ISSN: 2238-9970 Arquivos de Pesquisa Animal, v.2, n.1, p.1 - 4, 2015

Detecção de anticorpos IgG anti *Toxoplasma gondii* em ovinos utilizados em programa de reprodução

Detection of IgG antibodies anti *Toxoplasma gondii* in sheep used in a reproduction program

Ana Elisa Del'Arco; Luciana S. Freitas; Larissa Pires Barbosa; Alexandre Moraes Pinheiro

Resumo

Toxoplasma gondii é um protozoário Apicomplexa da família Sarcocystidae. Apresenta como hospedeiros definitivos os membros da família Felidae, enquanto que aves e mamíferos são hospedeiros intermediários. O *T. gondii* está associado a perdas reprodutivas em ovinos. O presente estudo teve como objetivo determinar a frequência dos anticorpos IgG anti *T. gondii* em ovelhas. Foram utilizados soros de 113 ovelhas de uma propriedade com sistema de produção semi-intensivo no município de Entre Rios – Bahia. Os soros foram submetidos ao teste de hemaglutinação indireta (HAI) para detecção de anticorpos IgG anti- *T. gondii.* As amostras de soro foram triadas numa diluição de 1:64 e das 113 amostras analisadas seis (5,3%) foram positivas no teste de hemaglutinação indireta. Os resultados nos levaram a concluir que as ovelhas da propriedade estudada apresentam anticorpos anti *T. gondii,* indicando que o parasito pode estar presente em propriedades que utilizam sistema de produção semi-intensivo.

Palavras chaves: ovinos, teste de hemaglutinação, frequência, *Toxoplasma godii*

Abstract

Toxoplasma gondii is an Apicomplexa protozoan from Sarcocystidae family. This parasite has the Felidae family as definitive host, while mammals and birds as intermediate hosts. The *T. gondii* is related with ovine reproductive losses. The aim of this work was to determine the frequency of IgG antibodies anti *T. gondii* in sheep. Blood samples were collected from 113 sheepss in the municipality of Entre Rios-Bahia. The sera were tested using an indirect hemagglutination test to detect IgG anti- *T. gondii*. The samples was considered positive using a serum dilution of 1:64 as cut off and 6 of 113 (5,3%) samples were detected as positive with indirect hemagglutination test. This result shows that animals in this farm have anti *T. gondii* antibodies and this may indicate that farms using semi intensive system of production may have the parasite.

Key words: sheep; hemagglutination test; frequency; toxoplasmosis

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma parasitose de ocorrência mundial causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* pertencente ao Filo Apicomplexa (TENTER et al., 2000). Esse parasito é um coccídio intestinal dos felídeos com uma série de hospedeiros intermediários, como aves e mamíferos (DUBEY & BEATTIE, 1988; YAROVINSKY, 2014).

A doença é responsável por causar perdas econômicas no setor pecuário, sendo considerada um problema de sanidade na ovinocultura, pois tem sido associada a abortos (DUBEY, 2009; MORAES et al, 2011), além de haver detecções em sêmen (MORAES et al, 2010), carcaças em abatedouros e leite (DUBEY et al, 2012; CAMOSSI et al, 2011). Há algumas décadas essa zoonose tem sido considerada uma das principais causas de problemas reprodutivos nesta espécie (HIDE et al., 2009; INNES et al., 2009). O Brasil possui um rebanho de aproximadamente 16 milhões de cabeças de ovinos, sendo que o maior rebanho encontra-se na região nordeste, com 9,32 milhões de cabeças e a Bahia detém a segunda maior população ovina do país (INSTITUTO, 2012).

A infecção pelo *T. gondii* pode ocorrer através do consumo de alimentos e água contaminados com oocistos esporulados, ingestão de carne com cistos, através da via transplacentária e, em algumas espécies, pode ocorrer pelo sêmen (HUNTER & SIBLEY, 2012; MORAES et al., 2010; YAROVINSKY, 2014). Tem sido demonstrada também a possibilidade da transmissão da infecção através do leite em ovinos (CAMOSSI et al, 2011). Nesta espécie, a toxoplasmose é normalmente assintomática, porém animais imunodeficientes, que adquirem a infecção durante a gestação, podem desenvolver distúrbios

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Rua Rui Barbosa N° 710 – Centro – Cruz das Almas – Bahia
E-mail para correspondência: anaelisa@ufrb.edu.br

reprodutivos causados pelo *T. gondii* (MOTA et al., 2008).

