

**SOROPREVALÊNCIA PARA ANTICORPOS ANTI-*TOXOPLASMA GONDII*
(NICOLLE & MANCEAUX, 1909) EM OVINOS PERTENCENTES À
MICRORREGIÃO DE UMUARAMA, ESTADO DO PARANÁ, BRASIL**

Wellington Augusto Sinhorini¹
Daniela Barbosa Silva²
Hélio Langoni²
Gisela Cristiano Ferraro¹
Raquel Reis Martins¹
Welber Daniel Zanetti Lopes³

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* do rebanho ovino na microrregião de Umuarama, estado do Paraná, foram coletadas amostras de sangue de 194 animais procedentes de quatro propriedades, tendo-se utilizado o método de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para detecção de anticorpos contra o agente. Do total amostrado, 28,3% (55 animais) foram reagentes. Entre as propriedades, os valores variaram de 3,5% a 58,2%, o que pode indicar uma provável diferença no manejo e criação dos animais entre estas propriedades, o que consequentemente pode aumentar ou diminuir os riscos da infecção. Em suma, considerando os estudos conduzidos em outras regiões do Paraná, ou mesmo em outros estados brasileiros, a soroprevalência de 28,3% encontrada neste trabalho pode ser considerada moderada. Entretanto, se considerarmos cada local isoladamente, pode-se inferir que a carne ovina de determinadas propriedades pode ser uma importante via de transmissão de toxoplasmose para humanos, uma vez que a prevalência de 58,2% foi verificada em ovinos de uma fazenda. Futuros estudos deverão ser conduzidos com o objetivo de se correlacionar a prevalência de mais rebanhos ovinos desta região com os possíveis fatores de risco para esta importante zoonose.

Palavras-chave: fazenda, ovinos, toxoplasmose, frequência.

**SEROPREVALENCE FOR ANTIBODIES AGAINST *TOXOPLASMA GONDII*
(NICOLLE AND MANCEAUX, 1909) IN OVINE FROM THE MICROREGION OF
UMUARAMA, STATE OF PARANÁ, BRAZIL**

ABSTRACT

With the objective to evaluate the seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* of the ovine flock from the microregion of Umuarama, in the state of Paraná, 194 blood samples were collected in four properties and evaluated by the Immunofluorescence Antibody Test (IFAT). Of the total samples, 28.3 % (55 animals) were positive. Among the properties, the values ranged from 3.5 % to 58.2 %, which may indicate variability in the management of animals among these properties, which consequently may increase or decrease the risk of the infection. Considering the studies conducted in other regions of Paraná, or even in other states, the seroprevalence of 28.3% found in this study can be considered moderate. However, considering each property isolated, it can be inferred that the meat of certain properties can be a major source of infection for humans toxoplasmosis, since the prevalence of 58.2% was

¹ Universidade Estadual de Maringá - UEM (campus Umuarama - Medicina Veterinária). Correspondência.

² Universidade Estadual "Julio de Mesquita Filho"-UNESP (campus Botucatu) (FMVZ)

³ Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Medicina Veterinária

observed in one sheep farm. Future studies should be conducted in order to correlate the prevalence of most sheep flocks in this region with the possible risk factors for this important zoonosis.

Keywords: farm, frequency, sheep, toxoplasmosis.

SUEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *TOXOPLASMA GONDII* (NICOLLE Y MANCEAUX, 1909) EN OVINOS PERTENECIENTES A LA MICROREGIÓN DE UMUARAMA, ESTADO DE PARANÁ, BRASIL

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar la seroprevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en ovejas en la microregión de Umuarama, estado de Paraná, las muestras de suero fueron colectadas en cuatro propiedades, totalizando 194 animales, el cual, en consecuencia, fueron evaluados por el método, estandarizadas, reacción inmunofluorescencia indirecta (RIFI) para la detección de anticuerpos contra el agente. El total de la muestra regional, el promedio fue de 28,3% (55) animales soropositivos para *T.gondii*, que es el mayor valor que se encuentra en una propiedad fue de 58,2%, lo cual puede ser un motivo de preocupación en relación con la salud pública. El resto de las propiedades, los valores obtenidos entre ellos, discrepantes, girando alrededor del 3,5% al 53,6%, lo que puede indicar una probable variabilidad en el manejo y creación de los animales entre estas propiedades, que a su vez, por aumentar o disminuir el riesgo de infección por coccidiosis en cuestión. En resumen, considerando los estudios realizados en otras regiones de Paraná, o incluso en otros estados brasileños, el valor promedio de seroprevalencia (28,3%) para *Toxoplasma gondii* encontradas en este trabajo se puede considerar como moderada. Sin embargo, si consideramos que cada sitio por separado, se puede inferir que la carne ovina de algunas propiedades pueden ser una fuente importante de infección de toxoplasmosis para el hombre, ya que la prevalencia del 58,2 % se observó en las ovejas de una granja. Los estudios futuros deberían ser llevadas a cabo, con el objetivo de correlacionar la seroprevalencia de más rebaños ovinos de la región con los posibles factores de riesgo para este importante zoonosis.

