23/68) apresentaram anticorpos anti-*N. caninum*. Os títulos de anticorpos variaram de 200 a 3.200. Dentre os 54 (79,4%) animais adultos do rebanho, 17 (31,4%) foram positivos, sendo 16 fêmeas e um macho. Os outros 14 (20,6%) animais eram jovens, sendo seis positivos (4,2%), 4 fêmeas e 2 machos. A alta presença de anticorpos anti-*N. caninum* associado ao histórico de problemas reprodutivos, evidenciam a presença do agente no rebanho e alerta sobre a urgência de mais estudos no Estado, incluindo outras espécies envolvidas na epidemiologia desta infecção, para que medidas de controle e prevenção possam ser adotadas e as perdas econômicas minimizadas.

Palavras-chave: Neosporose, reação de imunofluorescência indireta, aborto.

ABSTRACT

Identification of *Neospora caninum* has increased in several herds by direct or indirect diagnosis, receiving great importance due its pathogenic potential, generating the needing of effective control measures using these informations as base on its epidemiology, reducing losses caused by infection. Therefore, the aim of this study was determine presence of anti-*N. caninum* antibodies on a bovine herd in Paraíba's "Zona da Mata" mesoregion. 68 samples were tested for presence of antibodies against *N. caninum* by Indirect Immunofluorescence test. A total of 45 (66.2%) were negative and 23 (33.8%) had anti-*N. caninum* antibodies. Antibody titers ranged from 200 to 3,200. Among the 54 (79.4%) adult animals, 17 (31.4%) were positive, 16 females and one male. Among the other 14 (20.6%) young animals, 6 were positive (4.2%), 4 females and 2 males. High incidence of anti-*N. caninum* antibodies associated to history of reproductive problems, shows neospora presence in this herd, highlighting the urgency for more research in Paraíba state, including other species involved in epidemiology of this infection for better adopt control and prevention measures, and so, reducing losses.

Keywords: Neosporosis, Indirect Immunofluorescence test, Reproductive problems

INTRODUÇÃO

O protozoário coccídico *Neospora caninum* tem recebido crescente importância quanto a sua identificação direta ou indireta nos rebanhos para que, medidas de controle a partir destas informações possam ser adotadas e os prejuízos advindos dessa infecção minimizados.

Diversos fatores podem colocar rebanhos em risco e infectá-los. A presença do hospedeiro definitivo, como o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*), que atua tanto como hospedeiro definitivo quanto intermediário (DUBEY et al., 2002), tem um importante papel nesse ciclo junto a outras espécies de animais domésticos e silvestres. Os hospedeiros intermediários se infectam com os oocistos liberados pelos hospedeiros definitivos e desenvolvem cistos parasitóforos em seus tecidos (MULLER et al., 2002), sendo o búfalo, caprino, equino, felinos selvagens, guaxinim, ovino e raposa, alguns exemplos (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007). Ademais, a idade do animal, tamanho da propriedade e do rebanho, aptidão produtiva, condição sanitária e nutricional dos animais, são relatados como fatores predisponentes à infecção (FILHO, 2013).

Associado aos fatores de risco citados, há a alta soroprevalência em animais nascidos de mães soropositivas que caracteriza a importância da transmissão vertical (SOUZA et al., 2012), a qual é considerada a via mais importante, por ser responsável pela manutenção do agente no rebanho (CARDOSO, 2010). Já a transmissão horizontal ocorre quando os bovinos se infectam com oocistos eliminados nas fezes de hospedeiros definitivos. Bartels et al., (2007) observaram que a taxa de incidência de transmissão horizontal é de 1,4 infecções a cada 100 bovinos analisados. Essa ocorrência está associada à presença de cães nas fazendas e geralmente em bovinos sem sinais clínicos evidentes.

Diversos inquéritos soroepidemiológicos para *N. caninum* vem sendo realizado em propriedades de criação de gado e tem demonstrado que o agente encontra-se disseminado nos rebanhos (XIMENES MARTINS et al., 2011; SOUSA et al., 2012; ASMARE et al., 2013), evidenciando a importância do seu diagnóstico para que os proprietários adquiram conhecimento e possam adotar medidas adequadas de controle e minimizar seus prejuízos.

