

OCORRÊNCIA DE GATOS SOROPOSITIVOS PARA *Toxoplasma gondii* NICOLLE E MANCEAUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE) NA CIDADE DE NITERÓI, RIO DE JANEIRO*

EZEQUIEL GONÇALVES NETTO¹; ALEXANDRE D. MUNHOZ²; GEORGE R. ALBUQUERQUE²; CARLOS W.G. LOPES³; ANA MARIA R. FERREIRA⁴

ABSTRACT: GONÇALVES NETTO, E.; MUNHOZ, A.D.; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G.; FERREIRA, A.M.R. [The occurrence of seropositive cats for *Toxoplasma gondii* Nicolle and Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) in the City of Niteroi, State of Rio de Janeiro.] Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na Cidade de Niterói, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 12, n. 4, p. 145-149, 2003. Niterói, Brazil, 24230-340. Departamento de Patologia, Centro de Ciências Médicas, UFF, Niterói, RJ. Email.: anamrferreira@openlink.com.br

The clinical diagnosis of toxoplasmosis for felines is difficult. The infection occurs by the ingestion of sporulated oocysts, raw or rare meat of animals with tissue cysts. This work had the objective to verify if free range cats were serologically positive for *T. gondii* in urban areas of the City of Niteroi, the State of Rio de Janeiro, Brazil by using Indirect Hemagglutination test (HI), Elfa-Toxo-VidaS (ETVT), histopathology, cytology, and immunohistochemical staining. For this, 41 cats of both sexes and different ages were used. Results were characterized by having ten animals (24.39%) as serum positive to *T. gondii*. Similar results were observed when serology were compared to immunohistochemical staining. Histologically, lesions found in positive animals were unspecific to *T. gondii* infection.

KEY WORDS: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, cats, sorology, Niterói.

RESUMO

O diagnóstico clínico da toxoplasmose em felinos tem sido difícil. A infecção nos felídeos ocorre pela ingestão de oocistos esporulados e carne crua ou mal passada com estágios teciduais do parasito. Este trabalho teve como objetivo verificar a presença de gatos soropositivos para *T. gondii* não domiciliados das áreas urbanas da Cidade de Niterói, Estado do Rio de Janeiro. Para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* foi usado o teste de hemaglutinação indireta (HI) e *Enzyme Linked Flourescent Assay* (Elfa-Toxo-Vidas), e para pesquisa do agente etiológico,

técnicas de histopatologia, citologia e imunohistoquímica. Para isso, foram utilizados 41 gatos de ambos os sexos e de idades diferentes. Os resultados obtidos indicaram que dez dos animais (24,39%) foram soropositivos para *T. gondii*, com um positivo para IgM no ETVT e nove positivos para IgG no HI. Os animais soropositivos também foram para imunohistoquímica. Um cisto de *T. gondii* no cérebro foi observado no gato IgM positivo. As lesões encontradas nos gatos não foram compatíveis com as observadas na toxoplasmose.

PALAVRAS-CHAVE: ocorrência, toxoplasmose, gatos, Niterói, Estado do Rio de Janeiro.

*Sob os auspícios do CNPq

¹Programa de Pós-graduação em Patologia Experimental, Departamento de Patologia, CCM, UFF, Niterói, RJ. Email.: ezequielnetto@ig.com.br;

²Departamento de Ciências Agrárias e Ambientais, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, BA. Email: munhoz@uesc.br; georgealbu@ig.com.br

³Departamento de Parasitologia Animal, IV, UFRJ, Seropédica, RJ. Email: lopescwg@ufrj.br;

⁴Departamento de Patologia, Centro de Ciências Médicas, UFF, Niterói, RJ. Email: anamrferreira@openlink.com.br

INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é um protozoário que tem nos felídeos seus hospedeiros definitivos, sendo provavelmente o mais comum protozoário de mamíferos e aves, com mais de 200 espécies que podem atuar como hospedeiro intermediário, dificilmente apresentando sintomatologia (FAYER, 1980; SPARKES, 1991; FISHBACK; FRENKEL, 1991). A eliminação de oocistos de forma mais eficiente ocorre no carnivorismo ou

pela ingestão de carne crua ou mal cozida, ingerindo bradizoítas contidos em cistos tissulares. Porém a ingestão de taquizoítas e oocistos também pode levar ao desenvolvimento do parasito nos gatos (DUBEY et al., 1998).