Testes sorológicos, necropsias de fetos abortados, exame histopatológico e da reação em cadeia da polimerase (PCR) são métodos utilizados para confirmar o diagnóstico clínico da toxoplasmose. Dentre as diversas técnicas sorológicas, a pesquisa de anticorpos IgG pelo método de hemaglutinação indireta em análises sorológicas tem sido utilizada para o diagnóstico de toxoplasmose (PEREIRA-BUENO et al., 2004; DUBEY, 2009; DUBEY et al., 2012).

Considerando que a frequência de anticorpos anti *T. gondii* representa uma importante fonte de informação para a epidemiologia da doença e para a produção de ovinos no estado, objetivou-se com o presente trabalho estimar a frequência de anticorpos IgG anti *T. gondii* em ovinos em uma propriedade com sistema de criação semi-intensivo no estado da Bahia.

MATERIAL E MÉTODOS

Localização: O experimento foi realizado no munícipio de Entre Rios – Bahia, localizado a uma latitude de 11º56’31” sul e a uma longitude de 38º05’04” oeste, estando a uma altitude de 162 metros, com pluviosidade de 1200mm anual e com clima quente e semi-úmido, classificação climática de koppen-Geiger: As. Por ser uma região tropical, os animais apresentam atividade reprodutiva durante o ano inteiro. O experimento foi realizado no período de abril a junho de 2010.

Animais e manejo: Foram utilizadas 113 fêmeas ovinas da raça Santa Inês. As fêmeas foram mantidas em regime de confinamento semi-intensivo: durante o dia em pasto de braquiária (*Brachiaria* sp.) e capim elefante (*Pennisetum purpureum*) e ao entardecer os animais eram recolhidos em baias de piso ripado e suplementadas com 200g de concentrado a base de farelo de milho e soja, sal mineral. Água foi fornecida à vontade durante todo o período experimental.

Coleta de material e análise: Foram colhidas amostras de sangue (4 mL), por punção venosa na veia jugular, de acordo com as normas vigentes de bem estar animal da legislação brasileira. Essas amostras foram acondicionadas em gelo por, em média, 4 horas, até o laboratório (Laboratório de Bioquímica e Imunologia Veterinária/UFRB), onde foram centrifugadas a 1500g por cinco minutos em temperatura média de 25º C para obtenção dos soros. Estes foram aliquotados em tubos tipo *eppendorf* e mantidos a -20ºC, até a realização do teste. Os soros foram submetidos ao teste de hemaglutinação indireta (HAI) para detecção de anticorpos IgG anti *T. gondii* utilizando kits comerciais seguindo as instruções recomendadas pelo fabricante (Imuno-HAI[1]). As amostras de soro foram triadas em unicata numa diluição de 1:64. Aquelas com reação positiva foram novamente diluídas em série, numa razão de dois, até não mais reagirem, para a determinação dos seus títulos.

RESULTADOS

Das 113 amostras de ovelhas analisadas, seis (5,3%) foram positivas no teste de hemaglutinação indireta. Todas as ovelhas positivas eram multíparas. Dentre as seis amostras, duas foram positivas apenas no ponto de corte 1:64. Na titulação, duas ovelhas apresentaram soropositividade na diluição de 1:128 e duas foram positivas na diluição de 1:256, como mostrado na Tabela 1.

Tabela 1 - Titulação de anticorpos IgG anti *T. gondii* nas fêmeas testadas.

Título de Anticorpos	***Positivos***
Negativo	107 (94,7%)
1:64	2 (1,76%)
1:128	2 (1,76%)
1:256	2 (1,76%)

DISCUSSÃO

A HAI tem sido utilizada em todo o mundo para mensurar a soroprevalência de anticorpos IgG anti *Toxoplasma gondii* em ovinos (DA MOTTA et al., 2008; DUBEY, 2009; DUBEY et al., 2012; YANG et al., 2013). CASARTELLI-ALVES et al. (2014) compararam diversas técnicas de diagnóstico para *T. gondii* e encontraram maior sensibilidade para o teste ELISA e maior especificidade para a HAI. Apesar da sua sensibilidade menor, a taxa de precisão da HAI nesse trabalho foi maior que os demais testes. Além disso, a HAI é um método simples, de baixo custo e que não necessita de conjugados específicos, como o ELISA e a imunofluorescência.

