

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Ocorrência de Anticorpos Anti-*Toxoplasma gondii* Nicolle e  
Manceaux, 1909 em *Felis domesticus* na região de Uberlândia, Minas  
Gerais**

Patrícia Querina Maestri

Monografia apresentada à coordenação do Curso de Ciências  
Biológicas, Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção  
do grau de Bacharel em Ciências Biológicas

**Uberlândia - MG**  
**DEZEMBRO-1998**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Ocorrência de Anticorpos Anti-*Toxoplasma gondii* em *Felis domesticus* na região de Uberlândia, Minas Gerais**

Autora: Patrícia Querina Maestri

Orientador: Prof(a). Ms. Dagmar Diniz Cabral

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Uberlândia, para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

**Uberlândia - MG**  
**DEZEMBRO-1998**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Ocorrência de Anticorpos Anti-*Toxoplasma gondii* em *Felis domesticus* na região de Uberlândia, Minas Gerais**

Patrícia Querina Maestri

Aprovada pela banca examinadora em    /    /   

Nota   

*Arquivo*  
Arquivo de documentos  
do curso de Ciências Biológicas  
da Universidade Federal de Uberlândia  
em 11/05/2011 às 14:00:00  
Rua João Nogueira, 1715 - Uberlândia, MG - 38400-902  
Fone: (35) 3249-1000

\_\_\_\_\_  
Ms. Dagmar Diniz Cabral

*Julio Mendes*  
\_\_\_\_\_  
Dr. Júlio Mendes

\_\_\_\_\_  
Ms. Ana Maria Coelho Carvalho

Uberlândia,    de    de

***Quando meus olhos se fecharem, mesmo por um instante. . .***

***Quero lembrar dos sonhos que tive. . .***

***Quero poder alcançar com o coração as emoções vividas.***

***Quero abraçar com meu sorriso as experiências que fizeram parte do meu caminho.***

***E. . .***

***Quando meus olhos se fecharem para sempre. . .***

***Quero ter a certeza que lutei até o fim.***

***E pude ser feliz. . .***

***Patrícia Querina Maestri***

## **DEDICO**

Ao meu pai, que mesmo em silêncio, sempre iluminou meu caminho.

À minha avó, que mesmo não entendendo o significado desse trabalho, sempre torceu pela minha vitória.

Ao meu irmão e cunhada por me ajudarem com seu sorriso, sempre dispostos e prestativos quando precisei de seu apoio.

À minha sobrinha Izabela, por ter nascido e estar nos proporcionando belos momentos.

À minha tia madrinha Norma, que com seu jeito carinhoso sempre se mostrou interessada e curiosa à respeito dos meus estudos.

Ao Sérgio Hideo Iwanaga, que nos melhores e piores momentos desta etapa esteve ao meu lado, com sua ternura, proteção e **AMOR**.

## AGRADECIMENTOS

À professora Dagmar, por ter acreditado em mim e aceitar ser minha orientadora.

À Deise, pois sem seu apoio e dedicação não seria possível a conclusão deste estudo.

Às amigas Kely e Mônica, por sua amizade e prestatividade, sempre dando dicas e dispostas a ajudar.

À amiga Eliane pela orientação na busca de bibliografias e dicas de como dispor bem o texto do trabalho.

À **DEUS** que me permitiu chegar a mais um final – quem sabe o início – de mais uma jornada.

## ÍNDICE

<b>1-Introdução e Fundamentação Teórica.....</b>	<b>01</b>
<b>2-OBJETIVOS.....</b>	<b>06</b>
<b>3- MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>07</b>
<b>4-Resultados.....</b>	<b>08</b>
<b>5-Discussão.....</b>	<b>12</b>
<b>6-Conclusão.....</b>	<b>14</b>
<b>7-Referências Bibliográficas.....</b>	<b>15</b>

## RESUMO

O presente estudo investigou a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em gatos (*Felis domesticus*) capturados no município de Uberlândia-MG, durante o período de fevereiro a junho de 98. Foram analisados 100 amostras de soros de gatos, sem raça definida, pelo teste de Hemaglutinação indireta (HAI). Verificou-se, pelo método qualitativo (triagem), que 41% dos animais apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose com títulos  $\geq 64$  de imunoglobulinas da classe G (IgG) e/ou imunoglobulinas da classe M (IgM). Por análise quantitativa, observou-se que o título de anticorpos (Ac) mais frequente foi 128(24,5%) e, após tratamento das 41 amostras positivas com 2 mercaptaetanol (2ME), 15(37%) apresentaram Ac IgM específicos, caracterizando infecção recentemente adquirida.

Deve-se enfatizar que os 59% de animais soropositivos podem estar no período de pré-soroconversão e excreção de oocistos, devendo ser periodicamente testados para monitorar a presença da infecção.

O teste de HAI, foi escolhido por ser de fácil e simples execução e por sua vez, apresentou-se com boa sensibilidade, podendo identificar animais que possam apresentar risco à saúde humana.



## 1 - Introdução e Fundamentação Teórica

A toxoplasmose é uma zoonose que pode acometer várias espécies de animais, incluindo o homem, causada por um protozoário – coccídio – parasita intracelular obrigatório, *Toxoplasma gondii* (SOULSBY, 1987; LAPPIN *et al.*, 1989b; NEVES *et al.*, 1995; MARTINS & VIANA, 1998; DUBEY, 1994). A infecção por *T. gondii* tem distribuição geográfica mundial e elevada prevalência sorológica em algumas regiões, além do que grande parcela da população que, aparentemente sadia, pode apresentar-se positiva para toxoplasmose em testes sorológicos, sendo esta, a forma crônica assintomática e latente da doença (SOULSBY, 1987; NEVES *et al.*, 1995).

