

AVALIAÇÃO SOROLÓGICA DA TOXOPLASMOSE EM BUBALINOS DE TRÊS MESORREGIÕES DO ESTADO DO PARÁ¹

Valdelice de Lourdes Corrêa Pinheiro¹
Daniela Barbosa da Silva²
Gabriela Capriogli de Oliveira²
Kylma Lorena Saldanha das Chagas³
Alexandre do Rosário Casseb⁴
Sandro Patroca da Silva⁵
Andrea Maria Goes Negrão⁴
Hélio Langoni⁶

RESUMO

Com o objetivo de se investigar a frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bubalinos do Pará, foram escolhidas 256 amostras de soro sanguíneo de fêmeas bubalinas de forma aleatória, provenientes das seguintes mesorregiões Paraenses: Baixo Amazonas (n=87), Marajó (n=124) e Sudeste Paraense (n=45). As amostras faziam parte do banco de soro do laboratório de Microbiologia e Doenças Infecciosas da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA) e foram submetidas ao Teste da Aglutinação Direta Modificada (MAT) para detecção de anticorpos da classe IgG anti- *Toxoplasma gondii*. Das 256 amostras de soros bubalinos analisados por esta técnica, 31,65% (81/256) resultaram positivas com títulos iguais ou maiores que 16, e 68,35% (175/256) delas mostraram-se não reagentes. O título mais frequentemente encontrado foi o de 16 (71,60%), seguido do título 64 (17,28%). Apenas dois animais (2,47%) apresentaram o título 1024 e somente um animal (1,23%) apresentou o título mais alto, de 4096. A presença de búfalos soropositivos é um indicativo da circulação do *Toxoplasma gondii* nas mesorregiões estudadas e isto merece uma atenção especial, visto que esses animais mantêm uma estreita relação com os seres humanos e servem de alimento, podendo, portanto, ser um meio de infecção para os humanos e os outros animais.

Palavras-chave: Toxoplasmose, búfalos, Pará, MAT.

SEROLOGICAL EVALUATION OF TOXOPLASMOSIS IN BUFFALOES FROM THREE MESOREGIONS OF PARÁ STATE

ABSTRACT

Aiming to investigate the frequency of serological antibodies anti-*Toxoplasma gondii* in buffaloes from Pará, it was chosen 256 samples from buffaloes cows randomly. They were from the following mesoregions from Para: Baixo Amazonas (n=87), Marajó (n=124) e Sudeste Paraense (n=45). The samples were from the serum bank of the Laboratory of

¹ Médica Veterinária Residente em Inspeção Higienístico Sanitária de Produtos de Origem Animal na Universidade Federal Rural da Amazônia. Contato para correspondência.

² Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Laboratório de Zoonoses. FMVZ- UNESP - Botucatu.

³ Residente em Diagnóstico por Imagem do Instituto da Saúde e Produção Animal na Universidade Federal Rural da Amazônia.

⁴ Professor Adjunto da Universidade Federal Rural da Amazônia. Instituto da Saúde e Produção Animal, Laboratório de Microbiologia e Doenças Infecciosas dos Animais.

⁵ Instituto da Saúde e Produção Animal, Laboratório de Microbiologia e Doenças Infecciosas dos Animais Universidade Federal Rural da Amazônia.

⁶ Professor Titular Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Laboratório de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu, SP.

Microbiology and Infectious Diseases, from the Federal Rural University of Amazon and were submitted to the Direct Agglutination Test (MAT) for the detection of IgG antibodies to *Toxoplasma gondii*. The 256 buffaloes sera samples analyzed by this technique, 31.65% (81/256) were positive, with titles bigger than or equal to 16 and 68.35% (175/256) of them were non-reactive. The most frequently title found was 16 (71.60%) followed by the title 64 (17.28%). Only two animals (2.47%) had the title 1024 and only one animal (1.23%) had the highest title (4096). The presence of seropositive buffaloes is an indicative of the *Toxoplasma gondii* movement in the mesoregions studied. This fact deserves special attention, because these animals maintain a close relationship with the humans and also serve as food. Therefore, they can be a mean of infection for men and other animals.

Keywords: Toxoplasmosis, buffaloes, Pará, MAT.

