

CENTRO UNIVERSITÁRIO CAMPO REAL
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JOÃO PEDRO FRETTA

**DIAGNÓSTICO DA NEOSPOROSE BOVINA: ANÁLISE
SOROEPIDEMIOLÓGICA EM PROPRIEDADE RURAL**

GUARAPUAVA-PR

2024

JOÃO PEDRO FRETTA

**DIAGNÓSTICO DA NEOSPOROSE BOVINA: ANÁLISE
SOROEPIDEMIOLÓGICA EM PROPRIEDADE RURAL**

**Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Medicina
Veterinária do Centro Universitário
Campo Real, como parte das exigências
para a conclusão do Curso de
Graduação em Medicina Veterinária.**

**Professora Orientadora: Robertha
Magnago Tosi**

GUARAPUAVA- PR

2024

TERMO DE APROVAÇÃO

Centro Universitário Campo Real
Curso de Medicina Veterinária
Relatório Final de Estágio Supervisionado
Área de estágio: Reprodução, manejo sanitário, clínica médica e cirúrgica de
bovinos

DIAGNÓSTICO DA NEOSPOROSE BOVINA: ANÁLISE SOROEPIDEMIOLÓGICA EM PROPRIEDADE RURAL

Acadêmico: João Pedro Fretta
Orientadora: Robertha Magnago Tosi
Supervisor: Roberto Grzybowski

O presente Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado e aprovado com nota _____(__,__) para obtenção de grau no Curso de Medicina Veterinária, pela seguinte banca examinadora:

Prof.^(a) Orientador(a): Robertha Magnago Tosi

Prof.(a):

Prof.(a):

Dezembro de 2024
Guarapuava- PR

Dedico o presente trabalho a todos os meus familiares que me ajudaram na conclusão desse curso e que acreditaram verdadeiramente em mim.

AGRADECIMENTOS

Agradeço esse trabalho primeiramente a Deus, que sempre me deu forças para continuar em frente e concluir um dos meus maiores objetivos na vida, me tornando médico veterinário.

Aos meus pais Itamar Fretta e Mariangela Oro Fretta, que me ajudaram imensamente durante toda minha trajetória universitária.

A minha esposa Thamilly Cristina De Bastos, que sempre me apoiou durante toda minha faculdade e me incentivou a nunca desistir.

Aos meus avós Adilton Fretta e Terezinha Fretta, que também me apoiaram imensamente nesse tempo de estudo.

A todos os professores que acrescentaram em minha formação durante esses 5 anos.

A minha orientadora Robertha Magnago Tosi que sempre esteve a disposição para me ajudar, sem medir esforços.

Aos meus colegas de turma, em especial ao André Barbosa, Carlos Eduardo Wennek e Leonardo Padilha Peres, onde nesse tempo nos tornamos grandes amigos, nos dando apoio para concluir essa grande etapa de nossas vidas.

“O conhecimento é o primeiro passo para a cura”
(Francis Bacon)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Local do estágio	13
Figura 2 – Transfusão sanguínea em vaca com tristeza parasitária	14
Figura 3 – Ultrassonografia em vaca para diagnóstico de gestação	14
Figura 4 – Atividades realizadas durante o período de estágio supervisionado ...	16
Figura 5 – Ciclo biológico do <i>Neospora caninum</i>	20
Figura 6 – Abortamento gestacional de aproximadamente 5 meses de fêmea soropositiva para <i>Neospora caninum</i>	23
Figura 7 – Rebanho utilizado no presente trabalho	26
Figura 8 – Rebanho utilizado no presente trabalho	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividades realizadas durante o período de estágio supervisionado ...15

Tabela 2 – Animais soropositivos da sorologia pelo método ELISA do dia 26/09/2024 e a sorologia de suas respectivas mães32

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DAD – Deslocamento de abomaso à direita

DAE – Deslocamento de abomaso à esquerda

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

IATF – Inseminação Artificial em Tempo Fixo

NAT - Nucleic Acid Testing

PCR - Reação em Cadeia da Polimerase

RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

RESUMO

A neosporose bovina é uma doença causada pelo protozoário *Neospora caninum*, tendo os cães como hospedeiros definitivos, sendo agentes transmissores importantes para a doença, visto que liberam oocistos no ambiente pelas fezes e bovinos ao ingerirem podem desenvolver a doença. A transmissão vertical, da mãe para o bezerro, também é uma importante fonte de contaminação, aumentando significativamente a soroprevalência na propriedade. A transmissão horizontal, apesar de menos comum, também pode ocorrer, onde abortos e restos placentários de animais com neosporose podem ser um risco para animais soronegativos. O principal meio de controle do agente é o descarte de fêmeas soropositivas para o *Neospora caninum* e o controle de cães no rebanho. O tratamento para a doença é ineficaz. O estágio curricular supervisionado foi realizado com o médico veterinário Roberto Grzybowski proprietário da agropecuária AgroTerra, e orientado pela professora Robertha Magnago Tosi, no período de 25 de julho a 25 de outubro de 2024, onde foi acompanhado os trabalhos de clínica médica, clínica cirúrgica, manejos reprodutivos e manejos sanitários em bovinos de leite e de corte. O presente trabalho inclui as vivências obtidas no estágio supervisionado, colocando em prática o aprendizado obtido durante a graduação. Durante o estágio foi possível realizar a avaliação dos casos atendidos escolhendo um caso em específico para realização da revisão da literatura, dando ênfase na neosporose bovina, desde seus sinais clínicos, tratamento, diagnóstico, controle e prevenção, sendo esta de suma importância para evitar a disseminação da doença e prejuízo econômico à propriedade e proprietário.

