

Toxoplasma gondii* EM ENCÉFALOS DE SUÍNOS COMERCIALIZADOS NO MUNICÍPIO DE CAMPOS DOS GOYTACAZES, ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

EDWARDS FRAZÃO-TEIXEIRA¹; FRANCISCO CARLOS R. DE OLIVEIRA²;
VIVIANE PELISSARI-SANT'ANA³; CARLOS WILSON G. LOPES⁴

ABSTRACT:- FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; OLIVEIRA, F.C.R.de; PELISSARI-SANT'ANA, V.; LOPES C.W.G. [*Toxoplasma gondii* in brains of pigs commercialized at the Municipality of Campos dos Goytacazes in the State of Rio de Janeiro, Brazil]. *Toxoplasma gondii* em encéfalos de suínos comercializados para consumo no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 15, n. 1, p. 33-36, 2006. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, Laboratório de Sanidade Animal, Av. Alberto Lamego, 2000, Parque Califórnia, Campos dos Goytacazes, RJ 28013-600, Brazil. E-mail: foliveira@uenf.br

Brain samples of 12 pigs commercialized for food consumption at the Municipality of Campos dos Goytacazes in the State of Rio de Janeiro were examined for the presence of *Toxoplasma gondii*. Brain sample of each pig was grinded and submitted to peptic digestion. One ml of the homogenate of each sample was inoculated in three albino mice, and this procedure was repeated 24 hours later. Inoculated mice were observed during six weeks. Dead mice or those that presented clinical signs suggestive of the disease, were examined for the presence of tachyzoites in peritoneal exudates or tissue cysts in their brains. The percentage of positives brains was 50%, which is a confirmation that pigs could be considered as a potential source of infection of *T. gondii* for humans at this Municipality.

KEY WORDS: Swine, *Toxoplasma gondii*, brain isolation, commercialized product.

RESUMO

Amostras de cérebros de 12 suínos, comercializados para alimentação no Município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, foram examinadas para a presença de

Toxoplasma gondii. Amostra de cada cérebro foi macerada e submetida à digestão péptica. Um ml do homogeneizado de cada amostra foi inoculado intra-peritoneal em três camundongos albinos, sendo este procedimento repetido 24 h após a primeira inoculação. Todos os camundongos inoculados foram observados por seis semanas. Camundongos mortos ou que tiveram sinais clínicos da doença foram examinados para presença de taquizoítas no exsudato peritoneal ou para a presença de cistos teciduais no cérebro. Um total de 50% dos cérebros foi positivo para *T. gondii*, o que confirma a possibilidade dos suínos aqui estudados serem considerados como potencial fonte de contaminação humana neste município.

PALAVRAS-CHAVE: suíno, *Toxoplasma gondii*, isolamento cerebral, produto comercializado

* Sob os auspícios da FAPERJ e CNPq e aprovado pelo comitê de ética da UENF.

¹ Curso de Pós-Graduação em Produção Animal e bolsista CAPES. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, RJ 28013-602. E-mail: efrazao@uenf.br

² Laboratório de Sanidade Animal (LSA), Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) UENF, Av. Alberto Lamego, 2000, Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, RJ 28013-602. E-mail: foliveira@uenf.br

³ Curso de Medicina Veterinária e bolsista da UENF, LSA, CCTA.

⁴ Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR-465 Km 07, Seropédica, Rio de Janeiro, RJ 23890-000. E-mail: lopeschw@ufrj.br

A toxoplasmose é uma doença causada por um parasita intracelular obrigatório da espécie *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909. Apresenta distribuição geográfica mundial

e é considerada a mais cosmopolita de todas as zoonoses (ACHA; SZYFRES, 1996).

A importância que representa a toxoplasmose em animais de produção decorre do fato de que estes animais podem servir de fonte direta ou indireta de infecção ao homem (DUBEY, 1994). Logo, a carne destes animais, quando infectada e consumida crua ou mal cozida, pode transmitir o parasito ao homem e a felídeos (OLIVEIRA et al., 2001). Estes últimos podem contaminar o ambiente através da liberação de oocistos juntamente com suas fezes (RUIZ et al., 1973).

O objetivo deste trabalho foi o isolamento biológico de *T. gondii* em camundongos albinos CF1 de encéfalos de suínos adquiridos em estabelecimentos comerciais da cidade de Campos dos Goytacazes onde eram vendidas carnes *in natura* para consumo humano.

Foram adquiridas 12 cabeças de suínos em estabelecimentos comerciais que vendiam carne *in natura* para consumo humano no Município de Campos dos Goytacazes. O critério de seleção dos estabelecimentos para coleta das amostras foi por conveniência, sendo utilizado o de maior procura pelo consumidor.

