

DETECÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EM BOVINOS DE CORTE ABATIDOS EM GUARAPUAVA, PR, BRASIL



Anderson Barbosa de Moura¹, Silvia Cristina Osaki², Dauton Luiz Zulpo³,
João Luís Garcia³, Everton Borba Teixeira¹

¹ Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias - a2abm@cav.udesc.br

² Universidade Federal do Paraná, Campus de Palotina

³ Universidade Estadual de Londrina

RESUMO: Com os objetivos de determinar a ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em gado de corte da região de Guarapuava, Paraná e de correlacionar esta com a idade, o sexo e a raça dos animais, amostras de sangue de 250 bovinos foram obtidas e enviadas ao laboratório de Zoonoses e Saúde Pública do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina. Após obtenção dos soros, estes foram armazenados a -20°C, até a realização dos exames. A detecção de anticorpos anti-*T. gondii* foi realizada utilizando-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (cut off $\geq 1:64$). Os dados foram tabulados e analisados por meio dos testes exato de Fisher e de qui-quadrado ($p \leq 0,05$) para correlacionar os resultados da sorologia com as variáveis analisadas. Das 250 amostras de soro avaliadas, 77 (30,8%) foram positivas para *T. gondii*. Os títulos obtidos foram 1:64 (70) e 1:256 (sete). Os resultados demonstram ampla distribuição do protozoário entre os rebanhos bovinos de corte na região de Guarapuava, PR. Animais soropositivos estavam presentes em 56% (14/25) das propriedades avaliadas. Animais sem raça definida apresentaram maiores índices de soropositivos para *T. gondii* ($P=0,001$). A idade apresentou correlação positiva com a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* ($P=0,01$), indicando transmissão horizontal do agente. A alta incidência de bovinos de corte sororreagentes ao *T. gondii* observada neste trabalho indica o risco potencial do consumo de carne bovina para a infecção toxoplásica humana.

Palavras-chave: gado de corte; RIFI; *Toxoplasma gondii*

DETECTION OF ANTI-*Toxoplasma gondii* ANTIBODIES IN BEEF CATTLE SLAUGHTERED ON GUARAPUAVA CITY, PARANÁ STATE, BRAZIL

ABSTRACT: With the aim to determine the occurrence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in beef cattle of the region of Guarapuava, Paraná State, Brazil and to correlate this with the age, the sex and the breed of the animals, samples of blood of 250 bovine were obtained and sent to the Zoonoses and Public Health Laboratory of the Preventive Veterinary Medicine Department of the State University of Londrina. After getting the serums, these were stored to -20°C, up to the realization of the examinations. The detection of antibodies anti-*T. gondii* was carried out by IFAT (cut off $\geq 1:64$). The statistical analysis was carried out through Fisher's exact and of qui-square tests ($p \leq 0,05$) to correlate the results of the serology with the analyzed variables. Of 250 evaluated samples of serum, 77 (30.8 %) were positive for *T. gondii*. The titles obtained were 1:64 (70) and 1:256 (seven). The results demonstrate large distribution of the protozoa among beef cattle in the region of Guarapuava, PR. Animals seropositives were present in 56% (14/25) evaluated properties. Animals mix breed presented higher rates of seropositives for *T. gondii* ($P=0.001$). The age presented positive correlation with the occurrence of antibodies against *T. gondii* ($P=0.01$), indicating horizontal transmission of the agent. The high incidence of beef cattle positives to *T. gondii* observed in this work indicates the potential risk of the consumption of meat cattle for the human toxoplasmic infection.

Key words: beef cattle; IFAT; *Toxoplasma gondii*

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário coccídio, parasito intracelular obrigatório, que acomete praticamente todas as espécies animais homeotérmicas (Dubey e Beattie, 1988). Normalmente o *T. gondii* parasita seus hospedeiros sem a manifestação de sinais clínicos, porém é capaz de desencadear doença severa, principalmente na sua forma congênita (Dubey, 1993).

A toxoplasmose animal é uma doença parasitária de elevada importância uma vez que os animais servem de fonte direta ou indireta de infecção para o ser humano, além dos prejuízos causados nos animais de produção e/ou de estimação. A presença do parasita em carnes destinadas ao consumo humano tem especial interesse em saúde pública (Acha e Szyfres, 2003).

