

Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia.

Factors related to the presence of IgG antibodies anti-Toxoplasma gondii in dairy goats in Bahia state.

UZÊDA, R.S.^{1*}; FERNÁNDEZ, S.Y.¹; JESUS, E.E.V.²; PINHEIRO, A.M.²; AYRES, M.C.C.³; SPINOLA, S.⁴; BARBOSA JUNIOR, H.V.³; ALMEIDA, M.A.O.³

1. Bolsista Iniciação Científica PIBIC-CNPq. EMV-UFBA. *e-mail: rouzeda@ufba.br

2. Pós-graduando em Imunologia. ICS-UFBA.

3. Professor Doutor. EMV-UFBA.

4. Médica Veterinária autônoma.

RESUMO

A toxoplasmose constitui-se uma das principais causas de abortos e natimortos em caprinos leiteiros. O desenvolvimento da caprinocultura leiteira no Estado da Bahia, com o manejo intensivo e semi-intensivo têm permitido a propagação de vários coccídeos, incluindo o *Toxoplasma gondii*. A presença deste protozoário foi determinada em nove rebanhos, para tanto, utilizaram-se 373 caprinos de diferentes raças, categorias zootécnicas e idades. Do total de animais avaliados, 61 (16,35%) apresentaram reações positivas para anticorpos IgG anti-*T.gondii* (ponte de corte de 1:16), segundo a técnica de imunofluorescência indireta. Em todos os rebanhos foram encontrados animais positivos, com uma amplitude de variação entre 2 e 35% com títulos de 1:16 (13,1%), 1:32 (16,4%), 1:64 (16,4%), 1:128 (27,8%), 1:256 (11,5%) e > de 1:256 (14,8%). Considerando a categoria zootécnica, as fêmeas em lactação obtiveram o maior percentual de positividade (22,8%) seguida de fêmeas gestantes (20,8%), fêmeas secas (17%) e fêmeas jovens (11,1%). Com relação às raças estudadas, a Parda Alpina apresentou maior frequência de positivos (18,8%), seguida da raça Saanen (16,8%) e Anglo Nubiana (4,8%). A faixa etária que apresentou maior número de reações positivas foi a de quatro a seis anos (26,67%). Os resultados analisados indicaram uma ampla distribuição deste coccídeo nos rebanhos caprinos leiteiros.

Palavras-chave: Caprino, *Toxoplasma gondii*, IFI.

SUMMARY

Toxoplasmosis is one of the most common causes of stillborn and abortions in dairy goats. The development of dairy goats in Bahia, bred in partial and full confinement, has allowed the propagation of some parasites, including *Toxoplasma gondii*. To evaluate the presence of this protozoan parasite in nine herds, 373 goats were used. The animals were from various breeds, zootecnic categories, and ages. Overall, 61 (16.3%) goats presented IgG antibodies specific for *T.gondii* (cutoff 1:16), by an indirect fluorescent antibody test. Positive animals were found in all flocks, ranging from 2 to 35%, with titers of 1:16 (13.1%), 1:32 (16.4%), 1:64 (16.4%), 1:128 (27.8%), 1:256 (11.5%) and > of 1:256 (14.8%). Regarding the zootecnic category, the females in lactation had the highest percentage of positive reactions (22.8%) followed by pregnant (20.8%), non-pregnant (17%) and young females (11.1%). Considering the breeds, it was observed that Alpine presented the greatest frequency of positives (18.8%), followed by Saanen (16.8%) and Nubian (4.8%). The ages which presented the highest numbers of positive reactions were from four to six years (26.7%). These results indicate a large distribution of this protozoan in dairy goat.

Key-words: Goat, *Toxoplasma gondii*, IFAT.

INTRODUÇÃO

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário coccídeo de distribuição mundial, capaz de infectar a maioria dos animais homeotérmicos. Este parasito, descrito desde o início do século passado (NICOLLE e MANCEAUX, 1909), causa a toxoplasmose que é considerada uma zoonose de grande relevância para a saúde pública e para a produção animal, uma vez que a infecção pelo parasito gera grandes perdas econômicas, na forma de abortos, natimortos e alterações neonatais em várias espécies, inclusive na caprina (DUBEY, 1981 a,b).