Palabras clave: granja, ovejas, frecuencia, toxoplasmosis.

INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é um protozoário pertencente ao Filo Apicomplexa e Família *Sarcocystidae*. É um coccídeo intestinal de felídeos, sendo esses considerados como hospedeiros definitivos e com uma grande variedade de possibilidades para os hospedeiros intermediários, incluindo mamíferos e aves (1).

Por ser uma infecção de distribuição mundial, apesar de serem encontrados com maior frequência em rebanhos localizados em terras baixas e úmidas, que favorece o oocisto resistir por mais tempo (2,3), acometem diferentes animais homeotérmicos, inclusive seres humanos, sendo considerada, assim, uma zoonose de grande importância para medicina veterinária e saúde pública (4).

Seu primeiro relato em ovinos foi em 1942, nos Estados Unidos (5) e logo foi associado com diversos problemas reprodutivos em pequenos ruminantes por todo o mundo. A transmissão congênita ou transplacentária desta enfermidade é considerada comum em ovinos e caprinos, desta forma, as preocupações com a produtividade dos animais, acabam sendo um fator inquietante para criadores. Considerada como a transmissão mais grave, ocorre

normalmente em fase aguda ou uma recidiva da doença crônica, durante a prenhez (6). Quando transmitida na fase adulta para os animais, a toxoplasmose geralmente passa despercebida pelos produtores; por outro lado, despertam problemas em relação à saúde pública, uma vez que a carne destes animais pode ser via de transmissão para o ser humano (7).

De acordo com Cook (8), dentre as diversas vias de transmissão desta enfermidade para humanos, a mais preocupante epidemiologicamente é a ingestão de produtos de origem animal contendo cistos de *Toxoplasma gondii*, sem tratamento térmico adequado, disseminando assim a doença. Ao redor de 50% de carne ovina e suína estavam contaminadas por cistos de *T. gondii* (4). Jacobs et al. (9) relataram que o elevado consumo de carne ovina na Nova Zelândia, foi a principal via de transmissão da toxoplasmose para os seres humanos. Segundo Larson et al. (10), estas afirmações podem ser voltadas para as regiões brasileiras e determinados grupos sociais, onde o consumo, criação e manuseio deste produto, são os responsáveis pela ocorrência desta enfermidade em humanos.

Uma das formas de diagnóstico é por meio da pesquisa de anticorpos das classes IgG e IgM, em teste de hemaglutinação indireta (HAI), de hemaglutinação indireta 2-mercaptoetanol (HAI/2 ME) e pelo método de reação de imunofluorescência indireta (RIFI), sempre em amostras de soro (11). A RIFI é considerada padrão ouro no mundo inteiro para diagnóstico de *T. gondii*, contudo, existem outros métodos que na rotina laboratorial são utilizados para o diagnóstico, como o caso do ensaio imunoenzimático ligado a enzima (ELISA), usado essencialmente na pesquisa de anticorpos, quando o objetivo é uma pesquisa mais simples, barata e rápida. Comparativamente, a RIFI possui especificidade e sensibilidade maiores do que o método de ELISA (12). Os resultados são positivos, uma vez que a infecção desencadeia a produção de imunoglobulinas específicas contra *T. gondii*, sendo IgM na fase inicial, e a IgG durante a fase crônica desta enfermidade (13).