EVALUACIÓN SEROLÓGICA DE LA TOXOPLASMOSIS EN BUFALOS DE TRES MESORREGIONES DEL ESTADO PARA

RESUMEN

Con el fin de investigar la frecuencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en los búfalos de Pará, se eligieron 256 muestras de suero sanguíneo de hembras de búfalo al azar, de las siguientes mesorregiones paraenses: Bajo Amazonas (n = 87), Marajó (n = 124) y el sureste de Pará (n = 45). Las muestras fueron parte del banco de suero de Microbiología y Enfermedades Infecciosas de laboratorio de la Universidad Federal Rural de la Amazonia (UFRA) y fueron sometidos a la prueba de aglutinación directa modificada (MAT) para la detección de anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*. De las 256 muestras de suero de búfalos analizado por esta técnica, 31,65% (81/256) fueron positivos con títulos iguales o mayores que 16, y 68,35% (175/256) de ellos mostraron ser no reactivo. El título de 16 fuera el más frecuentemente encontrado (71,60%), seguido del título 64 (17,28%). Sólo dos animales (2,47%) tuvieron el título en 1024 y sólo un animal (1,23%) presentó el mayor título: 4096. La presencia de búfalos seropositivos es indicativo de la circulación del *Toxoplasma gondii* en mesorregiones estudiado y esto merece una atención especial, ya que estos animales mantiene una estrecha relación con los seres humanos y proporcionan alimento y por lo tanto pueden ser un medio de infección a hombres y otros animales.

Palavras chave: toxoplasmosis, búfalos, Pará, MAT.

INTRODUÇÃO

O Pará é uma das 27 unidades federativas do Brasil. É o segundo maior estado do país com uma extensão de 1.248.042,515 km² dividida em 144 municípios. Também é o estado mais populoso da região Norte, contando com uma população de 7.321.493 habitantes. Seu relevo é baixo e plano, sendo que 58% do território se encontra abaixo dos 200 metros. O clima típico da região é quente e úmido, caracterizado por muitas chuvas e temperatura média anual de 26,5°C. É dividido em seis mesorregiões: Baixo Amazonas, Marajó, Metropolitana de Belém, Nordeste Paraense, Sudoeste Paraense e Sudeste Paraense (1).

O Brasil tem atualmente um rebanho de cerca de 3,5 milhões de cabeças de búfalos de água (*Bubalus bubalis*), e segundo dados da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), o Pará abriga o maior rebanho de búfalos do país, com cerca de metade do rebanho brasileiro, o que se deve em parte a boa produtividade e a fácil adaptação destes animais às condições geoclimáticas paraenses (2). A mesorregião do Marajó, por sua vez,

possui metade do rebanho do estado, logo conclui-se que o maior rebanho brasileiro está localizado no Marajó. Já o segundo maior rebanho bubalino está localizado na região do Baixo Amazonas e a região do Sudeste Paraense concentra o quarto maior rebanho (1).

A toxoplasmose é uma importante doença parasitária frequentemente encontrada em nosso meio e devido ao seu potencial zoonótico é de grande importância em saúde pública. Nos animais de produção, a doença é responsável por grandes perdas econômicas, principalmente, devido abortamentos (3).

Com o desenvolvimento de técnicas laboratoriais para o diagnóstico da toxoplasmose, tem sido possível a realização de estudos soropidemiológicos em humanos, assim como em muitas espécies animais (4). Porém de acordo com Silva et al. (2), pouco se sabe sobre a infecção em alguns animais de produção, especialmente em búfalos, nos quais se estima que estes animais, assim como os bovinos, não manifestem sintomatologia clínica quando infectados, devido sua elevada resistência natural ao parasita.

Como já mencionado, o estado do Pará possui o maior rebanho de búfalos do país e há poucas informações sobre a prevalência da infecção nestes animais, que podem, por isso, estarem servindo como fonte de infecção para seres humanos (2). Tomando como base tais informações, a importância que este protozoário tem em saúde pública e a importância das mesorregiões estudadas na representatividade do rebanho bubalino paraense, o objetivo do presente estudo foi avaliar os aspectos sorológicos da toxoplasmose em bubalinos nas mesorregiões do Marajó, Baixo Amazonas e Sudeste Paraense pelo teste de Aglutinação Direta Modificada (MAT).

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de soro pertenciam a três mesorregiões do Pará: Baixo Amazonas (n=87), Marajó (n=124) e Sudeste Paraense (n=45), totalizando 256 amostras. Todas eram provenientes de fêmeas bubalinas, com idade acima de 36 meses e faziam parte do banco de soros sanguíneos do laboratório de Microbiologia e Doenças Infecciosas da Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA). Estas foram escolhidas de forma aleatória, sendo coletadas anteriormente na calha de sangria de um matadouro do estado. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da UFRA, sob o Protocolo 052/2013 (CEUA) – Processo UFRA 23084.016456/2013-37, do projeto intitulado Imunodiagnóstico e Aspectos Epidemiológicos da Leptospirose, Toxoplasmose, Brucelose e Tuberculose em Animais Domésticos no Estado do Pará. Foi utilizada a técnica de Aglutinação Direta Modificada, conforme descrito por Desmonts e Remington (5).

