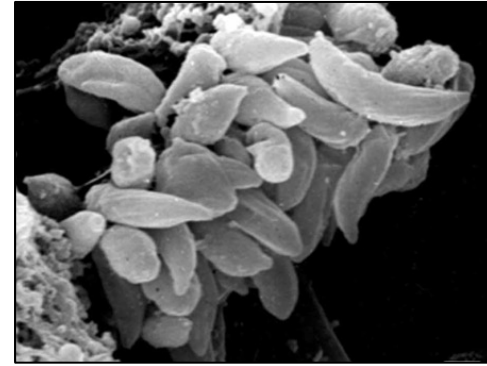




Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo



Apicomplexa: *Neospora*



Arthur Gruber



Filo Apicomplexa – classificação

Protista

Protozoa

Filo **Apicomplexa**

Coccidia

Eimeriidae *Eimeria*
Isospora

Sarcocystidae *Toxoplasma*
Cystoisospora
Sarcocystis
Neospora
Besnoitia
Hammondia
Hepatozoon

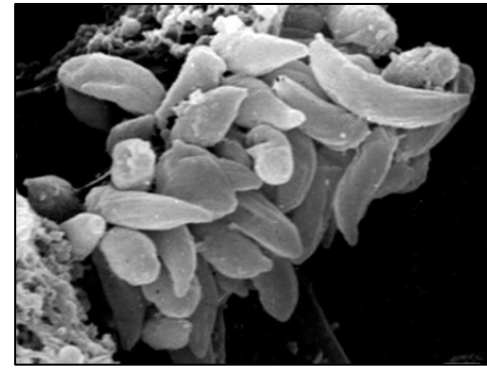
Piroplasmidia

Cryptosporidiidae *Cryptosporidium*

Babesiidae *Babesia*
Theileriidae *Theileria*

Haemosporidia

Plasmodiidae *Plasmodium*
Haemoproteus



Filo Apicomplexa – classificação

Protista

Protozoa

Filo **Apicomplexa**

Coccidia

Eimeriidae *Eimeria*
Isospora

Sarcocystidae *Toxoplasma*
Cystoisospora
Sarcocystis
Neospora
Besnoitia
Hammondia
Hepatozoon

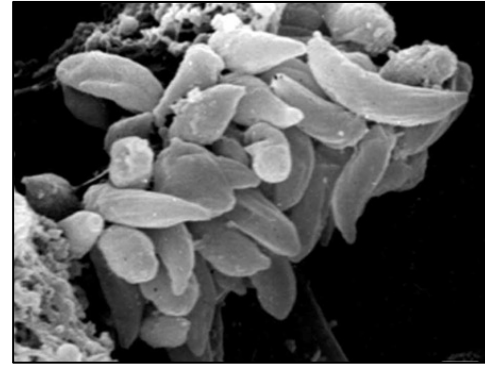
Piroplasmidia

Cryptosporidiidae *Cryptosporidium*

Babesiidae *Babesia*
Theileriidae *Theileria*

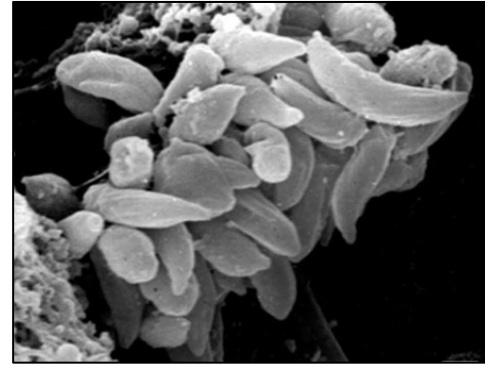
Haemosporidia

Plasmodiidae *Plasmodium*
Haemoproteus



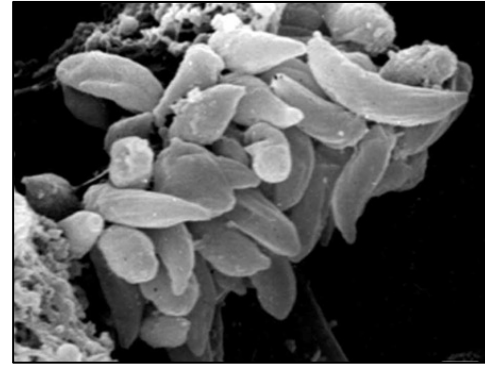
Neospora - introdução

- *Neospora caninum* → Neosporose → doença parasitária de grande importância econômica, distribuição mundial sendo considerada, em muitos países, como uma das maiores causas de aborto em bovinos.
- Parasita intracelular obrigatório



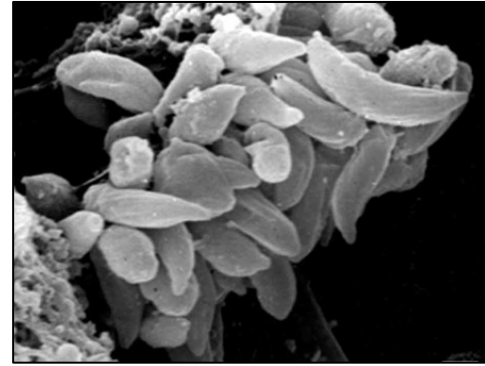
Neospora - introdução

- Acomete principalmente cães e bovinos. Ocasionalmente pode ocorrer em coiotes, ovinos, caprinos, eqüinos, gatos, cervídeos e bubalinos.
- Anticorpos contra *Neospora* tem sido descritos em raposas, camelos e felinos.
- A via transplacentária é a principal via de transmissão de *Neospora caninum* em bovinos.
- Não há relato da ocorrência da doença em humanos, embora já tenham sido detectados anticorpos contra *Neospora caninum*



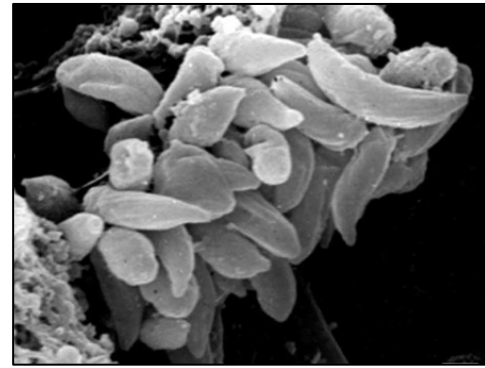
Histórico

- Primeiramente descrita em 1925 → oocistos em fezes de cães. Denominada *Isospora bigemina* (confundida com *Isospora*)
- Em 1973 → Ciclo identificado: Cães - H. definitivo e bovino H. intermediário. Denominada de *Hammondia heydorni* (confundida com *Hammondia*)
- Oocistos de *Neospora* frequentemente eram confundidos com *Toxoplasma gondii*
- Neosporose → primeiramente descrita na Noruega por Bjerkas *et al.* em 1984 em cães com problemas neurológicos
- Em 1988 – o agente *Neospora caninum* foi isolado em cultura celular (Dubey *et al.*) - não era *Toxoplasma gondii*, nem *Hammondia* e nem *Cystoisospora*



Histórico

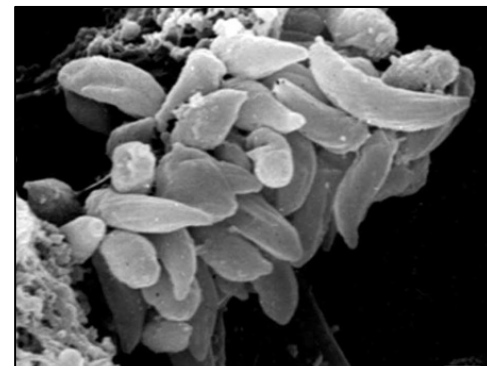
- 1996 - Descrita no Brasil em bovinos.
- 1998 – O ciclo do parasita foi elucidado e diferenciado da toxoplasmose → presença de oocistos nas fezes de cão → Hospedeiro definitivo (McAllister *et al.*)
- 2004 – Coiote também por atuar como hospedeiro definitivo (Gondin *et al.*)



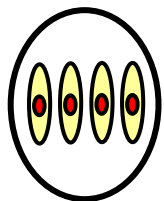
- Mais recentemente a *Neospora* foi relatada em outros canídeos como lobo cinzento (2011) e dingo (2010)



Coccidia – morfologia de oocistos esporulados

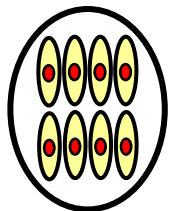


Esporocistos: 0
Esporozoítos: 4



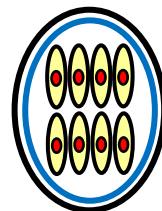
Cryptosporidium

Esporocistos: 0
Esporozoítos: 8



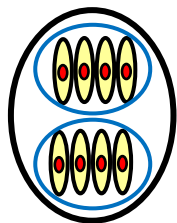
Tyzzeria

Esporocistos: 1
Esporozoítos: 8



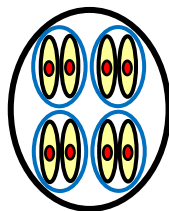
Caryospora

Esporocistos: 2
Esporozoítos: 8



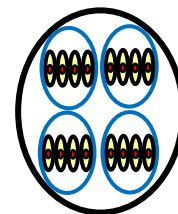
Besnoitia
Cystoisospora
Frenkelia
Hammondia
Isospora
Sarcocystis
Toxoplasma
Neospora

Esporocistos: 4
Esporozoítos: 8



Eimeria
Calyptospora

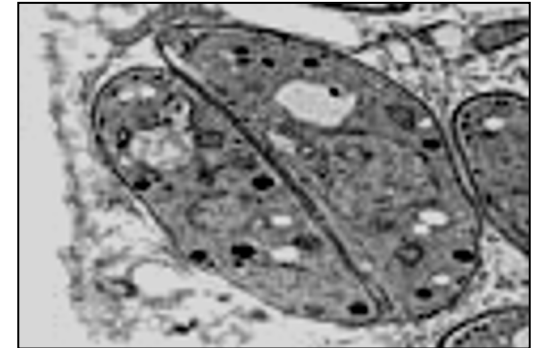
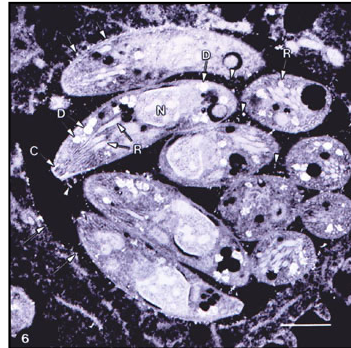
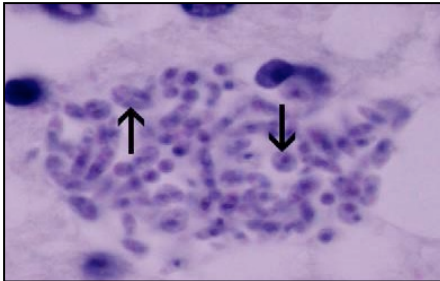
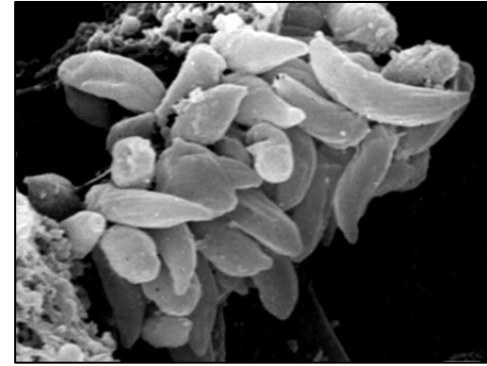
Esporocistos: 4
Esporozoítos: 16