PIPANO (1992), NEVES *et al.* (1995) e MARTINS & VIANA (1998) relatam que o parasito apresenta uma morfologia diferenciada que muda de acordo com o habitat e estado evolutivo, sendo tal morfologia dividida em 3 estágios infecciosos. Os taquizoítos, também denominada fase proliferativa, são encontrados na fase aguda da infecção, multiplicando-se rapidamente. Bradizoítos, encontrado em vários tecidos, multiplicam-se lentamente, formando crescentes organismos dentro de cistos nos tecidos hospedeiros, próprio da fase crônica da infecção. Oocistos, forma de resistência que possui parede dupla muito resistente às condições ambientais, são produzidos nas células intestinais de felídeos não imunes e são eliminados não esporulados, imaturos, junto com as fezes, tornando-se infectivos, esporulados, no exterior em 1 a 5 dias, dependendo da temperatura e aeração do ambiente, passando a ter dois esporocistos e então, passam a conter quatro esporozoítos cada um.

O *T. gondii* apresenta um ciclo heteroxeno segundo NEVES *et al.*, 1995. Gatos e outros felídeos são hospedeiros definitivos, possuindo o ciclo sexuado (epitélio intestinal – ciclo

enteroepitelial) e ciclo assexuado (outros tecidos), enquanto os homens e outros animais são os hospedeiros intermediários, possuindo apenas o ciclo assexuado, abrigando o estágio encistado (bradizoítos) em vários tecidos extraintestinais, especialmente cérebro e músculos (LAPPIN *et al.*, 1989b; DUBEY, 1994).

Segundo WISE & MACY (1990) ; SOULSBY(1987); LINDSAY *et al.*, 1997 e MARTINS & VIANA, 1998, a doença clínica usualmente ocorre em gatos jovens ou adultos que ao infectar-se oralmente, por oocistos – contendo esporocistos esporulados (contaminação fecal), bradizoítos ou taquizoítos (carnivorismo) desenvolverá o ciclo sexuado, podendo à partir daí começar a liberar oocistos nas fezes, cujo tempo para o fato dependerá da forma infectante ingerida. Os gatos podem espalhar oocistos de três a dez dias da ingestão dos taquizoítos e vinte ou mais dias quando ingerindo oocistos ( PIPANO, 1992; NEVES *et al.*, 1995; LINDSAY *et al.*, 1997) .

*T. gondii* pode ser encontrado em vários tecidos e células (exceto hemácias) e líquidos orgânicos (saliva, leite, esperma, líquido peritoneal, etc) (NEVES *et al.*,1995). Os oocistos presentes nas fezes felinas, podem ser disseminados pela água da chuva, baratas, ventos e minhocas (PIPANO, 1992).

Diagnósticos laboratoriais consistem de exames de fezes felinas, possível durante a infecção primária intestinal por oocistos, e ainda por títulos de anticorpos específico a *T. gondii* durante o período positivo da infecção ( LAPPIN *et al.*, 1989b; LAPPIN *et al.*, 1989c; PIPANO,1992).

O exame de fezes nem sempre é viável, pois os gatos normalmente liberam lentamente oocistos e ainda por um período curto. Sendo assim, a obtenção de um diagnóstico seguro por esse tipo de exame torna-se insatisfatório(LAPPIN *et al.*, 1989b; LAPPIN *et al.*, 1989c; PIPANO, 1992).

Os gatos, após a infecção, desenvolvem anticorpos anti *T. gondii* próximo ao final do período de liberação de oocistos ou ainda somente depois de seu término (PIPANO, 1992).O término da excreção de oocistos depende da expressão da imunidade e no gato reinfectado a liberação de oocistos dificilmente ocorre (SOULSBY, 1987; DUBEY,1994), em virtude da imunidade adquirida (MARTINS & VIANA, 1998)

Os títulos sorológicos podem apresentar resultados positivos durante toda a vida do hospedeiro e os responsáveis são as formas que persistem de bradizoítos ou taquizoítos intracelulares. Portanto, para diagnosticar a infecção por *T. gondii*, são usados testes sorológicos ou imunológicos que indicam o nível do título (diluição de soro sanguíneo) de anticorpos circulantes correspondentes à fase da doença (NEVES *et al.*, 1995).