Palavras-chave: Identificação. *Neospora caninum*. Soroprevalência. Gado

SUMÁRIO

1.0 APRESENTAÇÃO E PERÍODO DE ESTÁGIO COM O MÉDICO VETERINÁRIO ROBERTO GRZYBOWSKI	13
2.0 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO	14
2.1 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES	14
2.2 CASUÍSTICA.....	15
3.0 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 INTRODUÇÃO	18
3.2 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA.....	19
3.3 EPIDEMIOLOGIA.....	21
3.4 SINAIS CLÍNICOS.....	22
3.5 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	24
3.6 TRATAMENTO.....	24
3.7 PROFILAXIA E CONTROLE	25
4.0 MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1 DESCRIÇÃO DA PROPRIEDADE	26
4.2 AMOSTRAS E EXAMES LABORATORIAIS	27
5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO	29
5.1 SOROLOGIA DO DIA 26/07/2023.....	29
5.1.1 ORIENTAÇÕES TÉCNICAS E MEDIDAS ADOTADAS PELOS PROPRIETÁRIOS.....	29
5.2 SOROLOGIA DO DIA 26/09/2024.....	301
5.3 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	312
6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
7.0 REFERÊNCIAS	34
ANEXO A - Exame sorológico para o protozoário <i>Neospora caninum</i> pelo método ELISA , do dia 26/07/2023	39
ANEXO B – Exame sorológico para o protozoário <i>Neospora caninum</i> pelo método ELISA , do dia 26/09/2024.....	40

CAPÍTULO I – DESCRIÇÃO DO ESTÁGIO

1.0 APRESENTAÇÃO E PERÍODO DE ESTÁGIO COM O MÉDICO VETERINÁRIO ROBERTO GRZYBOWSKI

1.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL DO ESTÁGIO

O estágio curricular ocorreu no período de 25 de julho a 25 de outubro de 2024, com o médico veterinário Roberto Grzybowski, que possui uma agropecuária situada na avenida Santos Dumont De Andrade, 2101, na cidade de Laranjeiras Do Sul – PR (Figura 1).

Os atendimentos realizados eram todos a campo, visando principalmente bovinos de leite e de corte em manejos reprodutivos como ultrassonografia retal para avaliação do sistema reprodutor da fêmea e diagnóstico de gestação, e inseminação artificial em tempo fixo (IATF), clínica médica e cirúrgica, partos distócicos, manejo sanitário, incluindo a vacinação de brucelose, vacinas contra clostridioses e a realização dos exames de brucelose e tuberculose. O responsável pelos atendimentos realizados pela agropecuária e supervisor do estágio é o médico veterinário Roberto Grzybowski, formado na Universidade Federal do Paraná, na cidade de Palotina.

Figura 1 - Agropecuária AgroTerra



Fonte: o Autor (2024).

2.0 ATIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO

2.1 DESCRIÇÃO DAS ATIVIDADES

Durante o período de estágio com o médico veterinário Roberto Grzybowski foram acompanhados diversos procedimentos, dentre eles protocolos de IATF e diagnóstico de gestação em gado de leite e de corte (Figura 2), cirurgia de castração de machos bovinos, cirurgia para correção de deslocamento de abomaso à esquerda e à direita, cirurgia para retirada de tumor de terceira pálpebra em bovino, vacinas contra brucelose, clostridioses e as variadas doenças reprodutivas, exames de brucelose e tuberculose, casqueamentos em bovinos, casos clínicos de cetose, metrite, endometrite, hipocalcemia, mastite, casos de retículo pericardite traumática, tristeza parasitária e seus consequentes tratamentos com antibióticos e terapia de suporte, incluído administração de soro intravenoso, vitamina B12, ferro, e transfusão sanguínea (Figura 3) em casos críticos.

Figura 2 – Ultrassonografia em bovino



Fonte: arquivo pessoal (2024).

Figura 3 – Transfusão sanguínea



Fonte: arquivo pessoal (2024).

2.2 CASUÍSTICA

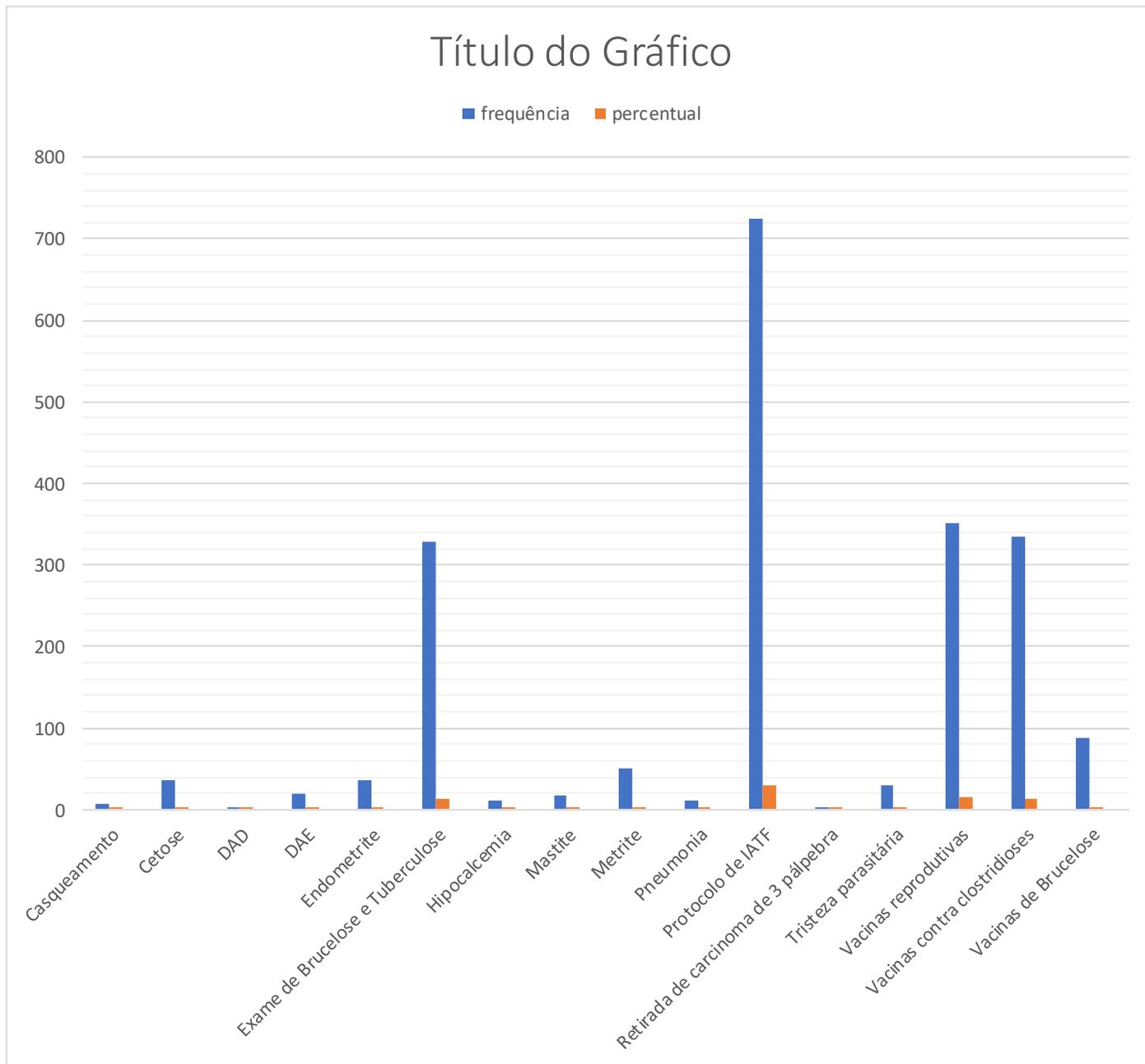
Durante o período de 25 de julho a 25 de outubro de com o médico veterinário Roberto Grzybowski foram acompanhados em bovinos protocolos de inseminação artificial em tempo fixo (IATF), diagnósticos de gestação, cirurgias de deslocamento de abomaso à esquerda (DAE), cirurgias de deslocamento de abomaso à direita (DAD), cirurgia para retirada de carcinoma de terceira pálpebra, cetose, hipocalcemia, metrite, endometrite, mastite, tristeza parasitária, pneumonias, partos distócicos, vacinação contra brucelose, clostridioses e das variadas doenças reprodutivas e exames de brucelose e tuberculose com frequência informada na tabela 1 e figura 4.

