

## FREQÜÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM SOROS DE EQUINOS NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL.

G. S. GAZÊTA<sup>1</sup>, A. E. A. DUTRA<sup>2</sup>, A. N. NORBERG<sup>3</sup>, N. M. SERRA-FREIRE<sup>1</sup>, W. J. S. SOUZA<sup>2</sup>, M. AMORIM<sup>1</sup> & L. M. S. LOPES<sup>1</sup>.

(1) Curso de Pós-Graduação em Parasitologia Veterinária - Departamento de Parasitologia Animal, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 23851-970; (2) Departamento de Patologia da Escola de Ciências Médicas de Volta Redonda da Fundação Oswaldo Aranha, Três Poços, Volta Redonda, RJ, 27197-000; (3) Departamento de Patologia da Faculdade de Ciências Biológicas e de Saúde da Universidade de Nova Iguaçu-UNIG

**SUMÁRIO:** Exames sorológicos para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* foram realizados durante o ano de 1995, em 430 equinos adultos, aparentemente sadios, de 12 municípios do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. O método empregado foi o da imunofluorescência indireta. Considerou-se como reagentes soros que mostraram títulos a partir de 1:16. O resultado mostrou que 4,42 % dos equinos trabalhados apresentavam títulos de anticorpos anti-*T. gondii*, sugestivos de infecção toxoplásmica, e demonstrou o caráter endêmico da toxoplasmose equina no Estado do Rio de Janeiro.

**PALAVRAS-CHAVE:** Toxoplasmoses, anticorpos, equino.

### INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma parasitose causada por *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909), capaz de infectar seres humanos e várias outras espécies de animais entre mamíferos e aves (CAMPILLO, 1973; AMENDOEIRA, 1980; FERRARONI & MARZOCHI, 1980). Através de levantamentos sorológicos tem-se demonstrado que essa protozoose é de ampla distribuição geográfica, só não estando assinalada na Antártida (HUGGINS, 1972).

Em seu ciclo vital *T. gondii* apresenta duas fases distintas, entérica e exoentérica (DUBEY, 1986; FRENKEL, 1986). A primeira ocorre em felídeos e a segunda pode ocorrer em diversas espécies de animais após a ingestão de água ou de alimentos inquinados, como leite cru de vaca ou de cabra (EICHENWALD, 1948; CHAMBERLAIN, 1953), ovos de galinha, patas e outras espécies contaminadas com taquizoítas viáveis (APT *et alii.*, 1973; SPARAPANI, 1950). Porém, a maioria dos autores considera que a ingestão de carne crua ou mal cozida é o mecanismo mais comum de transmissão de *T. gondii* (BROWN, 1977; PESSOA & MARTINS, 1977; NEVES *et alii.*, 1995; GOUART & COSTA-LEITE, 1978; AMENDOEIRA, 1980).

A presença do gato doméstico associada a grande número de roedores (ciclo gato-rato) em uma área, constitui-se em importante elo de transmissão para diversas outras espécies de animais (COUTINHO *et alii.*, 1982; SOUZA, 1986). Entre esses animais, a infecção de matrizes resulta em esterilidade, abortos precoces e mortalidade neonatal; estes achados são esporádicos e praticamente se limitam a rebanhos e áreas com surtos de toxoplasmose. Há estreita relação entre a prevalência da infecção nos animais e a ocorrência de casos isolados ou surtos em humanos (GIBSON *et alii.*, 1957; VERNA & DIENST, 1965), com forma clínica bem individualizada ou relacionada apenas ao sistema ocular.

Os equinos parecem ser uma das mais resistentes espécies de animais no desenvolvimento clínico da toxoplasmose (ALKHALIDI *et alii.*, 1980). Entretanto, manifestações clínicas associadas a *T. gondii* em equinos vêm sendo citadas sob variadas formas (CUSICK *et alii.*, 1974; DUBEY & PORTFIELD, 1986). Tais manifestações incluem hiperirritabilidade, incoordenação, desordem do sistema nervoso e ocular (DUBEY *et alii.*, 1974; TURNER & SAVVA, 1991). No Brasil, MARQUES *et alii.* (1995), em trabalho experimental, reforçam a hipótese da transmissão transplacentária de *T. gondii* em equinos, tendo sido encontrado, por Imunofluorescência indireta, títulos de 1:16 e 1:64 nos potros positivos.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os animais foram obtidos por aleatoriedade simples, sendo determinado que o número mínimo de amostras em cada município seria de 50% dos animais por criatório ou área delimitada. Convencionou-se ainda que, quando o número de animais fosse igual ou inferior a 20, todo o plantel (100%) seria examinado. Dos 12 municípios pesquisados, 5 tiveram avaliados os animais de áreas rurais, 5 de áreas urbanas e 2 foram avaliados tanto em área rural, quanto em área urbana (Tabela 1). Sete das dez zonas fisiográficas do Estado do Rio de Janeiro foram pesquisadas para a presença de anticorpos anti-*T. gondii* (Tabela 3).