Existem diversos testes imunológicos, usados na tentativa de melhor diagnosticar a infecção por *Toxoplasma*, dentre eles :

a) Teste do corante ou Reação de Sabin Feldmam (RSF): detecta anticorpos da classe G das imunoglobulinas (IgG), método útil no diagnóstico da infecção crônica, sendo altamente sensível e específico. No entanto, é usado com menor frequência que outros testes, pois tem a desvantagem de requerer parasitos vivos ( LAPPIN *et al.*, 1989a; LAPPIN *et al.*, 1989b; NEVES *et al.*, 1995).

b) Hemaglutinação Indireta (HAI): exame muito utilizado para detectar anticorpos IgG, sendo de alta sensibilidade, de simples execução, bastante adequado para levantamento epidemiológico, freqüentemente usado em laboratórios comerciais (WISE & MACY, 1990; NEVES *et al.*, 1995)

c) Reação de Imunofluorescência Indireta (RIF): usado tanto na fase aguda detectando IgM, como na crônica detectando IgG, sendo o método mais seguro e sensível no diagnóstico da toxoplasmose. (WISE & MACY, 1990; NEVES *et al.*, 1995).

d) Imunoensaio Enzimático ou Teste ELISA: tem sido muito utilizado, principalmente para a fase inicial da toxoplasmose humana. O ELISA se sobressai ao RIF por sua objetividade, automação e quantificação além de apresentar maior sensibilidade; no entanto, pode apresentar resultados falso-positivos, quando gatos infectados por outros coccídios como *Hammondia* e *Besnoitia* e ainda fator reumatóide ou anticorpos antinucleares estejam presentes nas amostras dos soros. Em estudos recentes, vem sendo desenvolvido ELISA para detectar antígenos (Ag) de *T. gondii* circulante no soro de gatos (LAPPIN *et al.*, 1989a; LAPPIN *et al.*, 1989b; LAPPIN *et al.*, 1989c; NEVES *et al.*, 1995).

Na imunidade humoral (mediada por anticorpos) ocorre altos títulos de anticorpos específicos circulantes logo que ocorra infecção pelo *Toxoplasma*, sendo que a produção de imunoglobulinas IgM aparece inicialmente, desaparecendo em período precoce de 3 a 5 semanas após início da infecção (SOULSBY, 1987; NEVES *et al.*, 1995) e, segundo LAPPIN *et al.* (1989b), de 1 a 9 semanas em gatos experimentalmente infectados. Em seguida, há a produção de IgG, podendo ser detectada pelas reações sorológicas de 8 a 12 dias após a infecção. Ocasionalmente, baixos títulos de IgM podem persistir por um ano ou mais (SOULSBY, 1987; NEVES *et al.*, 1995).

Recentes estudos têm apresentado significantes avanços ao diagnóstico da toxoplasmose felina.

Relatos de gatos que foram inoculados oralmente com tecidos infectados, geralmente cérebro de ratos, revelam a grande preocupação que deve-se atribuir à alimentação de gatos

domésticos. O grande número de gatos jovens infectados segundo WILKINSON & THOMPSON (1986); LAPPIN *et al.* (1989c); EBERLE *et al.* (1991), NEVES *et al.* (1995), com menos de 10 meses de idade, provavelmente reflete a idade que o gato sai para caçar e a importância do carnivorismo na transmissão da infecção para os gatos.

Gatos geralmente desenvolvem baixos títulos de anticorpos para *T. gondii* e ainda mais lentamente que outros mamíferos, assim para confirmação da presença da infecção ativa em gatos, tem-se que desenvolver testes precoces na tentativa de obter um diagnóstico satisfatório (WILKINSON & THOMPSON, 1986).

No relato de EBERLE *et al.* (1991), amostras de soros avaliados por aglutinação em látex (LA), hemaglutinação indireta (HAI) e ELISA (IgG, IgM), revelaram que gatos com toxoplasmose clínica tiveram títulos positivos de IgM *T. gondii* específico, sendo que nos testes LA e HAI para soro de gatos domésticos detectaram primariamente IgG específica *T. gondii*.

Segundo WISE & MACY (1990), ocorre uma vantagem com relação aos testes que mensuram IgM e IgG, ocorrendo o aumento da probabilidade de diagnosticar a infecção aguda.

NEVES *et al.* (1995), recomendam além da obtenção dos resultados sorológicos, observar possíveis alterações de quadro clínico. No entanto, a controvérsia ainda pode persistir, pois altos títulos não indicam necessariamente acompanhamento de manifestação clínica patológica sendo que os aspectos clínicos da doença ocorrem usualmente em gatos jovens imunodeficientes ou adultos imunocomprometidos.

Segundo LAPPIN *et al.* (1989a) e LAPPIN *et al.* (1989c), a presença de IgM ou IgG anti *Toxoplasma* ou a presença de Ag circulante detectável nos soros dos gatos sugere infecção por *T. gondii* e esta pode ser recente ou anterior.

A utilização do teste de hemaglutinação indireta na detecção de anticorpos para *T. gondii* como relataram WISE & MACY (1990) e NEVES *et al.* (1995), é de simples e fácil execução dispensando aparelhos especiais para sua realização, sendo sua sensibilidade e especificidade comparáveis à técnica de imunofluorescência indireta.

DEEB *et al.* (1986) confirmaram tal relato, comparando os testes HAI e RIF em amostras de soros de gatos.

O teste HAI revelou 69% de soropositivos para *Toxoplasma* enquanto RIF detectou 70%, sendo também comparáveis os altos títulos de Ac em ambos: 13,3% para o HAI e 14,2% para o RIF, prevalecendo um total de 95% de concordância entre os dois testes (DEEB *et al.*, 1986)

LAPPIN *et al.* (1989a) e LAPPIN *et al.* (1989b) relatam ainda que as concentrações dos anticorpos (título) são usualmente altos por meses ou anos após a infecção, por consequência não

pode ser utilizado como diagnóstico de infecção recente. Para tal, somente a demonstração do aumento de títulos de anticorpos em amostras pareadas, é diagnóstico seguro de infecção aguda.