A caprinocultura representa um segmento econômico importante para o nordeste brasileiro. Esta região possui cerca de 93% do rebanho nacional e a Bahia retém 38% do total brasileiro (SIDRA, 2002), sendo fundamental estudar as doenças que interferem na produção dos rebanhos caprinos, dentre essas, destaca-se a toxoplasmose.

A primeira evidência da toxoplasmose em caprinos foi registrada por Feldman e Miller (1956), quando examinavam rebanhos do Estado de Nova York, nos Estados Unidos. Desde então diversos inquéritos têm sido realizados em vários países, inclusive no Brasil. Na Espanha, demonstrou-se que 63,31% do total de 1052 caprinos apresentaram reação positiva para *T. gondii*, segundo o teste ELISA. (RODRIGUEZ-PONCE *et al.*, 1995). Em Gana, África, a prevalência de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi determinada por Van der Puije *et al.* (2000) e 26,8% de positividade no total de 526 caprinos foi encontrada, pela técnica de ELISA Bisson *et al.* (2000), analisaram 784 amostras de caprinos provenientes de Uganda, encontrando 31% de reações positivas para *T. gondii*, utilizando a mesma técnica.

No Brasil, vários relatos têm sido documentados em relação à soropositividade na espécie caprina.

Machado *et al.* (1987), avaliaram 372 amostras de caprinos do Estado de Minas Gerais, verificando uma frequência de 36,8%, segundo a técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) e Chiari *et al.* observaram 68% de positividade do total de 343 caprinos neste Estado. Sella *et al.* (1994), utilizando a IFI, detectaram 30,71% de reações positivas, dentre as 153 amostras sorológicas de caprinos provenientes do Estado do Paraná. Em São Paulo foram registradas as soroprevalências de 14,5% (64/442) e 28,7% (113/394), determinadas pela técnica de IFI por Mainard *et al.* (2003) e Figliuolo *et al.* (2004) respectivamente.

A presença de anticorpos anti-*T. gondii* foi relatada em 10% das 100 amostras de soros caprinos do estado da Bahia (AMARAL, SANTOS e REBOUÇAS, 1978). Outro estudo revelou a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* de 28,93% numa população de 439 caprinos neste mesmo Estado, utilizando a técnica de aglutinação em látex (GONDIM *et al.* 1999).

Os fatores relacionados à raça, sexo, idade e categoria zootécnica foram estudados por Galuzo *et al.* (1970), Ruppanner *et al.* (1978), Chhabra e Mahajan (1982), Machado *et al.* (1987), Chiari *et al.* (1987), Sella *et al.* (1994) e Van der Puije *et al.* (2000).

A interferência da toxoplasmose na cadeia produtiva caprina e o potencial zoonótico justificam conhecer a distribuição do *T. gondii* em populações caprinas, assim como da toxoplasmose como uma zoonose.

Neste trabalho determinou-se a frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia, utilizando a reação de Imunofluorescência Indireta.

ANIMAIS

Foram examinadas 373 amostras sorológicas de caprinos leiteiros, com idade variando de dois meses a nove anos, machos e fêmeas (jovens, secas, em lactação e gestação), criados em regime intensivo e semi-intensivo de exploração. Os animais pertenciam a oito rebanhos de quatro Microrregiões Homogêneas (MRH) do estado da Bahia localizadas num raio de 170 km do município de Salvador: MRH de Salvador, compreendendo os municípios de Simões Filho, Lauro de Freitas, e São Francisco do Conde. MRH de Alagoinhas, compreendendo os municípios de Alagoinhas e Araçás; MRH de Catu, compreendendo o município de Amélia Rodrigues; e MRH de Feira de Santana, equivalente ao município de Feira de Santana.

MATERIAIS

Antígeno de *Toxoplasma gondii*

Foram realizadas inoculações em camundongos via intraperitoneal, com a cepa AS-28 de *T. gondii*. Após quatro dias da inoculação, os animais apresentavam fotossensibilidade, pêlos eriçados e apatia. Foram sacrificados e, em seguida, realizado o lavado peritoneal com 5 ml de tampão fosfato (PBS), observando-se então a presença de taquizoítos em amostras do lababo por meio de microscópio (aumento de 40x).

