

## Comunicação

[Communication]

### Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em galinhas criadas extensivamente em Rio Bonito, Rio de Janeiro

[Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in free-range chickens reared in Rio Bonito, Rio de Janeiro]

L. Casartelli-Alves<sup>1</sup>, L.C. Ferreira<sup>1</sup>, R.T. Vicente<sup>1</sup>, P.R. Millar<sup>2</sup>, R.V.C. Oliveira<sup>1</sup>, M.R.R. Amendoeira<sup>1</sup>, T.M.P. Schubach<sup>1</sup>, R.C. Menezes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) - Rio de Janeiro, RJ

<sup>2</sup>Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ

A toxoplasmose é uma zoonose que acomete mamíferos e aves. As galinhas de criações extensivas são hospedeiros indicadores da contaminação ambiental por oocistos de *Toxoplasma gondii*, pois se alimentam no solo, que pode estar contaminado com oocistos esporulados, infectando-se e desenvolvendo cistos teciduais (Dubey, 2010). Nas criações extensivas, as galinhas possuem maior possibilidade de adquirir infecção por *T. gondii* e de transmitir esse protozoário ao homem pelo consumo e manipulação de sua carne, quando comparadas às galinhas de criações intensivas (Millar *et al.*, 2008).

Em estudos no estado do Rio de Janeiro, foram relatadas altas prevalências da infecção por *T. gondii* em humanos e galinhas (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003; da Silva *et al.*, 2003; Bonna *et al.*, 2006). Todavia, existe uma carência de inquéritos epidemiológicos relativos à toxoplasmose animal na região das Baixadas Litorâneas, na qual se inclui o município de Rio Bonito. Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar o levantamento da prevalência da infecção por *T. gondii* em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para o consumo em propriedades rurais do município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil.

Para verificar a prevalência da infecção toxoplásmica em galinhas criadas para fim de subsistência no sistema de criação extensiva, foi

calculada uma amostra assumindo prevalência de 50%, nível de significância de 5%, erro absoluto de 5% e efeito de desenho igual a 2, tendo-se obtido um n=192 galinhas. Estimou-se um adicional de 15% com o objetivo de se contornarem possíveis perdas no trabalho de campo, obtendo-se uma amostra de 220 animais.

A amostragem foi realizada em múltiplos estágios de seleção, do tipo conglomerado. Cinco bairros foram escolhidos por conveniência para o estudo: Praça Cruzeiro, Cachoeira dos Bagres, Prainha, Nova Cidade e Boa Esperança. Cada um deles foi considerado um estrato, e a escolha das propriedades (conglomerados) em cada estrato foi realizada por meio de amostragem proporcional ao tamanho (PPT) do rebanho de galinhas na propriedade. Vinte e duas propriedades de um total de 70 cadastradas, que possuíam criações extensivas de galinhas voltadas para subsistência, foram sorteadas. Em cada propriedade, foram amostradas dez galinhas ou o total de galinhas da propriedade, no caso de propriedades com número inferior de animais. O peso e o plano amostrais de cada propriedade foram considerados.

No período de fevereiro a março de 2009, amostras de sangue de galinhas adultas foram coletadas por punção da veia braquial. O soro foi separado e armazenado a -20°C até a realização de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) de acordo com Camargo (2001), utilizando-se taquizoítas da cepa RH com antígeno adsorvido

Recebido em 4 de abril de 2011

Aceito em 22 de abril de 2012

\*Autor para correspondência (*corresponding author*)

E-mail: rodrigo.menezes@ipecc.fiocruz.br

### Prevalência da infecção...

em lâmina e conjugado anti-IgG de galinhas (Sigma-Aldrich) marcado com fluoresceína (FITC). A concentração do antígeno adsorvido à lâmina utilizada foi de  $1 \times 10^7$  taquizoítas/mL, e a diluição do conjugado foi de 1:200. Os soros foram diluídos em PBS 0,01 M, pH 7,2, nas diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096. A leitura foi realizada em microscópio Y-FL de epifluorescência (NIKON®). A cada bateria de lâminas foram acrescentados controles positivo e negativo e um controle do conjugado, que foram usados como controles da reação e guias para leitura. Os soros com títulos iguais ou maiores que 16 foram considerados positivos (Garcia *et al.*, 2000).