Tabela 1- Atividades realizadas durante o período de estágio supervisionado

Atividades acompanhadas	Número	Percentual (%)
Cetose	36	1,4%
Deslocamento de abomaso à direita (DAD)	3	0,12%
Deslocamento de abomaso à esquerda (DAE)	19	0,78%
Diagnósticos de gestação	387	15,8%
Endometrite	37	1,5%
Exames de brucelose e tuberculose	329	13,5%
Hipocalcemia	12	0,49%
Mastite	17	0,70%
Metrite	51	2,1%
Parto distócico	6	0,25%
Pneumonia	11	0,45%
Protocolos de IATF	725	29,8%
Retirada de carcinoma de 3º pálpebra	1	0,04%
Tristeza parasitária	29	1,2%
Vacinas contra clostridioses	334	13,7%
Vacinas de brucelose	88	3,6%
Vacinas reprodutivas	351	14,4%
Total	2436	100%

Fonte: Autor (2024)

Figura 4 – Atividades realizadas durante o período de estágio supervisionado



Fonte: Autor (2024)

CAPÍTULO II – DESCRIÇÃO TEÓRICA
DIAGNÓSTICO DA NEOSPOROSE BOVINA: ANÁLISE
SOROEPIDEMIOLÓGICA EM PROPRIEDADE RURAL

3.0 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 INTRODUÇÃO

Entre 2011 e 2021, a oferta global de leite aumentou em 27,86%, atingindo em 2022 mais de 34 bilhões de litros produzidos só no Brasil (IBGE, 2022). Além da sua importância econômica, a pecuária leiteira exerce um impacto social relevante ao criar empregos, gerar renda e servir como um meio de subsistência para muitas famílias produtoras, como cita Thies *et al.* (2023).

Para garantir boas condições de saúde para os animais, especialmente em relação às características reprodutivas das fêmeas, é essencial cuidar da produtividade do rebanho (Carvalho *et al.*, 2014).

Dentre tantas enfermidades que podem acometer um rebanho, a neosporose bovina é uma delas. Segundo Dubey (2003), o causador da doença é o protozoário *Neospora caninum*, sendo um agente intracelular obrigatório que pode levar as fêmeas bovinas ao aborto (Carvalho *et al.*, 2014; Dubey *et al.*, 2017).

Vários países de todo o mundo relataram a presença de bovinos infectados com a *Neospora caninum*, dentre os países da América do Sul podemos citar a Argentina, Brasil, Chile, Paraguai, Peru, Uruguai e Venezuela (Moore, 2005).

Os canídeos são os hospedeiros definitivos da *Neospora caninum*, permitindo a transmissão para diversas espécies. Entre os hospedeiros intermediários mais relevantes para a produção, os bovinos se destacam, pois o principal sintoma clínico da infecção é o aborto, resultando em significativo prejuízo econômico. Contudo, outros agentes também podem causar abortos e falhas reprodutivas no rebanho, tornando o diagnóstico da neosporose mais complexo (Carvalho *et al.*, 2014; Sánchez *et al.*, 2003).

Dubey (2017), cita que a Neosporose bovina pode ser transmitida tanto

horizontalmente através da contaminação ambiental, quanto verticalmente de mães infectadas para os bezerros, o que complica o controle e a prevenção dessa doença nos rebanhos. todos do gênero *canis* possuem a capacidade de serem hospedeiros definitivos do parasita (Almeida *et al.*, 2019), sendo os cães domésticos e coiotes os principais responsáveis pela contaminação dos bovinos. Os hospedeiros podem liberar oocistos na *Neospora caninum* na água, alimentos e pastagens, fazendo com que os animais se contaminem com a doença (Dijkstra *et al.*, 2002).

O diagnóstico é feito por meio de exame histopatológico de fetos abortados e da sorologia dos animais, sendo esse o mais comum e utilizado na prática (Farias, 2007).

3.2 ETIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

Oshiro (2007) e Carvalho *et al.* (2014), descreve que o organismo em questão é um parasita intracelular obrigatório pertencente ao filo *Apicomplexa*, classe *Sporozoa*, ordem *Eucoccidiorida*, subordem *Eimeriose*, família *Sarcocystidae* e subfamília *Toxoplasmatinae* (Mcallister *et al.*, 1998).

Carvalho *et al.* (2014), ainda relata em seu estudo que a introdução da *Neospora caninum* (*N. caninum*) dentro do rebanho bovino permaneceu por muito tempo sem explicação até a identificação dos oocistos nas fezes do cão, o que favoreceu em seguida a descoberta do ciclo biológico deste protozoário (Mcallister *et al.*, 1998).