Produção de antígenos e Sensibilização das lâminas

O lavado peritoneal foi purificado em coluna cromatográfica de SEPHADEX G-25, os taquizoítos contados em câmara de Neubauer e realizadas diluições, em solução de fosfato tamponada filtrada (PBS), na concentração de 500 a 1000 taquizoítos por microlitro.

Para sensibilização das lâminas, 10 µL da suspensão purificada foram colocados em cada poço e, após a secagem das lâminas em estufa a 37°C, as mesmas foram armazenadas em freezer a -20°C.

Imunofluorescência Indireta

Na reação de Imunofluorescência Indireta, as amostras de soro foram diluídas no ponto de corte de 1:16. Uma amostra de 10 µL da diluição de cada soro foi transferida para um poço lâmin, incubada a 37°C por 30 minutos e lavada duas vezes por imersão em PBS por 5 minutos. Após secagem em estufa a 37°C, cada poço foi recoberto por 10 µL da diluição do conjugado anti-IgG caprina, seguindo-se a incubação, lavagem e secagem como descrito anteriormente. As lâminas foram montadas com glicerina a 80% e laminula, procedendo a leitura em microscópio de luz ultravioleta em objetiva de 40x. Para as amostras com reação positiva na diluição 1:16, realizaram-se diluições seqüências para a determinação dos títulos.

Análise Estatística

O teste estatístico utilizado foi o χ^2 , do programa Primer of Biostatistics (Versão 3,02) e considerado para resultados significativos $P < 0,05$.

RESULTADOS e DISCUSSÃO

Do total de 373 amostras 61 (16,4%) apresentaram reação positiva para anticorpos anti-*T. gondii*. (Tab. 1). Este achado demonstra a distribuição do *Toxoplasma gondii* em rebanhos no estado da Bahia.

Tabela 1. Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, detectada por reação na Imunofluorescência Indireta, em rebanhos de caprinos leiteiros do estado da Bahia, 2002.

Rebanhos	Total de amostras	Positivos	(%)
1	34	3	(8,8)
2	60	21	(35,0)
3	15	2	(13,3)
4	20	4	(20,0)
5	49	4	(8,2)
6	120	18	(15,0)
7	45	1	(2,0)
8	30	8	(26,7)
Total	373	61	(16,4)

O percentual de soropositividade para *T. gondii* neste trabalho foi similar aos resultados encontrados por Amaral, Santos e Rebouças (1978), abaixo dos valores encontrados por Machado et al. (1987) e Sella *et al.* (1994) e menor ainda que Chiari *et al.* (1987). Os autores citados, por meio da técnica IFI, encontraram frequências de reações positivas com variações de 10%, 36,8%,

30,71% e 68%, respectivamente. Verificou-se diferença estatística em relação às frequências de reações positivas entre os rebanhos $P < 0,0001$.

Esta diferença conseqüentemente foi também encontrada através da análise das Microrregiões Homogêneas, observando-se na Microrregião de Alagoinhas a maior frequência de sororeagentes. (Tab. 2).

Tabela 2. Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, detectada por reação na técnica de Imunofluorescência Indireta, em rebanhos de caprinos leiteiros nas quatro Microrregiões Homogêneas do Estado da Bahia, 2002.

Microrregião Homogênea	Total de amostras	Positivos	(%)
Alagoinhas	90	29	32,2
Catu	45	1	2,2
Feira de Santana	120	18	15
Salvador	118	13	11
Total	373	61	16,4

As Tabelas 3 e 4 mostram a frequência de reações positivas com relação ao sexo e à categoria zootécnica dos animais estudados.

Tabela 3- Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* detectada por reação na Imunofluorescência Indireta, considerando o sexo dos animais, em rebanhos de caprinos leiteiros do Estado da Bahia, 2002.