A grande importância da presença do *N. caninum* em um rebanho é o seu impacto econômico oriundo de distúrbios reprodutivos, com considerável perda neonatal, estimada em milhões de dólares (SARTOR et al., 2005). Custos estes, associados ao aborto, valor dos fetos, aumento do descarte, reposição de animais, assistência veterinária, diagnóstico, necessidade de realizar novas inseminações ou montas.

Estudos feitos em diversos países da América constataram em propriedades de criação de gado de corte e de leite que as perdas relacionadas a neosporose podem chegar a 1,298 bilhões de dólares ao ano, com cerca de 2/3 destas perdas sofridas pela indústria de gado de leite e 1/3 pela indústria de gado de corte (REICHEL et al., 2013).

No Brasil, a doença é reconhecida e detectada em diversos estados por meio de vários estudos e levantamentos sorológicos (XIMENES MARTINS et al., 2011). Em razão da escassez de informações sobre a presença de anticorpos anti-*N. caninum* em rebanhos bovinos no estado da Paraíba, do histórico de problemas reprodutivos e do diagnóstico de Neosporose congênita em um bezerro de seis meses de idade proveniente de uma propriedade da Zona da Mata Paraibana, objetivou-se neste estudo determinar a ocorrência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* nos bovinos criados na referida propriedade.

MATERIAL E MÉTODOS

A propriedade avaliada possuía 400 ha, localizada no município de São José dos Ramos, Latitude: -7.24513, Longitude: -35.3721, clima tropical com estação seca e pluviosidade irregular durante o ano e apresenta como principal atividade a produção de bovinos de corte. O rebanho era formado por animais da raça nelore e seus cruzamentos, com aproximadamente 120 unidades. O sistema de criação adotado era o extensivo, em pastagem de braquiária (*Brachiaria decumbens*), sal proteinado em cocho e capim Napier (*Pennisetum purpureum*) picado nas épocas de estiagem. A água utilizada era proveniente de barreiros e açudes. O rebanho era vacinado contra raiva e febre aftosa e vermifugado no início e fim do período chuvoso, entre março e julho. A escolha da propriedade foi devido à ocorrência de um caso de neosporose congênita diagnosticada em um bezerro de seis meses atendido no Hospital Veterinário do Centro de ciências agrárias (CCA) - UFPB.

Foram coletadas 68 amostras de sangue de bovinos, por venopunção jugular ou coccígea, utilizando-se sistema de coleta a vácuo, com tubos siliconizados de 10 mL sem anticoagulante. Os tubos foram identificados e acondicionados em caixas isotérmicas refrigeradas e enviadas para o Laboratório de Patologia Clínica do CCA/UFPB. Após retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas a 1.000 G durante 10 minutos. O soro obtido foi mantido a -15 °C até o momento das análises.

Para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*N. caninum* foi realizada a técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), seguindo a técnica descrita por Camargo (1964). Os soros foram diluídos em PBS (pH 7,2) em diluições sequenciais na base dois e, em seguida, distribuídos em lâminas previamente sensibilizadas com taquizoítos da cepa NC-Spain. Foram utilizados controles positivos e negativos em cada uma das lâminas. Foi utilizado conjugado anti-IgG bovino (molécula inteira) marcado com fluoresceína (Sigma-chemical, USA). A leitura foi realizada em microscópio de epiluminescência (Zeiss, AxioVert.A1), utilizando objetiva de 40x. Foram consideradas positivas as amostras com título $\geq 1:200$ (GUIMARÃES et al., 2004).

Para a análise dos dados, utilizou-se a análise estatística descritiva com a distribuição absoluta e relativa das amostras sorologicamente positivas.