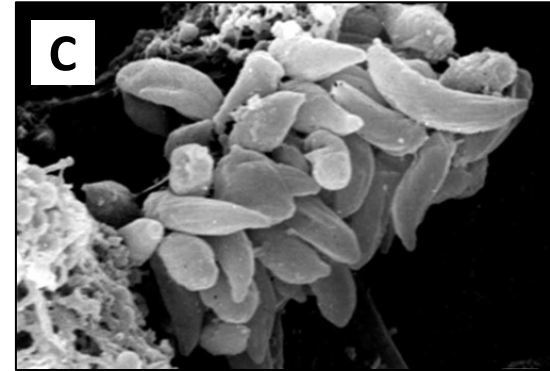
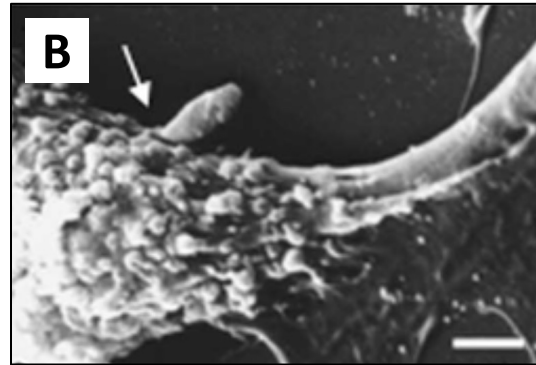
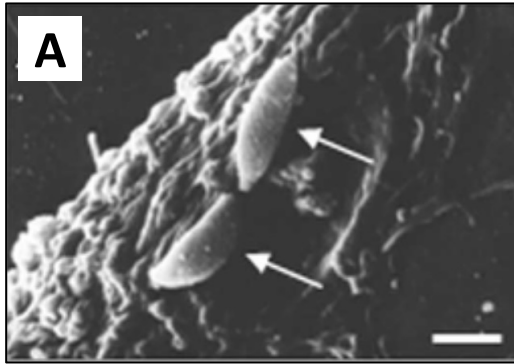
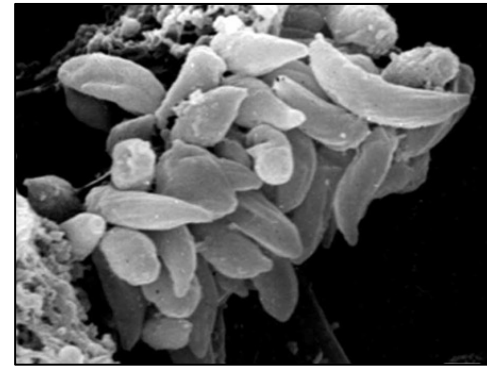
Wenyonnella

Neospora caninum – taquizoítos

- Forma intracelular de multiplicação rápida
- Multiplica-se por endodiogenia
- Dimensões: 3-7 x 1-5 μm
- Formato de lua crescente, globosos
- Infecta macrófagos, leucócitos polimorfonucleares, neurônios, fibroblastos, endotélio vascular, miócitos, células tubulares renais, hepatócitos e trofoblastos (placenta)
- Coloração PAS negativa ou fraca

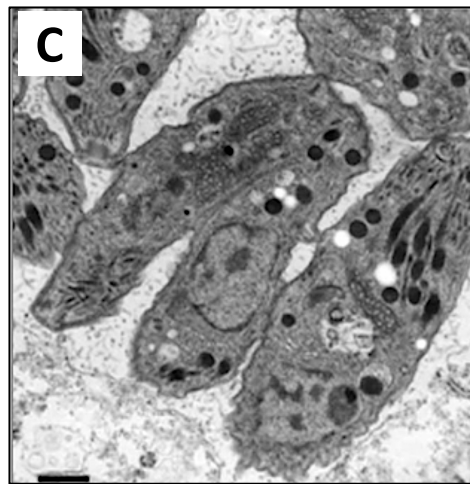
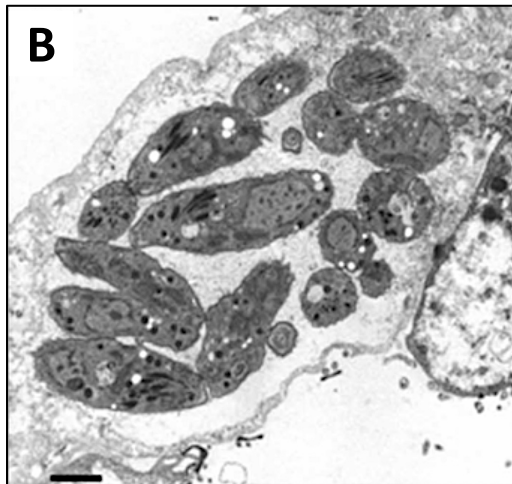
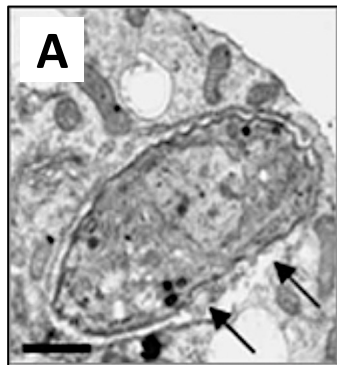
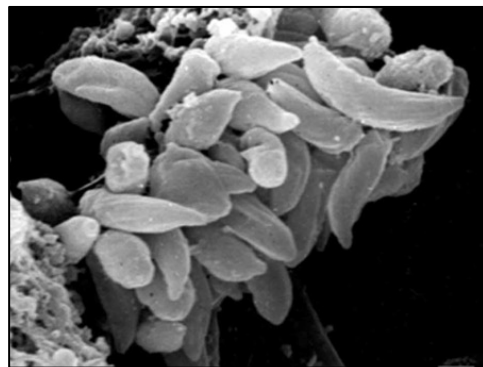


Neospora caninum – taquizoítos



Taquizoítos: (A) Adesão na célula do hospedeiro, (B) penetração na célula e (C) egresso

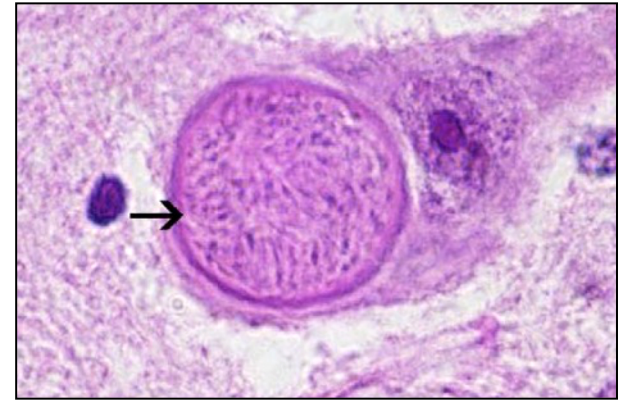
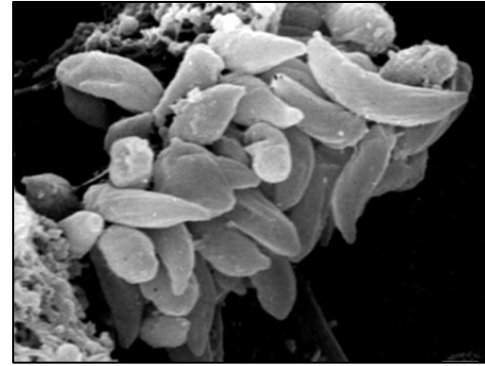
Neospora caninum – taquizoítos



Taquizoítos: (A) Parasita recém interiorizado dentro do vacúolo parasitóforo, (B) vacúolo parasitóforo contendo múltiplos parasitas e (C) taquizoítos em processo de endodiogenia

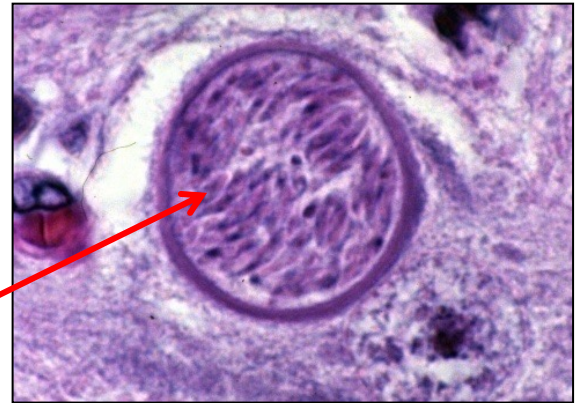
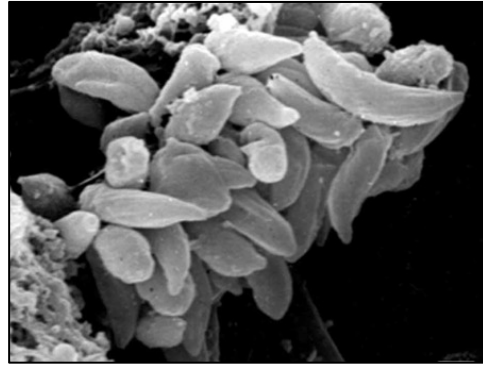
Neospora caninum – cistos teciduais

- Medem até 107 μm , contém centenas de bradizoítos.
- Forma de resistência no organismo \rightarrow redondos ou ovais envoltos por membrana lisa de 1 a 4 μm , sem septos
- Encontrados principalmente no Sistema Nervoso Central (SNC), também são observados em tecido muscular
- Podem persistir durante a vida do animal sem causar manifestações clínicas importantes



Neospora caninum – bradizoítos

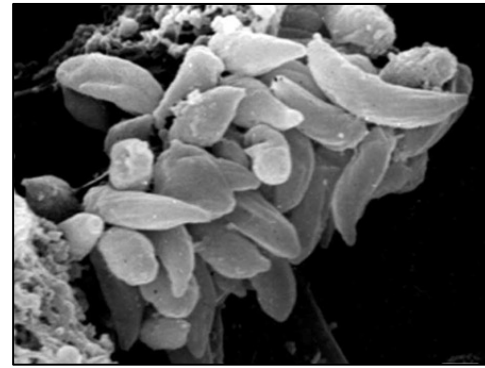
- Forma intracelular de multiplicação lenta que formam cisto teciduais
- Semelhantes aos taquizoítos, são delgados com núcleo terminal ou subterminal.
- Multiplicam-se por endodiogenia
- Mede de 6-8 x 1-1,8 μm
- Observados principalmente em tecido neural e em músculo esquelético
- Contém grânulos de amilopectina (coram-se pelo ácido periódico Schiff - **PAS**) e são resistentes a soluções pépticas e ácidas.