Sexo	Total de amostras	Positivos	(%)
Machos	29	1	(3,5)
Fêmeas	283	59	(20,8)
Sem registro	61	1	(1,6)
Total	373	61	(16,4)

Tabela 4. Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, detectada por reação na Imunofluorescência Indireta, considerando categorias zootécnicas, em rebanhos de caprinos leiteiros do Estado da Bahia, 2002.

Categoria zootécnica		Total de amostras	Positivos	(%)
Fêmeas				
	Secas	59	10	(17,0)
	Lactantes	167	38	(22,8)
	Jovens	9	1	(11,1)
	Gestantes	48	10	(20,8)
Machos				
	Jovens reprodutores	15	0	(0,0)
	reprodutores	12	1	(8,3)
	Castrados	2	0	(0,0)
	S/ registro	61	1	(1,6)
	Total	373	61	(16,4)

As fêmeas apresentaram maior percentagem de positividade que os machos. Esse fato deve-se a uma possível presença de um período de imunodepressão devido aos eventos de gestação e lactação da maior parte dos animais em análise (215 fêmeas gestantes e em lactação).

Em relação à categoria zootécnica, as fêmeas em lactação tiveram percentual de positividade maior (22,8%), seguidas de fêmeas gestantes (20,8%) e fêmeas secas (17%). Não houve diferença estatística entre essas categorias zootécnicas. O percentual de

positividade concorda com o resultado descrito por Sella *et al.* (1994) que encontraram 32,02% de positividade para fêmeas lactantes, 22,87% para fêmeas gestantes e 9,80% para fêmeas secas. Fatores secundários ligados ao sexo, como estado de prenhez, aborto e esterilidade podem estar relacionados à distribuição de títulos positivos, corroborando com o resultado encontrado onde fêmeas apresentaram maior frequência de positivos que os machos. (Tab. 3) (GALUZO *et al.* 1970; RUPPANNER *et al.* 1978; CHHABRA e MAJAN, 1982; VAN DER PUIJE *et al.* 2000).

Tabela 5. Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, detectada por reação na Imunofluorescência Indireta, considerando as raças em rebanhos de caprinos leiteiros do Estado da Bahia, 2002.

Raça	Total de amostras	Positivos	%
Anglo Nubiana	62	3	4,8
Parda Alpina	143	27	18,8
Saanen	131	22	16,8
Mestiços	33	9	27,3
SRD	4	-	0,0
Total	373	61	16,4

As amostras séricas de caprinos Parda Alpina apresentaram maior número de reagentes (18,8%), seguido da Saanen (16,8%) e da Anglo Nubiana (4,8%). Apesar do maior número de reações positivas na raça Parda Alpina

encontrado neste estudo, os dados não são suficientes para afirmar uma predisposição racial. Além disso não foi observada diferença estatística entre raças.

Tabela 6. Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, detectada por reação na Imunofluorescência Indireta, considerando a faixa etária em rebanhos de caprinos leiteiros do Estado da Bahia, 2002.

Idade	Total de amostras	Positivos	%
0-2	114	19	16,7
2-4	79	16	20,2
4-6	45	12	26,7
6-8	20	2	10,0
8-10	4	-	0,0

A faixa etária que apresentou maior número de reações positivas foi a de quatro a seis anos, quando os animais já estão na idade adulta sem, contudo, haver diferença significativa. Esse resultado concorda com Machado *et al.* (1987), que encontraram um percentual de 39,3% para animais com idade igual ou superior a um ano. Sella *et al.* (1994), também confirmaram que os animais adultos, possuem maior possibilidade de se infectarem

no ambiente. Van Der Puije *et al.* (2000), encontraram 46,8% de positividade entre animais de idade superior a dois anos. Este resultado se justifica pelo fato de animais adultos terem maiores chances de contato com oocistos do *Toxoplasma gondii* no ambiente.

Os títulos de anticorpos variaram de 1:16 a > 256 (Tab. 7), sendo 28,7% das amostras apresentaram títulos 1:128 enquanto nos demais títulos as frequências estavam entre 11,5 e 16,4%.

Tabela 7- Frequência de títulos de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, detectada pela reação na Imunofluorescência Indireta, considerando os títulos, em rebanhos de caprinos leiteiros do estado da Bahia, 2002.

