

OCORRÊNCIA DE INFECÇÃO POR *Leishmania* SPP. E *Toxoplasma gondii* EM MACACOS-PREGO (*Cebus apella*) DE CAMPO GRANDE, MS

TÂNIA NADIA B. LEITE¹; THUANNE DE A. MAJA²; THALLES M. OVANDO¹; DANIELA T. CANTADORI³; LARISSA R. SCHIMIDT⁴; ADRIANA C. GUÉRCIO¹; ÁLVARO CAVALCANTI⁴; FABIANA MARIA R. LOPES⁵; IVO ALEXANDRE L. DA CUNHA⁵; ITALMAR TEODORICO NAVARRO⁶

ABSTRACT:- LEITE, T.N.B.; MAJA, T. DE A.; OVANDO, T.M.; CANTADORI, D.T.; SCHIMIDT, L. R.; GUÉRCIO, A.C.; CAVALCANTI, Á.; LOPES, F.M. R.; CUNHA, I.A.L. DA; NAVARRO, I.T. [Occurrence of infection *Leishmania* spp. and *Toxoplasma gondii* in monkeys (*Cebus apella*) from Campo Grande, MS]. Ocorrência de infecção por *Leishmania* spp. e *Toxoplasma gondii* em macacos-prego (*Cebus apella*) de Campo Grande, MS. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, supl. 1, p. 307-310, 2008. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UEL, Centro de Ciências Agrárias, Caixa Postal 6001, Londrina, PR 86051-990, Brasil. E-mail: italmar@uel.br

The aim of this study was research antibodies from infection by *Leishmania* spp. and *Toxoplasma gondii* in non-human primates (HNP) and compare the techniques of reaction of Indirect immunofluorescence (IFAT) and Modified Agglutination Test (MAT) for the search of *T. gondii*. Fourteen adults monkeys (*Cebus apella*) were examined, from the Centre for Rehabilitation of Wild Animals (CRAS) from Campo Grande, MS. The research of anti-*Leishmania* spp. was performed by IFAT and research of anti-*T. gondii* was held by IFAT and MAT. No sample was positive for the detection of anti-*Leishmania* spp. We found a prevalence of 28.7% (4/14) by IFAT and 30.8% (4/13) by MAT in search of anti-*T. gondii*. The techniques presented agreement when used for the detection of anti-*T. gondii* in the population studied. The presence of antibodies *T. gondii* may be related to the environment contaminated by oocysts of wild felines, by contact with the parasite by handling food, since they were offered fruit and raw meat or the invasion by birds and/or rodents, which may serve as prey by monkeys.

KEY WORDS: Non-human primates, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii*, zoonosis.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi realizar uma investigação sorológica da infecção por *Leishmania* spp. e *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos (PNH) e comparar as técnicas de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Teste de Aglutinação Modificado (MAT) para a pesquisa do *T. gondii*. Foram examinados 14 macacos-prego (*Cebus apella*) adul-

tos, provenientes do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) de Campo Grande, MS. A pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* spp. foi realizada pela RIFI e a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* foi realizada pela RIFI e pelo MAT. Nenhuma amostra foi positiva para a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* spp. Foi encontrada uma prevalência de 28,7% (4/14) pela RIFI e 30,8% (4/13) pelo MAT na pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*. As técnicas apresentaram concordância quando utilizadas para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* na população estudada. A presença de anticorpos anti *T. gondii* pode estar ligada ao próprio meio ambiente contaminado por oocistos de felídeos selvagens, pelo contato com o parasito através do manejo alimentar, uma vez que lhes foram oferecidos frutas e carne bovina crua ou pela invasão do viveiro por aves e/ou roedores, que podem servir de presa para os macacos.

PALAVRAS-CHAVE: Primatas não humanos, *Leishmania* spp., *Toxoplasma gondii*, zoonoses.

¹ Médico Veterinário, Hospital Veterinário Dom Bosco, Campo Grande, MS.

² Curso de Medicina Veterinária, Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), Campo Grande, MS.

³ Pós-Graduação em Saúde Animal, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS.

⁴ Centro de Reabilitação de Animais Silvestres, Campo Grande, MS.

⁵ Pós-Graduação em Ciência Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR.

⁶ Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UEL, Centro de Ciências Agrárias; Caixa Postal 6001, Londrina, PR 86051-990, Brasil. E-mail: italmar@uel.br

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV), a leishmania tegumentar americana (LTA) e a toxoplasmose são zoonoses de ampla distribuição mundial e grande interesse em saúde pública (BOELAERT et al., 2000; DUBEY et al., 1995).