A literatura científica (Dubey e Beattie, 1988; Dubey e Thulliez, 1993; Esteban-Redondo et al., 1999; Tenter et al., 2000) demonstra que bovinos são mais resistentes à infecção toxoplásrica que ovinos e suínos. Porém, Dubey e Thulliez (1993) isolaram *T. gondii*, por meio do bioensaio em gatos, de diversos tecidos de bezerros inoculados oralmente com oocistos da cepa GT-1 do protozoário, mesmo com os animais apresentando queda no título de anticorpos de 1:8000 para 1:20 aos 19 meses pós-infecção.

Em estudo sorológico realizado na Suíça (Wyss et al., 2000) em bovinos, ovinos, equinos e suínos foram detectados anticorpos contra *T. gondii* principalmente em bovinos (vacas e bezerros) e ovinos. Em contraste, Hashemi-Fesharki (1996), analisando amostras de soro de 2000 bovinos não observou soroconversão em nenhum dos animais testados.

Diferentemente do *Neospora caninum*, o envolvimento do *T. gondii*,

em problemas da esfera reprodutiva em bovinos não tem sido demonstrado, de forma conclusiva. Entretanto, Canada et al. (2002), durante duas tentativas de isolamento do *N. caninum* de fetos bovinos abortados, isolaram o *T. gondii* por meio do bioensaio dos cérebros fetais em camundongos. Um dos fetos era oriundo de Portugal, com idade presuntiva gestacional de cinco meses e o outro, dos EUA, abortado a termo.

A importância da espécie bovina como fonte de infecção toxoplásrica para o ser humano pode ser verificada pelas altas taxas de soroconversão entre magarefes, como observado por Fayomi et al. (1987), no Benin, e Daguer et al. (2004), no Paraná, onde 87% e 84,4% dos profissionais avaliados foram sororreagentes para *T. gondii*, respectivamente. Também o leite bovino e seus derivados, podem servir como fonte de infecção para o ser humano, como demonstram Hiramoto et al. (2001) por meio de infecção experimental do leite, embora Dubey (1986) considere de pouca importância epidemiológica a infecção do ser humano por ingestão de leite bovino.

Uma das mais importantes vias de infecção toxoplásrica para o ser humano é a ingestão de cistos viáveis, presentes em carnes de animais infectados e que, à linha de inspeção, não são visualizados. Vários estudos demonstram associação entre toxoplasmose humana e o consumo de carne bovina (Bobic et al., 1998; Baril et al., 1999; Cook et al., 2000). Embora Dubey et al. (2005) não tenham isolado *T. gondii* viáveis a partir de cortes de carne bovina, Wyss et al. (2000), na Suíça, detectaram, pela reação em cadeia da polimerase, a presença do protozoário em tecidos bovinos. Portanto, a determinação da prevalência desta parasitose em animais destinados ao consumo humano é de grande

auxílio para o conhecimento da epidemiologia desta zoonose (Moura et al., 2007).

Devido à importância deste agente em rebanhos bovinos, este trabalho teve como objetivos, descrever a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* em gado de corte abatido em Guarapuava, PR assim como relacionar esta com a idade, o sexo e a raça dos animais.

MATERIAL E MÉTODOS

No período de janeiro a julho de 2005 foram colhidas amostras de sangue de bovinos de corte ($n=250$, equivalente a 10% do total de animais abatidos no período), no momento da sangria, em um abatedouro de Guarapuava, região centro-oeste do Estado do Paraná. As amostras, devidamente identificadas e acondicionadas, foram enviadas ao laboratório de Zoonoses e Saúde Pública do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da Universidade Estadual de Londrina (UEL). Após obtenção dos soros, estes foram armazenados a -20°C , até a realização dos exames. Informações acerca da raça, sexo e idade dos animais abatidos foram obtidas.

A pesquisa de anticorpos contra *T. gondii* foi realizada pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) segundo Camargo (1964) com *cut off* 1:64 (Santos et al., 2005). Taquizoítos (mantidos por meio de replicações periódicas em camundongos junto ao Laboratório de Protozoologia do DMV/UEL) da cepa RH de *T. gondii* foram utilizados como antígeno (Camargo, 1974). Soros bovinos positivos e negativos (Laboratório de Protozoologia do DMV/UEL) foram utilizados como controle. Foram consideradas positivas as reações cujos taquizoítos apresentavam fluorescência periférica total (Paré et al., 1995). As

amostras positivas na diluição de corte foram novamente testadas em diluições sequenciais na base quatro até a titulação final.