A classe de imunoglobulina IgM é normalmente detectada em gatos infectados experimentalmente com doença subclínica em menos de 12 semanas após infecção (WISE & MACY, 1990). De acordo com LAPPIN *et al.* (1989b) a duração de anticorpos IgM da toxoplasmose em humanos é variável, podendo ser maior que um ano.

LAPPIN *et al.* (1989b), relatam que gatos adultos com títulos de anticorpos IgG preexistentes para *T. gondii* não tiveram oocistos liberados após reexposição, confirmando a afirmação de SOULSBY (1987) e DUBEY (1994)

WILKINSON & THOMPSON (1986), utilizando teste de hemaglutinação indireta para detecção de anticorpos anti *T. gondii*, obtiveram determinação qualitativa e quantitativa, em uma amostragem de 100 soros de gatos adultos. Títulos  $\geq 64$  foram observados em 52% das amostras, com título mais frequente de 64.

A infecção por *T. gondii* em grande parcela da população apresenta-se sob a forma latente. No entanto, segundo WILKINSON & THOMPSON (1986); PIPANO (1992); NEVES *et al.* (1995); DUBEY (1994), a intranquilidade se volta particularmente à infecção transplacentária do feto humano. Tal infecção pode causar lesões sobretudo de calcificação cerebral, distúrbios psicomotores e hidrocefálicos. A mulher grávida ou com potencial a engravidar, deve evitar contato com fezes felinas e medidas rigorosas de higiene, como não se alimentar de leite e carnes cruas ou mal cozidas de qualquer animal, combater gatos e ratos, incinerar fezes dos gatos, manter gatos domésticos dentro de casa com alimentação de boa qualidade, sendo a melhor forma para prevenir a toxoplasmose humana.

Portanto, a investigação de gatos domésticos e não domésticos quanto à prevalência da infecção por *T. gondii* constitui uma preocupação de interesse para saúde pública. Segundo WILKINSON & THOMPSON (1986), exames sorológicos de gatos domiciliares e abandonados têm sido realizados em várias partes do mundo, revelando alta incidência de anticorpos para *T. gondii* no soro desses gatos.

PIPANO (1992) relata que gatos sorologicamente positivos representam menor perigo se comparado a um animal sorologicamente negativo, pois estes negativos poderão estar liberando oocistos e infectando tanto novos animais como seres humanos.

Assim, a constante vigília a estes animais se faz importante à medida que tomam parte de uma rotina domiciliar, constituindo elevado potencial à infecção humana.

## 2- Objetivos

- 1) Conhecer a soroprevalência da toxoplasmose na população de felinos no município de Uberlândia, MG.
- 2) Verificar a sensibilidade e eficiência do teste de Hemaglutinação Indireta (HAI) para diagnóstico satisfatório de epidemiologia a *Toxoplasma gondii*

### **3 - Material e Métodos**

#### *Animais e Amostras de soros*

Foram analisadas amostras de soros procedentes de 100 gatos capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Uberlândia - MG no período de fevereiro a junho de 1998, escolhidos ao acaso à medida que chegavam ao estabelecimento onde eram encaminhados à pesquisa, sendo machos e fêmeas sem raça definida.

O sangue foi colhido, através de punção intracardiaca, utilizando agulhas 30x8 e seringas de 10 ml, obtendo-se, em média, 5 ml de sangue de cada animal em tubos sem anticoagulantes, devidamente identificados com número ordinal na seqüência de 01 a 100, à medida que eram levados a coleta do sangue. O material foi levado ao Laboratório de Parasitologia da Universidade Federal de Uberlândia, onde realizou-se a centrifugação do sangue a 2000 rpm por 10 minutos, obtendo-se o soro dos mesmos que foram estocados a -20°C até a realização dos testes.

#### *Sorologia - Teste de Hemaglutinação Indireta*

O teste de Hemaglutinação Indireta (HAI) foi realizado no Laboratório de Imunologia da

Universidade Federal de Uberlândia, utilizando-se o Kit comercialmente disponível (HAP - Toxoplasmose, Salck Ind. e Com. Prod. Biológicos Ltda. São Paulo, SP), sendo obedecidas as orientações do fabricante. Antes da realização do teste, as amostras de soros foram inativadas em banho-maria a 56° C por 30 minutos.

Inicialmente, foi feita uma triagem dos soros (teste qualitativo), nas diluições de 1:32 e 1:64.

Foram adicionados 25µl de cada diluição dos soros nos poços da placa de microtitulação ( fundo em V). Em seguida, adicionou-se 25 µl do reagente Hemácias Toxo.( hemácias sensibilizadas com antígeno solúvel de *T. gondii* ), homogeneizando-se a placa vigorosa e cuidadosamente. A placa foi colocada em repouso sobre uma superfície úmida, lisa e plana durante 45 minutos à temperatura ambiente e procedeu-se à leitura, segundo critério recomendado pelo fabricante.

Após os testes qualitativos as amostras consideradas positivas ( título  $\geq 64$ ) foram retestadas pelo teste quantitativo, utilizando-se 2 – mercaptoetanol (2 ME). O 2 – mercaptoetanol age sobre os títulos de IgM inativando-os, assim se não houver diferença de títulos entre as amostras tratadas e não tratadas indica que nas mesmas, a imunoglobulina da classe M (IgM) não estava presente e ainda quando a diferença existe, sendo ela de apenas uma queda ou mais, significa que nas amostras IgM estava presente. A variação de uma queda ou mais dependerá da quantidade de IgM existente

Assim, cada amostra de soro foi testada em análise pareada, sem e com 2 ME, em diluições duplas seriadas a partir de 1:32 até 1:4096, como definido pelo fabricante.