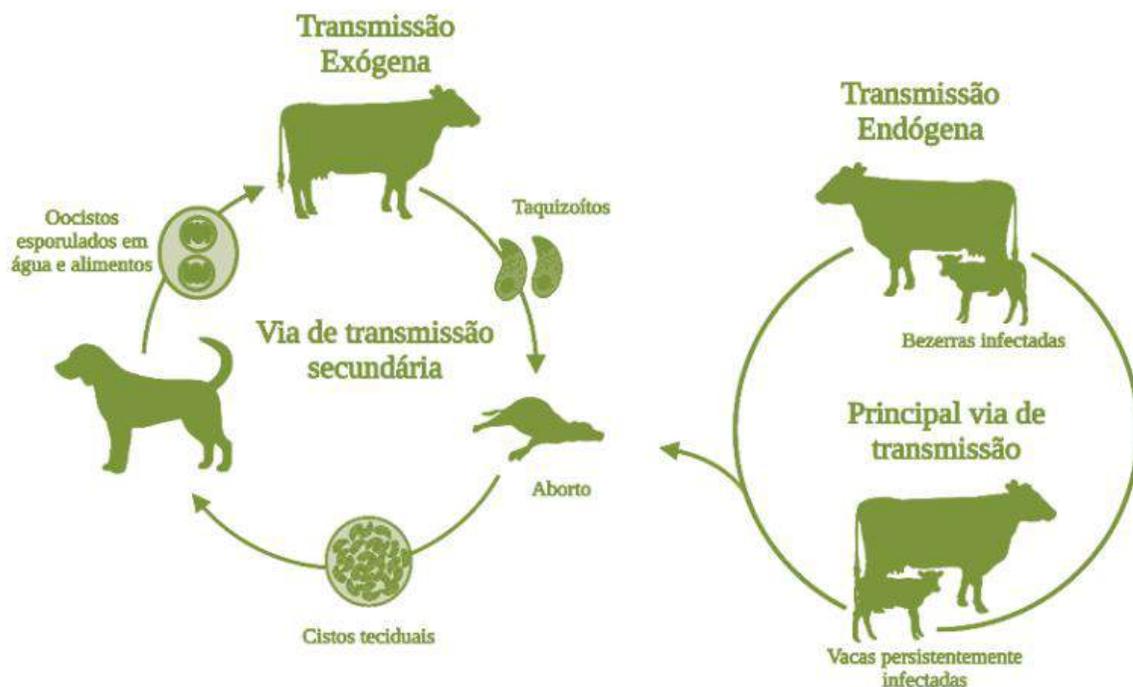
No passado, antes de 1998, a *Neospora caninum* e o *Toxoplasma gondii* eram frequentemente confundidos devido às semelhanças estruturais e biológicas entre os dois protozoários, o que gerava dificuldades no diagnóstico e na distinção correta entre as duas infecções (Dubey & Schares, 2011). Embora pertençam à mesma família, eles são antigenicamente diferentes, o que resolve as controvérsias sobre a distinção entre esses dois parasitas (Oshiro, 2006).

Taylor (2017), explica que morfologicamente, os protozoários se

distinguem em taquizoítos, que são a forma proliferativa nos hospedeiros; os oocistos, que resultam da reprodução sexuada no epitélio do hospedeiro definitivo; os cistos teciduais, que são formas de resistência dentro dos hospedeiros; e os bradizoítos, que estão localizados dentro dos cistos teciduais.

De acordo com Dubey *et al.* (2007), o ciclo biológico do *Neospora caninum* é heterógeno, onde os cães se infectam ao ingerir tecidos de bovinos com formas císticas do parasita, levando à reprodução sexual no intestino e à liberação de oocistos nas fezes. Os bovinos se infectam ao consumir água ou alimentos contaminados com esses oocistos esporulados, resultando na liberação de esporozoítos que invadem os tecidos e se multiplicam (Figura 5).

Figura 5– Ciclo biológico do *Neospora caninum*



Fonte: Guido et al. (2016).

O ciclo de vida do *Neospora caninum* é dividido em três fases principais, nas quais a morfologia se distingue entre taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Os oocistos não esporulados são eliminados nas fezes dos hospedeiros

definitivos, enquanto os oocistos esporulados contêm dois esporocistos, cada um abrigando quatro esporozoítos. Essa estrutura é crucial para a infecção, uma vez que a ingestão dos oocistos esporulados pelos hospedeiros intermediários resulta na liberação dos esporozoítos no trato gastrointestinal (Goodswen *et al.*, 2013).

Após a liberação, os esporozoítos se transformam em taquizoítos, que são a forma infectante mais importante do ciclo de vida. Esses taquizoítos possuem formato arredondado a oval e são capazes de invadir o citoplasma de diversas células, como macrófagos, hepatócitos e células neurais (Dubey, 2003). A multiplicação assexuada dos taquizoítos é responsável por causar lesões nos tecidos do hospedeiro, desencadeando uma resposta inflamatória que resulta em sinais clínicos significativos (Goodswen *et al.*, 2013).

Em contrapartida, os bradizoítos, que se encontram encapsulados por uma cápsula de tecido conjuntivo, são predominantemente encontrados no sistema nervoso central e na musculatura dos hospedeiros intermediários (Dubey *et al.*, 2007). Após a encapsulação, esses organismos podem persistir por meses ou até anos sem causar manifestações clínicas, representando uma forma de infecção latente. Essa capacidade de permanecer assintomático ressalta a complexidade do ciclo de vida e a adaptabilidade do organismo aos diferentes hospedeiros (Dubey *et al.*, 2007; Goodswen *et al.*, 2013).

3.3 EPIDEMIOLOGIA

Alguns estudos indicam que os cães domésticos, lobos cinzentos, coiotes e dingos atuam como hospedeiros definitivos do parasita *Neospora caninum*. Esses carnívoros, ao consumirem placentas de bovinos infectados, eliminam oocistos por meio das fezes, contribuindo para a disseminação do parasita (McAllister *et al.*, 1998; Dubey *et al.*, 2011; King *et al.*, 2010; Dijkstra *et al.*, 2001).

A primeira observação de um cão eliminando oocistos de *N. caninum* em decorrência de uma infecção natural ocorreu na Argentina, destacando a relevância epidemiológica desse fenômeno (Basso *et al.*, 2001). Esse relato

evidencia a importância dos cães como vetores na transmissão do parasita, refletindo a interação entre as espécies e os impactos da infecção em populações de bovinos, como cita Basso *et al.* (2001).