O diagnóstico da toxoplasmose deve ser baseado em uma combinação de sinais clínicos, teste sorológico, demonstração histopatológica do parasito nos tecidos, prova biológica e exame de fezes (SPARKES, 1991), pois o diagnóstico da toxoplasmose clínica é difícil por apresentar sinais clínicos variados e inespecíficos (LINDSAY et al., 1997). O exame histopatológico é limitado, pois o parasita se confunde com as células teciduais (FAYER; DUBEY, 1985), mas a imunohistoquímica é indicada por ser específica e muito sensível (ARAUJO et al., 1998).

Este trabalho tem como objetivo verificar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* e do parasito em gatos errantes, do município de Niterói, RJ, utilizando os métodos sorológicos de Hemaglutinação Indireta (HI) e *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (Elfa- Toxo-Vidas), histopatologia, citologia e imunohistoquímica; e verificar a associação entre os resultados da sorologia pela HI com variáveis sexo e categoria etária dos animais.

MATERIALE MÉTODOS

Neste estudo foi utilizado um total de 41 gatos de vida livre doados pelo Centro de Controle de Zoonoses e Doenças Vetoriais (CECOZ) da Secretaria Municipal de Saúde da Cidade de Niterói. Estes animais foram submetidos à pesagem e inspeção, com anotações em fichas individuais. A categoria etária foi estimada, pelo exame dentário, aparelho reprodutor, tamanho e peso para filhotes, jovens e adultos, machos ou fêmeas.

Os felinos foram previamente anestesiados com 20 mg de Cloridrato de Ketamina e 8 mg de Cloridrato de Xilazina, por via intramuscular, sendo coletado 7 ml de sangue da veia jugular, de cada animal, acondicionado em tubo sem anticoagulante, para realização dos testes sorológicos. Os felinos foram submetidos a eutanásia ainda no CECOZ, utilizando-se de tiopental sódico e cloreto de potássio a 19,1%. Este estudo foi conduzido de acordo com a resolução número 714, de 20 de junho de 2002 (CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 2003).

Para a determinação imunoenzimática de anticorpos tipo IgM e IgG anti-*T. gondii* no soro dos 41 gatos examinados, foi utilizada um kit comercial ELFA TOXOVIDAS IgG e IgM (Biolab-Merieux Vitek, Brasil). Para a hemaglutinação indireta foi utilizado o "kit" HEMATOXO (Biolab-Merieux, Brasil).

Para a citologia foram realizados decalques em lâminas do fígado, baço e cérebro de cada gato, fixados ao ar, desidratados em metanol e corados pelo Giemsa, na proporção de 1 ml de solução tampão (PBS) pH 7,2 para três gotas de corante, por 30 minutos.

Para o exame histopatológico, fragmentos do cérebro, fígado, baço e pulmões de todos os felinos foram fixados em solução a 10% de formol tamponado, processados e incluídos em parafina, sendo depois corados pela Hematoxilina-Eosina (HE). A partir do mesmo material parafinado, realizou-se todo o proto-

colo para imunohistoquímica, pela técnica da streptavidina-peroxidase. Para isto foi utilizado anticorpo primário anti-*T. gondii* policlonal (coelho) DAKO nº de série B1013, e o "kit duet" Dako nº de série K0492 (anticorpo secundário, complexo anti-camundongo, coelho e cabra), sendo utilizados conforme a recomendação do fabricante. Para a análise dos resultados obtidos para imunohistoquímica foi utilizado, como controle, material de cérebro humano positivo para *T. gondii*.

A análise estatística da associação entre o resultado da sorologia pela HI e as variáveis sexo e categoria etária, foi realizada utilizando o teste de Qui-Quadrado com nível de significância de 95 % conforme Epi Info (2002).

RESULTADOS

Na determinação de IgG e IgM anti-*Toxoplasma* pelo método ELFA, apenas um animal (2,44%) foi positivo, para IgM. No HI oito animais (19,51%) apresentaram resultado positivo, um (2,44%) fracamente positivo e 32 (78,05%) negativos. Obtiveram-se, portanto dos 41 animais do estudo, 10 (24,39%) animais com resultados sorológicos positivos, sendo 1 para IgM pelo método ELFA e 9 para IgG pelo HI (Tabela 1).