Título	Positivos	%
1:16	8	13,1
1:32	10	16,4
1:64	10	16,4
1:128	17	27,8
1:256	7	11,5
> 256	9	14,8
Total	61	100

A prevalência encontrada nesse trabalho demonstrou a disseminação do *Toxoplasma gondii* nas Microrregiões estudadas e um possível contato desses animais com o parasito. As fêmeas tiveram maior porcentagem

de positividade e dentro deste grupo as fêmeas em lactação apresentaram maior frequência de reações positivas. Não foi evidenciada uma predisposição racial ou etária em relação a soroprevalência.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, V.; SANTOS, S.M.; REBOUÇAS, M.M. Sobre a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de caprinos e ovinos procedente respectivamente, dos Estados da Bahia e Rio Grande do Sul. **Biológico**, São Paulo, v.45, p.331-340, 1978.
- BISSON, A.; MALEY,S.; RUBAIRE-AKIIKI,C.M.; WASTLING, J.M. The soroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestic goats in Uganda. **Acta Tropica**, v. 76, n. 1, p. 33-38, 2000.
- CHHABRA, M. B.; MAHAJAN, R. C. Toxoplasmosis in Índia : prevalenc of serum antibodies in chip and goates. **India J. Animal Health**, Calcutá, v. 21, n. 1, p. 5-8, 1982.
- CHIARI, C.A; LIMA, W.S.; ANTUNES, C.M.F.; LIMA, J.D. Soro-epidemiologia da toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v.39, n.4, p. 587-609, 1987.
- DUBEY, J. P. *Toxoplasma* induced abortion in dairy goats. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 178, p. 671-674, 1981a.
- DUBEY, J. P. Epizootic toxoplasmosis associated whit abortion in dairy goats in Montana. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 178, p.661-670, 1981b.
- FELDMAN, H.; MILLER, L. Sorological study of toxoplamosis prevalence. **Am. J. Higiene**, v.64 , p. 320-335, 1956.

FIGLIUOLO, L.P.C.; RODRIGUES, A.A.R.; VIANA, R.B.; AGUIAR, D.M.; KASAI, N.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. **Small Ruminant Research**, v. 55, p. 29-32, 2004.

GALUZO, I.G.; GOLOSOV, V.I.; GORBUNOVA, I.Z. Toxoplasmosis of goats. **College of Veterinary Medicine**, p.46-49, 1970.

GONDIM, L. F. P.; BARBOSA JR., H.V., RIBEIRO FILHO, C.H.A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 82, p. 273–276, 1999.

MACHADO, T. M. M.; LIMA, J. D. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos criados sob diferentes formas de exploração no Estado de Minas Gerais. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec**, v.39, n.2, p.255-264, 1987.

MAINARDI, R. S.; MODOLO, J. R.; STACISSINI, A.V. M.; PADOVANI, C. R.; LANGONI, H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in dairy goats in the São Paulo State, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.36, n.6, p.759-761, 2003.

RODRIGUEZ-PONCE, E.; MOLINA, J.M; HERNÁNDES, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in dairy goats in the São Paulo state, Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**, v.36, n.6, p.759-761, 2003.

RUPPNER, R.; RIEMANN, H.P.; FARVER, T.B.; WEST, G.; BEHYMER, D. E.; WIJAYASINGHE, C. Prevalence of coxiela berneti (Q Fever) and *Toxoplasma gondii* among dairy goats in California **Am. J. Vet. Res.**, v. 39, n.5, p. 867-870, 1978.

SELLA. M.Z; NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.I.; SHIDA, P.N.; VIDOTTO, O. Epidemiologia da toxoplasmose caprina: levantamento sorológico do *toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na micro região de Londrina, Paraná, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v.3, n. 1, p.13-16, 1994.

SIDRA- Sistema IBGE de recuperação automática, 2002. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?z=t&o=2&i=P>>. Acesso em: 20 jun. 2004.

VAN DER PUIJE, W.N.A.; BOSOMPEN, K.M.; CANACOO, E. A.; WASTLING, J. M; AKANMORI, B. D. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. **Vet. Parasitol.**, v. 23, n. 3, p. 1703-1708, 2000.