Esse estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), sob o número de licença L-012/09.

Foi encontrada uma prevalência de 27,6% (61/220) de infecção toxoplásmica em galinhas em Rio Bonito. Dezoito (77,2%) propriedades nos cinco bairros estudados apresentaram animais com sorologia positiva para infecção por *T. gondii* (Tab.1). Os títulos de anticorpos encontrados por meio da RIFI foram: 16 (12,5%), 64 (10,3%), 256 (3,9%), 1024 (0,6%) e 4096 (0,4%).

Tabela 1. Frequências de galinhas positivas para anticorpos anti-*T. gondii* por meio da reação de imunofluorescência indireta em 220 galinhas criadas extensivamente em bairros do município de Rio Bonito, estado do Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009

| Bairro               | Nº de propriedades | Nº de galinhas examinadas | Galinhas positivas (%) | IC95%    |          |
|----------------------|--------------------|---------------------------|------------------------|----------|----------|
|                      |                    |                           |                        | Inferior | Superior |
| Prainha              | 6                  | 75                        | 39,7                   | 24,5     | 57,3     |
| Nova Cidade          | 5                  | 37                        | 26,6                   | 10       | 54,2     |
| Cachoeira dos Bagres | 5                  | 50                        | 23,8                   | 7,6      | 54,4     |
| Praça Cruzeiro       | 5                  | 51                        | 21,7                   | 5,7      | 55,9     |
| Boa Esperança        | 1                  | 7                         | 14,3                   | 14,3     | 14,3     |

IC= intervalo de confiança.

A prevalência de *T. gondii* em galinhas e o percentual de propriedades com casos positivos foram elevados na presente pesquisa, indicando contaminação ambiental na área estudada. A maior frequência de infecção em galinhas de Prainha sugere maior contaminação ambiental desse bairro, provavelmente por ser o menos urbanizado. Portanto, há possibilidade de infecção por *T. gondii* humana na região estudada, tanto pela ingestão e manipulação de carne crua ou malpassada de galinhas e de outros animais criados nessas propriedades, como também pela ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos esporulados presentes no solo. Os ovos crus de galinha são uma improvável fonte de infecção toxoplásmica para os humanos, devido à rara presença do protozoário (Dubey, 2010). Alvarado-Esquivel *et al.* (2009) demonstraram associação entre contato com galinhas e a soropositividade em humanos, reforçando a hipótese de que a transmissão pelo consumo e manipulação da carne desses animais pode estar presente nas

propriedades rurais avaliadas. O consumo do coração, por ser o tecido mais infectado das galinhas (Dubey, 2010) e uma víscera muito consumida, sobretudo malpassada, pode ser um importante fator de risco. Entretanto, é necessário um estudo epidemiológico mais abrangente na região estudada, pesquisando as causas da contaminação ambiental, a infecção por *T. gondii* em humanos e os fatores de risco envolvidos para se esclarecer o papel da galinha e de outras fontes na transmissão do *T. gondii* para a população local.

Considerando-se os inquéritos sorológicos de infecção toxoplásmica em galinhas de criações extensivas realizados no estado do Rio de Janeiro, a prevalência encontrada na presente pesquisa foi superior ao valor de 14,8% obtido na RIFI (ponto de corte 16) e no ensaio imunoenzimático (ELISA) por Millar (2008) na mesorregião metropolitana. Entretanto, ela foi inferior aos valores relatados nos municípios de Barra Mansa (Bonna *et al.*, 2006) pela RIFI