Foram consideradas positivas as diluições onde houve a formação de uma película cobrindo pelo menos metade do fundo da cavidade, e negativas quando o antígeno depositou-se no fundo do poço, ocorrendo à formação de “botão ou anel no fundo” de contorno bem definido. Os animais com títulos iguais ou maiores a 16 foram considerados positivos. Inicialmente, para a triagem desses animais foram feitas diluições seriadas de 1:16 a 1:64. Essas diluições foram escolhidas por serem utilizadas nas maiorias dos trabalhos como ponto de corte. Os soros dos animais com títulos iguais a 64 foram novamente diluídos seriadamente e testados até chegar ao título máximo da reação (4096). Foram utilizados soro controles positivos e negativos previamente testados para a técnica por tentativas e erros. Os soros que responderam em três testes consecutivos foram utilizados como controle.

Para avaliação dos dados sorológicos foi realizada análise estatística descritiva simples, pelo encontro de frequências absolutas e relativas, sendo possível ilustrar, por meio de tabelas e gráficos, os dados sorológicos encontrados. Nas análises estatísticas que compararam a diferença dos resultados por mesorregiões foi utilizado o teste do qui-quadrado (χ^2), tendo nível alfa de 0,05 e utilizando o software BioEstat 5.3.

O Teste de Aglutinação Direta Modificada (MAT) realizado nesta pesquisa foi processado no 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” (UNESP) campus de Botucatu, São Paulo.

RESULTADOS

Das 256 amostras de soros bubalinos analisados pela MAT, para a investigação de animais sororreagentes contra *Toxoplasma gondii*, 31,65% (81/256) tiveram resultados positivos com títulos iguais ou maiores que 16. A figura 1 apresenta os resultados percentuais da ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* nos soros dos búfalos investigados.

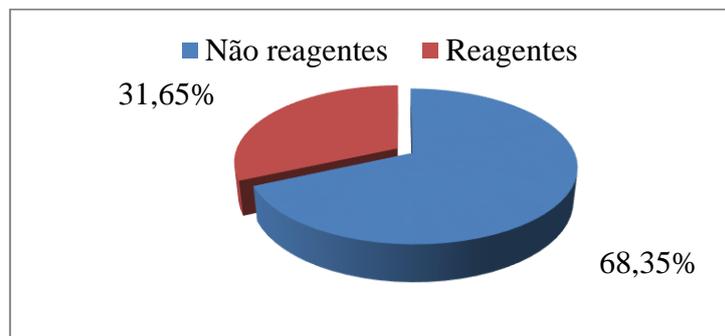


Figura 1. Percentual de bubalinos reagentes e não reagentes no teste da Aglutinação Direta Modificada para pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii*.

Em relação aos perfis sorológicos dos bubalinos examinados de acordo com a mesorregião de procedência dos animais observou-se uma variação de 8,04% a 71,11% na frequência de sororreagentes entre as mesorregiões. O teste do qui-quadrado, quando aplicado a esses dados, revelou haver diferença estatística significativa entre as mesorregiões ($p < 0,0001$; $\chi^2 = 55,09$). O título mais frequentemente encontrado foi 16 (71,60%), seguido do título 64 (17,28%). Apenas seis animais apresentaram o título 256, correspondendo 7,41% do total. Apenas dois animais (2,47%) apresentaram o título 1024 e somente um animal (1,23%) apresentou o título maior, de 4096.

Quanto à titulação encontrada dos bubalinos examinados de acordo com a mesorregião de procedência, observa-se que em todas elas, o título mais frequentemente encontrado foi o de 16 (83,34% no Marajó, 57,15% no Baixo Amazonas e 59,38% no Sudeste Paraense). Somente na região do Sudeste Paraense, obteve-se um reagente (3,12% do total de animais) até a titulação máxima (4096) e somente a região do Baixo Amazonas apresentou um maior número de animais com títulos até 256 (28,57%) do que até 64 (14,28%) (tabela 1).

Tabela 1. Perfil sorológico do *Toxoplasma gondii* em bubalinos de acordo com a mesorregião de procedência dos animais.

Procedência	Positivos (n)	%	Títulos (n)				Total
			16	64	256	1024	
Marajó	42	33,87	35	4	2	1	42
Baixo Amazonas	07	08,04	4	1	2	0	07
Sudeste Paraense	32	71,11	19	9	2	1	31
Total							

n: número de animais

#: porcentagem de animais positivos

Obs: A mesorregião do Sudeste Paraense foi a única que apresentou um reagente até a maior titulação (4096).