Soros controles positivos e negativos foram incluídos em todos os testes realizados.

Após adição do reagente Hemácias – Toxo, incubou-se como anteriormente descrito e procedeu-se à leitura, como no teste qualitativo

Os aspectos considerados foram:

a) o título da amostra foi aquele que apresentar aglutinação em sua maior diluição, como descreve o fabricante.

b) se houver queda de 2 títulos ou mais para as amostras tratadas com 2 ME em relação às não – tratadas, é indicativo da presença de Ac IgM anti – *T. gondii*, sugerindo toxoplasmose adquirida recentemente.



c) se não houver diferença de títulos entre as amostras tratadas e não tratadas ou se a diferença for de apenas 1 título, é indicativo da presença de Ac IgG anti - *T. gondii*, sugerindo toxoplasmose crônica.

## 4- RESULTADOS

### 4.1- Teste Qualitativo (Triagem)

Das 100 amostras séricas analisadas, 41 foram positivas a uma diluição de pelo menos 1:64. Os títulos menores que 64 foram considerados sorologicamente negativos (Figura 1).

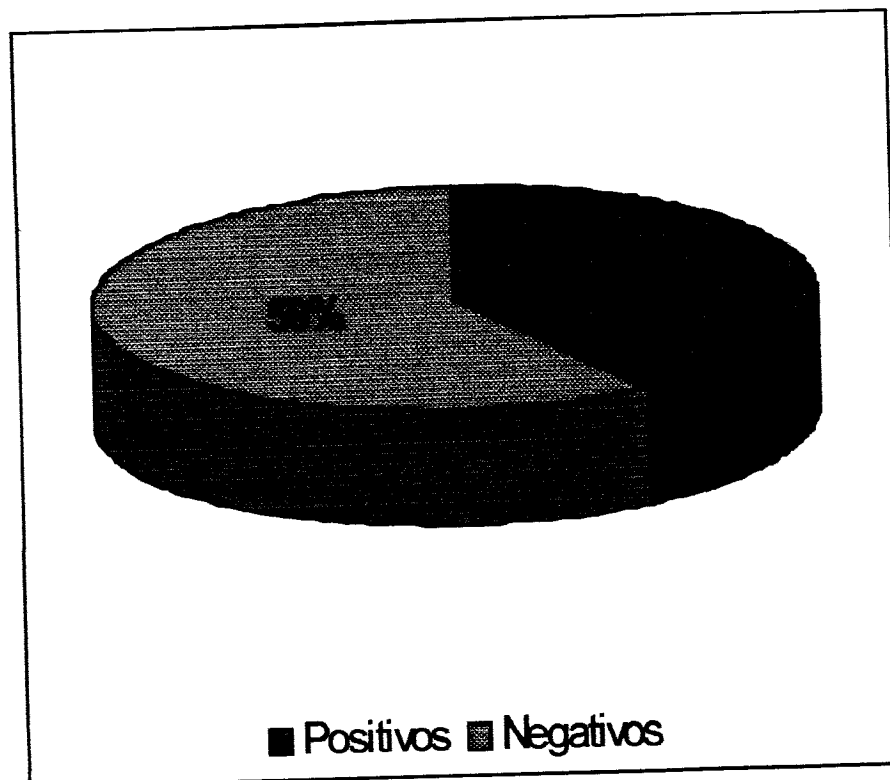


Figura 1- Distribuição da reatividade sorológica para *T. gondii* em 100 amostras de soros de *Felis domesticus*, pelo teste de hemaglutinação indireta (HAI).

#### 4.2 Teste Quantitativo

Das 41 amostras de soros positivos retestadas no teste quantitativo, com tratamento com 2ME para se obter o título das respectivas amostras, encontrou-se: 5 amostras (12,2%) com título 64, 10 (24,5%) com título 128, 7 (17,0%) com título 256, 6 (14,6%) com título 512, 5 (12,2%) com título 1024, 5 (12,2%) com título 2048 e 3 (7,3%) com título 4096 (Figura 2).