Os enormes prejuízos ocasionados por esta enfermidade aliados aos estudos relatados sobre isolamento de parasitos viáveis em tecidos revelam a importância da toxoplasmose ovina como doença e como zoonose. Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em ovinos de rebanhos da microrregião de Umuarama, estado do Paraná, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

A cidade de Umuarama, é uma das principais do Paraná e polo da região de Entre Rios, que tem população estimada em 410 000 habitantes. Com o desenvolvimento, houve um crescimento das atividades comerciais (urbanas e rurais) e o aumento da população. Localizada no noroeste do estado, a uma distância de 580 km da Capital (Curitiba) e a 115 km do Paraguai. Está a 430 metros acima do nível do mar, entre a latitude 23° 47' 55 Sul e a longitude 53° 18' 48 Oeste.

Para cálculo do número de amostras, foi considerada uma premissa de frequência de 50%, maximizando o tamanho da amostragem e obtendo assim, intervalo de confiança mínimo de 99% e com erro de 5% (14). Dessa forma, de cada propriedade, cerca de 80% dos animais foram amostrados para análise sorológica. Dentro das propriedades, estes animais foram separados aleatoriamente para serem usados como amostragem, sendo que, em cada propriedade, havia uma média de 50 a 90 ovinos. Os animais eram mestiços, machos e fêmeas e com idades entre oito e 36 meses, totalizando 194 amostras, provenientes de quatro fazendas localizadas em municípios da microrregião de Umuarama- estado do Paraná (Tapejara, Umuarama e Mariluz). A microrregião tem um contingente anual de aproximadamente 2000 cabeças de ovinos, segundo último senso de 2010.

Foram coletados 10 mL de sangue, por venocentese, em tubos de ensaio estéreis. No laboratório, estas amostras foram centrifugadas a 1000 g durante 10 minutos. Posteriormente, os soros foram armazenados em tubos de polipropileno e mantidos à temperatura de -20°C, até o momento do processamento para realização dos exames.

Após término das coletas, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório do Núcleo de Pesquisa em Zoonoses – NUPEZO, do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, SP, onde foi pesquisada a presença de anticorpos anti-*T. gondii*.

Os soros foram submetidos à reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* da classe IgG, conforme a técnica descrita por Camargo (15). Em todas as reações, foram incluídos soros padrões, positivo e negativo, previamente conhecidos. A leitura foi realizada em microscópio de imunofluorescência, com títulos considerados positivos a partir da diluição 1:16. Os resultados obtidos estão apresentados pela frequência global, realizada em relação às fazendas e em relação à soropositividade desses animais. Aplicou-se o teste do qui-quadrado de Pearson com correção de Yates, admitindo-se nível de significância de 5%, estatisticamente avaliada pelo programa Graphpad Prism®, v.5.03 (2009) [GraphPad Software®, USA].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 194 amostras de soros examinadas, 55 (28,3%) apresentaram-se positivas para *T. gondii* com títulos ≥ 16 , conforme exposto na Tabela 1. As quatro propriedades amostradas apresentaram positividade com diferença na soropositividade entre as diferentes localidades (Tabela 1); e uma porcentagem de resultados negativos de 71,7%, que comparado estatisticamente com os negativos, houve significância ($P < 0,0001$). A frequência de 28,3% de ovinos soropositivos obtida no presente estudo é menor comparando-se aos resultados obtidos por outros autores na região Norte do Paraná como Freire et al. (16), García et al. (17) e Ogawa et al. (18), que obtiveram valores de 47,8%, 51,8% e 54,6% para anticorpos anti-*T. gondii*, respectivamente, pela imunofluorescência indireta, como realizado no presente projeto. No estado de São Paulo, resultados semelhantes foram obtidos por Soccol et al. (19), com uma média de 25,75% (43/167 ovinos), além de Meireles et al. (20), com achados de 31% do total amostral, pela técnica de ELISA. Já Figliuolo e Kasai (21), com o mesmo teste (RIFI), obtiveram 34,7% de soropositividade. Moura et al. (22) detectaram apenas 7% de soropositividade dos animais. De acordo com Dubey e Kirkbride (23), a ocorrência da variabilidade em relação ao percentual de ovinos soropositivos para toxoplasmose entre diferentes propriedades de uma determinada região, pode ser justificada devido à técnica diagnóstica utilizada na pesquisa, região estudada, idade e manejo dos animais.

Maiores taxas de infecção em animais mestiços foram encontradas por Silva et al. (24) tanto em ovinos quanto em caprinos e por Lopes et al. (25) apenas em ovinos, com aproximadamente 54 % de soropositividade. Estes autores colocam o fator raça como pré-disponente por conta do menor manejo higiênico sanitário das criações de animais mestiços. Apesar dos relatos em relação à toxoplasmose em animais mestiços, o mesmo não foi observado no presente estudo. Garcia-Vázquez et al. (26) apontam diferenças de prevalência de infecção pelo *T. gondii* entre ovinos das raças Pelibuey (47%) e Rambouillet (20%).