As amostras de sangue foram colhidas por punção da veia jugular externa, com tubos de vacutainer e deixadas coagular. Após retração do coágulo o material foi centrifugado a 2.000 g por cinco minutos; o soro obtido foi transferido para tubos estéreis com rolha de borracha atóxica estéril, e conservados a -20°C até o momento de realizar as provas sorológicas.

A amostra de *T. gondii* utilizada na preparação do antígeno para reação de imunofluorescência indireta (IFI) foi de origem humana, fornecida pelo Departamento de Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz, e mantida em camundongos *Mus musculus*, suíço albino, com quatro semanas de vida e 20 gramas, no biotério da Escola de Ciências Médicas de Volta Redonda.

A identificação da amostra foi realizada a partir do lavado peritoneal dos camundongos infectados. Para observação das características morfológicas empregou-se a técnica de exame a fresco entre lâmina e laminula (BIER, 1985) e esfregaços corados pelos métodos Giemsa e Gram (PESSOA & MARTINS, 1977).

Na técnica de I+I empregada seguiu-se as descrições de literatura (REMINGTON *et alii.*, 1968; CAMARGO, 1965; NERY-GUIMARÃES *et alii.*, 1968). Taquizoítos de *T. gondii* obtidos dos camundongos, suspensos em solução de cloreto de sódio a 0,85% e livres de leucócitos, foram os antígenos.

Os títulos dos soros desconhecidos eram dados pela maior diluição em que a maioria dos *T. gondii* ainda apresentassem nítida fluorescência de tonalidade esverdeada em toda a periferia dos taquizoítos. Em cada grupo de reações sempre era incluído em soro positivo e de título conhecido, e outro comprovadamente negativo; as reações foram consideradas positivas quando reagiam a diluição de 1: 16 ou acima.

A relação entre sexos e entre áreas urbanas e rurais foi avaliada pelo Teste Z para proporções.

## RESULTADOS

Dos 430 equinos examinados, 19 (4,42%) foram sororeagentes (Tabela 1). Os títulos encontrados foram de 1/16 e 1/64 pelo teste de Imunofluorescência Indireta.

Tabela 1- Frequência de anticorpos Anti-*T. gondii* em relação ao número de amostras e o município.

Municípios	Área	Nº amostras	Nº positivos	%
Bom Jesus de Itabopoana	Rural	21	0	0
Itaboraí	Rural	20	2	10,00
Itaperuna	Rural	19	1	5,26
Volta Redonda	Rural	16	0	0
Três Rios	Rural	64	3	4,69
Raposo	Rural	10	0	0
	Urbano	21	2	9,52
Teresópolis	Rural	30	0	0
	Urbano	31	3	9,68
Iguaba	Urbano	26	3	11,54
Itaguaí	Urbano	22	2	9,10
Rio de Janeiro	Urbano	95	2	2,10
Santo Antônio de Pádua	Urbano	31	1	3,27
São Fidelis	Urbano	24	0	0
TOTAL	14	430	19	4,42

Trezentos e sessenta e cinco (85%) dos animais foram avaliados quanto ao sexo, sendo 220 fêmeas e 145 machos. Desses, 14 (6,36%) fêmeas e quatro (2,76%) machos eram soropositivos para *T. gondii*.

A idade dos animais variou entre um mês e 25 anos, sendo que todos os animais positivos tinham idade variando entre um e dez anos. O resultado da frequência de anticorpos anti-*T. gondii*, por faixa etária, é apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em relação a faixa etária.

Faixa etária (anos)	nº positivos	% positivos
1	2	10,53
2	2	10,53
3	2	10,53
4	3	15,79
5	2	10,53
6	0	0
7	2	10,53
8	4	21,05
9	1	5,26
10	1	5,26
Total	19	100

Dos 12 municípios, localizados em diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro, nove (75%) mantinham animais positivos para toxoplasmose. A análise de cada município mostrou que 85,71% das áreas urbanas e 42,86% das áreas rurais pesquisadas possuíam animais soropositivos, sendo que 13 (5,2%) dos 250 equinos manejados em ambiente urbano e seis (3,33%) dos 180 de ambiente rural tiveram títulos considerados positivos (Tabela 3).