Comparando a soropositividade de 5,3% do presente estudo com os resultados de PINHEIRO JR et al (2009), pode-se observar que a frequência de anticorpos na propriedade estudada é menor que as encontradas para o mesmo sistema de criação. Estudos anteriores mostram que a soroprevalência em sistemas de criação intensiva tende a ser menor que nos sistemas semi-intensivos (DUBEY, 2009) e consequentemente menores que em criações extensivas (PINHEIRO JR et al, 2009). No sistema

extensivo existe uma maior possibilidade de infecção devido à falta de controle da fonte de água (ANDRADE et al., 2013; MENDONÇA et al, 2013). Entretanto, SILVA et al. (2003), em um estudo epidemiológico com dez propriedades de ovinos e utilizando o método de imunofluorescência indireta, encontraram propriedades com 14,9% a 90,9% de animais positivos, mas não encontraram diferença estatística entre os sistemas de produção extensivo e intensivo.

DUBEY (1990) considera que os diferentes valores de prevalência encontrados, nos vários estudos epidemiológicos de toxoplasmose, em rebanhos de ovinos, são decorrentes do manejo dos animais, da região do estudo, da idade e do método sorológico. GARCIA et al. (2012) verificaram, através do teste de ELISA, que ovinos analisados das áreas urbanas e periurbanas de Curitiba - PA, apresentavam sorologia positiva para *T. gondii* entre 14,3 a 80% e os rebanhos com manejo intensivo tiveram menores prevalências. No estado da Bahia, GONDIM et al. (1999) encontraram um percentual de 8,7% de ovinos positivos por meio da técnica de aglutinação em látex (LAT), considerando amostras positivas aquelas com título maior ou igual a 1:64. O maior título já encontrado por LANGONI et al. (2008) foi de 1:4096, utilizando as técnicas de imunofluorescência indireta e aglutinação direta modificada.

De acordo com ANDRADE et al. (2013), um dos fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* é a idade do animal, sendo que adultos possuem mais chance de se contaminar. Analisando os resultados obtidos neste estudo, pode-se indicar risco de infecção vertical, visto que todas as ovelhas soropositivas são multíparas, dado em acordo com BUXTON et al. (2007). Vários trabalhos têm sido realizados com o intuito de demonstrar a capacidade de infecção vertical em ovinos (WILLIAMS et al., 2005; HIDE et al., 2009; DUBEY, 2009).

O fato de encontrar animais soropositivos para toxoplasmose em uma propriedade com criação semi-intensiva revela outras questões importantes que devem ser levadas em consideração, como a diminuição da produtividade dos animais devido a infecção. BUXTON et al. (2007) relatam que animais persistentemente infectados podem transmitir a infecção para os fetos em gestações subsequentes e esses animais já nasceriam infectados.

GLABER & SPURLOCK (2008) discutem a importância da ativação do sistema imune e a consequência negativa para o crescimento animal, devido a perdas anabólicas por causa da interação antígeno e sistema imune. Nesse contexto, vale ressaltar que uma propriedade que possui animais positivos para *T. gondii* terá perdas econômicas maiores que o aborto em si causado pelo parasito, mas também perda de crescimento e diminuição de produção de leite.

CONCLUSÃO

Os resultados nos levam a concluir que os animais criados semi intensivamente para reprodução apresentam anticorpos IgG anti *T. gondii*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, M. et al. Seroprevalence and risk factors associated with ovine toxoplasmosis in Northeast Brazil. **Parasite,** v.20, n.20, p.1-5, 2013.

BUXTON, D. et al. *Toxoplasma gondii* and ovine toxoplasmosis: new aspects of an old story. **Veterinary Parasitology**, v.149, p.25-28, 2007.