Tabela 1. Relação de gatos sorologicamente positivos para *Toxoplasma gondii* segundo teste de diagnóstico utilizado na Cidade de Niterói, Estado do Rio de Janeiro.

Animal	Teste				Sexo	Idade
	ELFA		H (IgG)	Imunohisto- química		
	IgM	IgG				
1	-	-	+	+	Macho	Adulto
2	-	-	+	+	Fêmea	“
3	-	-	+	+	“	Filhote
4	-	-	+	+	Macho	“
9	-	-	+	+	Fêmea	Adulto
15	-	-	+	+	Macho	“
18	+(?)	-	-	-	Fêmea	Jovem
21	-	-	+	+	“	Adulto
31	-	-	+	+	“	“
39	-	-	+	+	“	Jovem

Relacionando os animais positivos com o sexo, verificou-se 70% (sete animais) de positividade em fêmeas e 30% (três animais) em machos e, em relação à faixa etária, 60% (seis animais) eram adultos, 20% (dois animais) eram jovens e 20% (dois animais) eram filhotes. Não foi verificada diferença significativa entre sexo e a categoria etária quando comparados aos resultados da sorologia pela HI dos animais (Tabelas 2 e 3).

A não ser no decalque de cérebro de um único gato, positivo para IgM pelo ELFA, no qual se observou um cisto de *T. gondii*, não foi encontrado nenhum estágio de desenvolvimento do *T. gondii* ao exame citológico nos órgãos dos outros 40 animais.

As amostras teciduais dos animais sorologicamente positivos, quando analisadas pela técnica de imunohistoquímica