Tabela 3 - Frequência de anticorpos anti- *T. gondii* segundo a área pesquisada.

Área	Nº amostras	Nº positivos	%	Nº de municípios por área	Nº positivos	%
Rural	180	6	3,33	7	3	42,86
Urbana	250	13	5,20	7	6	85,71
Total	430	19	4,42			

Seis (85,70%) das zonas fisiográficas pesquisadas foram consideradas positivas. As maiores prevalências foram observadas nas zonas fisiográficas da Baixada de Araruama e Baixada da Guanabara (Tabela 4).

Tabela 4 - Prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* por zona fisiográfica.

Zonas Fisiográficas	Municípios	% positivos
Baixada de Araruama	Iguaba	11,54
Baixada da Guanabara	Itaboraí	10,0
Baixada do Rio Guandu	Rio de Janeiro	
	Itaguaí	3,42
Munae	Itaperuna	
	Bom Jesus do Itabapoama	
	Santo Antônio de Pádua	
	Raposo	3,92
Cantagalo	São Fidélis	0
Alto da Serra	Teresópolis	4,92
Resende	Três Rios	
	Volta Redonda	3,75
Total	12	75,0

## DISCUSSÃO

A prevalência da toxoplasmose equina nas diferentes regiões parece estar associada a fatores do ambiente tais como umidade, temperatura e altitude (SMITH, 1962; WALL & KAGAN, 1967). JACOBS (1957), aponta que essa prevalência é maior em áreas quentes e úmidas, o que corrobora com os resultados ora encontrados, já que, das regiões fisiográficas do Estado do Rio de Janeiro analisadas, a região da Baixada de Araruama com 11,54% e a região da Baixada da Guanabara com 10,0%, apresentaram as maiores prevalências (Tabela 4), estando essas regiões entre aquelas com maior características de clima quente e úmido. Essas duas regiões apresentam, em boa parte, um sistema de criação de equinos tecnicamente pobre, podendo ser observado animais criados à margem de rodovias ou em centros urbanos, soltos, sem cuidados sanitários, muitas vezes buscando o alimento entre o lixo depositado. Essas características de clima e criação também pôde ser observada na região fisiográfica da Baixada do Rio Guandu que, apesar de não estar entre as de maiores prevalências, apresentou no município de Itaguaí a terceira maior frequência de anticorpos anti-*T. gondii* (9,09%). Essas

três regiões fisiográficas se destacam pela concentração populacional e pelo fluxo turístico, o que as tornam importantes em termos de saúde pública, já que parece ocorrer o consumo de carne equina oriunda do abate clandestino.

O encontro de 85,70% de positividade das regiões fisiográficas pesquisadas possibilita assinalar o Estado do Rio de Janeiro como endêmico para toxoplasmose equina.

RIEMANN *et alii* (1975), citam que a distribuição da infecção toxoplásmica em equinos sofre influência das fontes de infecção onde os cavalos são criados, de fatores induzidos pelo homem e das constantes movimentações entre áreas, o que vai ao encontro dos resultados apresentados pois, a positividade encontrada para áreas urbanas em relação às áreas rurais é de um em mil, indicando haver fatores predisponentes ao fenômeno que não se manifestam por obra do acaso. Essa prevalência é diferente daquela encontrada por SERRA-FREIRE *et alii* (1994), no Estado do Rio de Janeiro, para toxoplasmose caprina, onde 100% das áreas urbanas e nenhuma área rural apresentaram animais infectados. Dessa forma, as áreas rurais assumem papel importante na epidemiologia da toxoplasmose equina.

As análises estatísticas indicaram que a prevalência encontradas para machos em relação às fêmeas também é raríssima e que pode haver influências de fatores nessa prevalência que não se manifestaram ao acaso, mesmo porque, RIEMANN *et alii* (1975), ao avaliarem 1.158 equinos, de diferentes raças em várias regiões dos Estados Unidos, concluíram não haver diferenças significativas entre sexos para a presença de anticorpos anti-*T. gondii*, resultado semelhante ao obtido por COSTA *et alii* (1986) trabalhando com equinos na região norte do Estado de São Paulo, Brasil.