A leishmaniose visceral é causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, sendo que no Brasil, o agente etiológico é a *L. chagasi* cuja principal espécie transmissora é a *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (GONTIJO; MELO, 2004). Os principais reservatórios naturais da LV são os roedores, edentados, marsupiais, procionídeos, primatas - incluindo o homem - além do cão doméstico (SHAW; LAISON, 1987), considerado um importante hospedeiro e fonte de infecção para os vetores, sendo um dos alvos nas estratégias de controle (GONTIJO; MELO, 2004). Um inquérito sorológico realizado no Estado do Mato Grosso do Sul revelou uma prevalência de 23,7% de cães sororreagentes (NUNES et al., 2001).

A leishmaniose é classificada como uma doença crônica grave, potencialmente fatal para o homem, cuja letalidade pode alcançar 10% quando não se institui o tratamento adequado. Em 19 dos 27 estados brasileiros já foram registrados casos autóctones de LV. Nos últimos cinco anos, ocorreram em média 3.500 casos humanos novos, sendo a maioria na região Nordeste do país (GONTIJO; MELO, 2004). A identificação dos hospedeiros naturais de *Leishmania* spp é de extrema importância para determinar o ciclo natural do parasito e para melhor compreender a epidemiologia da doença (OLIVEIRA et al., 2005).

A expansão da infecção na região do Mato Grosso do Sul, aliada à implementação do ecoturismo e à implantação de assentamentos do Instituto Nacional de Reforma Agrária (INCRA), assim como, o desconhecimento da fauna flebotomínea local, levaram a estudos nesta área, com o objetivo de identificar condicionantes para a transmissão de leishmanioses à população humana (NUNES et al., 2001).

A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório que tem os felinos como hospedeiros definitivos e os outros animais de sangue quente como hospedeiros intermediários, incluindo o homem (DUBEY et al., 1995). É uma infecção cosmopolita de elevada prevalência na população humana (UCHÔA et al., 1999), no entanto, os casos de doença clínica são menos freqüentes, porém a toxoplasmose congênita pode levar à sérias alterações fetais, incluindo aborto e em pacientes imunodeprimidos causa grave encefalite toxoplásmica (LUFT; REMINGTON, 1985).

Sinais clínicos e achados de necrópsia, observados em infecções experimentais em macacos do Velho Mundo mostraram que estes animais sofrem, na maioria das vezes, infecções não letais por *T. gondii* desenvolvendo-se cronicamente, de forma que a suscetibilidade ao agente e a patogenicidade do mesmo é similares as que ocorrem na espécie humana (VALENTINI et al., 2004).

O objetivo desse estudo foi realizar uma investigação sorológica da infecção por *Leishmania* spp. e *T. gondii* em primatas não humanos (PNH) do município de Campo Gran-

de, MS e comparar as técnicas de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Teste de Aglutinação Modificado (MAT) para a pesquisa do *T. gondii*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo e coleta das amostras

Foram examinados 14 macacos-prego (*Cebus apella*) adultos (8 machos e 6 fêmeas), com peso variando entre 0,9 e 3,5 kg, clinicamente hígidos, provenientes do Centro de Reabilitação de Animais Silvestres (CRAS) de Campo Grande, MS, esses animais são oriundos de vários pontos do estado. Os macacos eram alimentados diariamente com frutas variadas e carne bovina crua.

Após a contenção física em gaiola de transporte e química com Cloridrato de quetamina 15 mg/kg/IM (Vetanarcol R. König Lab) e Diazepan NQ 0,5 mg/kg/IM (Cristalia), foram coletados 5 mL de sangue pela punção da veia jugular. A coleta do material foi realizada em dezembro de 2007 e foram analisadas no Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública da Universidade Estadual de Londrina, PR.

Sorod diagnóstico - Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Leishmania spp. A pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* spp. foi realizada segundo Marzochi (1980) e Mendonça (1988), nas diluições 1:20 e 1:40 para a triagem, com a utilização do conjugado anti-IgG de macaco marcado com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA CHEMICAL Co. St. Louis, EUA), previamente padronizado na diluição 1:500. Foram consideradas positivas as amostras reagentes na diluição maior ou igual a 1:40.

O antígeno utilizado foram às formas promastigotas de *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* cultivada em meio NNN (Mc Neal, Novy e Nicole) (CASTRO, 2001).

Toxoplasma gondii. A pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* foi realizada segundo Camargo (1973), com a utilização do conjugado anti-IgG de macaco marcado com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA CHEMICAL Co. St. Louis, USA), previamente padronizado na diluição 1:500. Foram consideradas positivas as amostras reagentes na diluição maior ou igual a 1:16. O antígeno utilizado para a fixação nas lâminas foi obtido do líquido peritoneal de camundongos previamente inoculados com taquizoítos da cepa RH.