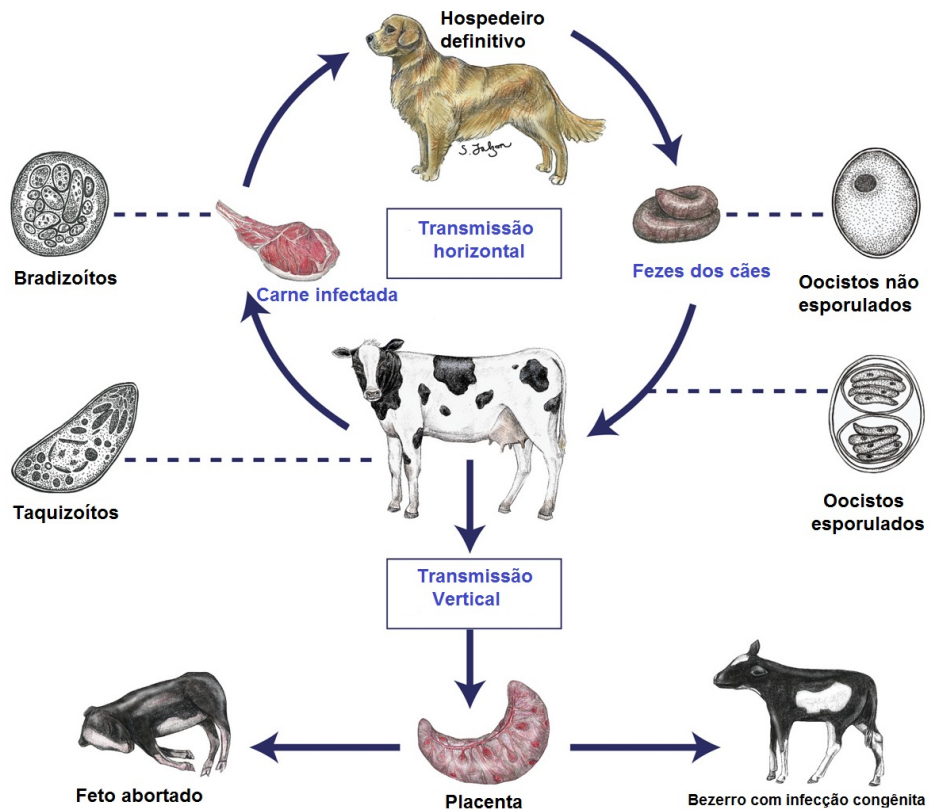
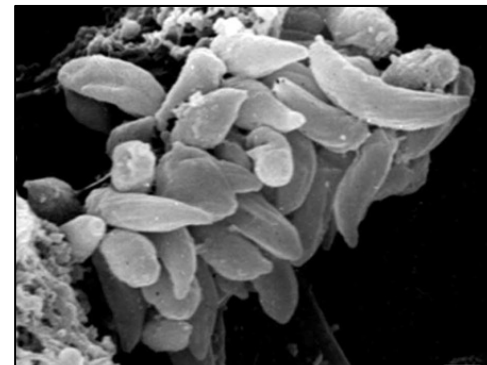
bradizoítos

Neospora caninum – ciclo biológico

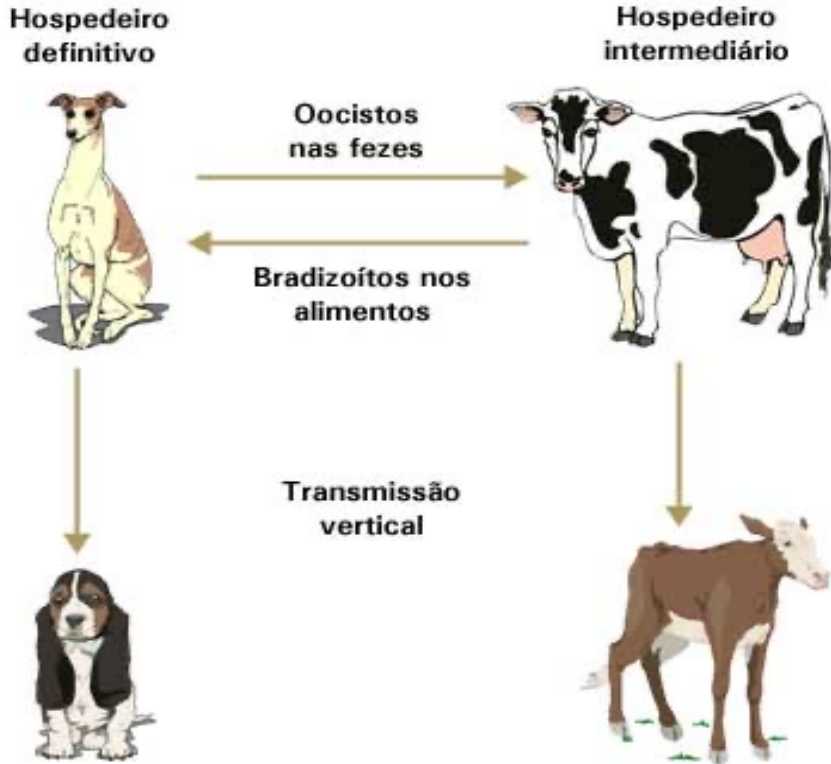
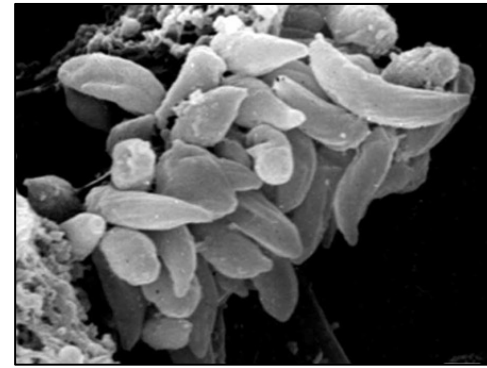
- Ciclo de vida heteroxeno facultativo
- HI: bovinos, ovinos, caprinos, eqüinos, gatos, cervídeos, bubalinos, galinhas → Reprodução assexuada
- HD: cão, coíote, lobo cinzento, dingo → Reproduções assexuada e sexuada. Após a reprodução sexuada → eliminação de oocistos para o meio ambiente.
- As fases enteroepiteliais (esquizontes e gamontes) ainda não foram devidamente evidenciadas
- A reprodução sexuada do ciclo intestinal de *Neospora caninum*, ainda não está totalmente descrita → presume-se que seja semelhante ao de *Toxoplasma* em felinos



Neospora caninum – ciclo biológico

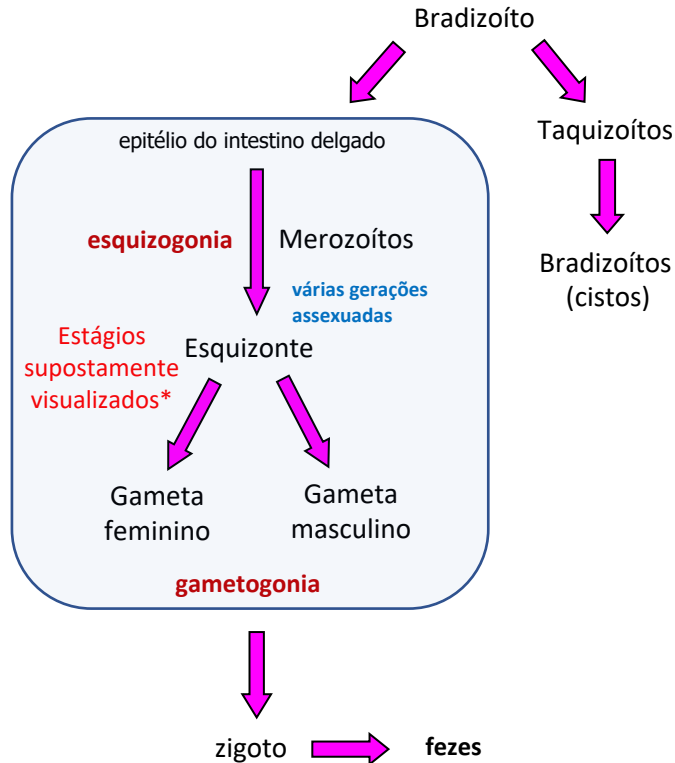
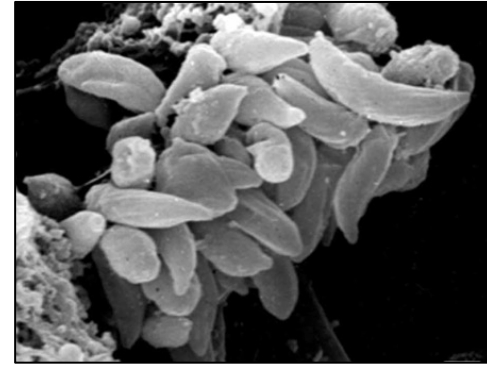


Neospora caninum – ciclo biológico



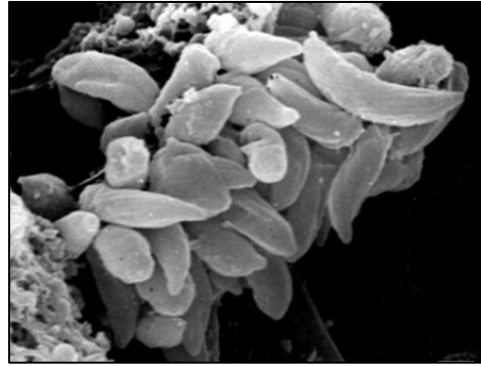
- Pode ocorrer transmissão horizontal e vertical
- A vertical é de maior importância para bovinos

Neospora caninum – ciclo biológico



- Presume-se que a reprodução sexuada da *Neospora* deva ser semelhante ao que ocorre no gato com toxoplasmose.

Neospora caninum – transmissão



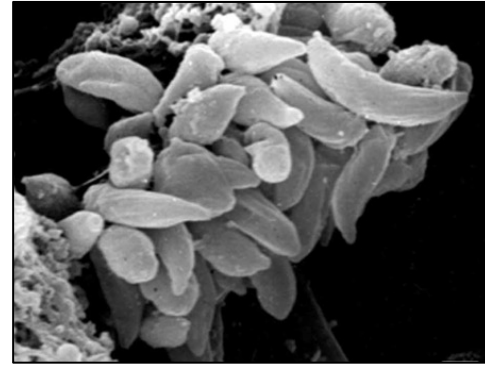
Vertical - Transmissão transplacentária

- Principal forma de disseminação de *Neospora caninum* em bovinos, mantendo a infecção por várias gerações. Ocorre também em ovinos, caprinos, felinos, macacos e cães.
- Muito eficiente, mais de 90% dos bezerros que nascem de vacas infectadas apresentam o parasita.
- Vacas mais jovens - maior índice de transmissão vertical.
- Não há evidências de transmissão venérea ou por transferência de embrião.
- Transmissão lactogênica – possível, mas sem importância epidemiológica
- Bovino/bovino - Somente há transmissão vertical, não há transmissão horizontal

Neospora caninum – transmissão

Vertical - Transmissão transplacentária

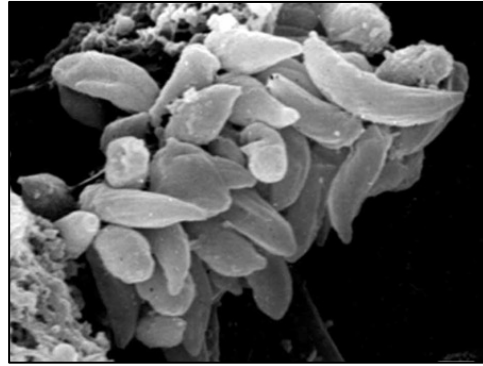
- Vacas são assintomáticas e podem transmitir o agente por sucessivas gestações → a imunidade é insuficiente para prevenir re-infecções ou mesmo a reativação da doença.
- Reativação: no meio da gestação, quando há diminuição da eficiência da resposta imune na vaca.



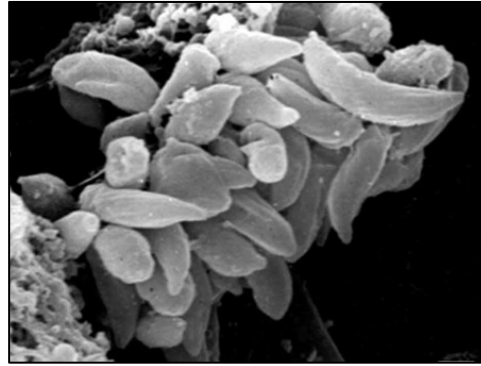
Neospora caninum – transmissão

Vertical - Transmissão transplacentária

- Ocorre tanto em bovinos quanto em cães
- Se a infecção ocorrer na prenhez poderá ocorrer o abortamento
- Mas diferentemente de toxoplasmose, a infecção não precisa ocorrer durante a prenhez para acometer o feto.
- Matrizes podem apresentar abortamentos em várias gestações.