Andreotti *et al.* (2003), cita que em bovinos a infecção por *N. caninum* ocorre principalmente por dois mecanismos: a transmissão vertical, onde o parasita é transferido da mãe para o feto (transmissão transplacentária), e a transmissão horizontal, que se dá pela ingestão de oocistos esporulados. Esses modos de infecção são cruciais para compreender a epidemiologia da neosporose no rebanho.

A realização de sorologia para *Neospora caninum* é crucial, pois animais soropositivos apresentam um risco significativamente maior de abortamento em comparação aos soronegativos, com um aumento estimado em 7,21 vezes (Favero *et al.*, 2017).

Além da sorologia, é fundamental considerar outras variáveis que podem estar associadas à infecção em hospedeiros intermediários. Estudos epidemiológicos sobre a neosporose frequentemente utilizam questionários aplicados por veterinários ou proprietários de rebanhos para coletar informações sobre as características gerais da propriedade. Esses questionários abordam aspectos do manejo reprodutivo, práticas de biossegurança, manejo geral e instalações, bem como condições sanitárias e controle de resíduos, permitindo uma análise mais abrangente dos fatores que contribuem para a prevalência da infecção (Dubey *et al.*, 2007; Hein *et al.*, 2012).

3.4 SINAIS CLÍNICOS

Guimarães (2004), destaca que o abortamento é o sinal clínico mais evidente da infecção por *Neospora caninum*. Quando a infecção ocorre no início da gestação, antes do desenvolvimento do sistema imunológico fetal, pode resultar em morte embrionária (Figura 6). Se a infecção acontecer no meio da gestação, isso pode levar ao abortamento ou ao nascimento de um bezerro

persistentemente infectado. Já no final da gestação, o parto pode ocorrer normalmente, mas o bezerro pode nascer com infecção congênita, potencialmente transmitindo a infecção para gerações futuras.

Figura 6 – abortamento gestacional de aproximadamente 5 meses de fêmea soropositiva para *Neospora caninum*.



Fonte: arquivos pessoais (2024).

Almeria et al. (2010) apontam que a patogenia do *Neospora caninum* é complexa e ainda não completamente compreendida. Vários fatores podem influenciar a ocorrência de abortos, incluindo a idade do animal, o momento da infecção e a imunidade materna durante a gestação. Esses elementos ajudam a explicar por que alguns animais soropositivos abortam, enquanto outros não apresentam esse desfecho. Além disso, o mecanismo exato que leva ao aborto em infecções por *N. caninum* permanece desconhecido, indicando a necessidade

de mais pesquisas para elucidar as interações envolvidas na patologia.

Segundo Almeria *et al.*, (2010); Llano, (2013); Maldonado Rivera *et al.*, (2020); Reiterová *et al.*, (2009), o aborto é mais comum entre o quinto e sexto mês de gestação, porém podendo ocorrer em qualquer fase gestacional. Os autores ainda citam que os fetos podem ser mumificados ou autolisados, e a vaca pode apresentar sinais nervosos e queda na produção leiteira.

3.5 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Conforme afirmam Moré *et al.* (2008), Reichel, Ross e McAllister (2008), métodos sorológicos como Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) e Nucleic Acid Testing (NAT) são recomendados para o diagnóstico de doenças causadas por protozoários de interesse veterinário, incluindo *Neospora caninum*. Essas técnicas são eficazes na avaliação do contato do agente com o hospedeiro, pois permitem a detecção específica de anticorpos imunoglobulina G (igG).

Além desses testes laboratoriais, Carvalho *et al.*, (2014), descreve que o diagnóstico pode ser realizado também por meio de métodos moleculares, como exames de imunohistoquímica e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que são eficazes na detecção do *Neospora caninum*. Amostras de escolha, como placenta, líquidos fetais, cérebro, coração e fígado, são utilizadas para maximizar a precisão do diagnóstico.

3.6 TRATAMENTO

Segundo Andreotti *et al.* (2003), não há medicamentos antineospora eficazes para bovinos. Embora várias substâncias, como decoquinato e toltrazuril, tenham sido testadas em estudos *in vitro* e *in vivo*, sua eficácia em bovinos ainda não foi comprovada para aplicação prática.

Apesar dos esforços para desenvolver vacinas visando prevenir a infecção e o abortamento associados à neosporose em bovinos, sua eficácia no controle da doença ainda não foi comprovada (Marugan Hernandez *et al.*, 2017).

3.7 PROFILAXIA E CONTROLE

De acordo com Cadore (2009), no que se refere ao controle e profilaxia da neosporose, recomenda-se identificar e descartar as fêmeas soropositivas, realizando a reposição com fêmeas soronegativas. Além disso, em propriedades com animais negativos para *Neospora caninum*, é importante impedir a entrada de fêmeas positivas e proteger a ração e a água dos bovinos contra a contaminação por fezes de cães e outros hospedeiros definitivos.

O controle de hospedeiros definitivos e fontes de contaminação horizontal também devem ser feitos para um bom controle da neosporose, que associadas podem diminuir os abortamentos (Parkinson, 2009). A presença de cadelas gestantes deve ser evitada na propriedade, visto que os filhotes podem excretar uma grande quantidade de oocistos no ambiente, aumentando a contaminação (Godim *et al.*, 2005).

4.0 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 DESCRIÇÃO DA PROPRIEDADE

A propriedade utilizada para o trabalho situa-se no município de Laranjeiras do Sul, Paraná (25°24'41.8"S 52°26'02.3"W), onde o foco principal da propriedade é a produção de leite (Figura 7 e Figura 8).

Figura 7 – Rebanho utilizado no presente trabalho



Fonte: o Autor (2024).

Figura 8 – Rebanho utilizado no presente trabalho



Fonte: o Autor (2024)

A propriedade possui o total de 33 animais, 29 da raça Holandesa e 4 da

raça Jersey sendo 23 vacas na ordenha, 7 novilhas em fase reprodutiva e 3 bezerras, onde são criados no sistema de semiconfinamento. A dieta é baseada no fornecimento de silagem de milho, feno e ração, formulada pelo médico veterinário que atende a propriedade, Roberto Grzybowski.

Os proprietários relataram ao médico veterinário, ainda em junho de 2023, que nos últimos 4 meses 7 vacas haviam abortado e algumas outras vacas do rebanho possuíam histórico de abortos. Foi relatado também que os proprietários possuem 4 cães que transitam entre as vacas, e que há a circulação de vários outros cães dos vizinhos entre o rebanho, e com todos esses fatores levantou-se uma suspeita de que os animais poderiam estar contaminados com o *Neospora caninum*, e então foi proposto que se fizesse a coleta do sangue desses animais para fazer o exame de neosporose.