Teste de Aglutinação Modificado (MAT)

O teste foi realizado segundo Dubey e Desmonts (1987) e Garcia et al. (2005). Foram consideradas positivas as amostras reagentes na diluição maior ou igual a 1:64. O antígeno utilizado foi obtido do líquido peritoneal de camundongos previamente inoculados com taquizoítos da cepa RH.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 14 amostras analisadas nenhuma foi positiva para a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* spp. (Tabela 1). Em-

Tabela 1. Resultados da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e do teste de aglutinação modificado (MAT) em amostras de soro de macacos-prego (*Cebus apella*) provenientes do centro de reabilitação de animais silvestres (CRAS) de Campo Grande, MS, 2007.

Amostras	Leishmaniose RIFI	Toxoplasmose	
		RIFI	MAT
1	< 40	< 16	< 64
2	< 40	4096	8000
3	< 40	1024	1024
4	< 40	< 16	< 64
5	< 40	< 16	< 64
6	< 40	< 16	< 64
7	< 40	< 16	< 64
8	< 40	< 16	< 64
9	< 40	< 16	< 64
10	< 40	4096	1024
11	< 40	< 16	< 64
12	< 40	4096	1024
13	< 40	< 16	< 64
14	< 40	< 16	-*

* Material insuficiente.

bora não se tenha encontrado nenhum exemplar positivo para *Leishmania* spp., tais animais são considerados reservatórios da *Leishmania* spp. (SHAW; LAISON, 1987). A leishmaniose visceral humana e em primatas não humanos obedece à uma distribuição espacial paralela à do calazar em canídeos (NUNES et al., 2001). Além disso, Melo e Nunes (1998) relataram que a região metropolitana de Campo Grande, MS, é considerada endêmica e de expansão da leishmaniose visceral.

Para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* foi encontrada uma prevalência de 28,7% (4/14) quando utilizada a RIFI e 30,8% (4/13) para o MAT. As amostras 2, 3, 10 e 12 foram positivas para ambas as técnicas (Tabela 2), demonstrando que a RIFI e o MAT apresentaram concordância quando utilizadas para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* na população estudada.

Os resultados encontrados neste estudo diferem dos achados de Valentini et al. (2004) que analisaram 40 amostras de soro de *Macaca mulatta* de uma colônia de São Paulo pela

Tabela 2. Comparação dos resultados encontrados na reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e no teste de aglutinação modificado (MAT) para os anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em 13 amostras de soro de macacos-prego (*Cebus apella*) provenientes do centro de reabilitação de animais silvestres (CRAS) de Campo Grande, MS, 2007.

Variáveis		RIFI					Total	
		Negativo	16	64	256	1024		4096
MAT	Negativo	9	-	-	-	-	9	
	64	-	-	-	-	-	-	
	256	-	-	-	-	-	-	
	1024	-	-	-	-	1	2	
	8000	-	-	-	-	-	1	
	Total					1	3	13*

* Excluída uma amostra por material insuficiente.

RIFI e MAT e encontraram uma prevalência de 20,0% e 17,5%, respectivamente, caracterizando uma concordância substancial ($k=0,7540$). Garcia et al. (2005) estudaram 60 amostras de PNH de vida livre do Paraná, utilizando o MAT, e encontraram uma prevalência de 26,6%.

A presença de anticorpos anti-*T. gondii* na população estudada pode estar ligada ao próprio meio ambiente contaminado, uma vez que já foi relatada a liberação de oocistos por algumas espécies de felídeos selvagens (CUBAS; SILVA; CATÃO-DIAS, 2006). Os animais soropositivos podem ter entrado em contato com o parasito através do manejo alimentar, uma vez que lhes foram oferecidos frutas e carne bovina crua. Resultados semelhantes foram encontrados por Valentini et al. (2004) que destacaram ainda, a importância da invasão do viveiro por aves e/ou roedores, que podem ser predados pelos macacos.

CONCLUSÕES

Os PNH são potencialmente reservatórios de inúmeras zoonoses de interesse em saúde pública, de transmissão direta ou indireta, como no caso das arboviroses, da leishmaniose e da toxoplasmose. Desta forma, estes animais são considerados sentinelas para a pesquisa ou para a vigilância dessas zoonoses. Assim, estudos que mostram a situação epidemiológica destas infecções nos diferentes ecossistemas valorizam a pesquisa nestes animais.