CASARTELLI-ALVES, L. et al. Sensitivity and specificity of serological tests, histopathologyand immunohistochemistry for detection of *Toxoplasma gondii* infection in domestic chickens. **Veterinary Parasitology,** v. 204, p. 346–351, 2014.

DA MOTTA, A. et al. Ovine abortion associated with toxoplasmosis: serological, anatomo-pathological and immunohistochemistry characterization. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v.17, suppl 1, p. 204-208, 2008.

DUBEY, J. P. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. **Journal of American Veterinary Medicine Association**, v. 196, n. 2, p. 259-262, 1990.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in sheep - the last 20 years. **Veterinary Parasitology**, v.163, p.1-14, 2009.

DUBEY, J.; BEATTIE, C. Toxoplasmosis of animals and man. **CRC Press: Florida**, 220p, 1988.

DUBEY, J. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v.139, p. 1375–1424, 2012.

CAMOSSI, L. G. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in the milk of naturally infected ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 177, p. 256–261, 2011.

GABLER, N. K.; SPURLOK, M. E. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. **Journal of animal science**, v.86, p.64-74, 2008.

GARCIA G. et al. *Toxoplasma gondii* in goats from Curitiba, Paraná, Brazil: risks factors and

Fonte de Aquisição - 1 – Wama Diagnóstico, Brasil.

epidemiology. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária.** v. 21, n. 1, p. 42 – 47, 2012.

GONDIM, L. P. et al. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 273-276, 1999.

HIDE, G. et al. Evidence for high levels of vertical transmission in *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, v. 136, p. 1877-1885, 2009.

HUNTER, A. C.; SIBLEY, L. D. Modulation of inate immunity by *Toxoplasma gondii* virulence effectors. **Microbiology**, v 10, p. 766-778, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA. **Pesquisa Agropecuária Municipal - efetivos de rebanho ovino.** Disponível em < http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/pecua/default.asp ?t=2&z=t&o=24&u1=1&u2= 1&u3=1&u4=1&u5=1&u6=1&u7=1>. Acesso em 03/09/2014.

INNES, E. A. et al. Ovine toxoplasmosis. **Parasitology**, v.136, p.1887-1894, 2009.

LANGONI, H. et al. Humoral response of ewes naturally infected with *Toxoplasma gondii* in Brazil. Sustainable animal husbandry: prevention is better than cure. In: **International Congress of the International Society for Animal Hygiene** (ISAH), XIV, Vechta. Anais... Vechta, p. 789-791, 2008.

MENDONÇA, C. E. D. et al. Prevalence and risk factors associated to ovine toxoplasmosis in northeastern Brazil. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**. v. 22, n. 2, p. 230-234, 2013.

MORAES, E. et al. Detecção de *Toxoplasma gondii* no sêmen de ovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n.11, p. 915-917, 2010.

MORAES, E. et al. *Toxoplasma gondii* diagnosis in ovine aborted fetuses and stillborns in the State of Pernambuco, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 183, p. 152– 155, 2011.

MOTTA, A. C. et al. Aborto em ovinos associado à toxoplasmose: caracterização sorológica, anátomo-patológica e imunohistoquímica. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl.1, p. 204-208, 2008.

PEREIRA-BUENO, J. et al. Evaluation of ovine abortion associated with *Toxoplasma gondii* in Spain by different diagnostic techniques. **Veterinary Parasitology**, v. 121, n. 3, p. 33-43, 2004.

PINEIRO JR, J. W. et al. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. **Parasitology Research**, v. 105, p. 709–715, 2009.

SILVA, A. et al. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, n. 1, p. 115-119, 2003.

TENTER, A. M., et al. *Toxoplasma gondii*: from animals to human. **International Journal for Parasitology,** v. 30, p. 1217-1258, 2000.

WILLIAMS, R. et al. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in longitudinal and cross-sectional studies on sheep farms provides evidence of vertical transmission in ovine hosts. **Parasitology**, v. 130, p. 301-307, 2005.

YANG, N. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic sheep in Liaoning Province, northeastern China. **Journal of Parasitology**, v. 99, n. 1, p. 174-175, 2013.

YAROVINSKY, F. Innate immunitu to *Toxoplasma gondii* infection. **Immunology**, v. 14, p. 109-212, 2014.