4.2 AMOSTRAS E EXAMES LABORATORIAIS

No dia 27/06/2023, o médico veterinário Roberto Grzybowski fez a coleta de amostras de sangue de todo o rebanho na propriedade, que na época contava com 31 animais, para fazer o teste sorológico de *Neospora caninum*, pois nos últimos 4 meses 7 vacas haviam abortado e algumas outras vacas do rebanho possuíam histórico de abortos, surgindo uma suspeita de que alguns animais podiam estar contaminados com o protozoário.

As amostras sorológicas foram obtidas através de venopunção da veia coccígea localizada na base da cauda, em tubos sem anticoagulante- EDTA (Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético), sendo coletado aproximadamente 7- 8 ml. As amostras coletadas seguem pelo método de decantação, onde após 2 horas decorridas da coleta, eram congelados a uma temperatura de -20°C para armazenamento, para em seguida (dia 13/07/2023) serem enviadas para o Centro de Diagnóstico Marcos Enrietti que fica situado no campus da Universidade Federal do Paraná, em Curitiba e com laudo emitido no dia 26/07/2023, mostrando soropositividade de 12 dos 31 animais testados, conforme apresentado no Anexo

A.

Devido a queixa do proprietário sobre a incidência de novos casos de aborto na propriedade e o histórico de neosporose que havia sido confirmado pela detecção sorológica realizada no ano anterior, no dia 14/09/2024, outras 25 amostras foram coletadas para um novo exame para detecção de neosporose no rebanho. As amostras coletadas seguiam o mesmo método de coleta, armazenamento e envio. Os animais submetidos a coleta foram os animais que no exame anterior haviam testados negativos para *Neospora caninum*, e os animais que o exame ainda não havia sido realizado. O laudo emitido no dia 26/09/2024, foi confirmatório em 3 animais, conforme podemos observar no Anexo B.

5.0 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SOROLOGIA DO DIA 26/07/2023

O laudo da sorologia pelo método ELISA do dia 26/07/2023 apontou que 12 das 31 amostras apresentaram soropositividade para *N. caninum*, indicando uma soroprevalência de 38,7%, mostrando uma presença muito relevante do protozoário entre o rebanho.

5.1.1 ORIENTAÇÕES TÉCNICAS E MEDIDAS ADOTADAS PELOS PROPRIETÁRIOS

O médico veterinário da propriedade orientou que os animais soropositivos fossem descartados para evitar a contaminação dos animais soronegativos, além do controle dos cães que transitavam entre as vacas, visto que são hospedeiros definitivos do *N. caninum*, e se contaminados poderiam vir a eliminar oocistos pelas fezes no ambiente do rebanho, como cita Mcallister *et al.* (1998), Dubey *et al.* (2011), King *et al.* (2010) e Dijkstra *et al.* (2001).

Os proprietários decidiram descartar os animais à medida que a situação se desenvolvia, avaliando a soropositividade e a saúde geral do rebanho com auxílio do médico veterinário, pois segundo eles, o descarte de 12 animais de uma única vez resultaria em um prejuízo econômico muito grande. Até o início de 2024 todos os animais soropositivos já haviam sido descartados.

Com relação aos próprios cães entre as vacas, os produtores planejaram implementar um controle mais rigoroso, porém não possuem influência sobre os animais dos vizinhos, representando uma grande dificuldade no controle da *N. caninum*.

5.2 SOROLOGIA DO DIA 26/09/2024

No segundo exame com laudo emitido dia 26/09/2024, 3 das 25 amostras analisadas apresentaram contaminação para *N. caninum*, indicando uma taxa de soropositividade de 12%, uma redução de 26,7% em relação ao exame do dia 26/07/2023, que pode ser atribuída as melhorias adotadas na propriedade. Os animais que já haviam sido testados negativos no exame do dia 26/07/2023 não apresentaram soropositividade no novo exame, porém 3 novos animais foram contaminados com o *Neospora caninum*.

Esses animais contaminados nasceram no intervalo entre julho de 2023 e setembro de 2024, portanto não haviam sido testados no exame do dia 26/07/2023. Os 3 animais contaminados foram das fêmeas com brinco de identificação 170, 236 e 238, listadas na tabela 2, abaixo juntamente com a sorologia de suas mães.

Tabela 2 – Animais soropositivos da sorologia pelo método ELISA do dia 26/09/2024 e a sorologia de suas respectivas mães

Número da mãe	Sorologia da mãe	Número da filha	Sorologia da filha
170	Negativa	528	Positiva
236	Positiva	254	Positiva
238	Positiva	256	Positiva

Fonte: Autor (2024)

5.3 ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Fica claro que animais soropositivos têm uma alta capacidade de transmitir *N. caninum* por meio da transmissão transplacentária. Isso é evidenciado pelo fato de que, entre os três animais contaminados, dois são filhas de vacas soropositivas, concordando com a afirmação de Andreotti *et al.* (2003).

O animal com brinco de identificação 170, apesar de não ser filha de um animal soropositivo, estava em um ambiente com outros animais positivos para *N. caninum*, que poderiam contaminar o ambiente com restos placentários e/ou abortos. Além disso, como citado pelo proprietário, existia a circulação de canídeos entre o rebanho, que mesmo sendo adotado um controle dos próprios cães, não poderiam impedir os animais dos vizinhos de circular entre o rebanho, podendo contribuir para eliminação de oocistos pelas fezes no ambiente, aumentando o risco de uma contaminação.

Animais com neosporose não apenas apresentam uma chance 7,21 vezes maior de abortamento ao longo da gestação (Favero *et al.*, 2017), mas também têm uma probabilidade significativa de gerar descendentes soropositivos. Isso resulta em uma elevada soroprevalência na propriedade, o que pode intensificar o ciclo de infecção e agravar os problemas de saúde reprodutiva no rebanho. À medida que a taxa de infecção aumenta, os casos de abortos e de animais contaminados com *N. caninum* se tornam mais frequentes, impactando diretamente a produtividade e a lucratividade da propriedade.