Neospora caninum – transmissão



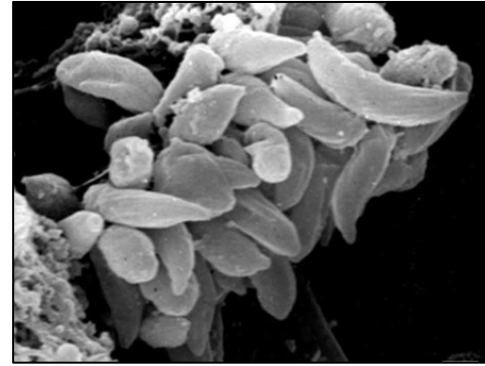
Horizontal

- Herbívoros: ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos liberados pelos cães.
- Cães:
 - Ingestão de alimento contaminado de origem bovina, como fetos, membranas fetais e fluidos (ocorre principalmente em cães de área rural)
 - Também podem-se contaminar pela ingestão de oocistos
- Cães de propriedades rurais → apresentam maior prevalência de infecção do que os de área urbana.

Neospora caninum – transmissão

Horizontal

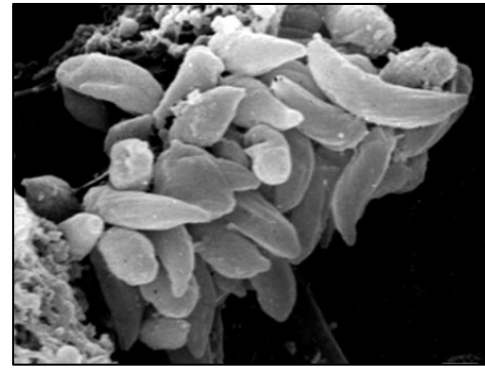
- Convívio cães/bovinos aumenta a prevalência de soropositivos para *Neospora caninum* em ambas as espécies.
- Cães podem eliminar oocistos por mais de uma ocasião (diferente do que ocorre com *Toxoplasma gondii* em felinos).



Neospora caninum – patogenicia

Bovinos

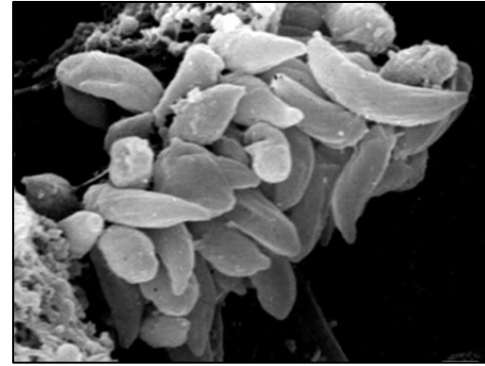
- Surtos epidêmicos: Alto percentual do rebanho aborta num curto espaço de tempo (mais de 30%) → provavelmente por ingestão de alimento e/ou água contaminados com oocistos de cães infectados.
- Após o surto → animais cronicamente infectados → abortamento endêmico.
- Forma endêmica: Conseqüência da transmissão vertical → taxas anuais de aborto elevadas (superiores a 5%) que ocorrem em qualquer época do ano. Geralmente ocorrem em rebanhos cronicamente infectados, pois há reativação da doença durante a prenhez.
- Taxa de abortamento → 95% dos bezerros podem nascer clinicamente normais (mas soropositivos) de mães soropositivas



Neospora caninum – patogenia

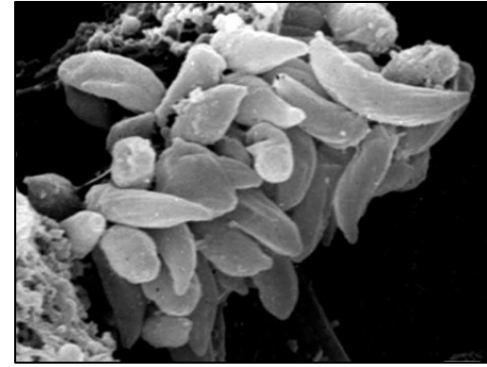
Bovinos

- Mais comum em gado leiteiro com proximidade de cães
- Animais adultos → abortamento é o único sinal clínico - ocorre em vacas e novilhas do 3º ao 9º mês de gestação (maioria entre 5 e 7 meses) → feto é particularmente vulnerável no primeiro terço da gestação
- O feto pode:
 - Morrer no útero → abortamento
 - Nascer morto (natimorto)
 - Nascer vivo e com sintomas
 - Nascer clinicamente normal, mas cronicamente infectado (mais comum) → importante para a manutenção da doença no rebanho

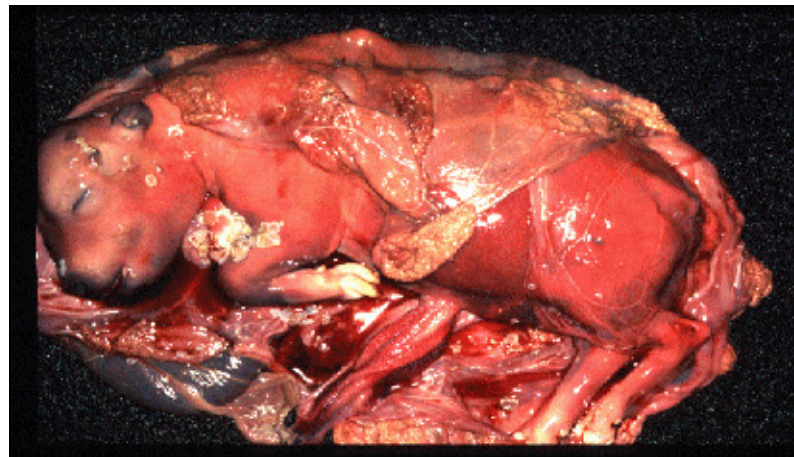
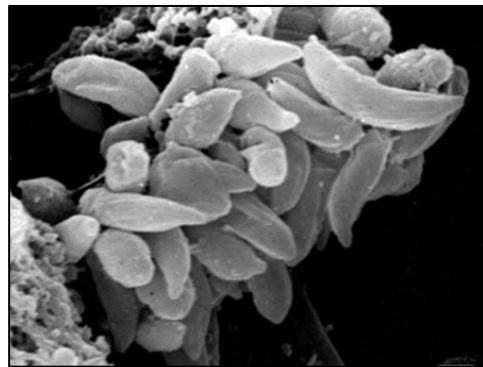


Neospora – patogenia - abortamento

- Depende da idade do feto na infecção
- Carga parasitária
- Virulência da cepa

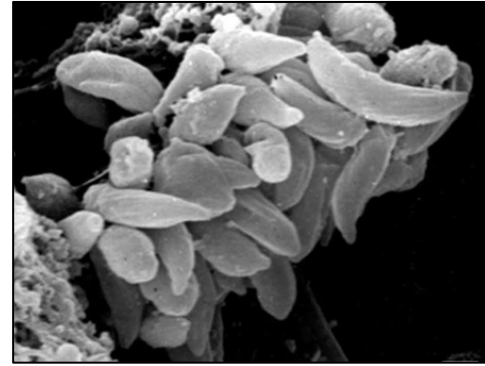


Neospora – patogenia - abortamento



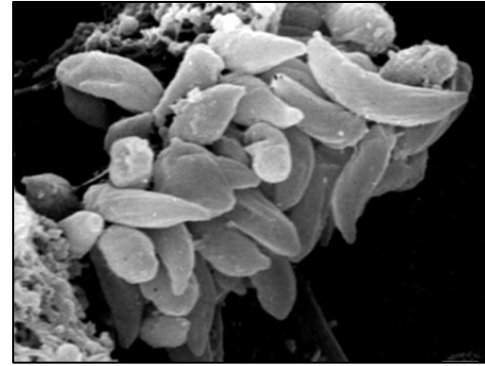
Neospora – patogenia em cães

- Cadelas infectadas subclínicamente podem transmitir por via vertical *Neospora caninum* a seus fetos, ninhadas sucessivas podem nascer infectadas.
- Sintomas clínicos em filhotes infectados congenitamente
 - Paralisia geralmente dos membros posteriores, hiperextensão.
 - Dificuldade de deglutição, paralisia da mandíbula, cegueira, convulsões, incontinência urinária e fecal, flacidez e atrofia muscular e falha cardíaca.



Neospora – patogenia em cães

- Cães podem sobreviver durante meses com paralisia progressiva, meningoencefalite, insuficiência cardíaca, complicações pulmonares.
- Podem eventualmente requerer a eutanásia
- Cães adultos → **sintomatologia variada, quadro neuromuscular, dermatite piogranulomatosa, miocardite fatal e pneumonia.**



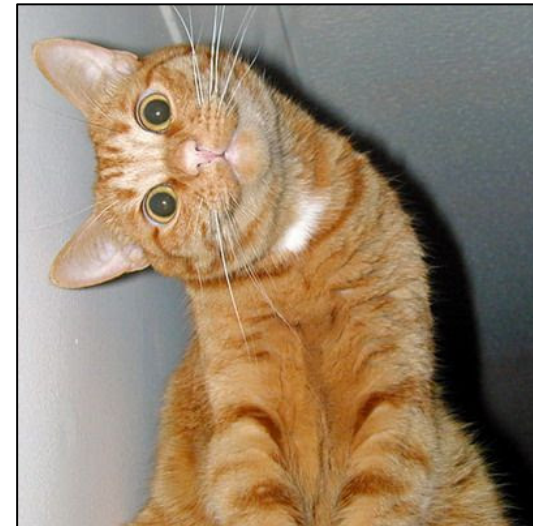
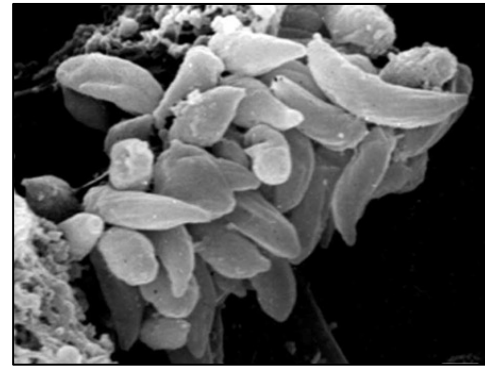
Neospora – patogenia