DISCUSSÃO

Este estudo demonstra, a partir da MAT, a diferença sorológica para a toxoplasmose em três mesorregiões paraenses, tal qual o proposto por Daguer (6), que argumenta que este tipo de avaliação é válida, pois a infecção toxoplásmica varia de região para região devido a alguns fatores, como: o tamanho da amostra proveniente de cada região, a sensibilidade do teste sorológico empregado e as particularidades de cada local. Baseado nisso foi feita a escolha aleatória dos soros de modo que o maior número de amostras (124) foram provenientes da mesorregião do Marajó, que possui o maior rebanho de búfalos do estado do Pará (cerca de 280.000 cabeças). A mesorregião do Baixo Amazonas possui o segundo maior rebanho bubalino paraense com cerca de 142.000 cabeças, e por isto foi a segunda em maior número de amostras (87). Já a região do Sudeste Paraense foi a região com menos amostras de soros analisadas (45) devido esta ser a quarta em produtividade bubalina no estado do Pará (7900 cabeças em média) (1).

Os resultados de bubalinos soropositivos encontrados neste estudo (31,65%) foi bastante superior aos demais encontrados utilizando a MAT como técnica diagnóstica. Dubey et al. (7) não conseguiram determinar anticorpos anti-*T.gondii* em búfalos do Egito, a partir desta técnica. Doze anos depois, no entanto, Shaapan et al. (8) repetiram o estudo e encontraram 22,5% de soropositivos no local.

Os resultados revelados na presente pesquisa são ainda superiores aos encontrados em diferentes partes do Brasil. Pita Gondim et al. (9), utilizando o Teste da Aglutinação em Latex, encontraram 3,85% de bubalinos soropositivos na Bahia. Silva et al. (10) no Pará, encontraram somente 1,1% de búfalos positivos, utilizando a RIFI como técnica diagnóstica. Este estudo demonstrou maior proximidade de resultados com aquele realizado por Silva et al. (2) também no Pará. Estes autores encontraram 41,6% de soropositivos pelo ELISA e 36% pela RIFI. Em São Paulo, Souza et al. (11) também encontraram um elevado número de animais sororreagentes (49,9%) pela RIFI. Esta diferença de animais sororreagentes entre as diferentes regiões se deve basicamente ao tipo de manejo dos animais, a quantidade de amostras coletadas, bem como o teste sorológico utilizado (12). Essa discrepância de achados, ainda, de acordo com Silva et al. (2), pode estar diretamente relacionada à sensibilidade e especificidade das diferentes técnicas de diagnóstico utilizadas bem como a ausência de um título de corte padrão entre as mesmas.

A elevada prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* encontrada neste estudo pode ser atribuída, possivelmente, ao ineficiente manejo sanitário dos rebanhos estudados, e a ausência de um diagnóstico rotineiro aliado ao controle deficiente (13). Isto tudo decorre, muitas vezes, da falta de informação do produtor frente aos mecanismos de transmissão e prevenção da doença. Fatores socioeconômicos das regiões estudadas também devem ser levados em consideração quando se analisa a positividade de qualquer doença. Quanto a isso, temos como exemplo a mesorregião do Marajó, uma das regiões alvo deste estudo. Esta região possui um dos menores índices de desenvolvimento humano (IDH) do país e nela se observa a ocorrência de múltiplas doenças infectocontagiosas (2). Dentre estas, temos a toxoplasmose, como demonstrado neste trabalho.

No entanto, de acordo com Silva e Silva (14) a mesorregião do Sudeste Paraense juntamente com a metropolitana de Belém, são economicamente mais expressivas que as demais mesorregiões. E, neste estudo, a mesorregião do Sudeste Paraense foi aonde mais se obteve búfalos reagentes (71,11%), apesar da boa condição socioeconômica da localidade. Porém, apesar de ser a mesorregião mais desenvolvida em relação às outras estudadas, é a região do Pará que atualmente apresenta um dos maiores índices de desmatamento, o que favorece a movimentação de felinos silvestres – responsáveis pela contaminação ambiental – no meio rural (14).

Os baixos títulos apresentados pelos bubalinos no presente trabalho (16 em 71,60% dos positivos e 17,68% na titulação 64) corroboram com os demais estudos realizados no Pará, indicando uma possível infecção subclínica nesses animais. Silva et al. (2) utilizando ELISA e RIFI como métodos diagnósticos, encontraram 62,71% dos búfalos com título igual a 64. Silva et al. (10), também relataram a maioria dos sororreagentes com título de 64, utilizando a RIFI. Da mesma forma, Benigno et al. (15), pelo teste de aglutinação indireta, relataram 71,43% dos bovinos com titulação 64. Existe, no entanto, a possibilidade de alguns desses resultados serem falsos positivos por possível reação cruzada com outros protozoários Apicomplexa, especialmente do gênero *Neospora*.

