

Detecção de anticorpos *anti-Toxoplasma gondii* em felinos domésticos

Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in domestic felines

RIALA6/1598

Caroline Sobotyck de OLIVEIRA¹, Giovana CAMILLO¹, Gustavo Cauduro CADORE¹, Cássia BAGOLIN², Sonia Terezinha Lopes dos ANJOS², Luis Antônio SANGIONI¹, Fernanda Silveira Flores VOGEL¹

*Endereço para correspondência: ¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Prédio 44, Sala 5149, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, Brasil. CEP 97105-900. E-mail: carolsobotyck@gmail.com

²Laboratório de Análises Clínicas Veterinária (LACVet), Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM)

Recebido: 15.03.2013 - Aceito para publicação: 12.03.2014

RESUMO

A toxoplasmose é uma protozoonose que acomete uma variedade de animais de sangue quente e tem como agente etológico o protozoário *Toxoplasma gondii*, parasito intracelular obrigatório. Dentre a grande diversidade de animais susceptíveis, os felinos têm um importante papel na disseminação da infecção pelo *T. gondii*, pois são os únicos hospedeiros definitivos do parasito. Com o objetivo de verificar a ocorrência do *T. gondii* em gatos domésticos da microrregião de Santa Maria/RS, Brasil, foram coletadas 180 amostras de soros de felinos atendidos no Hospital Veterinário Universitário da UFSM. Estas amostras foram avaliadas no Laboratório de Doenças Parasitárias para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI). Das 180 amostras analisadas, 39 (21,6 %) apresentaram anticorpos anti-*T. gondii* com títulos iguais ou superiores a 64. Os resultados demonstram a alta prevalência de felinos anticorpos positivos, o que sugere a participação destes animais na contaminação ambiental, indicando a importância destes na epidemiologia da doença.

Palavras-chave. toxoplasmose, técnica indireta de fluorescência para anticorpos, soroprevalência, gatos, infecção por protozoário.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a protozoiasis that affects a variety of warm-blooded animals and its etiologic agent is the protozoan *Toxoplasma gondii*, an obligatory intracellular parasite. Among the great diversity of susceptible animals, felines have an important role in the dissemination of *T. gondii* infection because they are the unique definitive hosts of this parasite. In order to verify the occurrence of *T. gondii* infection in domestic cats in micro-Santa Maria, RS-Brazil, 180 serum samples were collected from cats examined at the Veterinary Teaching Hospital - UFSM. These samples were tested in the Laboratory of Parasitic Diseases for detecting anti-*T. gondii* antibodies by indirect immunofluorescence assay (IIF). Of 180 samples, in 39 (21.6 %) were detected anti-*T. gondii* antibodies, reactive in titers equal or higher than 64. This study demonstrates the high prevalence of antibody-positive felines, suggesting the participation of these animals in environmental contamination, and indicates their importance in the epidemiology of the disease.

Keywords. toxoplasmosis, indirect fluorescent antibody technique, seroprevalence, cats, protozoan infection.

INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é um protozoário de distribuição mundial e estudos têm demonstrado que quase um terço da população mundial tem sido exposta¹. Segundo o Ministério da Saúde, o número de óbitos no Brasil, devido a toxoplasmose, no período de 1996 a 2005, variou de 68 a 108 casos, registrando um índice de prevalência de 37 à 91 %. Este parasito tem a capacidade de infectar uma grande variedade de animais de sangue quente e, além disso, o homem. Dentre a grande diversidade de animais susceptíveis, os felinos têm um importante papel na distribuição da toxoplasmose, pois são os únicos hospedeiros definitivos do parasito e, portanto, os únicos que excretam oocistos capazes de resistir a fatores ambientais. O gato é considerado o principal reservatório do parasito, sendo capaz de liberar mais de 100 milhões de oocistos não esporulados, os quais sofrem o processo de esporulação no meio ambiente².

As principais vias de transmissão do *T. gondii* são: infecção transplacentária (taquizoítos circulantes), sendo mais freqüente no terço final da gestação, ingestão de água, ou alimentos contaminados com oocistos, oriundos das fezes do gato e, ainda, ingestão de cistos teciduais em carnes cruas e/ou mal cozidas³. Em animais domésticos, a ingestão de oocistos esporulados é a mais importante via de infecção. Apesar da toxoplasmose ser, geralmente, clinicamente assintomática, uma infecção primária durante a gestação, em mulheres e animais, pode causar aborto, anomalias fetais ou morte perinatal¹.

A sorologia é um método prático para determinar a infecção pelo *T. gondii*, pois não necessita que o agente seja isolado do animal, contudo, possui algumas limitações, como falha na detecção de imunoglobulinas G e M durante a fase aguda, já que estas imunoglobulinas não serão produzidas antes de algumas semanas de parasitemia⁴. O presente estudo teve como objetivo determinar a frequência de detecção de anticorpos contra o protozoário *T. gondii* em felinos atendidos no Hospital Veterinário Universitário (HVU) da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), na cidade de Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul (RS), por meio da técnica de imunofluorescência indireta.

MATERIAL E MÉTODOS

Um total de 180 amostras de soro de felinos

atendidos no HVU da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) foram fornecidas pelo Laboratório de Análises Clínicas Veterinária (LACVET) para o Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR) da UFSM. Todas as amostras foram submetidas à reação de imunofluorescência indireta (RIFI), no período de 03 a 26 de maio de 2011. A RIFI foi realizada em lâminas de microscopia contendo taquizoítos da cepa RH de *T. gondii*.