Felinos

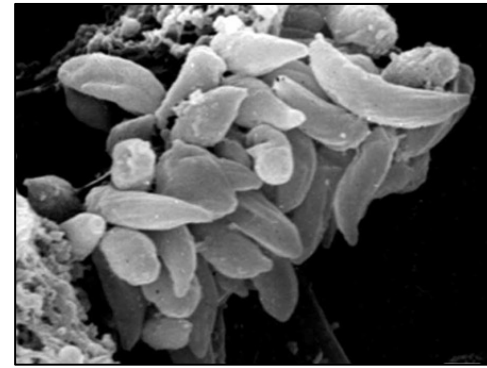
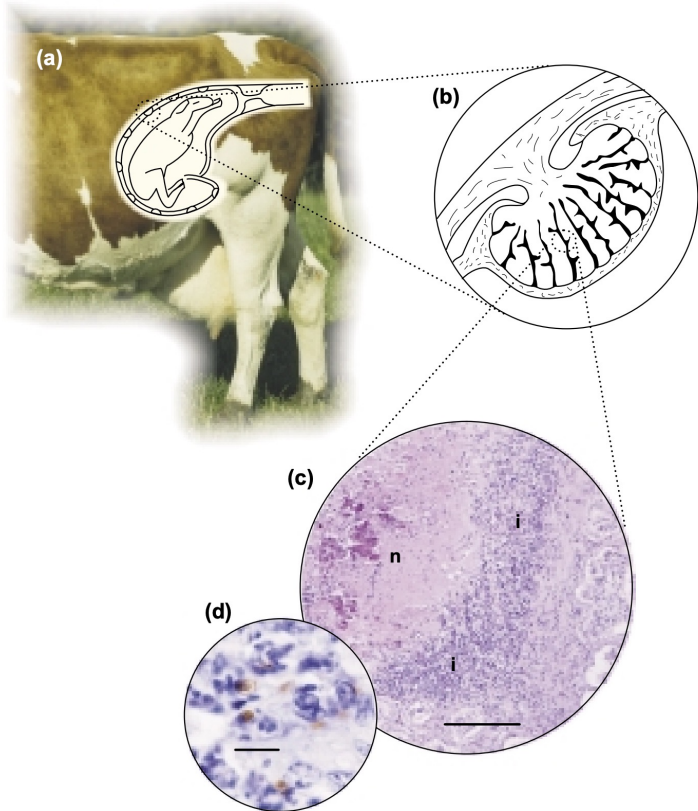
- Também apresentam neosporose
- Sintomas e lesões semelhantes à toxoplasmose
- É necessário se fazer diagnóstico diferencial por sorologia e testes imunohistoquímicos
- Importante: felino não são hospedeiros definitivos → não eliminam oocistos de *Neospora*

Bovinos

- Podem apresentar sinais neurológicos, incoordenação motora (*ataxia*), reflexos reduzidos, exoftalmia ou aparência assimétrica dos olhos



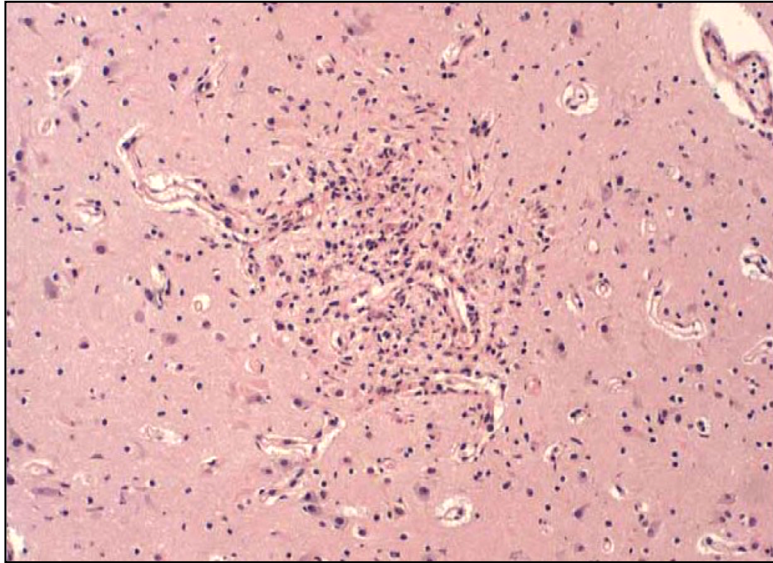
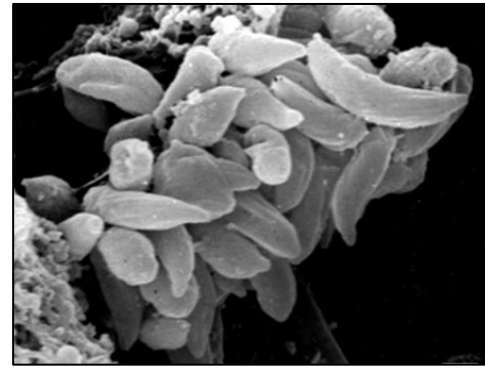
Neospora caninum – transmissão



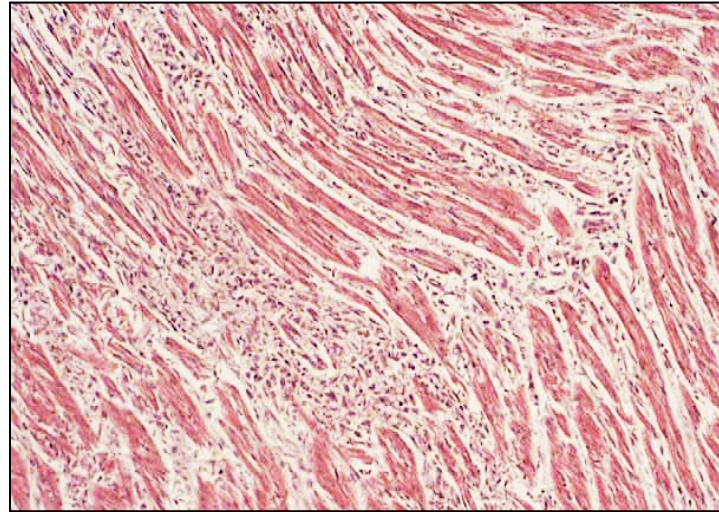
- A gestão no bovino dura 280 dias
- No primeiro trimestre, o feto é excepcionalmente vulnerável à infecção por *N. caninum* e é improvável que sobreviva.
- A maioria dos abortamentos ocorre na metade do terço médio (4-6 meses) da gestação

Infecção por *Neospora caninum* - histopatologia

Infiltrações multifocais de células mononucleares, principalmente no cérebro, medula óssea, coração e músculos esqueléticos



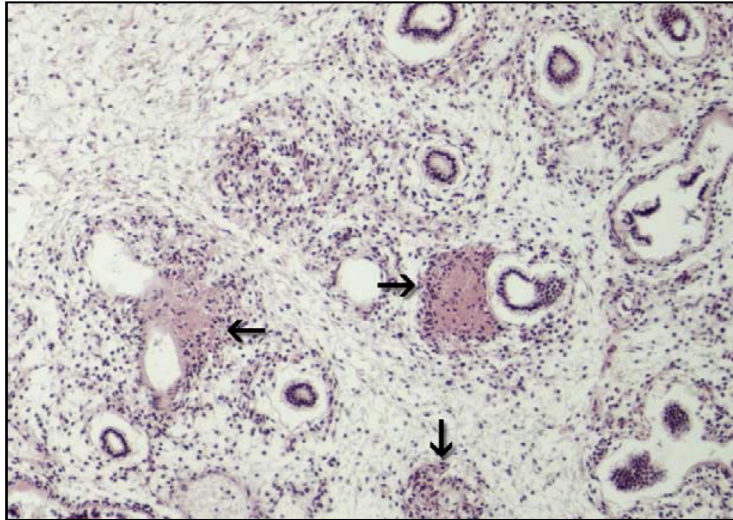
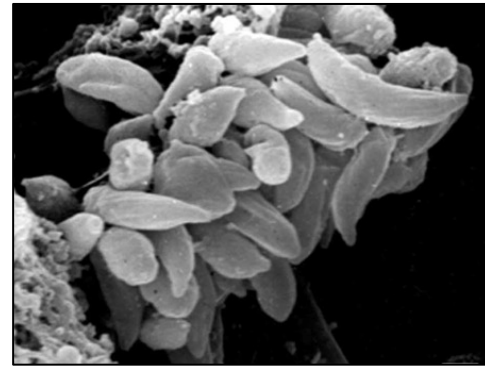
Encefalite focal



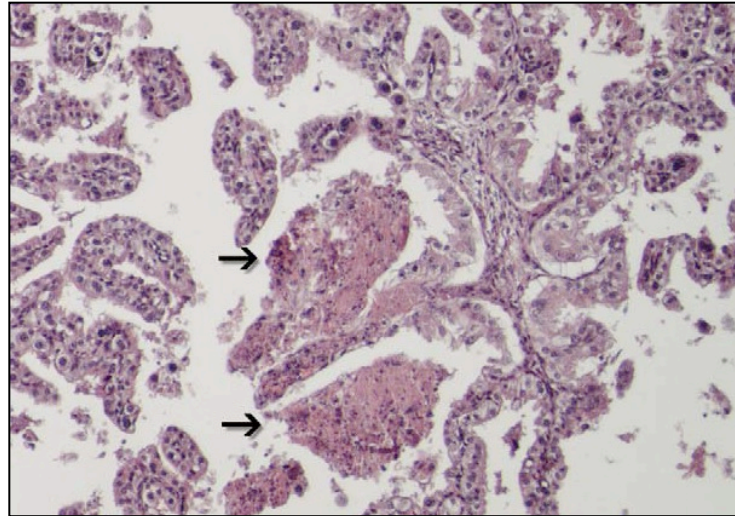
Miocardite

Infecção por *Neospora caninum* - histopatologia

Infiltrações multifocais de células mononucleares, principalmente no cérebro, medula óssea, coração e músculos esqueléticos

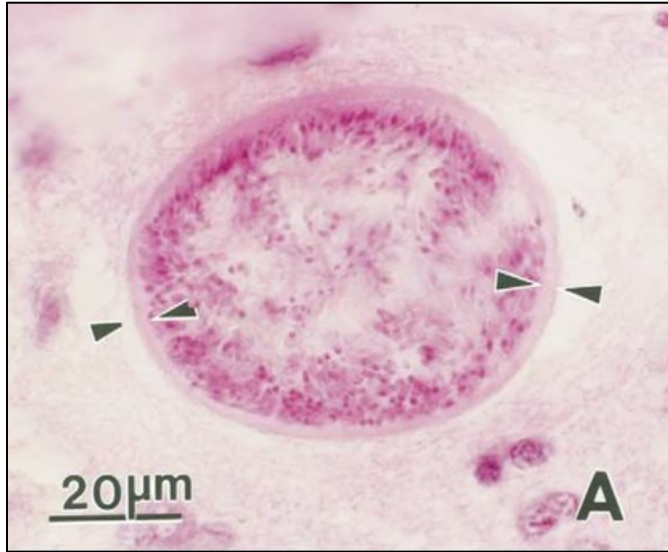
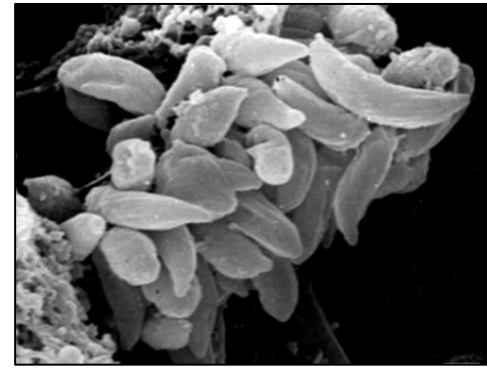