Quando se verifica a variação do percentual de animais soropositivos para *T. gondii* entre as quatro propriedades estudadas, observa-se um intervalo de animais sororeagentes relativamente elevado entre estas. A propriedade com prevalência média de 3,6% não chama tanto a atenção, mas a infecção, mesmo que em baixa frequência, mostra que há um risco ao rebanho. Por outro lado, os 58,3% dos animais amostrados que apresentaram anticorpos

contra *T. gondii* em uma das fazendas é alarmante e indica maior dispersão do agente na propriedade e maior risco à saúde pública.

Bonametti et al. (27) relataram um surto de toxoplasmose humana na cidade de Bandeirantes, Estado do Paraná, o que elucida a preocupação com alta frequência de toxoplasmose em rebanhos que tenham destinos para consumo humano. Foram apresentados 17 casos (dentre estes uma paciente que estava no 5º mês de gestação) com sintomatologia aguda da doença, adquirida pela ingestão de carne crua de carneiro, servida em uma festa. Todos os pacientes apresentaram títulos séricos de anticorpos específicos (IgM) que evidenciaram fase aguda da toxoplasmose, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI).

Ainda em relação à variação no percentual de animais positivos encontrados nas diferentes propriedades, esta por sua vez pode indicar diferenças no sistema de criação dos animais, bem como a presença ou não de alguns fatores de risco para enfermidade em alguma destas propriedades, como: presença de gatos junto com os animais, sistema de criação (extensivo, intensivo, semi-intensivo), falta de suplementação mineral, entre outros (25,28). Entretanto, novos estudos deverão ser realizados com o objetivo de associar a prevalência de cada rebanho com os possíveis fatores de risco para esta enfermidade.

Apesar de a toxoplasmose ser apontada, por vários autores, como uma das maiores causas de abortos em ovinos em diversos países (29-33), no presente estudo, durante as coletas sanguíneas, não foi possível observar problemas reprodutivos nas propriedades.

Deste modo é pertinente a realização de estudos mais aprofundados, com acompanhamento sorológico e associação de possíveis distúrbios reprodutivos, exame de fetos abortados, a fim de se tentar isolar o agente.

Tabela 1. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), em ovinos provenientes de propriedades rurais da microrregião de Umuarama, estado do Paraná, Brasil.

Propriedade	RIFI		Número de amostras	Frequência de reagentes à RIFI	Análise não paramétrica *
	Reagentes	Não reagentes			
1	8	34	42	19,04%	AB
2	32	52	84	38,09%	A
3	2	24	26	7,69%	B
4	13	29	42	30,95%	AB

*Letras iguais na coluna indicam que as proporções de animais positivos não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Yates corrigido Qui-quadrado ($p > 0,05$).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados encontrados, pode-se concluir pela possível dispersão de formas infectantes de *T. gondii* em ovinos da região estudada. Se considerarmos cada local isoladamente, pode-se inferir que a carne ovina de determinadas propriedades pode ser uma importante via de transmissão de toxoplasmose para humanos.

REFERÊNCIAS

1. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Vet Parasitol. 2000;30:1217-58.
2. Beverley JKA, Watson WA, Spence JB. The pathology of the foetus in ovine abortion due to toxoplasmosis. Vet Rec. 1971;88:174-8.