A análise da idade nas infecções toxoplásmicas naturais em equinos são raras na literatura. Somente RIEMANN *et alii* (1975) apresentaram resultados para esse parâmetro sem contudo discutirem objetivamente sobre os mesmos. Esses autores encontraram 2% de prevalência para equinos com um ano ou menos de idade, 18% para equinos com dois anos e um incremento de aproximadamente 2% ao ano até 12 anos. Dos 13 aos 23 anos a prevalência foi próxima a 38%. Assim, há contradições em relação aos resultados obtidos para o presente trabalho, pois não encontramos positividade em animais com idade inferior a um ano ou em animais com idade superior a dez anos. Outras diferenças foram observadas a literatura no que se refere a prevalência. Dessa forma, o resultado obtido de 4,42% de animais infectados difere dos resultados de RIEMANN *et alii* (1975) ao testarem sorologicamente 1.294 equinos, em várias regiões dos Estados Unidos, que encontraram 20% de prevalência. Estes mesmos autores citam que VANDERWAGEM *et alii* (1974) obtiveram 14% de positividade trabalhando com 105 equinos no Estado da

Califórnia (E.U.A.), o que é próximo aos 20% encontrados por aqueles autores nesse mesmo Estado. RIEMANN *et alii* (1975) demonstraram ainda diferenças na prevalência dentro do próprio Estado da Califórnia. AL-KHALIDI & DUBEY (1979), também trabalhando nos Estados Unidos (Ohio), encontraram 10% de prevalência em 500 equinos examinados. No Brasil, COSTA *et alii* (1986) encontraram 223 (24,8%) animais sororeagentes de um total de 900 equinos examinados, o que também difere dos resultados ora obtidos. Estudos epidemiológicos mais detalhados da toxoplasmose equina poderão vir a explicar tais diferenças.

## SUMMARY

Serologic examinations for detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies were realized during 1995, in 430 adults equines, apparently healthy, from 12 (twelve) municipal districts at the Rio de Janeiro State, Brazil. The method utilized was indirect immunofluorescence, cause it's high sensibility. Was considered as reactive serum tilles from 1:16. It was observed that 4,42 % equines presented anti- *T. gondii* antibodies titles ( titles for anti-*T. gondii* antibodies), suggesting toxoplasmic infection.

KEY WORDS: Toxoplasmosis, antibody, horse

## REFERÊNCIAS

- AL-KHALIDI, N.W. & DUBEY, J. P. (1979). Prevalence of *Toxoplasma gondii*. Infection in horses. *Journal of Parasitology*, 65 (2): 331-334.
- AL-KHALIDI, N.W.; WEISBRODE, S.E. & DUBEY, J. P. (1980). Pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts to ponies. *American Journal Veterinary Research*, 41 (9): 1549-1551.
- AMENDOEIRA, M.R.R. (1980). *Tentativa de evidencição do Toxoplasma gondii em saliva e /ou amígdalas em dois grupos de indivíduos do Rio de Janeiro. Tese de Mestrado.* Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro . p.1, 2, 12, 63.
- BIER, O. 1977. *Bacteriologia e imunologia*. 24 ed. Melhoramentos, S. Paulo, p. 744-931.
- BROWN, H. W. 1985 *Parasitologia Clínica*. 4ª ed. Ed. Interamericana, p.58-59.
- CAMARGO, M.E. (1965). Preparation of microscopical slides to simplify imunofluorescence serological titrations. *Revista do Instituto de Medicina de São Paulo*, 7: 39
- CAMPILLO, J. C. (1973). Sobre la epidemiologia de la toxoplasmosis. *Revista Iberica Parasitologia*, 33: 347-406.
- CHAMBERLAIN, D.M.; DOCTON, F.L. & COLE, R.C. (1953). Toxoplasmosis. Intrauterine infection in dogs, premature birth and presence of organisms in milk. *Proceeding of Society Experimental Biology and Medicine (NY)*. 82: 198-200.
- COSTA, A.J.; ISHIZUKA, M.M.; MARQUES, L.C.; VIDOTTO, O.; ROCHA, U.F.; IKEDA, A. ( 1986). Toxoplasmosis frequency in equines from the north region of São Paulo state, Brazil. *Ars. Veterinária, Jaboticabal*, 2(1): 75-79.
- COUTINHO, S.G.; LOBO, R. & DUTRA, G. (1982). Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brasil. *Journal of Parasitology* 68: 866-868.
- CUSICK, P. K.; SELLS, D. M.; HAMILTON, D.P. & HARDENBROOK, H.J. (1974) Toxoplasmosis in two horses. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 164 ( ): 77-80.
- DUBEY, J. P.; DAVIS, G. W.; KOESTNER, A. & KIRYU, K. (1974). Equine encephalomyelitis due to a protozoan parasite resembling *Toxoplasma gondii*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 165 (3): 249-255.
- DUBEY, J. P. (1986). Toxoplasmosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189: 166-170.
- DUBEY, J. P. & PORTERFIELD, M. L. (1986). Toxoplasma-like sporozoa in an aborted equine fetus. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 11 (1): 1312-1313.
- EICHENWALD, H.F. (1948). Experimental toxoplasmosis. I. Transmission of the infection in utero and through the milk of lactating female mice. *American Journal Diseases Child*, 76: 307-315.
- FERRARONI, J. J. & MARZOCHI, M.C.A. (1980). Prevalência da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em animais domésticos, silvestres e grupamentos humanos da Amazônia. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 75: 99-109.
- FRENKEL, J.K.. (1986) La inmunidad en la toxoplasmosis. *Boletim de la Oficina Santaria Panamericana*, 100: 283-299.
- GIBSON, C.L. & FYLES, D.E. (1957). Toxoplasma infection in animals associated with a case human congenital toxoplasmosis. *American Journal Tropical Medical Hygiene*, 6: 990-1000.
- GOULART, E. G. & COSTA-LEITE, I. 1978. *Parasitologia & Micologia Humana*. 2ª ed. Ed. Cultura Médica, p. 139-140.
- HUGGINS, D. (1972). Toxoplasmose adquirida forma linfoglandular. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 1: 27-32.
- JACOBS, L. (1957). The interrelation of toxoplasmosis in swine, cattle, dogs and man. *Public health Reports*, 72: 872-878.