Necrose pulmonar focal

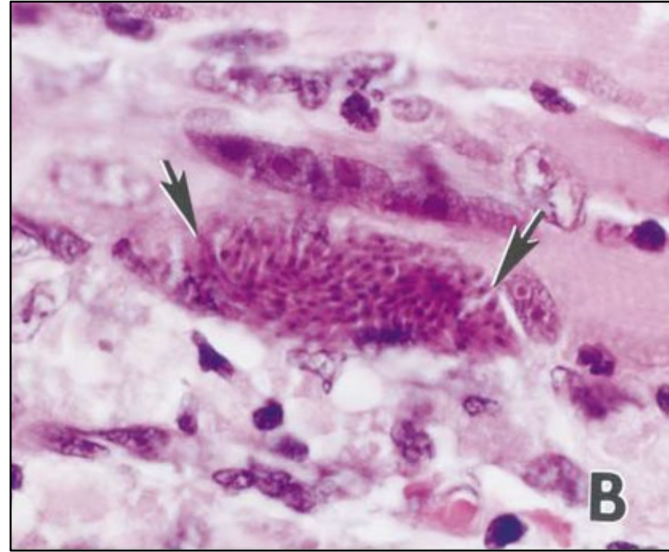


Necrose focal em placenta

Infecção por *Neospora caninum* - histopatologia

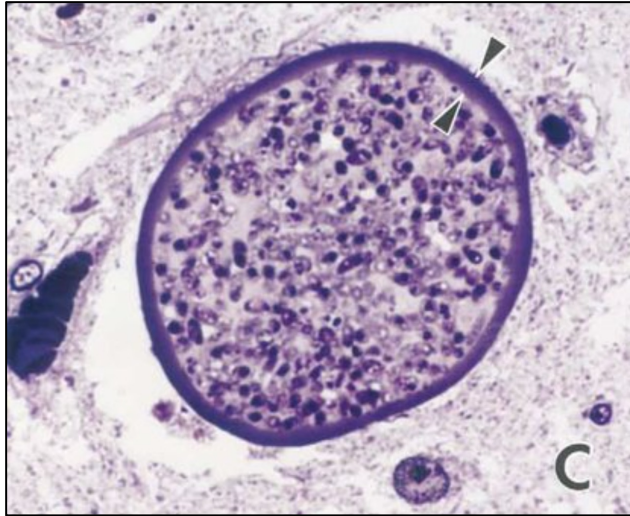
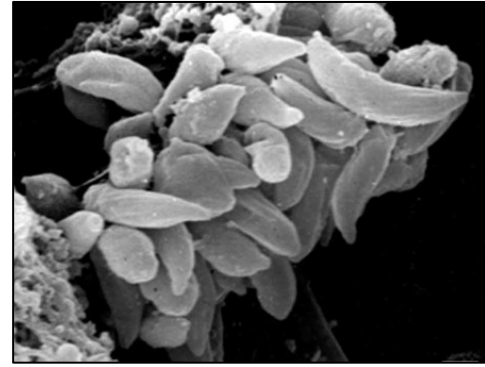


Cisto tecidual em cerebelo de cão

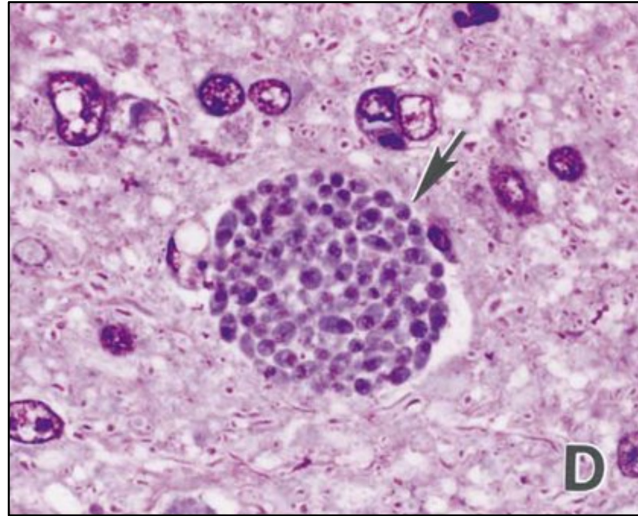


Grupo de tachizoítos em músculo esquelético de cão

Infecção por *Neospora caninum* - histopatologia

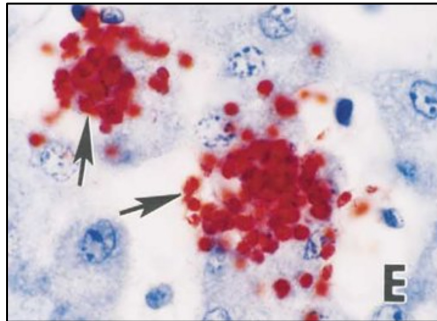
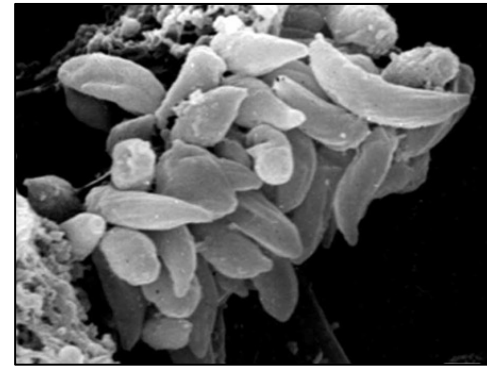


Cisto tecidual em cérebro de cão
Flechas indicam a parede do cisto com 1-4 μm)

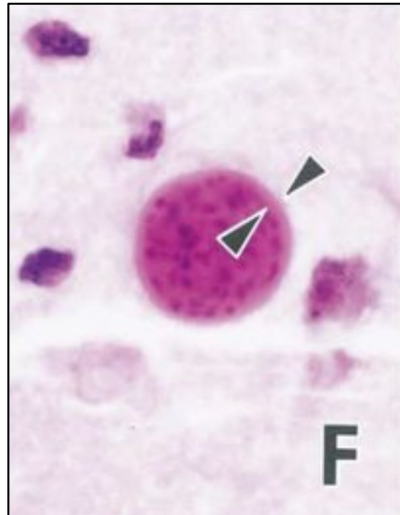


Grupo de tachizoitos em cérebro de cão
Ausência de parede delimitando os parasitas

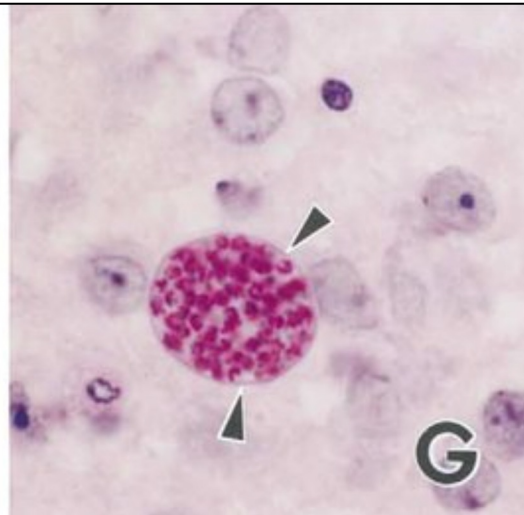
Infecção por *Neospora caninum* - histopatologia



Taquizoítos em fígado de cão

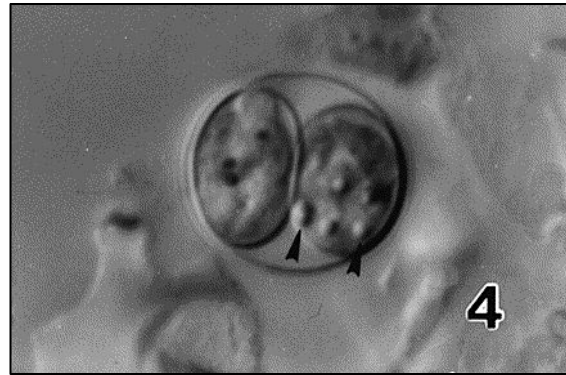
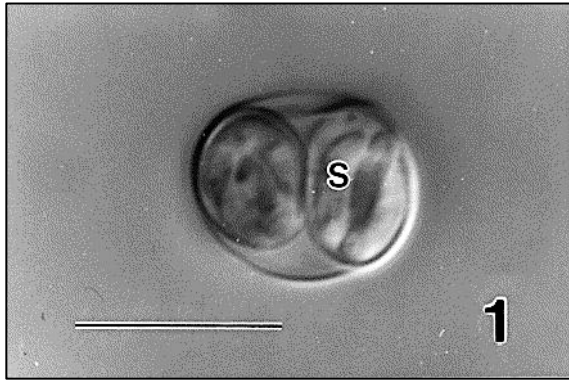
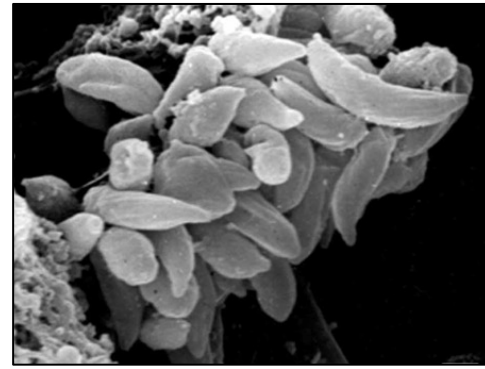


Cisto tecidual de *N. caninum*
em cérebro de cão

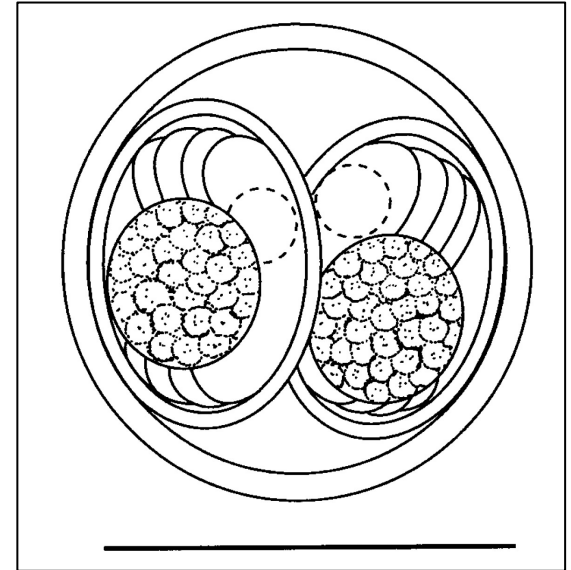


Cisto tecidual de *Toxoplasma gondii*
em cérebro de camundongo
A parede do cisto é muito mais fina do
que a de cistos de *Neospora*

Morfologia dos oocistos de *Neospora*

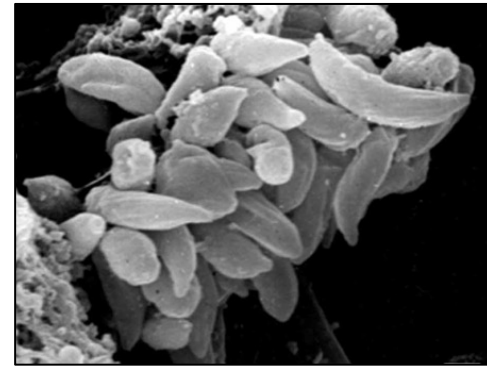


Oocistos de *Neospora caninum*

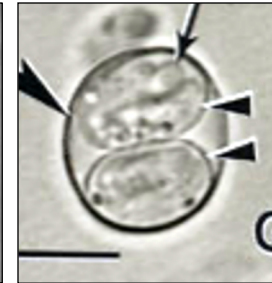
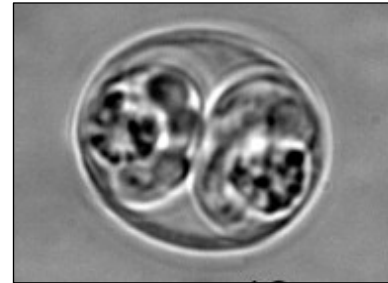


Morfologia dos oocistos de *Neospora*

- Apresentam 10-11 μm de diâmetro
- Esporulam no ambiente em 24 a 72 horas
- Ainda não se sabe por quanto tempo o oocisto sobrevive no ambiente
- Cada oocisto contém 2 esporocistos e 4 esporozoítos em cada esporocisto
- Muito semelhantes aos oocistos de *Hammondia heydorni* do cão