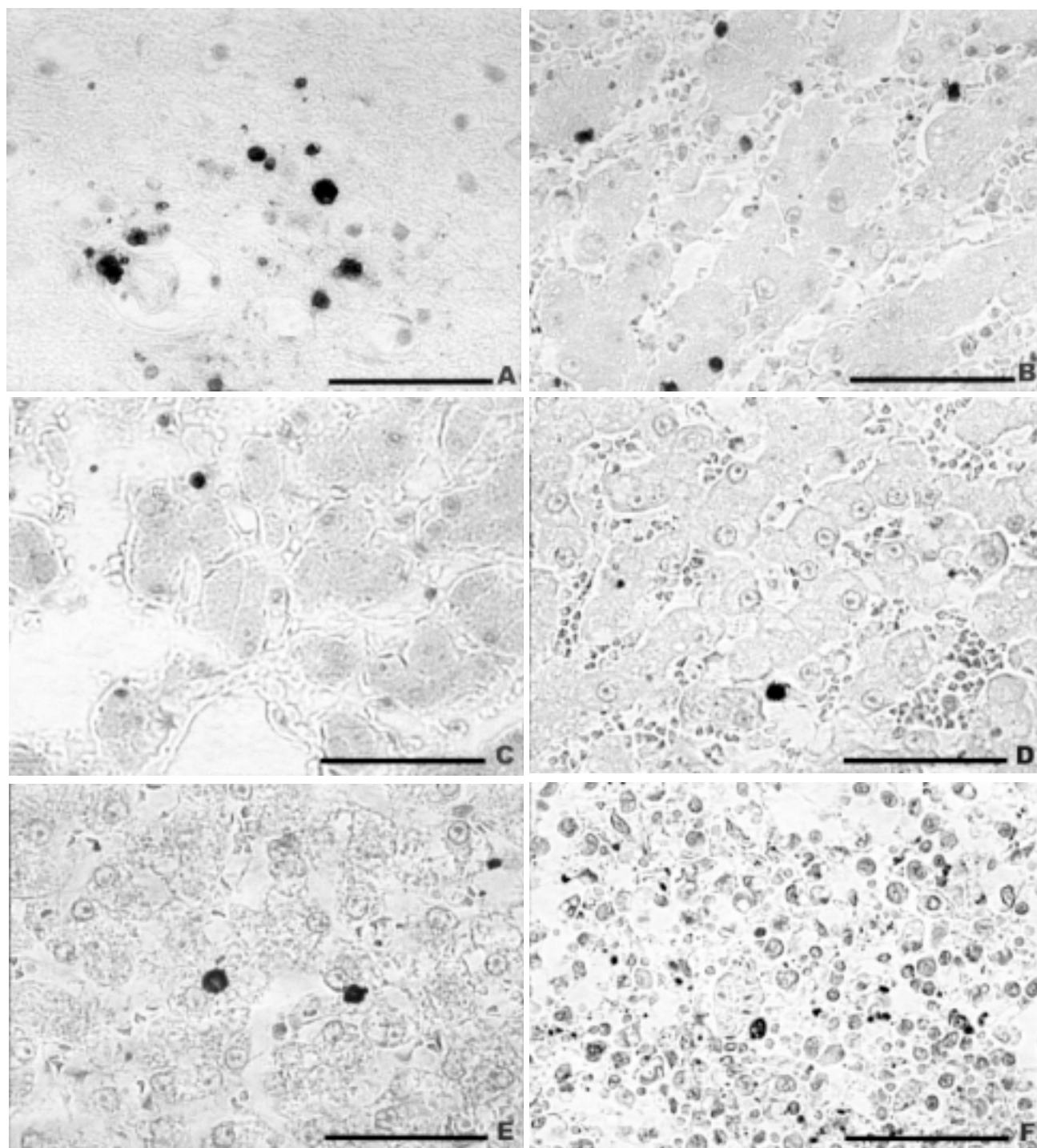


Figura 1. Imuno-histoquímica. A: Controle Positivo (corte histológico de cérebro de paciente HIV positivo com toxoplasmose cerebral. B-F: Corte histológico de tecidos de gatos, com marcação imuno-histoquímica positiva pelo anticorpo anti-*Toxoplasma* identificando formas parasitárias com formatos circular ou levemente ovalado com coloração acastanhada (100µm). B-E:fígado, F-baço.

Tabela 2. Associação entre a positividade à técnica de Hemaglutinação Indireta para IgG anti-*Toxoplasma gondii* e o sexo de gatos errantes da Cidade de Niterói, Estado do Rio de Janeiro.

Sexo	Número de animais		Total de animais
	Positivos	Negativos	
Macho	3	16	19
Fêmea	7	15	22
Total	10	31	41

$$\chi^2 = 0,6842; p = 0,408$$

Tabela 3. Associação entre a técnica de Hemaglutinação Indireta para IgG anti-*Toxoplasma gondii* e a categoria etária de gatos errantes de Niterói, Estado do Rio de Janeiro.

Categoria etária	Número de animais		Total de animais
	Positivos	Negativos	
Filhotes	2	6	8
Jovens	2	11	13
Adultos	6	14	20
Total	10	31	41

$$\chi^2 = 0,9146; p = 0,633$$

foram positivas, e marcações imunológicas de coloração acastanhada e formato circular ou parcialmente ovalada, compatíveis com formas parasitárias de *T. gondii*, foram encontradas (Figura 1: A-F). Todos os animais soronegativos também foram negativos pela técnica de imunohistoquímica.

DISCUSSÃO

Os gatos utilizados neste estudo tinham acesso às ruas, com a possibilidade de caçar roedores e outros pequenos animais, podendo contrair a infecção por *T. gondii* mais facilmente que animais domiciliados (SVOBODA; SVOBO-DOVA, 1987; FERNÁNDEZ et al., 1995).

A ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* observada esteve dentro dos valores citados por Nene et al. (1986); Fernández et al. (1995) e Araujo et al. (1998), apesar de haver citações em que a ocorrência em gatos foi bem maior, como em Beirute no Líbano (DEEB et al., 1986) e no Tennessee, Kentucky e Georgia nos EUA (PATTON et al., 1990). Resultados superiores aos do presente estudo foram relatados por Garcia et al. (1999) com presença de 73% de soro-positivos para *T. gondii* de um total de 163 gatos de propriedades rurais do Município de Jaguatipã no Paraná. Contudo Silva et al. (2002) observaram em 470 soros de gatos de rua da cidade São Paulo e Guarulhos uma positividade de 25,32 %, resultados semelhantes ao deste trabalho.

Com relação aos animais domiciliados os resultados de Langoni et al. (2001) que realizaram a sorologia de 191 gatos provenientes das cidades de São Paulo, Botucatu, Bauru e Foz do Iguaçu com 19,37% de positividade e Lucas et al. (1999) que obtiveram uma sorologia positiva em 17,7% dos 248 gatos

domiciliados que foram atendidos no Hospital Veterinário da Universidade de São Paulo, demonstram uma tendência de menor positividade em animais mantidos em domicílio, provavelmente devido a uma dieta constituída por ração comercial, e menor acesso a caça por parte destes animais.