3. Dubey JP, Kirkbride CA. Economic and public health considerations of congenital toxoplasmosis in lambs. J Am Vet Med Assoc. 1989;195:1715-16.
4. Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y animales. 2a ed. Washington: Organization Panamericana de la Salud; 2003. (Publicación Científica; n° 503).
5. Sposito Filha E, Amaral V, Macruz R, Rebouças MM, Santos SM, Drumond LS. *Toxoplasma gondii* ovinos: isolamento do parasita a partir de diafragmas de animais procedentes do Estado do Rio Grande do Sul e abatidos em matadouros de São Paulo para consumo humano. Rev Bras Parasitol Vet. 1992;1-2:117-9.
6. Kawazoe U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves DP. Parasitologia humana. 11a ed. São Paulo: Atheneu; 2005. p.428.
7. Navarro IT, Vidotto O, Giraldi N, Freire RL. *Toxoplasma gondii*: isolamento a partir de carne e cérebro de suínos comercializados na região de Londrina, PR. Semina. 1992;13:15-8.
8. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: european multicentre case-control study. BMJ. 2000;321:142-7.
9. Jacobs L, Moyle GG, Ris RR. The prevalence of *Toxoplasmosis* in New Zealand sheep and cattle. Am J Vet Res. 1963;24:673-5.
10. Larsson CE, Jamra LM, Guimarães EC, Pattoli DBG, Silva HLL. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. Rev Saude Publica. 1980;14:582-8.
11. Camargo ME. Alguns aspectos atuais do diagnóstico laboratorial da toxoplasmose. An Acad Nac Med. 1995;155:236-9.
12. Fundação Nacional de Saúde (BR). Doenças parasitárias. Rio de Janeiro: Ministério da Saúde; 2002. (Manual de toxoplasmose).
13. Dubey JP. *Toxoplasmosis* in goats. Agri-pract. 1987;3:43-52.
14. Hrusfield M. Veterinary epidemiology. 2nd ed. Cambridge: Blackwell Science; 1995.
15. Camargo ME. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1964;6:117-8.
16. Freire RL, Giraldi N, Vidotto O, Navarro IT. Levantamento sorológico e epidemiológico da toxoplasmose em ovinos na região de Londrina - PR. Arq Bras Med Vet Zootec. 1995;47:609-12.
17. Garcia JL, Navarro IT, Owaga L, Oliveira RC. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do Norte do Paraná - Brasil. Cienc Rural. 1999;29:91-7.

18. Ogawa L, Navarro IT, Freire RL, Oliveira RC, Vidotto O. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos da região de Londrina no Estado do Paraná. *Semina Cienc Agrar*. 2003;24:57-62.
19. Soccol VT, Castro EA, Gazda TL, Garcia G, Richartz RRTB, Dittrich RL. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos das áreas urbanas e periurbanas de Curitiba, Paraná. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2009;18:69-70.
20. Meireles LR, Galisteo Jr AJ, Andrade Jr HF. Pesquisa sorológica de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em animais de produção do Estado de São Paulo, Brasil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2003;40:267-71.
21. Figliuolo LPC, Kasai N, Ragazzo AMA, Paula VSO, Dias RA, Souza SLP, et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Vet Parasitol*. 2004;123:161-6.
- 22-Moura AB, Osaki SC, Zulpo DL, Marana ERM. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2007;16:54-6.
23. Dubey JP, Kirkbride CA. Toxoplasmosis and other causes of abortion in sheep from north central United States. *J Am Vet Med Assoc*. 1990;196:287-90.
24. Silva AV, Cunha ELP, Meireles LR, Gottschalk S, Mota RA, Langoni H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. *Cienc Rural*. 2003;33:115-9.
25. Lopes WDZ, Santos TR, Silva RS, Rossanese WM, Souza FA, Rodrigues JDF, et al. Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brasil. *Res Vet Sci*. 2010;88:104-6.
26. García-Vázquez Z, Rosario-Cruz R, Solorzano-Salgado M. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in three states of Mexico. *Prev Vet Med*. 1990;10:25-9.
27. Bonametti AM, Passos JN, Silva EMK, Bortoliero AL. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997;30:21-25.
28. Neto JOA, Azevedo SS, Gennari SM, Funada MR, Pena HFJ, Araújo ARCP, et al. Prevalence and risk factors for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in goats of the Seridó Oriental microregion, Rio Grande do Norte state, northeast region of Brazil. *Vet Parasitol*. 2008;156:329-32.
29. Beverley JKA, Watson WA. Ovine abortion and toxoplasmosis in Yorkshire. *Vet Rec*. 1961;73:6-11.
30. Dubey JP. Feline toxoplasmosis and its nematode transmission. *Vet Bull*. 1968;38:495-9.

31. Jacobs L. New knowledge Toxoplasma and toxoplasmosis. Adv Parasitol. 1973,11:631-59.
32. Hartley WJ, Munday BL. *Felidae* in the dissemination of toxoplasmosis to man and other animals. Aust Vet J. 1974;50:224-8.
33. Freyre A, Bonino J, Falcon J, Castells D, Correa O, Casaretto A. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. Vet Parasitol. 1997;73:13-5.

Recebido em: 08/02/2015

Aceito em: 02/12/2016