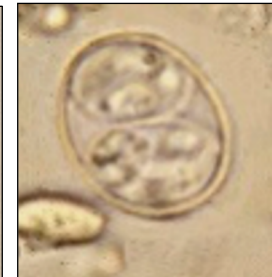
Hammondia heydorni



Toxoplasma gondii



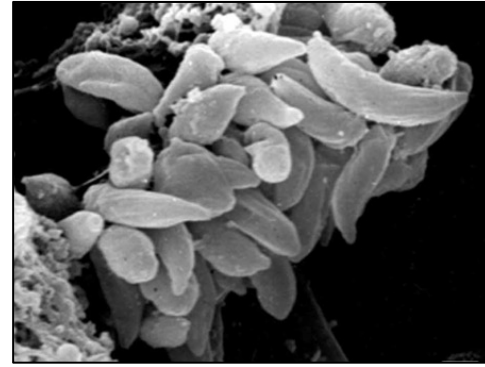
Cystoisospora canis



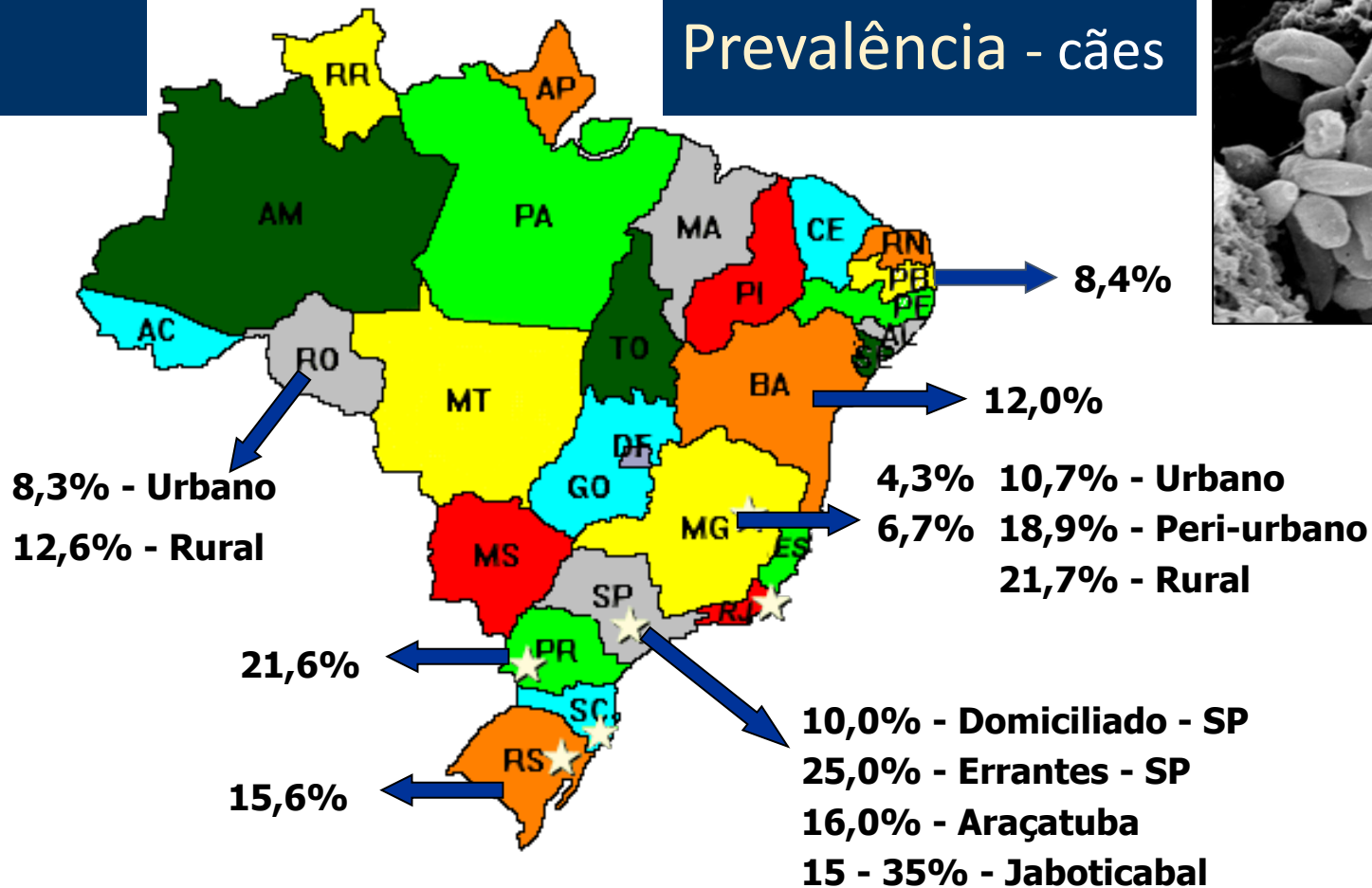
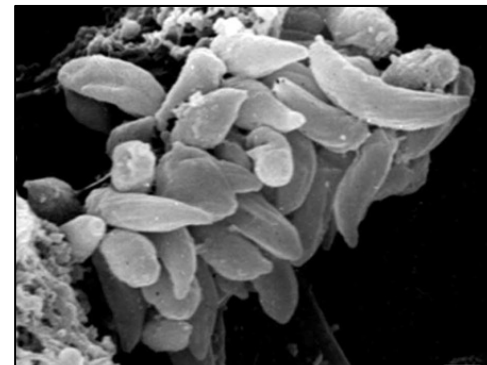
Neospora caninum

Neospora – importância econômica

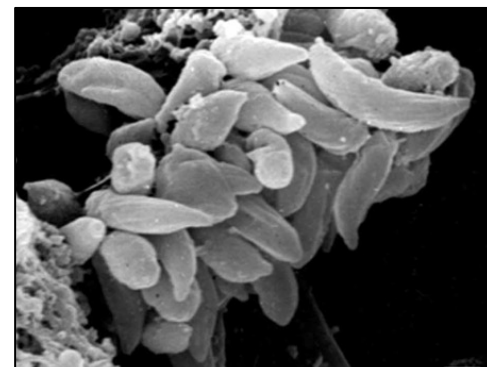
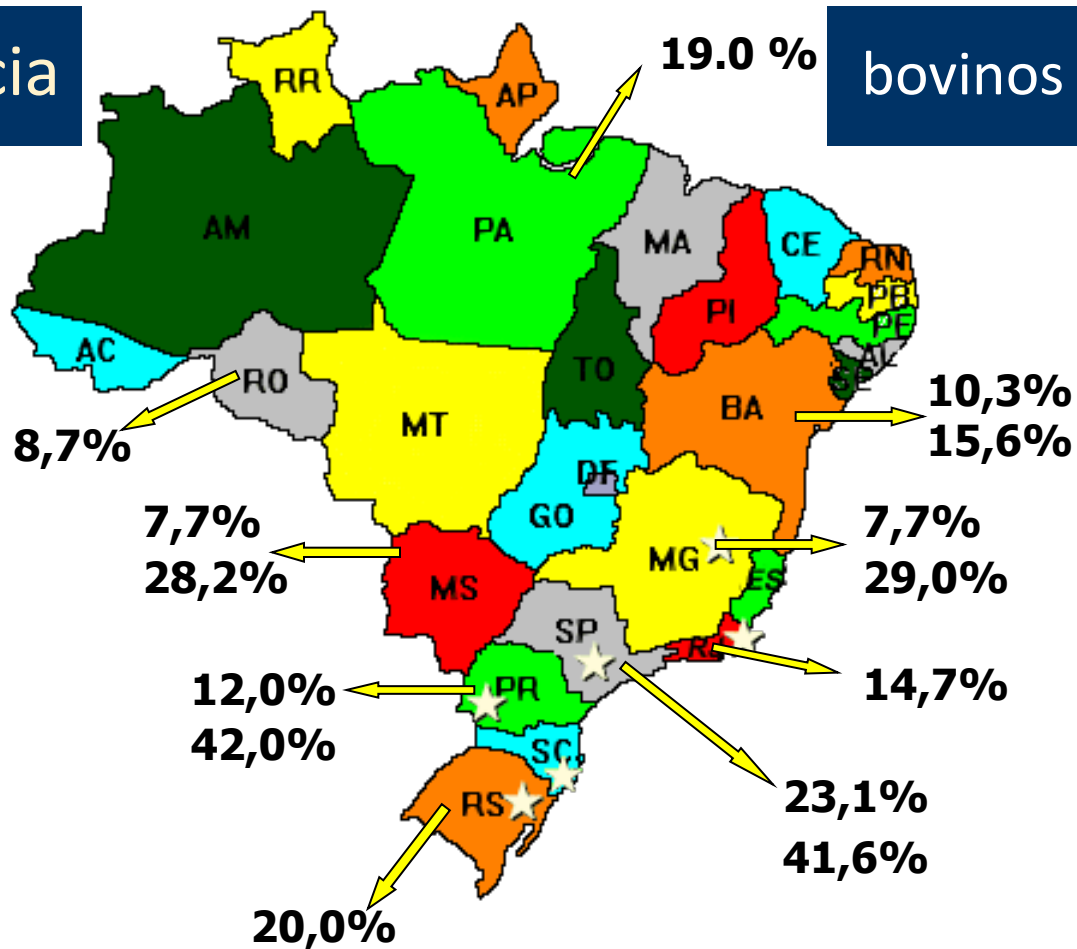
- *Neospora caninum* → principal causador de aborto em bovinos em praticamente todo o mundo
- Em algumas regiões do Brasil, mais de 42,5% dos abortos são atribuídos à neosporose.
- Califórnia (EUA) → prejuízos de U\$35 milhões por ano aos produtores de leite.
- Austrália → neosporose causa perdas anuais de U\$ 85 milhões na bovinocultura de leite e de U\$ 25 milhões na produção de carne.



Prevalência - cães



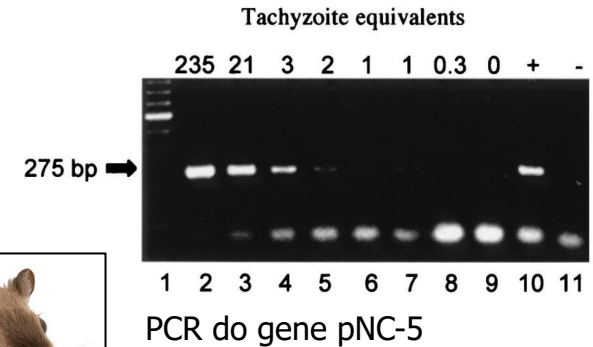
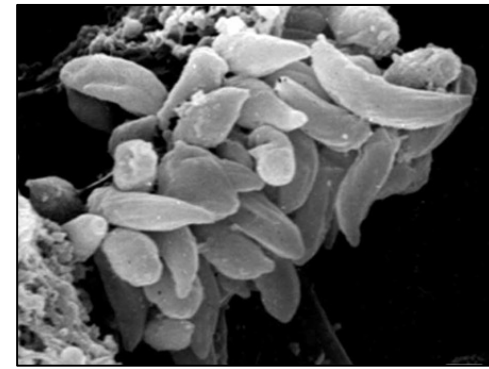
Prevalência



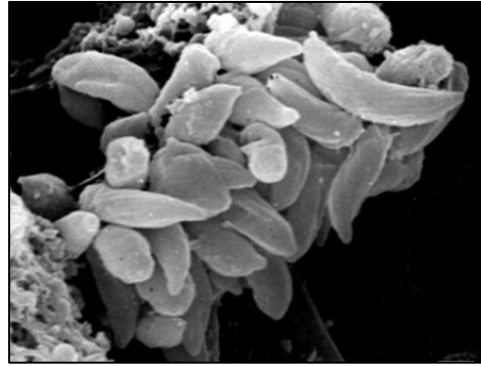
Neospora – diagnóstico

Pesquisa do agente

- O encontro de oocistos não é suficiente para dar o diagnóstico → semelhança com *Hammondia* e *Cystoisospora*
- PCR → reação em cadeia da polimerase
- Cultivo do agente em cultura de células
- Métodos imunohistoquímicos
- Bioensaio em gerbil (*esquilo-da-Mongólia*)