Porém, os resultados de Silva et al. (2002) demonstram uma ocorrência de 40,6% de positividade em 32 gatos domiciliados, onde sugerem que a alta soroprevalência seja devido ao fato dos proprietários alimentarem seus gatos com carne mal-cozida. Além disso, estes mesmos autores enfatizaram que a discrepância dos resultados encontrados no Brasil nos diferentes estudos pode estar associada ao critério de amostragem utilizado, período em que a pesquisa foi desenvolvida e teste sorológico utilizado.

Embora não tenha sido significativa a associação entre a infecção, o sexo e a idade, pode existir uma possibilidade maior de infecção para fêmeas e filhotes, devido ao comportamento da fêmea em caçar e estimular este hábito aos filhotes, com propósito de ingerir as vísceras de suas presas. Resultados semelhantes foram observados por Jackson et al. (1987) na Escócia Central, e no Cairo, Egito por Aboulmagd et al. (1988). Diferente desses resultados, Svoboda e Svobodova (1987), observaram uma diferença significativa para idade e raça, mas nenhuma quanto ao sexo, como também uma predominância muito maior de anticorpos em gatos com hábitos de caçar do que naqueles domiciliados. No Brasil, os resultados observados por Lucas et al. (1999); Garcia et al. (1999) e Lagoni et al. (2001) não evidenciaram diferença significativa quanto ao sexo, corroborando com o observado neste trabalho; no entanto, Lucas et al. (1999) e Garcia et al. (1999) verificaram que um número maior de animais adultos era positivo para o *T. gondii*, com a idade favorecendo o contato do animal com as várias formas de infecção do parasito.

A técnica do sistema TOXOVIDAS devido a praticidade, alta especificidade (99,7%) e sensibilidade (98,4%) para amostras humanas, e também por associar um método imunoenzimático com fluorescência vem sendo usada, de forma empírica, para exame sorológico em cães e gatos. Entretanto, um estudo mais apurado dessa técnica para espécies animais deve ser realizado, tendo em vista os resultados negativos obtidos neste trabalho quando comparados aos resultados positivos, nos mesmos animais, para a HI e imunohistoquímica, não permite recomendar o uso deste teste para gatos. O único animal que teve resultado positivo na dosagem de IgM neste teste foi negativo na dosagem de IgG, indicando uma infecção ativa (LINDSAY et al., 1997). Neste animal também foi observada a presença de um cisto do *T. gondii* no cérebro ao exame citológico.

Nas alterações microscópicas não foi encontrado predomínio de focos de necrose, citados por Turner (1978) e Henriksen et al. (1994). A infecção assintomática tem sido considerada comum em gatos (SATO et al., 1993) e pode haver eliminação de oocistos nas fezes sem a presença de sinais clínicos desta coccidiose (DUBEY; THULLIEZ, 1989). Como a chance de infecção para os gatos errantes é muito maior do que para os gatos domiciliados, torna-se de grande importância uma políti-

ca para a redução da população de animais errantes, diminuindo a possibilidade de perpetuação do ciclo do *T. gondii* nas cidades evitando a exposição de pessoas aos oocistos provenientes destes felinos (ARAUJO et al., 1998; DUBEY, 1994).