RESULTADOS

Das 68 amostras de soro analisadas pela RIFI, 33,8% (23/68) apresentaram anticorpos IgG anti-*N. caninum*. Os títulos de anticorpos variaram entre 200 e 3.200, conforme demonstrado na Tabela 1, evidenciando que 14 animais positivos possuíam títulos $\geq 1:800$, considerado infecção ativa (DUBEY, 1999), ou seja, o sistema imunológico está responsivo a elevada parasitemia e títulos ≥ 200 (RIFI) são específicos para infecção por *N. caninum* (GUIMARÃES; ROMANELLI, 2006).

Tabela 1. Titulação de anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) em bovinos do município de São José dos Ramos, Estado da Paraíba, Brasil, 2015.

Título de anticorpos	Nº amostras positivas	%
200	2	8,7
400	7	30,4
800	7	30,4
1600	2	8,7
3200	5	21,7

Dentre os 54 (79,4%) animais adultos do rebanho, 17 (31,4%) foram positivos, sendo 16 fêmeas e um macho. Considerando as fêmeas, 2 (12,5%) possuíam histórico de problemas reprodutivos. Uma delas abortou no terço médio da gestação e a outra pariu um bezerro fraco que morreu poucos dias após o nascimento. Esses sinais clínicos são descritos como indícios de infecção por *Neospora* (DUBEY & SCHARES 2006). Os outros 14 (20,6%) animais eram jovens, sendo seis positivos (4,2%), quatro fêmeas e dois machos (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Com o esclarecimento sobre a importância da identificação e controle da neosporose e frente aos diversos resultados disponíveis, com variações e contradições entre estes, torna-se difícil a comparação entre os diferentes estudos, uma vez que a população estudada, seu manejo, suas variações climáticas, sanitárias, nutricionais, genéticas e a exposição a fatores de risco e sensibilidade do método de diagnóstico utilizado, exercem influência nesses resultados.

Os resultados obtidos demonstram uma frequência dentro da média quando comparado com resultados obtidos em outros estudos realizados em alguns estados brasileiros, onde foram constatados 17,5% no Espírito Santo (FRANCISCO; SANTO, 2009), 32,7% em Goiás (DE OLIVEIRA et al., 2010), 31,7% em Pernambuco (SILVA et al., 2008), 33,0% no Paraná (LOCATELLI-DITTRICH et al., 2008), 50,74% no Maranhão (TEIXEIRA et al., 2010) e 53,54% no Mato Grosso (BENETTI, 2006). Entretanto, a maioria desses estudos foi realizado em rebanhos bovinos leiteiros, que são tidos como mais susceptíveis em função da maior longevidade, maior densidade populacional e maior

concentração de fêmeas, que leva a ocorrência da transmissão vertical, responsável pela permanência do agente no rebanho. Ou mesmo pelo fato destes animais serem alimentados com ração concentrada (DUBEY; SCHARES; ORTEGA-MORA, 2007) onde o local de armazenamento dessa ração atrai roedores que são possíveis presas para hospedeiros definitivos (GONDIM, 2006).

Atualmente não há informações acerca da infecção por *N. caninum* em rebanhos bovinos paraibanos e trabalhos avaliando rebanhos de corte são escassos. FARIA et al., (2007) detectaram anticorpos anti-*N. caninum* em caprinos abatidos no abatedouro público da cidade de Patos no Sertão da Paraíba. E em rebanhos de corte, Minervino et al., (2008) identificaram no estado do Pará uma prevalência de 19,2% (23/120) de animais positivos e os títulos variaram de 100 (26,7%) a 1600 (6,7%), sendo o título 200 (33,3%) o mais frequente.

Das 23 amostras positivas sete (30,4%) apresentaram títulos de 400, outras sete (30,4%) tiveram titulação de 800, duas (8,7%) amostras apresentaram títulos de 1.600 e cinco (21,7%) tiveram títulos de 3.200, dessa forma 14 amostras demonstraram a presença de infecção ativa. Animais soropositivos para *N. caninum* geralmente apresentam títulos variáveis, entretanto níveis elevados e crescentes de anticorpos podem indicar um risco maior de aborto do que animais com títulos baixos (LÓPEZ-GATIUS et al., 2005). Desse modo, sugere-se que a propriedade em estudo apresenta elevado risco de manifestações clínicas da infecção e potencial de transmissão vertical e horizontal. No entanto, informações acerca da virulência da cepa circulante no rebanho é importante, por este fator determinar a presença e gravidade das manifestações clínicas e o potencial de transmissão do *N. caninum* (ROJO-MONTEJO et al., 2012).