Neospora – diagnóstico



Exame sorológico

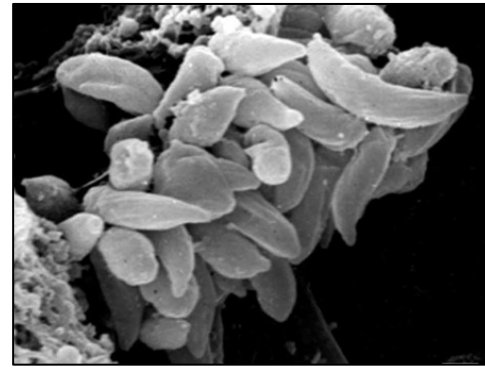
- Exame sorológico - detecção de anticorpos em bovinos (Ex. IDEXX)
- ELISA, imunofluorescência indireta
- Sorologia positiva em feto ou vaca só indica exposição → é necessário um exame histológico do feto ou PCR



Neospora – diagnóstico

Exame histopatológico

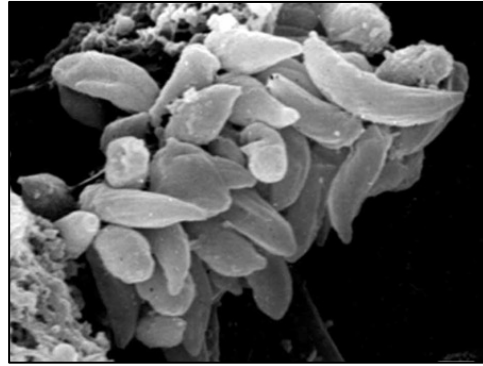
- Cérebro, coração, fígado, medula espinhal e músculos esqueléticos, além de fluídos corporais e placenta
- Devido à autólise, é difícil de se observar cistos em cortes histológicos de cérebro e medula, corados com HE
- Confirmação do diagnóstico → imunohistoquímica, PCR: revela a presença de taquizoítos ou cistos de *Neospora caninum* nos cortes de tecidos.



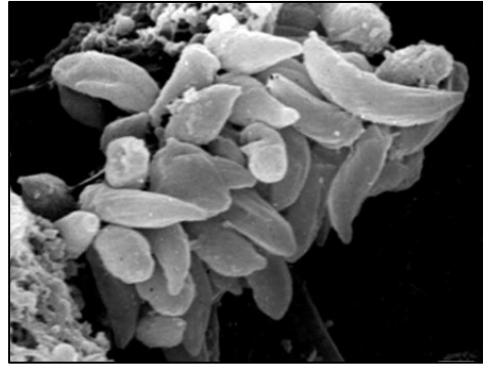
Neospora – diagnóstico

Bovinos

- Antes de se fechar um diagnóstico:
 - Observar a faixa gestacional em que ocorreu o aborto
 - Presença de lesões microscópicas nos fetos
 - Parasitas detectados pela técnica de imunohistoquímica
 - Evidência sorológica da infecção
 - Ausência de outras possíveis causas de abortamento



Neospora – diagnóstico

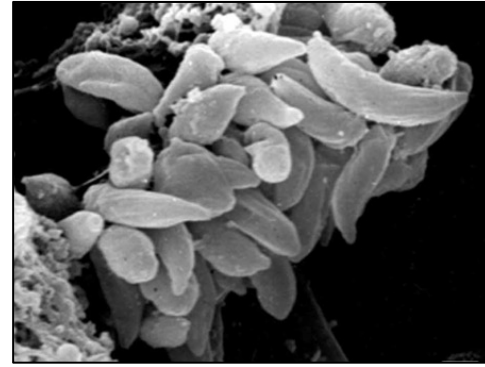


Cães

- Diagnóstico clínico também é difícil
- Parasitológico → oocistos de Neospora são semelhantes a *Hammondia heydorni* e *Cystoisospora canis*
- Sintomatologia neurológica → pode ser devida a traumatismos, patologias de disco intervertebral, cinomose, raiva, entre outras causas
- Necessários exames complementares
 - Imunohistoquímica
 - Testes sorológicos

Controle

- Bovinos: Não há tratamento eficaz. Vacas soropositivas irão transmitir a doença.
- Cães infectados congenitamente: trimetoprina e sulfadiazina + pirimetamina → algum resultado quando feito antes do aparecimento da paralisia ou encefalite.
- Não há tratamento que previna transmissão congênita



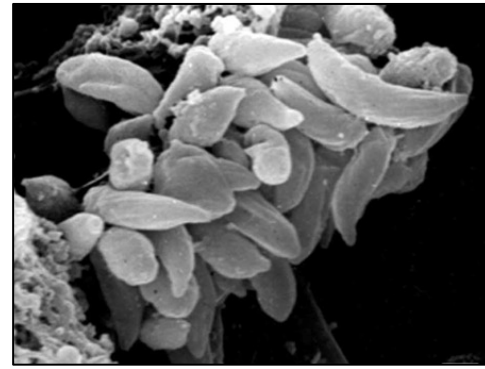
Prevenção

Cães

- Evitar alimentar cães domésticos com carnes cruas
- Enterrar ou cremar os fetos abortados e natimortos

Bovinos

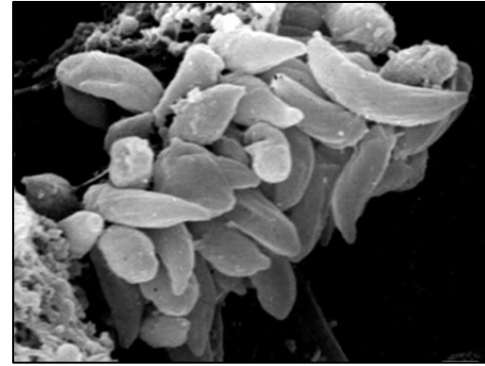
- Evitar ingestão de oocistos → proteger os alimentos
- Matriz infectada deve ser eliminada (ressalvas)
- Vacina: **Bovilis Neoguard** desenvolvida pela Intervet, contém taquizoítos inativados de *N. caninum* (foi retirada do mercado) → eficácia variável
- Monitoramento sorológico



Principais diferenças com toxoplasmose

Eliminação de oocistos

- Toxoplasmose: geralmente grande quantidades (milhões) num período curto
- Neosporose: eliminação de pequena quantidade de oocistos de forma intermitente



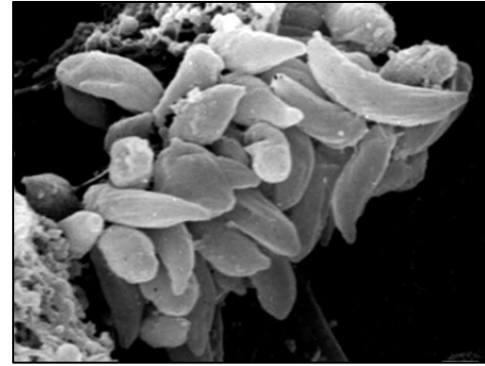
Principais diferenças com toxoplasmose

Hospedeiro definitivo

- Toxoplasmose: felinos (gato)
- Neosporose: canídeos (cão, canídeos silvestres)

Hospedeiro intermediário

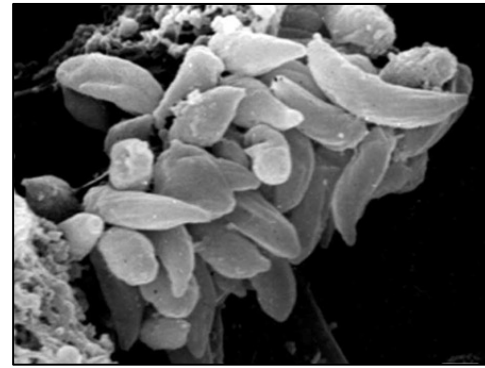
- Toxoplasmose: mais comum em ovinos, humanos e rara em bovinos
- Neosporose: comumente observado em bovinos, não é observada em humanos



Principais diferenças com toxoplasmose

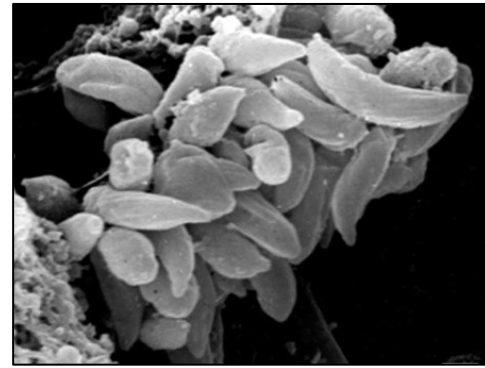
Transmissão vertical

- Neosporose: a infecção não precisa ocorrer durante a prenhez para acometer o feto
- Neoporose: vacas podem apresentar abortos em várias gestações



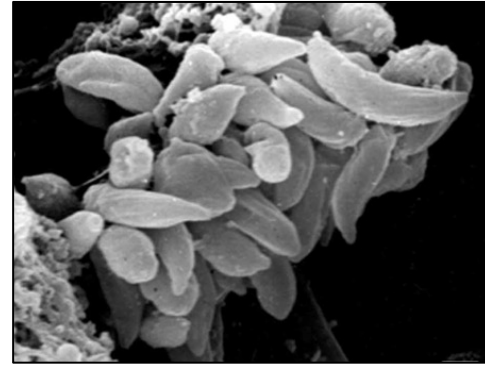
Controle – bibliografia

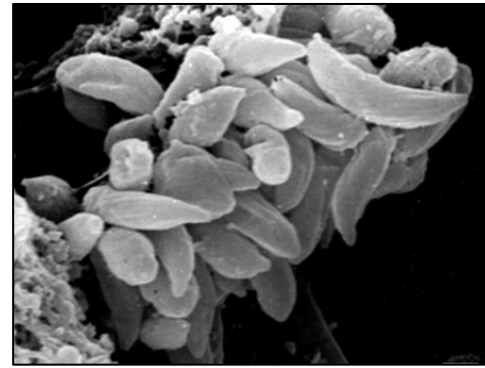
- Andrew, H. & Gottstein, B. (2006). *Neospora caninum* and neosporosis – recent achievements in host and parasite cell biology and treatment. *Acta Parasitologica* **51**: 15–25.
- Buxton D, McAllister MM, Dubey JP. The comparative pathogenesis of neosporosis. *Trends Parasitol.* 2002 Dec;18(12):546-52. Review.
- Dubey JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol.* 2003 Mar;41(1):1-16. Review
- Dubey, J.P. et al. (2002). Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. *International Journal for Parasitology* **32**: 929–946



Controle – bibliografia

- Dubey JP, Schares G, Ortega-Mora LM. Clin Microbiol Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Rev. 2007 Apr;20(2):323-67. Review.
- Goodswen SJ, Kennedy PJ, Ellis JT A review of the infection, genetics, and evolution of *Neospora caninum*: from the past to the present.. Infect Genet Evol. 2013 Jan;13:133-50.
- Reichel MP, Ellis JT *Neospora caninum*–how close are we to development of an efficacious vaccine that prevents abortion in cattle?. Int J Parasitol. 2009 v.39(11):1173-87.





Obrigado pessoal. Até a próxima aula!