O crescente aumento no número de casos relacionados a doenças emergentes em saúde pública ocorre em função da destruição de áreas de conservação ambiental, o que reduz o espaço de animais selvagens de vida livre e os aproxima de áreas de contato com humanos. Há também os animais de cativeiro e zoológicos que, mesmo dentro de uma tentativa de manejo sanitário, estão em contato com ambientes extremamente contaminados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BOELAERT, M.; CRIEL, B.; LEEUWENBURG, J.; VAN DAMME, W.; LE RAY, D.; VAN DER STUYFT, P. Visceral leishmaniasis control: a public health perspective. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 94, n. 5, p. 465-471, 2000.
- CAMARGO, M. E. Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Revista Brasileira de Patologia Clínica*, v. 10, n. 1, p.143-171, 1973.
- CASTRO, E. A., THOMAZ-SOCCOL, V., AUGUIR, C. Standardization of ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) and Indirect Fluorescent Antibody Test (IFAT) techniques for canine cutaneous leishmaniasis. *International Conference on New Horizons in Biotechnology*, Trivandrum, Índia, Abstracts, p.228, 2001.
- CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. *Tratado de Animais Selvagens*. Medicina Veterinária. São Paulo: Roca, 2006, 1376p.
- DUBEY, J.P., DESMONTS, G. Serological responses of equids

- fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Veterinary Journal*, v. 19, n. 4, p. 337-339, 1987.
- DUBEY, J. P.; WEIGEL, R. M.; SIEGEL, A. M.; THULIEZ, P.; KITRON, U. D.; MITCHELL, M. A.; MANNELLI, A.; MATEUS-PINILLA, N. E.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; TODD, K. S. Sources and reservoirs of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. *Journal of Parasitology*, v. 81, n. 5, p. 723-729, 1995.
- GARCIA, J. L.; SVOBODA, W. K.; CHRYSSEAFIDIS, A. L.; MALANSKI, L. S.; SHIOZAWA, M. N.; AGUIAR, N. L.; TEIXEIRA, G. M.; LUDWIG, G.; SILVA, L. R.; HILST, C.; NAVARRO, I. T. Sero-epidemiological survey for toxoplasmosis in wild New World monkeys (*Cebus* spp., *Alouatta caraya*) at the Parana river basin, Parana state, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 133, n. 4, p. 307-311, 2005.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, São Paulo, v. 7, n. 3, p.338-349, 2004.
- LUFT, B. J.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmosis of the central nervous system. In: REMINGTON, J. S.; SWARTZ, M. N. *Current Clinical Topics in Infectious Diseases*. New York: McGraw-Hill. v. 6, n.4 , p. 315-358, 1985.
- MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. C.; SABROZA, P. C.; SOUZA, W. J. S. Reação de Imunofluorescência indireta e intradermoreação para leishmaniose tegumentar americana em moradores na área de Jacarepaguá (Rio de Janeiro). Estudos comparativos dos resultados observados em 1974 e 1978. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 22, n.1, p. 149-155, 1980.
- MELO, D. A.; NUNES, V. L. B. *Cercocyon thous* (L) (Carnivora, Canidae), Naturally Infected with *Leishmania donovani chagasi* (Cunha & Chagasi, 1937) in Corumbá (Mato Grosso do Sul State, Brazil), *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 83, n.2 , p. 259, 1998.
- MENDONÇA, S. C. F.; SOUZA, W. J. S. D., NUNES, M. P., MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G. Indirect immunofluorescence test in New World Leishmaniasis: serological and clinical relationship. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 22, n. 3, p. 347-355, 1988.
- NUNES, V. L. B.; GALATI, E. A. B.; NUNES, D. B.; ZINEZZI, R. O.; SAVANI, E. S. M. M.; ISHICAWA, E.; CAMARGO, M. C. G. O.; D'ÁURIA, S. R. N.; CRISTALDO, G.; ROCHA, H. C. Ocorrência de Leishmaniose visceral canina em assentamento agrícola do Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 34, n. 3, p. 301-302, 2001.
- OLIVEIRA, F. S., PIRMEZ, C., PIRES, M. Q., BRAZIL, R. P., PACHECO, R. S. PCR-based diagnosis for detection of *Leishmania* in skin and blood of rodents from an endemic area of cutaneous and visceral leishmaniasis in Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 129 , n. 3-4 , p. 219-227, 2005.
- SHAW, J. J.; LAISON, R. Ecology and epidemiology: new world. In: Peters, W.; Killick-Kendrick, R.eds. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*. New York: Academic Press, v. 1, n.1, p. 291-363, 1987.
- UCHÔA, C. M. A.; DUARTE, R.; SILVA, L. V.; ALEXANDRE, G. M. C.; FERREIRA, H. G; AMENDOEIRA, M. R. R. Padronização de Ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de Imunofluorescência Indireta. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 32, n. 6, p. 661-669, 1999.
- VALENTINI, E. J. G.; CAPRARA, A.; SOUZA, S. L. P.; MATTARAIA, V. G. M.; GENNARI, S. M.; RODRIGUES, U. P.; FRANCISCO, F. M.; SOARES, R. M. Investigação sorológica de infecção por *Toxoplasma gondii* em colônia de macacos da espécie *Macaca mulatta*. *Arquivos do Instituto Biológico de São Paulo*, v. 71, n. 4, p. 507-510, 2004.

Recebido em 30 de abril de 2008.

Aceito para publicação em 14 de setembro de 2008.