Os dados foram tabulados e analisados estatisticamente pelos testes exato de Fisher (R Development Core Team, 2009) e de qui-quadrado ($p \leq 0,05$) para correlacionar os resultados da sorologia com as variáveis analisadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 250 amostras de soro avaliadas, 77 (30,8%) foram positivas para *T. gondii*. Os títulos obtidos foram 1:64 (70) e 1:256 (07). Animais soropositivos estavam presentes em 14 das 25 (56%) propriedades avaliadas. Os resultados demonstram a ampla distribuição do agente entre os rebanhos bovinos de corte da região de Guarapuava, PR.

Poucos são os relatos da soroprevalência de *T. gondii* em gado de corte. Marana et al. (1994), analisando amostras de sangue (RIFI, *cut off* 1:64) de gado corte do norte do Paraná e do sul de Mato Grosso do Sul (MS), verificaram sororreagentes em 32,34%. Arias et al. (1994), na Costa Rica, evidenciaram 34,4% dos animais reagentes ao *T. gondii*, considerando positivos animais reagentes na diluição $\geq 1:20$ (RIFI). Em contraste, Hashemi-Fesharki (1996), analisando amostras de soro de 2000 bovinos por meio das técnicas de aglutinação em látex e hemaglutinação indireta, diluições 1:8 e 1:64, respectivamente, não observou soroconversão em nenhum dos animais testados. Araújo et al. (1998) avaliaram gado de corte do MS e detectaram 4,3% de soropositivos para *T. gondii*. Num estudo sorológico realizado na Suíça (Wyss et al., 2000), em várias espécies animais, anticorpos contra *T. gondii* foram detectados principalmente em bovinos (vacas e bezerros) e ovinos.

Meireles et al. (2003), em São Paulo, encontraram, pelo método de ELISA, 11% de positividade para *T. gondii* nos bovinos avaliados. More et al. (2008), investigando gado de corte, na Argentina, detectaram 91% de soropositividade para *T. gondii*. Estes autores também utilizaram a RIFI, porém considerando positivas as amostras reagentes nas diluições $\geq 1:25$, o que explica a alta prevalência observada. Gilot-Fromont et al. (2009), na França, detectaram 7,8% prevalência (Teste de Aglutinação Modificado - MAT) para toxoplasmose em bovinos de corte com 87,5% dos rebanhos apresentando animais positivos.

A raça dos bovinos apresentou correlação positiva ($P=0,001170$) com a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii*. Dos animais positivos, 59,7% eram animais sem raça definida (SRD). Na há, na literatura científica, informações de que o padrão racial possa interferir na soroprevalência para *T. gondii* em bovinos. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de que 78,3% dos animais SRD positivos tinham idade ≥ 24 meses. Araújo et al. (1998) não observaram diferenças significativas entre soroprevalência para *T. gondii* e padrão racial. Estes autores analisaram animais mestiços e da raça Nelore.

A idade dos animais também apresentou diferença estatística significativa ($P=0,01059$). Entre os bovinos positivos para *T. gondii*, 57,1% tinham idade superior 24 meses, indicando a maior chance de ocorrência de transmissão horizontal. Arias et al. (1994) também observaram associação entre idade e ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* porém, diferentemente do presente trabalho, os autores verificaram maior índice de soropositivos nos animais com idade entre um e três anos, seguido por um decréscimo no número de sororreagentes entre os bovinos mais velhos.

O sexo não apresentou correlação ($P=0,11$) com a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii*. Arias et al. (1994) e Daguer et al. (2004) também não observaram associação entre sexo e soroprevalência para *T. gondii* em bovinos.

A alta incidência de bovinos de corte sororreagentes ao *T. gondii* observada neste trabalho suscita cuidados com a manipulação e o consumo da carne bovina, a mais consumida pela população brasileira e que, com o objetivo de preservar o sabor, geralmente é servida mal passada, favorecendo a infecção toxoplasmica humana. Wyss et al. (2000) correlacionaram sorologia e detecção (PCR) de *T. gondii* e identificaram a carne bovina como fonte de *T. gondii* para o ser humano.