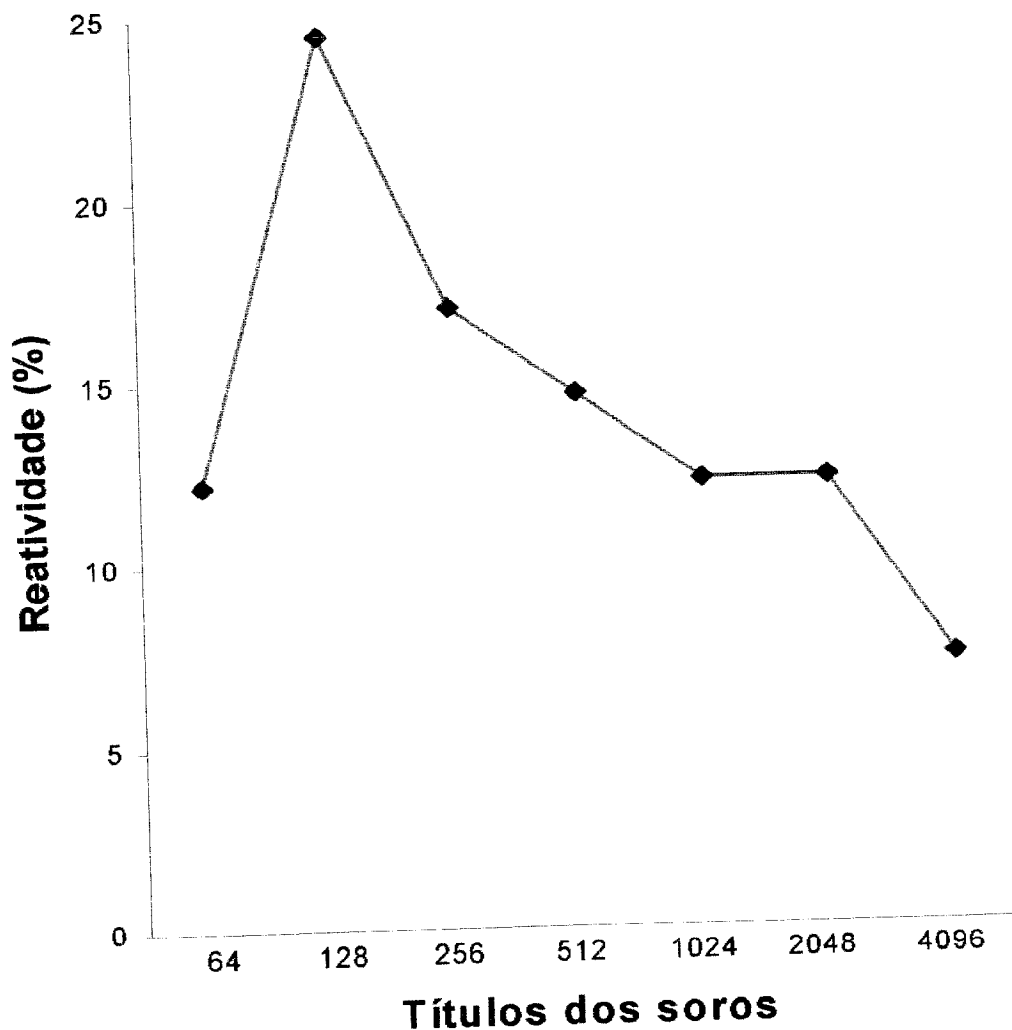


Figura 2- Distribuição dos títulos sorológicos anti - *Toxoplasma* em *Felis domesticus* da cidade de Uberlândia - MG, 1998, através do teste hemaglutinação indireta (HAI).

A distribuição da frequência dos soros reagentes, segundo os títulos de anticorpos anti - *Toxoplasma* está demonstrada na Figura 2, com o título 128 considerado o mais frequente.

## 4.3 Pesquisa de anticorpos da classe IgM

Tabela- Relação das amostras de soros positivos ( título  $\geq 64$ ) retestadas em análise pareada, sem e com 2 mercaptoetanol (2ME), por meio do teste de HAI, em *Felis domesticus* da cidade de Uberlândia – MG, 1998.

Amostras	Título	
	Sem 2 ME	Com 2 ME
1	256	128
2	1024	1024
3	1024	512
4	1024	128 *
5	512	32 *
6	1024	128 *
7	4096	1024 *
8	128	- *
9	4096	4096
10	2048	128 *
11	2048	256 *
12	4096	4096
13	256	- *
14	256	256
15	64	32
16	256	128
17	128	64
18	2048	1024
19	2048	128 *
20	128	32 *
21	2048	2048
22	128	32 *
23	64	-
24	512	512
25	128	- *
26	256	128
27	1024	1024
28	256	64 *
29	512	256
30	128	64
31	512	512
32	256	256
33	128	128
34	64	-
35	128	128
36	128	32 *
37	64	64
38	512	512
39	128	32 *
40	64	-
41	512	512

\* : queda de títulos significativa (queda de 2 ou mais títulos entre as amostras tratadas e não tratadas com 2ME)

- : não reagente

De acordo com a tabela, das 41 amostras que apresentaram título  $\geq 64$ , 15 mostraram queda significativa de títulos quando tratadas com 2 ME: amostra n°4 (1024  $\rightarrow$  128), n° 5 (512  $\rightarrow$  32), n° 6 (1024  $\rightarrow$  128), n° 7 (4096  $\rightarrow$  1024), n° 8 (128  $\rightarrow$  < 32), n° 10 (2048  $\rightarrow$  128), n° 11 (2048  $\rightarrow$  256), n° 13 (256  $\rightarrow$  < 32), n° 19 (2048  $\rightarrow$  128), n° 20 (128  $\rightarrow$  32), n° 22 (128  $\rightarrow$  32), n° 25 (128  $\rightarrow$  < 32), n° 28 (256  $\rightarrow$  68), n° 35 (128  $\rightarrow$  32), n° 38 (128  $\rightarrow$  32).

Assim, 15 amostras (37,0%) apresentaram Ac IgM podendo indicar infecção recentemente adquirida e 26 (63,0%) Ac IgG, indicativo de infecção crônica (Figura 3).