Durante a investigação, identificou-se que vários animais foram adquiridos de regiões distintas sem prévia realização de testes sorológicos para *N. caninum*, condição que permitiria a entrada de animais soropositivos, ademais, a propriedade está localizada nas proximidades da zona urbana, característica citada como de risco para a introdução da infecção no rebanho (PARADIES et al., 2007) tendo sido relatado a constante invasão das áreas de pastagens por cães. Foram registrados dois abortos na propriedade e tanto o feto abortado quanto os restos placentários permaneceram expostos nas pastagens, sem que fosse dada destinação adequada. Este fator de risco é considerado de grande importância epidemiológica, pois se estiverem infectados com taquizoítos, funcionam como fonte rica para infecção do hospedeiro definitivo. E a alta titulação encontrada, identifica a presença de infecção ativa e reforça os riscos da transmissão vertical e permanência do *Neospora caninum* na propriedade (DIJKSTRA et al., 2001).

CONCLUSÃO

A alta presença de anticorpos anti-*N. caninum* associado ao histórico de problemas reprodutivos, evidenciam a presença do agente no rebanho e acendem um alerta quanto a urgência de mais estudos no Estado, incluindo outras espécies envolvidas na epidemiologia desta infecção para que medidas de controle e prevenção possam ser adotadas e as perdas reduzidas.

Agradecimentos

Ao laboratório de Doenças Infectocontagiosas da UFRPE que gentilmente auxiliou no processamento das amostras.

Referências

- ASMARE, K. et al. Seroprevalence of *Neospora caninum* and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. **Veterinary parasitology**, v. 193, n. 1-3, p. 85-94, 31 mar. 2013.
- BARTELS, C. J. M. et al. Quantification of vertical and horizontal transmission of *Neospora caninum* infection in Dutch dairy herds. **Veterinary parasitology**, v. 148, n. 2, p. 83-92, 1 set. 2007.
- BENETTI, A. H. **PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- *Neospora caninum* EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO SUDOESTE DO ESTADO DE MATO GROSSO**. [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2006.
- BRINKER, J. C. **Prevalência de anticorpos para *Neospora caninum* em cães das áreas urbana e rural do município de Caxias do sul, Rio Grande do Sul**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE, 2012.
- CAMARGO, M. E. IMPROVED TECHNIQUE OF INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE FOR SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, p. 117-8, 1964.
- CARDOSO, J. M. S. **Aspectos epidemiológicos da infecção por *Neospora caninum* em bovinos leiteiros da região do Vale do Paraíba Paulista**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2010.
- DE OLIVEIRA, V. S. F. et al. Abortions in bovines and *Neospora caninum* transmission in an embryo transfer center. **Veterinary parasitology**, v. 173, n. 3-4, p. 206-10, 29 out. 2010.
- DIJKSTRA, T. et al. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International journal for parasitology**, v. 31, n. 8, p. 747-52, 2001.
- DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **J. Am. Vet. Med. Assoc**, n. 214, p. 1160-1163, 1999.
- DUBEY, J. . et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 929-946, jul. 2002.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 1-34, 31 ago. 2006.
- DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 2, p. 323-67, 1 abr. 2007.
- FARIA, E. B. et al. Prevalence of anti-Toxoplasma gondii and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 1-2, p. 126-129, 2007.
- FILHO, N. A. DA C. **Avaliação da transmissão vertical e horizontal de *Neospora caninum* (Long, 1990) em bovinos de criação extensiva, cronicamente infectados no Brasil**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, 2013.
- FRANCISCO, D. E. B. D. E. S. Ã. O.; SANTO, E. SOROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE BARRA DE SÃO FRANCISCO, ESPÍRITO SANTO, BRASIL João

Henrique Natalino Fanti 1 , Graziela Barioni 2 , Marcus Alexandre Vaillant Beltrame 3 1. **Ciência Animal Brasileira**, p. 637–641, 2009.