- MARQUES, L.C.; COSTA, A.J.; LOPES, C.W.G.; MORAES, F.R.; MORAES, J.R.E. (1995). Experimental toxoplasmosis in pregnant mares: a study of fetuses and placentas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, 32(4): 246-250.
- NERY-GUIMARÃES, F.; GRYNBERG, N.; LAGE, H.A. & VENANCIO, I. A. (1968). Reação indireta de anticorpos fluorescentes no diagnóstico de toxoplasmose. *Jornal Brasileiro de Medicina*, 15: 89.
- NEVES, D.P.; MELO, A. L. DE.; GENARO, O. & LINARDI, P. M. 1995. *Parasitologia Humana*. 9ª ed. Ed. Atheneu, Belo Horizonte, p. 174-187.
- PESSOA, S.B. & MARTINS, A.V. 1977. *Parasitologia Médica*. 10ª ed. Ed Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 286-289, 296-931.
- REMYINGTON, J.S.; MILLER, M. J. & BROWNLEE, I. (1968). IgM antibodies in acute toxoplasmosis. II. Prevalence and significance in acquired cases. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 71: 855-866.
- RIEMANN, H. P.; SMITH, A. T.; STORMONT, C.; RUPPANNER, R.; BEHYMER, D. E.; SUZUKI, Y.; FRANTI, C. E. & VERN, B. B. (1975). Equine toxoplasmosis a survey for antibodies to *Toxoplasma gondii* in horses. *American Journal Veterinary Research*, 36 (12): 1797-1800.
- SERRA-FREIRE, N.M.; NORBERG, A.N.; GAZÊTA, G.S. (1994.). Toxoplasmosis caprina no Rio de Janeiro, Brasil. *Parasitologia al Dia*, 18: 77-81.
- SMITH, I.D. (1962.). Observation of ovine abortion, with particular reference to toxoplasmosis and virus abortion. *Australian Veterinary Journal*, 38: 143-146.
- SOUZA, W. J. S. (1986). *Aspectos soroepidemiológicos da toxoplasmose em escolares no Rio de Janeiro. Tese de Mestrado. UFRJ, Brasil.*
- SPARAPANI, G. C. (1950). La toxoplasmosi dei polii. *Pediat. (Napoli)*, 58: 411-414.
- TURNER, C. B. & SAVVA, D. (1991). Detection of *Toxoplasma gondii* in equine eyes. *Veterinary Record.*, 129 (6): 128.
- VANDERWAGEM, L.C.; BEHYMER, D.E.; RIEMANN, H.P. & FRANTI, C.E. (1974). A survey for toxoplasma antibodies in northern California livestock and dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 164: 1034-1037.
- VERNA, M. & DIENST, B. R. (1965). Pig to pig transmission of toxoplasmosis. *Journal of Parasitology*, 51: 1021-1022.
- WALLS, K.W. & KAGAN, I.G. (1967). Studies on the prevalence of antibodies *Toxoplasma gondii*. 2. Brazil. *American Journal Epidemiology*, 86: 305-313.

(Received 29 October 1996, Accepted 18 June 1997)