É claro que cada propriedade possui suas adversidades e condições, e como já citado anteriormente, os produtores relataram que iriam descartar os animais soropositivos para *N. caninum* conforme a situação se desenvolvia. O controle dos cães na propriedade também foi um empecílio, pois não foi encontrada uma maneira de impedir que os cães dos produtores vizinhos circulassem entre o rebanho. Todas essas adversidades contribuíram para que mais 3 animais desenvolvessem a neosporose, e se não forem descartados poderão ter históricos de aborto recorrente, contaminar animais soronegativos

com resíduos placentários e de abortos e procriarem descendentes soropositivos, levando ao aumento crescente de animais contaminados com o *N. caninum*.

6.0 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos achados da literatura, pode-se concluir que a neosporose bovina é uma doença que apresenta desafios significativos para o diagnóstico, uma vez que seus sinais clínicos podem se assemelhar a outras condições. Assim, é fundamental que o veterinário exerça cautela e possua um conhecimento aprofundado para alcançar um diagnóstico preciso. Além da avaliação clínica, a realização de exames laboratoriais é crucial para confirmar a infecção. É essencial que o médico veterinário saiba identificar os sinais clínicos associados à neosporose e que os métodos de diagnóstico e tratamento utilizados no caso clínico discutido neste trabalho sejam adequados às necessidades do manejo da doença.

O estágio curricular supervisionado é de grande valia para a formação de médicos veterinários competentes, pois o que se viu em sala de aula é colocado em prática, permitindo o aprendizado e o aperfeiçoamento do trabalho.

Foi vivenciado no estágio, a rotina de clínica médica, cirúrgica e manejos reprodutivos e sanitários de bovinos, onde foi possível acompanhar consultas, cirurgias, ultrassonografia para diagnóstico de gestação, protocolos de IATF, vacinas reprodutivas, contra clostridioses e brucelose, que são de grande importância na formação de um médico veterinário.

Foi dentro do estágio que aprendi a me portar da forma correta para quando ingressar no mercado de trabalho, além de melhorar minha comunicação com as pessoas e abordar os produtores da forma ideal para chegar ao diagnóstico do paciente. A convivência no ambiente de trabalho e o trabalho em equipe, por sua vez, ajudaram no meu crescimento pessoal.

A capacidade de se adaptar a diferentes situações e agir rapidamente em emergências é crucial para garantir a saúde e a vida dos animais. A empatia e a observação atenta são fundamentais para identificar sinais de dor ou desconforto, ajudando no diagnóstico e no tratamento.

7.0 REFERÊNCIAS

ALMERIA, S. *et al.* Fetal death in cows experimentally infected with *Neospora caninum* at 110 days of gestation. **Veterinary Parasitology**, v. 169, n. 3-4, p. 304-311, 2010.

ANDREOTTI, Renato *et al.* Diagnóstico e controle da neosporose em bovinos. **Embrapa Gado de Corte**, 2003.

BASSO, W. *et al.* First isolation of *Neospora caninum* from the feces of a naturally infected dog. **Journal of Parasitology**, v. 87, p. 612-618, 2001.

CADORE, G. C. *Neospora caninum*: Imunoglobulinas como marcadores de infecção transplacentária e avaliação da susceptibilidade de cultivos celulares. **Dissertação de mestrado**, 2009.

CARVALHO, R. P. *et al.* Neosporose bovina – Revisão de literatura. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, 2014.

CERQUEIRA-CÉZAR, C. K.; D'AVILA, A. R.; LIMA, W. S. *Neospora caninum*: uma atualização sobre a biologia e a patogenicidade. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 26, n. 1, p. 1-11, 2017.

DIJKSTRA, T. H. *et al.* Evidence of postnatal transmission of *Neospora caninum* in Dutch dairy herds. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 209-215, 2001.

DIJKSTRA, T. *et al.* Natural transmission routes of *Neospora caninum* between farm dogs and cattle. **Veterinary Parasitology**, v. 105, n. 2, p. 99-104, 2002.

DUBEY, J. P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. **Korean Journal of Parasitology**, v. 41, n. 1, p. 1-16, mar. 2003.

DUBEY, J. P.; JONES, J. L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, 2017.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. Neosporosis in animals – The last five years. **Veterinary Parasitology**, v. 180, n. 4, p. 90-108, 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. 323–367, 2007.

DUBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. *Neospora caninum* and neosporosis. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 3-4, p. 1-13, 2007.

DUBEY, J. P.; SCHARRES, G.; LINDSAY, D. S. Neosporosis in cattle: the role of the dog in the transmission of *Neospora caninum*. **Veterinary Parasitology**, v. 247, p. 76-83, 2017.

FARIAS, N. A. Neosporose. In: RIET-CORREA, F. et al. **Doenças de ruminantes e equídeos**, 2. ed. 2007. p. 678-690.

FÁVERO, J. F. *et al.* Risk factors for *Neospora caninum* infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. **Microbial Pathogenesis**, v. 110, p. 202-207, 2017.

GODIM, L. F. P. *et al.* Effects of host maturity and prior exposure history on the production of *Neospora caninum* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 134, p. 33-39, 2005.

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, p. 133–150, 2013.

GUIDO, S. *et al.* Serology-based diagnostics for the control of bovine neosporosis. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 2, p. 131-143, 2016.

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, 2004.

HEIN, H. E. *et al.* Neosporose bovina: avaliação da transmissão vertical e fração atribuível de aborto em uma população de bovinos no Estado do Rio Grande do Sul. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 396-400, 2012.

KING, J. S. *et al.* Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 40, p. 945–950, 2010.

LLANO, H. A. B. Revisão e situação atual da brucelose e leptospirose em bovinos no Brasil e na Colômbia. **Seminário apresentado na Universidade Federal de Goiás**, 2013.

MALDONADO RIVERA, J. E. *et al.* Bovine neosporosis in dairy cattle from the southern highlands of Ecuador. **Regional Studies and Reports**, v. 20, n. 1, p. 1–15, 2020.

MARUGAN-HERNANDEZ, V. *Neospora caninum* and bovine neosporosis: Current vaccine research. **Journal of Comparative Pathology**, v. 157, p. 193-200, 2017.

MCALLISTER, M. M. *et al.* Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 9, p. 1473-1478, 1998.

MOORE, D. P. Neosporosis in South America. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 87-97, 2005.

MORÉ, G. *et al.* Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. **Parasitology Research**, v. 102, n. 4, p. 671-675, 2008.

OSHIRO, L. M. *et al.* Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in cattle from the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 133-138, 2007.