GONDIM, L. F. P. Neospora caninum in wildlife. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 247–252, 2006.

GUIMARÃES, J. S. et al. Prevalence of Neospora caninum antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 124, n. 1-2, p. 1–8, 20 set. 2004.

GUIMARÃES, S.; ROMANELLI, P. R. Neosporose em Animais Domésticos Neosporosis in domestic animals. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, p. 665–678, 2006.

LOCATELLI-DITTRICH, R. et al. DETERMINAÇÃO E CORRELAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- Neospora caninum EM BOVINOS E CÃES DO PARANÁ , BRASIL. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 17, p. 191–195, 2008.

LÓPEZ-GATIUS, F. et al. The Use of Beef Bull Semen Reduced the Risk of Abortion in Neospora-seropositive Dairy Cows. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 52, p. 88–92, 2005.

MINERVINO, A. H. H. et al. Prevalence of Neospora caninum antibodies in cattle from Santarém, Pará, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 2, p. 254–256, abr. 2008.

MULLER, N. et al. Application of Real-Time Fluorescent PCR for Quantitative Assessment of Neospora caninum Infections in Organotypic Slice Cultures of Rat Central Nervous System Tissue. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 252–255, 1 jan. 2002.

PARADIES, P. et al. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 240–244, 2007.

REICHEL, M. P. et al. What is the global economic impact of Neospora caninum in cattle - The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133–142, 2013.

ROJO-MONTEJO, S. et al. Evaluation of the protection conferred by a naturally attenuated Neospora caninum isolate against congenital and cerebral neosporosis in mice. **Veterinary research**, v. 43, p. 62, 2012.

SARTOR, I. F. et al. OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-NEOSPORA CANINUM EM BOVINOS LEITEIROS E DE CORTE DA REGIÃO DE PRESIDENTE PRUDENTE, SP. **Arq. Inst. Biol.**, v. 72, p. 413–418, 2005.

SILVA, M. I. S. et al. FATORES DE RISCOS ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR Neospora caninum EM MATRIZES BOVINAS LEITEIRAS EM PERNAMBUCO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 455–461, 2008.

SOUSA, M. E. et al. Seroprevalence and risk factors associated with infection by Neospora caninum of dairy cattle in the state of Alagoas, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1009–1013, out. 2012.

TEIXEIRA, W. C. et al. Prevalência de anticorpos anti-Neospora caninum (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 9, p. 729–734, 2010.

XIMENES MARTINS, N. É. et al. OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS anti-Neospora caninum EM VACAS LACTANTES DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, ESTADO DO TOCANTINS, BRASIL. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 3, p. 231–238, 17 out. 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados encontrados no presente estudo retratam a presença do *Neospora caninum* em rebanho bovino e demonstram a necessidade de mais estudos sobre a real situação da neosporose nos rebanhos do estado da Paraíba.

A Paraíba hoje é um estado sem nenhum dado publicado sobre a presença de rebanhos infectados por *Neospora caninum*, fato preocupante, pois, mesmo não sendo um estado com grandes rebanhos, têm os seus que são produtivos e fontes geradoras de renda. Por isso, a partir do momento que uma enfermidade é sub diagnosticada e negligenciada, medidas de controle e profilaxia não são adotadas e a infecção vai se disseminando no rebanho e entre rebanhos, a partir daí os prejuízos econômicos tendem a aumentar, não se restringindo à apenas uma propriedade.

Foi possível detectar títulos elevados de anticorpos que representam a presença de infecção ativa no rebanho, fato preocupante pois pode estar comprometendo os índices reprodutivos da propriedade, como perdas por aborto e a disseminação do agente a partir de fêmeas nascidas infectadas.

Este trabalho apresentou dados pioneiros e importantíssimos a respeito da neosporose no Estado da Paraíba. A partir dessa confirmação do diagnóstico, mais estudos devem ser feitos, abrangendo mais propriedades, em diferentes regiões do estado, com divulgação dos resultados e das medidas de controle e prevenção acessíveis aos produtores.