O material obtido foi levado para o Laboratório de Sanidade Animal (LSA) do Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias (CCTA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF). O encéfalo de cada amostra foi retirado e os instrumentos utilizados esterilizados após cada procedimento, inviabilizando qualquer tipo de contaminação entre os tecidos.

Cada encéfalo foi homogeneizado individualmente em liquidificador doméstico com o mínimo de PBS. De cada homogeneizado foram retirados 40g, colocados em Erlenmeyer e, a este, adicionada solução de pepsina ácida até completar o volume de 200ml. O procedimento de digestão baseou-se em Dubey (1998).

Cada Erlenmeyer, contendo o material de cada amostra a ser digerido, foi então colocado em um agitador e mantido a uma temperatura de 37°C por uma hora. Decorrido este tempo, cada amostra digerida foi passada em tamis com gaze dupla e o filtrado de cada uma destas foi então centrifugado a 1843g por 10 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e ao material restante adicionou-se solução neutralizadora até completar um volume de 50 ml. Novamente o material foi centrifugado a 1843g, nesta etapa por 20 minutos, e o sobrenadante descartado. Por fim, a cada uma das amostras foram adicionados de cinco a 10 ml de solução, contendo 1000 UI de penicilina G potássica e 100mg de estreptomicina por ml de solução.

Duas doses de 1ml da suspensão contendo o produto da digestão péptica foram inoculadas via intra-peritoneal (*i.p.*) em camundongos albinos CF1 com um intervalo de 24 horas. Foram utilizados três camundongos para cada amostra, totalizando 36 camundongos inoculados. Outros quatro receberam apenas PBS e serviram como controle.

Os animais foram observados periodicamente durante seis semanas. Aqueles que morreram, tiveram aumento de volume abdominal ou qualquer sinal que sugerisse infecção por *T.*

gondii foram examinados para eventual presença do parasito em líquido peritoneal e impressão de órgãos em lâmina histológica.

Para a técnica de observação de taquizoítas em líquido peritoneal, uma gota do conteúdo foi colocada entre lâmina e lamínula e levada ao microscópio óptico. Somente em animais que vieram a óbito ou que foram eutanasiados, amostras de fígado baço e pulmão foram retiradas. Os decalques dos referidos órgãos foram fixados em metanol e corados com Giemsa.

Os animais que não vieram a óbito 42 dias após a inoculação foram eutanasiados em câmara de CO₂. Seus encéfalos foram retirados e individualmente macerados com o mínimo de PBS e fizeram-se esfregaços em lâminas para observação direta ao microscópio óptico em busca de cistos encefálicos a fresco. O mesmo procedimento foi repetido, as lâminas fixadas em metanol, coradas com Giemsa foram também examinadas para a presença de cistos encefálicos. Ainda, fragmentos dos tecidos encefálicos foram utilizados para a observação de cistos cerebrais utilizando-se os esfregaços de cérebros. Esta técnica consiste em colocar-se um fragmento de tecido entre duas lâminas e arrastar uma sobre a outra, formando uma camada delgada de tecido para observação ao microscópio óptico após fixação e coloração com Giemsa.

Dos 12 encéfalos de suínos analisados neste experimento, em seis foi possível detectar a presença de *T. gondii*, sendo assim observado 50% de animais positivos para a presença do parasita (Tabela 1).

Levando-se em consideração que a presença de cistos em cérebros de suínos é indicativo também da presença de cistos em outras vísceras e musculatura (DUBEY et al., 1986), e que muitas vezes os cérebros, juntamente com a musculatura, são utilizados na preparação de embutidos (lingüiça e chouriço), existe risco real de infecção através do consumo de carne e

Tabela 1. Isolamento de *Toxoplasma gondii* de suínos (*Sus scrofa domesticus*) comercializados para consumo no Município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro.

Suínos	Camundongos					Total
	Lavado ^a Peritoneal	Decalque ^a			Cisto ^b Cerebral	
		Fígado	Baço	Pulmão		
1	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
2	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	3/3
3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
4	3/3	1/3	3/3	1/3	0/3	3/3
5	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3 ^c	3/3
6	2/3	1/3	2/3	1/3	0/3	2/3
7	1/3	1/3	1/3	1/3	0/3	1/3
8	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
9	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	3/3
10	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
11	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
12	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
Percentual	25	25	25	25	25	50

^a Procedimento em animais com ascite ou sinais de toxoplasmose.

^b Procedimento em animais seis semanas após inoculação.

^c Um camundongo foi eutanasiado com sintomatologia nervosa cinco semanas após inoculação.

vísceras cruas destes animais (SUAREZ-ARANDA et al., 2000). Ainda, estes animais podem ser fonte de infecção para felídeos e, conseqüentemente, fonte indireta de infecção ao homem através dos oocistos liberados quando felídeos são alimentados com músculos ou vísceras infectadas de suínos (RUIZ; FRENKEL, 1980; DUBEY et al., 1986).