Agradecimentos: - Ao CECOZ e Instituto Vital Brazil pela liberação dos animais utilizados e aos Departamento de Parasitologia Animal da UFRRJ e Patologia da UFF pelo apoio técnico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABOULMAGD, L.A.; TAWFIK, M.S.; ARAFA, M.S.; EL-RIDI, A. M. Toxoplasma infection of cats in Cairo area as revealed by IFAT. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, v. 18, n. 2, p. 403-409, 1988.
- ARAUJO, W. N. de; SILVA, A.V. da; LANGONI, H. Toxoplasmose: uma zoonose – realidade e riscos. *Cães e Gatos*, v. 79, n. 1, p. 20-27, 1998.
- CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução número 714 de 20 de junho de 2003. Dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais e dá outras providências. <Disponível em: <http://www.cfmv.org.br/res714.htm>>. Acesso em: 15 out. 2003.
- DEEB, B.; SUFAN, M.; DIGIACOMO, R.F. *Toxoplasma gondii* antibodies in cats: detection by indirect hemagglutination and indirect fluorescent antibody tests. *Journal of Parasitology*, v. 72, n. 2, p. 355-357, 1986.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.
- DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Serologic diagnosis in cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v. 194, n. 9, p. 1297-1299, 1989.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.
- EPIINFO. Epidemiology of program office <Disponível em: <http://www.cdc.gov/epiinfo/index.html>>. Acesso em: 20 abr. 2002.
- FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. *Veterinary Parasitology*, v. 6, n. 1-3, p. 75-103, 1980.
- FAYER, R.; DUBEY, J. P. Methods of controlling transmission of protozoan parasites from meat to man. *Food Technology*, v. 39, n. 3, p. 57-60, 1985.
- FERNÁNDEZ, F.; OUVIÑA, G.; CLOT, E.; FERNANDES GUIDO, R.; CODONI, C. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats in the western part of great Buenos Aires, Argentina, 1993. *Veterinary Parasitology*, v. 59, n. 1, p. 75-79, 1995.
- FISHBACK, J. L.; FRENKEL, J. K. Toxoplasmosis. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*, v. 6, n. 3, p. 219-226, 1991.
- GARCIA, L. J.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedade rurais do Município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.
- HENRIKSEN, P. DIETZ, H.H.; HENRIKSEN, S.V. A.A. Fatal toxoplasmosis in five cats. *Veterinary Parasitology*, v. 55, n. 1-2, p. 15-20, 1994.
- JACKSON, M.H.; HUTCHISON, W. M.; SIIM, J. C.. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in meat animals, cats and dogs in central Scotland. *British Veterinary Journal*, v. 143, n. 2, p. 159-165, 1987.
- LANGONI, H.; da SILVA, A.V.; CABRAL, K. G.; CUNHA, E. L. P.; CUTOLO, A. A. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos estados de São Paulo e Paraná. *Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science*, v. 38, n. 5, p. 243-244, 2001.
- LINDSAY, D.S.; BLAGBURN, B.L.; DUBEY, J.P. Feline Toxoplasmosis and the importance of the *Toxoplasma gondii* oocyst. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, v. 19, n. 4, p. 448-461, 1997.
- LUCAS, S.R.R.; HAGIWARA, M.K.; LOUREIRO, V.S.; IKESAK, J.Y.H.; BIRGEL, E.H. *Toxoplasma gondii* infection in brazilian domestic outpatient cats. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 41, n. 4, p. 221-224, 1999.
- NENE, S.S.; JOSHI, B.N.; PATKI, J. Toxoplasma antibodies in local domestic animals. *International Journal of Zoonosis*, v.13, n. 3, p. 187-189, 1986.
- PATTON, S.; JOHNSON, S.S.; PUCKETT, K. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in nine populations of dairy goats: compared titers using modified direct agglutination and indirect hemagglutination. *Journal of Parasitology*, v. 76, n. 1, p. 74-77, 1990.
- SATO, K.; IWAMOTO, I.; YOSHIKI, K. Experimental toxoplasmosis in pregnant cats. *Journal Veterinary Medical Science*, v. 55, n. 6, p. 1005-1009, 1993.
- SILVA, J. C. R.; GENNARI, S. M.; RAGOZO, A. M. A.; AMAJONES, V. R.; MAGNABOSCO, C.; YAI, L. E. O.; FERREIRA-NETO, J. S.; DUBEY, J. P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestic cats from Guarulhos and São Paulo, Brazil. *Journal Parasitology*, v. 88, n. 2, p. 419-420, 2002.
- SPARKES, A. H. Toxoplasmosis in cats. *Veterinary Animal*, v. 31, n. 2, p. 186-192, 1991.
- SVOBODA, M.; SVOBODOVA, V. Effects of breed, sex, age, management and nutrition on the incidence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs and cats. *Acta Veterinaria (Brno)*, v. 56, n. 3, p. 315-330, 1987.
- TURNER, G.V.S. Some aspects of the pathogenesis and comparative pathology of toxoplasmosis. *Journal of the South African Veterinary Association*, v. 49, n. 1, p. 3-8, 1978.

Recebido em 6 de agosto de 2003.

Aceito para publicação em 17 de dezembro de 2003.