REFERÊNCIAS

ANDERSON, M. .; ANDRIANARIVO, A. .; CONRAD, P. . Neosporosis in cattle. **Animal Reproduction Science**, v. 60-61, p. 417–431, jul. 2000.

ASMARE, K. et al. Seroprevalence of Neospora caninum and associated risk factors in intensive or semi-intensively managed dairy and breeding cattle of Ethiopia. **Veterinary parasitology**, v. 193, n. 1-3, p. 85–94, 31 mar. 2013.

BARR, B. C. et al. Bovine Fetal Encephalitis and Myocarditis Associated with Protozoal Infections. **Veterinary Pathology**, v. 27, n. 5, p. 354–361, 1990.

BARTELS, C. J. M. et al. Quantification of vertical and horizontal transmission of Neospora caninum infection in Dutch dairy herds. **Veterinary parasitology**, v. 148, n. 2, p. 83–92, 1 set. 2007.

BENETTI, A. H. **PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI- Neospora caninum EM BOVINOS LEITEIROS DA REGIÃO SUDOESTE DO ESTADO DE MATO GROSSO**. [s.l.] UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 2006.

BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A. Serological diagnosis of Neospora caninum infection. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 10, p. 1497–1507, out. 1999.

BRINKER, J. C. **Prevalência de anticorpos para Neospora caninum em cães das áreas urbana e rural do município de Caxias do sul, Rio Grande do Sul**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL FACULDADE, 2012.

BUXTON, D. et al. Experimental infection of non-pregnant and pregnant sheep with Neospora caninum. **Journal of Comparative Pathology**, v. 117, n. 1, p. 1–16, jul. 1997.

CAMARGO, M. E. IMPROVED TECHNIQUE OF INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE FOR SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, p. 117–8, 1964.

CARDOSO, J. M. S. **Aspectos epidemiológicos da infecção por Neospora caninum em bovinos leiteiros da região do Vale do Paraíba Paulista**. [s.l.] Universidade de São Paulo, 2010.

COSTA, R. C. et al. Histological and immunohistochemical characterization of the inflammatory and glial cells in the central nervous system of goat fetuses and adult male goats naturally infected with Neospora caninum. **BMC Veterinary Research**, v. 10, n. 1, 2014.

DE OLIVEIRA, V. S. F. et al. Abortions in bovines and *Neospora caninum* transmission in an embryo transfer center. **Veterinary parasitology**, v. 173, n. 3-4, p. 206–10, 29 out. 2010.

DIJKSTRA, T. et al. Dogs shed *Neospora caninum* oocysts after ingestion of naturally infected bovine placenta but not after ingestion of colostrum spiked with *Neospora caninum* tachyzoites. **International journal for parasitology**, v. 31, n. 8, p. 747–52, 2001.

DUBEY, J. . et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 8, p. 929–946, jul. 2002.

DUBEY, J. P. Neosporosis in cattle: biology and economic impact. **J. Am. Vet. Med. Assoc**, n. 214, p. 1160–1163, 1999.

DUBEY, J. P. et al. Congenital transmission of *Neospora caninum* in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). **Veterinary parasitology**, v. 196, n. 3-4, p. 519–22, 23 set. 2013.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Diagnosis of bovine neosporosis. **Veterinary parasitology**, v. 140, n. 1-2, p. 1–34, 31 ago. 2006.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals—The last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n. 1-2, p. 90–108, ago. 2011.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical microbiology reviews**, v. 20, n. 2, p. 323–67, 1 abr. 2007.

FARIA, E. B. et al. Prevalence of anti-Toxoplasma gondii and anti-Neospora caninum antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 1-2, p. 126–129, 2007.

FARIAS, N. A. DA R. Neosporose - Uma enfermidade a ser estudada. **Ciencia e tecnologia veterinária**, v. 1, n. 1, p. 5–14, 2002.

FILHO, N. A. DA C. **Avaliação da transmissão vertical e horizontal de Neospora caninum (Long, 1990) em bovinos de criação extensiva, cronicamente infectados no Brasil**. [s.l.] UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS, 2013.