Para preparação do antígeno, taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH foram cultivados em células VERO em meio RPMI, mantidas à 37 °C com 5 % de CO₂. O meio de cultivo contendo os taquizoítos foi lavado três vezes com tampão fosfato (PBS – 0,3M e pH 7,4) por meio de centrifugação repetida à 15000 rpm, por 10 min. Após a contagem de taquizoítos empregando câmara de Neubauer, quantificou-se um total de $1,5 \times 10^9$ taquizoítos e fixou-se antígenos de *T. gondii* da cepa RH em lâminas de imunofluorescência.

Para a realização da RIFI, as amostras de soro sanguíneo foram diluídas em PBS (0,3M e pH 7,2), sendo utilizadas como anticorpo primário, em uma diluição de 1:64. Posteriormente foram incubadas por 30 min, a 37 °C, em câmara úmida. Como anticorpo secundário para pesquisa de IgG foi utilizado anti-cat IgG^{Ca} conjugada com fluoresceína na diluição de 1:200 (incubação por 30 min, a 37 °C, em câmara úmida). Amostras de soro sanguíneo de gatos, sabidamente positivas ou negativas, foram utilizadas como controle em cada lâmina. As lâminas foram analisadas em microscópio com emissão de luz ultravioleta.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 180 amostras analisadas, observou-se 39 (21,6 %) animais positivos com títulos iguais ou maiores a 64. Tais resultados assemelham-se aos encontrados por Langoni et al⁵, que descrevem prevalência de 27 % de *T. gondii* na população felina dos Estados de São Paulo e Paraná, utilizando a técnica de imunofluorescência, com diluição de 1:16. Pinto et al⁶, utilizando a mesma técnica, determinaram a prevalência de 37,9 % de *T. gondii* em gatos atendidos em clínicas particulares da cidade de Porto Alegre, no entanto estes mesmos autores, utilizando a técnica de hemaglutinação indireta, descreveram, na mesma população felina, uma soropositividade de 25,2 %, a qual assemelha-se aos resultados do atual trabalho. Os autores atribuem a alta soropositividade desses felinos

ao ambiente contaminado, evidenciando a importância do mesmo na epidemiologia do *T. gondii*. Araujo et al⁷, empregando a técnica de hemaglutinação indireta, detectaram positividade de 37 % para *T. gondii* em gatos atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Rio Grande do Sul em Porto Alegre. Já Dubey et al⁸, determinaram uma soroprevalência de 84,4 % na população felina do Estado do Paraná, utilizando a técnica de aglutinação modificada, demonstrando assim a alta concentração de oocistos no ambiente, o que destaca a importância desta protozoonose. Garcia et al⁹ avaliaram a soroprevalência da Toxoplasmose em diversos animais no município de Jaguapitã, detectando uma alta prevalência em humanos, caninos e felinos domésticos, bem como uma correlação positiva e significativa entre essas espécies, demonstrando assim a importância dos mesmos na epidemiologia deste protozoário. Essa significativa correlação sorológica entre felinos e humanos se dá através da presença desses animais, não pelo contato direto, mas pela contaminação ambiental devido à eliminação de milhões de oocistos⁹.

CONCLUSÃO

A alta prevalência de títulos de anticorpos para *T. gondii* na população felina de Santa Maria, comparado com os demais estudos, demonstra a importância dessa espécie na epidemiologia da doença e a sua contribuição para a disseminação da toxoplasmose na região, revelando contaminação ambiental e, conseqüentemente, exposição do homem e de outros animais ao agente.

FONTES DE AQUISIÇÃO

^aAnti-IgG[®] felina conjugada à fluoresceína (FITC):

Affinity Purified Antibody Fluorescein.

Sigma Chemical Co, St. Louis, Missouri – USA.

REFERÊNCIAS

1. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol*.2000;30(2):217-20. Disponível em: [<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751900001247>].
2. Dubey JP, Rollor EA, Smith K, Kwok OCH, Thulliez P. Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in feral pigs from a remote island lacking cats. *J Parasitol*. 1997;83(5):839-41. Disponível em [<http://www.jstor.org/stable/3284277>].
3. Frenkel JK. Toxoplasmosis: parasite, life cycle, pathology and immunology. In: Hammond DM, Long PL. The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma and related genera. Baltimore: University Park Press; 1973.p.343-410.
4. Lin MH, Chen TC, Kuo TT, Tseng CC, Tseng CP. Real-Time PCR for Quantitative Detection of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol*.2000;38(11):4121-5. Disponível em: [<http://jcm.asm.org/content/38/11/4121.full>].
5. Langoni H, Silva AV, Cabral KG, Cunha ELP, Cutolo AA. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. *Br J Vet Res Anim Sci*.2001;38(5):243-4 Disponível em: [<http://www.scielo.br/pdf/bjvras/v38n5/9715.pdf>].
6. Pinto LD, Araujo FAP, Stobb NS, Marques SMT. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. *Cienc Rural*.2009;39(8):2464-9. Disponível em: [<http://www.scielo.br/pdf/cr/v39n8/a313cr1636.pdf>].
7. Araujo FAP, Silva NRS, Olicheski AT, Beck C, Rodrigues RJD, Fialho CG. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de gatos internados no hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. *Act Sci Vet*.2003;31(2):89-92. Disponível em: [<http://hdl.handle.net/10183/19811>].
8. Dubey JP, Navarro IT, Sreekumar C, Dahl E, Freire RL, Kawabata HH, et al. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brazil: Seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. *J Parasitol*. 2004;90(4):721-26. Disponível em: [<http://www.journalofparasitology.org/doi/pdf/10.1645/GE-382R>].
9. Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Oliveira RC. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná, Brasil. *Cienc Rural*.1999;29(1):99-104. Disponível em [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84781999000100018&lng=pt&nrm=iso].