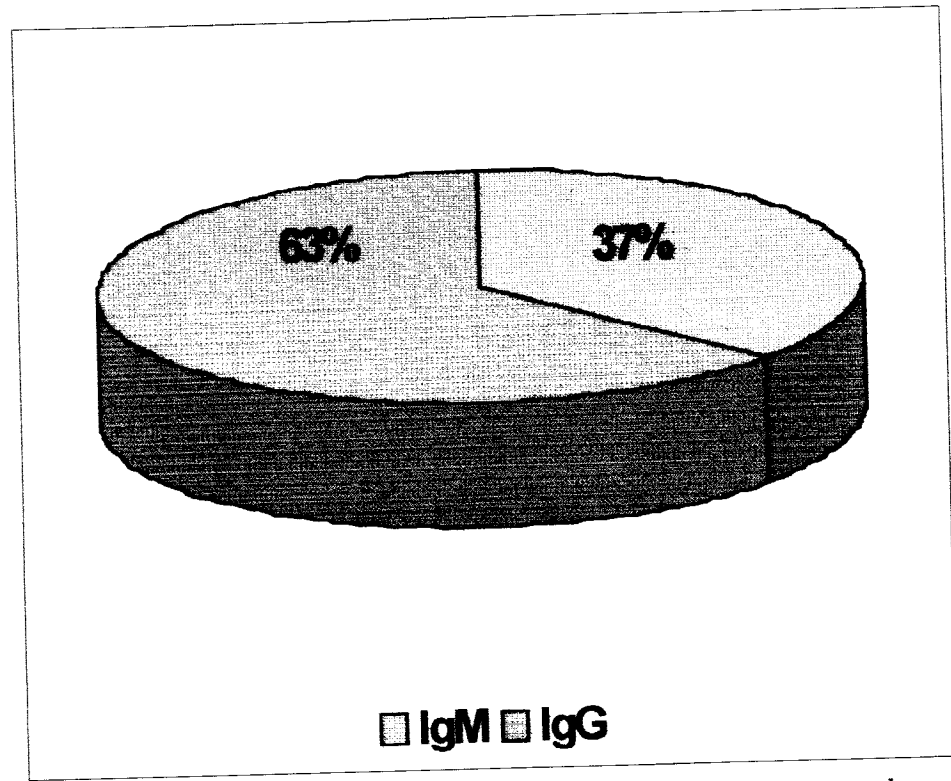


Figura 3- Distribuição da reatividade sorológica para *T. gondii* em 41 amostras de soros positivos, em relação a IgM e IgG, pelo teste de hemaglutinação indireta (HAI).

## 5- DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que 41% dos gatos capturados no município de Uberlândia, MG apresentaram sorologia positiva para *Toxoplasma gondii*, por meio do teste de HAI.

De acordo com WISE & MACY (1990) e NEVES *et al.* (1995), o teste HAI é de execução simples e rápida, dispensando aparelhos especiais para sua realização, sendo sua sensibilidade e especificidade comparáveis à técnica de imunofluorescência indireta.

A detecção de anticorpos IgM anti - *Toxoplasma gondii* é um bom indicador de toxoplasmose recente e o teste de Hemaglutinação Indireta bastante usado em laboratórios comerciais (WISE & MACY, 1990).

A vantagem de se usar um teste que detecta IgM e IgG é o aumento da probabilidade de se diagnosticar infecção aguda. Porém, como relatam LAPPIN *et al.* (1989b); BICHARD & SHERDING (1998); SOULSBY (1987) e NEVES *et al.*,(1995), a detecção de anticorpos da classe IgM nem sempre é característica de infecção recente, pois os mesmos podem ser detectados em alguns casos, em baixos níveis, por mais de 1 ano após o contágio.

Na infecção aguda, segundo BICHARD & SHERDING (1998), o título de Ac IgM se eleva inicialmente em 1 a 2 semanas após a exposição persistindo por menos de 12 semanas, na maioria dos gatos e, um bom teste diagnóstico para detectar infecção recente nos gatos se faz necessário para determinar o estado clínico de saúde do animal (WISE & MACY, 1990), pois segundo PIPANO (1992), a resposta imune só é percebida próximo ao final do período de excreção de oocistos.

O limite de positividade considerado para o teste HAI na diluição de 1:64, na etapa qualitativa (triagem) é concordante com os relatos de WILKINSON & THOMPSON (1986), EBERLE *et al.* (1991), DEEB *et. al* (1986), onde os testes em amostras de gatos por (HAI) foram

consideradas positivas para diluição  $\geq 1:64$ . Em nosso estudo, 41% das amostras foram reagentes nesta diluição indicando a presença de Ac IgG e/ou IgM específicos a *T. gondii*. EBERLE *et al.* (1991) relatam em seu estudo 57,6% de suas amostras apresentando resultados positivos pelo teste de HAI.

A etapa quantitativa, com o uso de 2 mercaptoetanol, permitiu o estabelecimento de diagnóstico para infecção aguda (recente), com 37% das amostras reagentes apresentando anticorpos da classe IgM, sugerindo que tais animais estiveram em contato com o coccídio recentemente ( talvez até 12 semanas antes de sua captura ).

O título de maior prevalência neste estudo foi de 128, com 24,5% dos gatos apresentando tal título, diferindo ligeiramente do relato de WILKINSON & THOMPSON (1986), no qual obtiveram 25% de prevalência para o título 64, indicando que a infecção recente e ou anterior pode ser detectada em títulos mais baixos que o referido estudo.