FRANCISCO, D. E. B. D. E. S. Ã. O.; SANTO, E. SOROPREVALÊNCIA DE *Neospora caninum* EM PROPRIEDADES DO MUNICÍPIO DE BARRA DE SÃO FRANCISCO, ESPÍRITO SANTO, BRASIL João Henrique Natalino Fanti 1 , Graziela Barioni 2 , Marcus Alexandre Vaillant Beltrame 3 1. **Ciência Animal Brasileira**, p. 637–641, 2009.

GARCÍA, G. Á. **IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE ANTÍGENOS DE “Neospora caninum” CON INTERÉS INMUNODIAGNÓSTICO EN BOVINOS.** [s.l.] UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, 2003.

GHALMI, F. et al. Study of the risk factors associated with *Neospora caninum* seroprevalence in Algerian cattle populations. **Research in veterinary science**, v. 93, n. 2, p. 655–61, out. 2012.

GONDIM, L. F. P. *Neospora caninum* in wildlife. **Trends in Parasitology**, v. 22, n. 6, p. 247–252, 2006.

GONDIM, L. F. P.; GAO, L.; MCALLISTER, M. M. IMPROVED PRODUCTION OF NEOSPORA CANINUM OOCYSTS, CYCLICAL ORAL TRANSMISSION BETWEEN DOGS AND CATTLE, AND IN VITRO ISOLATION FROM OOCYSTS. **Journal of Parasitology**, v. 88, n. 6, p. 1159–1163, dez. 2002.

GONZÁLEZ-WARLETA, M. et al. Epidemiology of neosporosis in dairy cattle in Galicia (NW Spain). **Parasitology Research**, v. 102, n. 2, p. 243–249, 2008.

GONZALO, C. et al. Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. **Journal of Dairy Research**, v. 71, n. 1, p. 33–38, fev. 2004.

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. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 13, n. 1, p. 133–150, 2013.

GUIMARÃES, J. S. et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies and factors associated with their presence in dairy cattle of the north of Paraná state, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 124, n. 1-2, p. 1–8, 20 set. 2004.

GUIMARÃES, S.; ROMANELLI, P. R. Neosporose em Animais Domésticos Neosporosis in domestic animals. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 27, p. 665–678, 2006.

ILLANES, O. et al. *Neospora*-induced congenital myelitis and polyradiculoneuritis in a one-month-old Holstein calf. **Canadian Veterinary Journal**, v. 35, n. 10, p. 653–654, 1994.

INNES, E. A. et al. Protection against vertical transmission in bovine neosporosis. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n. 13, p. 1523–1534, 2001.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P.; DUNCAN, R. B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 327–333, maio 1999.

LOCATELLI-DITTRICH, R. et al. Isolation of *Neospora caninum* from a blind calf in Paraná, southern Brazil. **The Veterinary Record**, v. 153, n. 12, p. 366–367, 2003.

LOCATELLI-DITTRICH, R. et al. DETERMINAÇÃO E CORRELAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI- *Neospora caninum* EM BOVINOS E CÃES DO PARANÁ, BRASIL. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 17, p. 191–195, 2008.

LÓPEZ-GATIUS, F. et al. The Use of Beef Bull Semen Reduced the Risk of Abortion in *Neospora*-seropositive Dairy Cows. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 52, p. 88–92, 2005.

MALAGUTI, J. M. A. **GESTÃO SANITÁRIA DAS ENCEFALITES EM BOVINOS: *Neospora caninum* COMO AGENTE CAUSAL**. [s.l.] INSTITUTO BIOLÓGICO, 2011.

MARIA APARECIDA DE CARVALHO PATRÍCIO. **Investigação de neosporose em encéfalos de bovinos, pela técnica de reação em cadeia da polimerase (pcr), com quadro de encefalopatia e diagnóstico negativo para raiva, no estado do paraná, brasil**. [s.l.] Universidade Federal do Paraná, 2008.

MCALLISTER, M. M. et al. Rapid communication. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473–1479, set. 1998.