Em um estudo feito por Dubey (1988), foi possível isolar *T. gondii* em 14 de 16 suínos positivos para toxoplasmose. Estes animais foram eutanasiados 103 e 875 dias após inoculação com oocistos do parasita. *Toxoplasma gondii* foi isolado do cérebro, coração, língua e diafragma. Este mesmo autor infere ainda a respeito da possibilidade de outros órgãos estarem infectados. Em outro estudo sobre a distribuição de cistos teciduais deste parasita em suínos, Dubey et al. (1984) isolaram *T. gondii* no cérebro e no coração de 100% dos animais. Estes resultados sugerem que o coração e o cérebro são os tecidos mais satisfatórios para pesquisa parasitológica de *T. gondii*, fornecendo dados acerca da relação positiva entre a presença de *T. gondii* nos referidos órgãos e em outros tecidos comestíveis do animal. Isto demonstra o risco de infecção pela ingestão de carne ou vísceras de porco cruas ou mal cozidas.

No presente trabalho os suínos utilizados estavam naturalmente infectados, diferentemente dos suínos analisados pelos autores acima citados. Isto é uma evidência do risco de infecção ao qual a população está exposta, tendo em vista que estes animais são comercializados livremente na cidade de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro.

Muitas pesquisas foram feitas com o objetivo de se estudar a prevalência da toxoplasmose suína em todo o Brasil. Navarro et al. (1992) encontraram cistos em 19,66% das carnes suínas comercializadas em açougues da cidade de Londrina, Paraná. Mais recentemente, Garcia et al. (1999) revelaram uma soroprevalência de 24% em suínos criados de forma rústica em propriedades rurais do Estado do Paraná. Em Campos dos Goytacazes o percentual de suínos positivos para anticorpos anti-*T. gondii* foi de 20,59%, sendo que estes animais eram criados sob regime domiciliar (FRAZÃO-TEIXEIRA, 2003). Ainda de acordo com esta pesquisa, a grande maioria dos animais soropositivos apresentava idade superior a um ano. Isto explicaria o alto percentual de isolamento do presente trabalho de pesquisa (50%), já que nesse Município há predomínio do abate de animais com mais de um ano de idade.

Ainda, em estudo realizado no Município de Campos dos Goytacazes foram isoladas 67 amostras de *T. gondii* de cérebro e coração de galinhas criadas em áreas endêmicas para humanos (DUBEY et al., 2003). Estes resultados confirmam a existência de contaminação ambiental, já que as galinhas comumente adquirem a infecção ao se alimentarem do solo contaminado com oocistos. A prevalência de *T. gondii* em galinhas é um bom indicador de contaminação ambiental, logo, outros animais domésticos que convivem no mesmo espaço também estão expostos à infecção, principalmente porcos, pois estes têm como hábito fuçar o solo. Adicionalmente, observou-se uma predominância de isolados de *T. gondii* da linha-

gem tipo I nas galinhas da região. Esta cepa é altamente virulenta e encontrada em infecções clínicas em humanos (DUBEY et al., 2002). Outros trabalhos são, portanto, necessários para uma análise genética da linhagem de *T. gondii* isolada nestes suínos. Todavia, há grande possibilidade destes animais serem portadores da linhagem tipo I, comprovadamente presente no solo de áreas endêmicas para toxoplasmose deste município.

De acordo com Silva (1999), a incidência de anticorpos anti-*T. gondii* na população humana do Município de Campos dos Goytacazes é próximo a 80%. Estes resultados, juntamente com os obtidos neste trabalho confirmam a hipótese de que alta soroprevalência humana em Campos dos Goytacazes, possivelmente, seja em decorrência da ingestão de carne contaminada com cistos do parasita.

Foram observados parasitas no exsudato peritoneal, fígado, baço, pulmão e cérebro dos camundongos infectados, variando de animal e estado infectivo. Observou-se com isto que os animais possuíam carga parasitária diferente ou haviam genótipos diferentes envolvidos na infecção dos suínos. Esta última hipótese é reforçada pela ampla distribuição do parasita nos órgãos dos camundongos, com 25% de isolados para cada órgão (Tabela 1). Além disso, trabalhos anteriores como os de Dubey et al. (1995, 2002) consideraram que a virulência para camundongos, inoculados com homogeneizados de suínos estiveram associadas às características fenotípicas e genotípicas de determinados isolados do *T. gondii*. Características similares vieram a ser confirmadas no Brasil por Santos et al. (2005) onde os isolados de *T. gondii* foram caracterizados em tipos I e III, considerados mais virulentos para camundongos, o que se aproxima dos resultados ora encontrados neste trabalho (Tabela 1).