PARKINSON, T. Specific infectious diseases causing infertility and subfertility in cattle. In: NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; G. C. W. **Veterinary reproduction and obstetrics**, v. 9, p. 476-516, 2009.

REICHEL, M. P.; ROSS, G. P.; McALLISTER, M. M. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the serological diagnosis of *Neospora caninum* infection in sheep and determination of the apparent prevalence of infection in New Zealand. **Veterinary Parasitology**, v. 151, n. 2-4, p. 323-326, 2008.

REITEROVÁ, K. *et al.* *Neospora caninum*, potential cause of abortions in dairy cows: the current serological follow-up in Slovakia. **Veterinary Parasitology**, v. 159, n. 1, p. 1–6, 2009.

SÁNCHEZ, G. F.; MORALES, E. S.; MARTINEZ, J. M.; TRIGO, J. F. Determination and correlation of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs and cattle from Mexico. **The Canadian Journal of Veterinary Research**, jun. 2003.

TAYLOR, M. A. *et al.* **Parasitologia veterinária**. 4. ed. Editora Guanabara Koogan, 2017.

THIES, V. F. *et al.* Trajetórias familiares na pecuária leiteira no Sul do Brasil: entre a especialização e o fim da atividade. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 61, n. 4, 2023.

UBEY, J. P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L. M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 2, p. 323-367, 2011.

ANEXO A – EXAME SOROLÓGICO PARA O PROTOZOÁRIO *Neospora caninum* PELO MÉTODO ELISA, DO DIA 26/07/2023.

 <p>ADAPAR Agência de Defesa Agropecuária do Paraná</p>	<p>AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ DIRETORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA CENTRO DE DIAGNÓSTICO "MARCOS ENRIETTI" RELATÓRIO DE ENSAIO – ÁREA ANIMAL</p>	 <p>PARANÁ GOVERNO DO ESTADO</p>
---	---	--

PROTOCOLO Nº 3801/2023-DAP 08

IDENTIFICAÇÃO DO PROPRIETÁRIO

Proprietário: [REDACTED]

Endereço: [REDACTED]

Telefone: ([REDACTED])

Município: Laranjeiras do Sul-PR

IDENTIFICAÇÃO DO REMETENTE

Remetente: Roberto Grzybowski

Endereço: Avenida Santos Dumont, 2101, Agroterra

E-mail: br [REDACTED] jr

Registro: [REDACTED]

CEP: 85301-040

Telefone: (42)998367475

INFORMAÇÕES DA AMOSTRA

Amostra Enviada: Soro sanguíneo

Data de Colheita: 27/06/2023

Espécie: Bovino

Número de Amostras: 31

Lacre Nº: sem lacre

Formulário: Requisição de Ensaio Nº: NI

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Ensaio solicitado: Neosporose –DAP 08

Referências: IDEXX Laboratories, Inc. One IDEXX Drive. Westbrook, Maine 04092. USA

Kit IDEXX-X 2 (*Neospora caninum* Antibody Test Kit) Lote: LU457 Fab: novembro 2022 Venc: outubro 2023

Data de Entrada: 13/07/2023

Método de Ensaio: ELISA

(*Neospora caninum* Antibody Test Kit)

Data de Saída: 26/07/2023

RESULTADO

Amostra POSITIVA: 236-268-251-273-218-967-275-223-222-243-238 e 406

Amostras Negativas: 239-244-234-167-235-214-271-274-255-245-256-166-260-248- 263-261-224-170 e 269

Observações: NDN

NOTAS:

1. A identificação da amostra é de exclusiva responsabilidade do remetente (amostrador).
2. Os resultados se referem somente aos itens ensaiados e se aplicam à amostra conforme recebida no laboratório.
3. NI= não informado; NDN= Nada digno de nota.

Responsável Técnico

Claudia Carnielli Pereira
Médica Veterinária CRMV-PR 3081
Fiscal de Defesa Agropecuária

ANEXO B – EXAME SOROLÓGICO PARA O PROTOZOÁRIO *Neospora caninum* PELO MÉTODO ELISA, DO DIA 26/09/2024.



**AGÊNCIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA DO PARANÁ
DIRETORIA DE DEFESA AGROPECUÁRIA
CENTRO DE DIAGNÓSTICO "MARCOS ENRIETTI"**



RELATÓRIO DE ENSAIO

PROTOCOLO Nº 5344/2024_DAP08

Data de Entrada: 25/09/2024

IDENTIFICAÇÃO DO PROPRIETÁRIO

Proprietário: [REDACTED]
Endereço: [REDACTED]
Município: [REDACTED]

IDENTIFICAÇÃO DO REMETENTE

Remetente: Roberto Grzybowski
Registro: ([REDACTED])
Endereço: [REDACTED]
Município/ [REDACTED]
E-mail: bet [REDACTED]

INFORMAÇÕES DA AMOSTRA

Matriz enviada: Soro Sanguíneo
Espécie: Bovino
Data de colheita: 14/09/2024
Coordenadas geográficas: NI

N°(s) amostra(s): 25
Lacre N°: sem lacre
Formulário /N°: CDME -s/n°

RESULTADO

Amostras POSITIVAS :254,266 e 528 (03 amostras)
Amostras negativas :
98,165,167,216,224,234,235,239,244,245,248,255,256,257,260,261,271,272,524,1282,1283 e 1284
(22 amostras)

INFORMAÇÕES DO ENSAIO

Ensaio solicitado: Pesquisa de *Neospora* -DAP08
Método de Ensaio: Elisa (*Neospora caninum* Antibody Test Kit)

Referências: IDEXX Laboratories, Inc. One IDEXX Drive. Westbrook, Maine 04092. USA
Kit IDEXX-X 2 (*Neospora caninum* Antibody Test Kit) Lote: EY847 Fab:maio 2024 Venc: Março 2025
Data da atividade de laboratório: 25/09/2024 a 26/09/2024

Observações: NDN

NOTAS:

1. A identificação da amostra é de exclusiva responsabilidade do remetente (amostrador).
2. Os resultados se referem somente aos itens ensaiados e se aplicam à amostra conforme recebida.
3. NI= não informado; NDN= Nada digno de nota.

Responsável Técnico

Claudia Carnielli Pereira
Fiscal de Defesa Agropecuária – CRMV-PR nº3081

Data da Emissão:26/09/2024