CONCLUSÃO

A ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* em gado de corte da região de Guarapuava, PR, é de 30,8%. Animais sem raça definida apresentaram índices maiores ($P=0,001$) de soropositivos para *T. gondii*. A idade apresentou correlação positiva com a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* ($P=0,01$), indicando a ocorrência de transmissão horizontal do agente.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and communicable diseases common to man and animals**. 3 ed. Washington: PAHO, 2003. Vol.3. 395p.
- ARAUJO, F.R. De; CARVALHO, C.M.E.; BALBUENA, C.B. Levantamento sorológico para *Toxoplasma gondii* em bovinos de corte do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.20, n.5, p.201-203, 1998.
- ARIAS, L.M.; REYES, L.; CHINCHILLA, M. et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa) in meat producing animals in

- Costa Rica. **Revista de Biologia Tropical**, v.42, n.1-2, p.15-20, 1994.
- BARIL, L; ANCELLE, T.; GOULET, V. et al. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case-control study in France. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.31, n.3, p.305-309, 1999.
- BOBIC, B.; JEVREMOVIC, I.; MARINKOVIC, J. et al. Risk factors for *Toxoplasma* infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. **European Journal of Epidemiology**, v.14, n.6, p.605-610, 1998.
- CANADA, N.; MEIRELES, C.S.; ROCHA, A. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from naturally infected aborted bovine fetuses. **Journal of Parasitology**, v.88, n.6, p.1247-1248, 2002.
- CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.6, n.3, p.117-118, 1964.
- CAMARGO, M.E. Introdução as técnicas de imunofluorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v.10, p. 143-171. 1974.
- COOK, A.J.C.; GILBERT, R.E.; BUFFOLANO, W. et al. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. **British Medical Journal**, v.321, n.7254, p.142-147, 2000.
- DAGUER, H.; VICENTE, R.T.; COSTA, T. et al. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. **Ciência Rural**, v.34, n.4, p.1133-1137, 2004.
- DUBEY, J.P. A review of toxoplasmosis in cattle. **Veterinary Parasitology**, v.22, n.3, p.177-202, 1986
- DUBEY, J.P. *Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming of human and animals. In: KREIER, J.P. **Parasitic protozoa**. 2 ed. San Diego: Academic Press, 1993. p.1-157.
- DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton: CRC Press Inc., 1988. 220 p.
- DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **American Journal Veterinary Research**, v.54, n.2, p.270-273, 1993.
- DUBEY, J.P.; HILL, D.E.; JONES, J.L. et al. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. **Journal of Parasitology**, v.91, n.5, p.1082-1093, 2005.
- ESTEBAN-REDONDO, I.; MALEY, S.W.; THOMSON, K. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. **Vet. Parasitol.**, v. 86, n. 03, p. 155-171, 1999.
- FAYOMI, B.; DUONG, T.H.; KARAGIRWA, A. et al. Serological study of toxoplasmosis and echinococcosis in cattle breeders and abattoir personnel in Benin. **Medecine Tropicale: Revue du Corps de Santé Colon**, v.47, n.2, p.149-151, 1987.
- GILOT-FROMONT, E.; AUBERT, D.; BELKILANI, S. et al. Landscape, herd management and within-herd seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in beef cattle herds from Champagne-Ardenne, France. **Veterinary Parasitology**, v.161, n.1, p.36-40, 2009.
- HASHEMI-FESHARKI, R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. **Veterinary Parasitology**, v.61, n.1-2, p.1-3, 1996.
- HIRAMOTO, R.M.; MAYURBAURLBORGES, M; GALISTEO JR, A.J. et al. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and home-made cheese. **Revista de Saúde Pública**, v.35, n.2, p.113-118, 2001.
- MARANA, E.R.M.; NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de corte, abatidos em matadouros do norte do Paraná-Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.15, n.1, p.38-39, 1994.
- MEIRELES, L.R.; GALISTEO JUNIOR, A. J. et al. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo state, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.40, n.4, p.267-271, 2003.
- MORE, G.; BASSO, W.; BACIGALUPE, D. et al. Diagnosis of *Sarcocystis cruzi*, *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in cattle. **Parasitology Research**, v.102, n.4, p.671-675, 2008.
- MOURA, A.B.; OSAKI, S.C.; ZULPO, D.L. et al. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.1, p.54-56, 2007.
- PARÉ, J.P.; HIETALA, S.K.; THURMOND, M.C. Interpretation of an indirect fluorescent antibody test for diagnosis of *Neospora* sp. infection in

- cattle. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.7, p.273-275, 1995.
- R Development Core Team. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2009. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.
- SANTOS, A.P.M.E.; NAVARRO, I.T.; BRACARENSE, A.P.F.R.L. et al. Dairy cow abortion associated with *Neospora caninum* and other infectious agents. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.57, n.4, p.545-547, 2005.
- TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**, v. 30, v. 12/13, p. 1217-1258, 2000.
- WYSS, R.; SAGER, H.; MULLER, N. et al. Distribution of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* under aspects of meat hygiene. **Schweizer Archiv fur Tierheilkunde**, v.142, n.3, p.95-108, 2000.