WILKINSON & THOMPSON (1986) ainda relatam que, em seres humanos, títulos de 64 e 128 pelo teste HAI são usualmente indicativos de exposição antiga (com anticorpos da classe G) e de acordo com nossos resultados 5 amostras do total de IgM positivas, cerca de 33,3% apresentaram títulos de 128, mostrando assim que para os felinos analisados a infecção aguda pôde ser detectada precocemente, em títulos mais baixos.

Deve-se enfatizar que o teste de HAI para a detecção de Ac da classe M (IgM), após tratamento das amostras com 2 ME, apresenta certas limitações de sensibilidade, não podendo excluir-se a presença de Ac IgM detectáveis por técnicas mais sensíveis ( ELISA de captura, por exemplo ).

Por outro lado, as amostras que apresentaram-se negativas neste estudo, 59%, indicam provável ausência de Ac anti - *T. gondii*, porém não indicam necessariamente que os animais não entraram em contato com o parasita. Como relatado anteriormente, os anticorpos começam a ser formados quando o período de excreção de oocistos está por terminar ou já tenha acabado. Portanto, tais animais poderiam estar liberando oocistos, não sendo detectados sorologicamente. .

Em consequência disso, amostras de gatos soronegativos devem ser testadas, periodicamente, para monitorar a presença da infecção.

## 6- CONCLUSÃO

Este estudo demonstra que a frequência de gatos com sorologia positiva para toxoplasmose é bastante significativa, pois 41% da população de 100 animais capturados apresentaram positividade ao teste de Hemaglutinação Indireta. Além de considerável confiabilidade, a escolha do teste em detrimento de outros teve a relevância de ser de fácil manuseio, simples execução e um custo mais acessível, se comparado a outros como ELISA e RIF, que embora mais sensíveis e específico, necessitam de reagentes espécie-específicos bem como de equipamentos mais sofisticados para leitura das amostras.

Dos animais soropositivos, 63% apresentam Ac da classe IgG (crônico), indicando a presença da infecção crônica, enquanto 37% demonstram a presença de Ac IgM (agudo) específicos, sugerindo infecção recentemente adquirida.

Os 59% de animais soronegativos, podem estar infectados ou não, pois como a formação de anticorpos só se inicia após o término da excreção de oocistos, esses animais poderão estar contaminados pelo coccídio, não sendo portanto detectados sorologicamente pelo teste.

Assim, o teste utilizado se mostra aplicável em virtude da alta quantidade de identificação de animais que possam apresentar risco à saúde humana.



## 7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BICHARD, S. J. SHERDING, R.G. **Manual Saunders: Clínica de pequenos animais**, São Paulo: Roca, 1998. 1591p. Cap. 13: Toxoplasmose, Neosporose e outras infecções protozoárias multissistêmicas. p. 157-163.
- DEEB, J. B. *et al* *Toxoplasma gondii* antibodies in cats: detection by indirect hemagglutination and indirect fluorescent antibody testes. **J. Parasit.**, v. 72, n.2, p 355-357, 1986.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis, **JAVMA**, v.205, n.11, p 1593-1598, 1994.
- EBERLE, R. *et al*. Feline herpesvirus infections in bobcats (*Lynx rufus*): disease in experimentally inoculated animals. **J. Zoo and Wildlife - Med.**, v.22, n.2, p. 175-183, 1991.
- LAPPIN, M. R. *et al*. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats in Georgia using enzyme-linked immunosorbent assays for IgM, IgG, and antigens. **Vet. Parasitology**, v.33, n 3/4, p. 225-230, 1989a.
- LAPPIN, M. R. *et al*. Diagnosis of recent *Toxoplasma gondii* infection in cats by use of an enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin M. **Am. J. Vet. Res.**, v.50, n.9, p. 1580-1585, 1989b.

LAPPIN, M. R. *et al.* Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of circulating of *Toxoplasma gondii* in the serum of cats. **Am. J. Vet. Res.**, v. 50, n. 9, p. 1586-1590, 1989c.

NEVES, D. P. *et al.* **Parasitologia humana**. 9. ed. Belo Horizonte, Atheneu, 1995. 524p. Cap. 16: *Toxoplasma gondii*. p. 174-187.

LINDSAY, D. S., BLAGBURN, B. L., DUBEY, J. L., Feline Toxoplasmosis and the importance of the *Toxoplasma gondii* Oocyst. **Parasitology**, v. 19, n. 4, p. 448-461, 1997.

MARTINS, C. S., VIANA, J. A. Toxoplasmose- o que todo profissional de saúde deve saber. **Clínica Veterinária**, v.3, n. 15, p. 33-37, 1998.

PIPANO, E. Toxoplasmosis in the domestic cat-public health considerations. **Isr. J. Vet. Med.**, v.47, n. 3, p. 83 - 87, 1992.

SOULSBY, E. J. L. **immune responses in parasitic infections:** immunology, immunopathology, and immunoprophylaxis, Boca Raton, Flórida: CRC PRESS, 1987. v. 3: protozoa, 349p, p. 313-336.

WILKINSON, G. T., THOMPSON, H. L. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats in South-East Queensland. **Aust. Vet. Practitioner**, v. 16, n. 3, p. 144-146, 1986.

WISE, A., MACY, W. Immunodiagnosis of feline infections diseases. **Compendium - on - Continuing - Education - for - the - Practicing- Vet.**, v. 12, n.4, p. 501-511, 1990.