Pode-se concluir, também, que a carne suína *in natura* vendida em estabelecimentos comerciais populares pode estar altamente infectada por *T. gondii*, devido à presença de cistos encefálicos observados nestes animais. Ao lado disto, observa-se que o consumo de carne suína crua ou mal cozida pode ser uma possível fonte de infecção de *T. gondii* para o homem e animais no Município de Campos dos Goytacazes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Toxoplasmosis. In: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Washington: OPS. 1996.p. 646-58.
- DUBEY, J. P Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *American Journal of Veterinary Research*, v. 49, n. 6, p. 910-913, 1988.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.
- DUBEY, J. P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. *Veterinary Parasitology*, v. 74, n. 1, p. 75-77, 1998.

- DUBEY, J. P., MURREL, K.D., FAYER, R. Persistence of encysted *T. gondii* in tissues of pigs fed oocysts. *American journal of Veterinary Research*, v. 45, n. 10, p. 1941-1943, 1984.
- DUBEY, J. P.; MURRELL, K. D.; FAYER, R.; SCHAD, G. A. Distribution of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in commercial cuts of pork. *Journal of the American Veterinary Association*, v. 188, n. 9, p. 1035-1037, 1986.
- DUBEY, J. P.; GRAHAM, D. H.; BLACKSTON, C. R.; LEHMANN, T.; GENNARI, S. M.; RAGOZO, A. M.; NISHI, S. M.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C.; HILL, D. E.; THULLIEZ, P. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. *International Journal for Parasitology*, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2002.
- DUBEY, J. P., GRAHAM, D. H., SILVA, D. S., LEHMANN, T., BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. *Toxoplasma gondii* isolates of free-ranging chickens from Rio de Janeiro, Brazil: mouse mortality, genotype, and oocysts shedding by cats. *Journal of Parasitology*, v. 89, n. 5, p. 851-853, 2003.
- DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P.; POWELL, E.C. *Toxoplasma gondii* in Iowa sows: comparison of antibodies titers to isolation of *T. gondii* by bioassay in mice and cats. *Journal of Parasitology*, v. 81, n. 1, p. 48-53, 1995.
- FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; OLIVEIRA, F. C. R.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. SALES, L. G. Percentual de suínos criados em regiões urbanas infectados por *Toxoplasma gondii* no Município de Campos dos Goytacazes e arredores – RJ. *Revista Universidade Rural Série Ciências da Vida*, v. 23, Supl. 1, p. 163-164, 2003.
- GARCIA, J. L., NAVARRO, I. T., OGAWA, L., DE OLIVEIRA, R. C., KOBILKA, E. Seroprevalence, epidemiology and ocular evaluation of human toxoplasmosis in the rural zone of Jaguatipã (Paraná), Brasil. *Pan American Journal of Public Health*, v. 6, n. 3, p. 157-163, 1999.
- NAVARRO, I. T., VIDOTTO, O., GIRALDI, N., FREIRE, R. L. *Toxoplasma gondii*: isolamento a partir de carne e cérebro de suínos comercializados na região de Londrina, PR. *Semina, Ciência Agrárias*, v. 13, n. 1, p. 15-18, 1992.
- OLIVEIRA, F. C. R.; COSTA, A.J.; SABATINI, G. A. Distribuição e viabilidade de cistos de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em tecidos de *Bos indicus*, *Bos taurus* e *Bubalus bubalis* infectados com oocistos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 23, n. 1, p. 28-34, 2001.
- RUIZ, A., FRENKEL, J. K. *Toxoplasma gondii* in Costa Rica cats. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 29, n. 6, p. 1150-1160, 1980.
- RUIZ, A.; FRENKEL, J. K.; CERDAS, L. Isolation of *Toxoplasma* from soil. *Journal of Parasitology*, v. 1, n. 1, p. 204-206, 1973.
- SANTOS, C.B. de A. dos; CARVALHO, A.C.F.B. de; RAGOZO, A.M.A.; SOARES, R.M.; AMAKU, M.; YAI, L.E.L.; DUBEY, J.P.; GENARI, S.M. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 131, n. 3-4, p. 207-211, 2005.
- SILVA, J. A. *Avaliação preliminar da resposta imune celular em pacientes de toxoplasmose da Região Norte-Noroeste do Estado do Rio de Janeiro*. 1999. 58f. Monografia (Graduação) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 1999.
- SUARÉZ-ARANDA, F.; GALISTEO, A. J.; HIRAMOTO, R. M.; CARDOSO, R. P.; MEIRELES, L. R.; MIGUEL, O.; ANDRADE, H. F. Jr. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Veterinary Parasitology*, v. 91, n. 1-2, p. 23-32, 2000.

Recebido em 12 de agosto de 2005.

Aceito para publicação em 28 de dezembro de 2005.