MILLET EVANGELISTA DOS SANTOS, A. P. et al. *Neospora caninum* in the Parana State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**, v. 27, n. 1, p. 111–113, 2006.

MINERVINO, A. H. H. et al. Prevalence of *Neospora caninum* antibodies in cattle from Santar m, Par , Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 84, n. 2, p. 254–256, abr. 2008.

MOORE, D. P. et al. Risk factors associated with *Neospora caninum* infections in cattle in Argentina. **Veterinary parasitology**, v. 161, n. 1-2, p. 122–5, 6 abr. 2009.

MORALES, E. et al. Neosporosis in Mexican Dairy Herds: Lesions and Immunohistochemical Detection of *Neospora caninum* in Fetuses. **Journal of Comparative Pathology**, v. 125, n. 1, p. 58–63, jul. 2001.

MULLER, N. et al. Application of Real-Time Fluorescent PCR for Quantitative Assessment of *Neospora caninum* Infections in Organotypic Slice Cultures of Rat Central Nervous System Tissue. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 1, p. 252–255, 1 jan. 2002.

NISHIMURA, M. et al. Transcriptome and Histopathological Changes in Mouse Brain Infected with *Neospora caninum*. **Scientific Reports**, v. 5, p. 7936, 2015.

PARADIES, P. et al. Risk factors for canine neosporosis in farm and kennel dogs in southern Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 240–244, 2007.

REICHEL, M. P. et al. What is the global economic impact of *Neospora caninum* in cattle - The billion dollar question. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 2, p. 133–142, 2013.

ROJO-MONTEJO, S. et al. Evaluation of the protection conferred by a naturally attenuated *Neospora caninum* isolate against congenital and cerebral neosporosis in mice. **Veterinary research**, v. 43, p. 62, 2012.

SARTOR, I. F. et al. OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-NEOSPORA CANINUM EM BOVINOS LEITEIROS E DE CORTE DA REGIÃO DE PRESIDENTE PRUDENTE, SP. **Arq. Inst. Biol.**, v. 72, p. 413–418, 2005.

SILVA, M. I. S. et al. FATORES DE RISCOS ASSOCIADOS À INFECÇÃO POR *Neospora caninum* EM MATRIZES BOVINAS LEITEIRAS EM PERNAMBUCO. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, p. 455–461, 2008.

SOLDATI, S. et al. Meningoencephalomyelitis caused by *Neospora caninum* in a juvenile fallow deer (*Dama dama*). **Journal of Veterinary Medicine Series a-Physiology Pathology Clinical Medicine**, v. 51, n. 6, p. 280–283, 2004.

SOUSA, M. E. et al. Seroprevalence and risk factors associated with infection by *Neospora caninum* of dairy cattle in the state of Alagoas, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 10, p. 1009–1013, out. 2012.

TEIXEIRA, W. C. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* (Apicomplexa: Sarcocystidae) em bovinos leiteiros de propriedades rurais em três microrregiões no estado do Maranhão. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 9, p. 729–734, 2010.

THILSTED, J. P.; DUBEY, J. P. Neosporosis-like abortions in a herd of dairy cattle. **Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.**, v. 1, n. 3, p. 205–209, 1989.

TREES, A. J.; WILLIAMS, D. J. L. Endogenous and exogenous transplacental infection in *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **Trends in Parasitology**, v. 21, n. 12, p. 558–561, 2005.

VARASCHIN, M. S. et al. Congenital neosporosis in goats from the State of Minas Gerais, Brazil. **Korean Journal of Parasitology**, v. 50, n. 1, p. 63–67, 2012.

WOUDA, W. Diagnosis and epidemiology of bovine neosporosis: a review. **The Veterinary quarterly**, v. 22, n. October 2014, p. 71–74, 2000.

XIMENES MARTINS, N. É. et al. OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS anti-Neospora caninum EM VACAS LACTANTES DO MUNICÍPIO DE ARAGUAÍNA, ESTADO DO TOCANTINS, BRASIL. **Revista de Patologia Tropical**, v. 40, n. 3, p. 231–238, 17 out. 2011.