Com relação às mesorregiões, a mais frequentemente estudada pela maioria dos autores é a região do Marajó, e isso se dá pela importância econômica que a criação de búfalos tem nessa região. As demais mesorregiões não são estudadas como um todo, no entanto, alguns estudos abordam alguns municípios provenientes destas. Silva et al. (2), realizaram estudo com amostras provenientes de Paragominas (mesorregião do Sudeste Paraense) e encontraram 15 sororreagentes de 20 coletados, o equivalente a 75% de amostras positivas (no presente estudo foi encontrado 33,87% de sororreagentes). Silva et al (10), observaram, no município de Xinguara, também pertencente ao Sudeste Paraense, uma prevalência em torno de 38%, se aproximando dos estudos de Silva et al. (2). Estes mesmos autores estudaram ainda o município de Oriximiná (mesorregião do Baixo Amazonas) e encontraram 80% de sororreagentes, valor este bem acima do encontrado no presente trabalho (8,04%).

As diferenças regionais da frequência da infecção por *T. gondii* nas diferentes espécies já são bem conhecidas (6). Os resultados da presente pesquisa corroboram esses fatos, uma vez que foi observada diferença estatisticamente significativa entre a distribuição dos bubalinos reagentes de acordo com as três mesorregiões de procedência dos animais ($p < 0,0001$; $\chi^2 = 55,09$).

CONCLUSÕES

A presença de búfalos soropositivos, ainda que com titulação baixa, é um indicativo da circulação do *Toxoplasma gondii* nas mesorregiões estudadas (Baixo Amazonas, Marajó e Sudeste Paraense). O elevado número de búfalos soropositivos nestas mesorregiões merece uma atenção especial, visto que esses animais mantêm uma estreita relação com os seres humanos e servem de alimento, podendo, portanto, ser um meio de infecção para humanos e os outros animais.

- Data de aprovação na comissão de ética: 31/01/2014.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2010 [cited 2010 Set 30]. Available from: <http://www.ibge.gov.br>.
2. Silva JB, Fonseca AH, Andrade SJT, Silva AGM, Oliveira CMC, Barbosa JD. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em búfalos (*Bubalus bubalis*) no estado do Pará. *Pesqui Vet Bras*. 2013;33:581-5.
3. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii* from animals to humans. *Int J Parasitol*. 2000;30:1217-68.
4. Liesenfield O. Oral Infection of c57BL/6 Mice with *Toxoplasma gondii*: a new model of inflammatory bowel disease? *J Infect Dis*. 2002;185:96-101.

5. Desmonts G, Remington JS. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. J Clin Microbiol. 1980;11:562-8.
6. Daguer H. Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em bovinos e funcionários de matadouro da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil [dissertação]. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2003.
7. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev. 1998;11:267-99.
8. Shaapan RM, El-Nawawy FA, Tawfik MA. Sensitivity and specificity of various serological tests for detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected sheep. Vet Parasitol. 2008;153:359-62.
9. Pita Gondim LFP, Barbosa Jr HV, Ribeiro Filho CHA, Saeki H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. Vet Parasitol. 1999;82:273-6.
10. Silva SP, Mota RA, Faria EB, Fernandes EFTS, Neto OLS, Albuquerque PPF, et al. Anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em búfalas (*Bubalis bubalis*) criadas no Estado do Pará. Pesqui Vet Bras. 2010;30:443-6.
11. Souza CO, Tashima NT, Silva MA, Tumitan ART. Estudo transversal de toxoplasmose em alunas de um curso superior da região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop. 2010;43:59-61.
12. Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet Parasitol. 2002;106:121-53.
13. Viana RB, Del Fava C, Moura ACB, Cardoso EC, Araújo CV, Monteiro BM, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum*, *Brucella* sp e *Leptospira* spp, em búfalos (*Bubalis bubalis*) criados na Amazônia. Arq Inst Biol. 2009;76:453-7.
14. Silva FC, Silva LJM. História regional e participação social nas mesorregiões paraenses. Papers NAEA. 2008;226:1-22.
15. Benigno RNM, Francez LC, Souza CJ, Souza CJ, Serra-Freire NM. Avaliação soropidemiológica da toxoplasmose em bovídeos criados no Marajó e encaminhados para abate em Belém-Pará. Rev Cienc Tecnol. 2009;9:14-23.

Recebido em: 29/02/2015

Aceito em: 31/10/2016