(ponto de corte 16) e Campos dos Goytacazes (da Silva *et al.*, 2003) pela técnica de aglutinação modificada (MAT), que foram, respectivamente, de 47,8% e 65,2%. Em outros estados do Brasil, com exceção de Garcia *et al.* (2000), que encontraram prevalência de 10,3% pela RIFI (ponto de corte 16), no Paraná, pesquisadores relataram altas frequências de infecção toxoplásmica em galinhas, superiores à prevalência do presente estudo: 84% na ilha de Fernando de Noronha, Pernambuco (Dubey *et al.*, 2010); 53,3% no Nordeste (de Oliveira *et al.*, 2009); 66% em Rondônia (Dubey *et al.*, 2006) pela MAT; e 53,6% em Minas Gerais (Brandão *et al.*, 2006) pela RIFI (ponto de corte 16). Diferentemente da presente pesquisa e de Garcia *et al.* (2000), os trabalhos acima mencionados em que foram encontradas frequências mais altas de galinhas positivas para *T. gondii* não realizaram cálculo amostral dessas aves e nem sorteio aleatório das propriedades a serem estudadas, o que pode ter influenciado os seus resultados. Adicionalmente, as maiores frequências, superiores a 60%, foram observadas nos trabalhos que tiveram como principal objetivo pesquisar a diversidade genética de *T. gondii* e não estimar a sua prevalência. Nesses artigos, apesar de terem sido examinadas galinhas adultas, mais comumente infectadas, como no presente estudo, foi utilizada a técnica

de MAT, o que também pode explicar os diferentes resultados encontrados.

De acordo com Garcia *et al.* (2000), diferenças nas soroprevalências de *T. gondii* em galinhas de fundo de quintal podem estar relacionadas a níveis diferentes de infectividade nos ecossistemas estudados ou às diferenças de sensibilidade entre as técnicas utilizadas para o diagnóstico. Com relação às técnicas sorológicas, apesar de a MAT ser a mais utilizada mundialmente em galinhas, ainda não foram realizados estudos comparando a sua sensibilidade e especificidade com as técnicas de RIFI e ELISA no diagnóstico da infecção toxoplásmica nessas aves (Dubey, 2010). A maior frequência de baixos títulos encontrados no presente estudo sugere que os animais estavam numa fase crônica da infecção ou se infectaram recentemente, não havendo tempo hábil para formação de títulos de anticorpos mais elevados sugestivos de infecção aguda.

Pela primeira vez na região das Baixadas Litorâneas do estado do Rio de Janeiro foi constatada a infecção de galinhas por *T. gondii*, indicando contaminação ambiental e a possibilidade de infecção humana e animal na área estudada.

Palavras-chave: galinha, *Toxoplasma gondii*, reação de imunofluorescência indireta, prevalência

## ABSTRACT

*The prevalence of T. gondii infection was investigated in free-range chickens for human consumption in the county of Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brazil. Thus, a search for antibodies to T. gondii by indirect fluorescent antibody test was done in the serum of 220 chickens from twenty two farms. Titres equal or greater than 16 were considered positive. The prevalence of toxoplasmic infection found in chickens was 27.6% (61/220). There were positive cases in eighteen (77.2%) farms. The more frequent titre was 16 (12.5%) and the highest was 4096 (0.4%). The high prevalence of T. gondii in chickens and the high percentage of farms with positive cases indicate environmental contamination in the studied area showing the possibility of human and animal infection.*

*Keywords: chicken, Toxoplasma gondii, indirect fluorescent antibody test, prevalence*

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Doutor Itamar Teodorico Navarro da Universidade Estadual de Londrina, Paraná, pelo envio do material

educativo sobre toxoplasmose. Este trabalho teve o apoio financeiro da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), programa APQ1, processo E-26/110.937/2009.

REFERÊNCIAS

- ALVARADO-ESQUIVEL, C.; TORRES-CASTORINA, A.; LIESENFELDT, O. *et al.* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in rural Durango, Mexico. *J. Parasitol.*, v.95, p.271-274, 2009.
- BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; JONES, J.L.; AZEVEDO-SILVA, J. *et al.* Highly endemic, waterborn toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg. Infect. Dis.*, v.9, p.55-62, 2003.
- BONNA, I.C.F.; FIGUEIREDO, F.B.; COSTA, T. *et al.* Estudo soropidemiológico por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Cienc. Vet.*, v.13, p.186-189, 2006.
- BRANDÃO, G.P.; FERREIRA, A.M.; MELO, M.N. *et al.* Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. *Parasite*, v.13, p.143-149, 2006.
- CAMARGO, M.E. Toxoplasmose. In: FERREIRA, A.W.; ÁVILA, S.L.M. (Ed). *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes*. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.278-286.
- DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses Public Health*, v.57, p.60-73, 2010.
- DUBEY, J.P.; RAJENDRAN, C.; COSTA, D.G. *et al.* New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpected findings. *J. Parasitol.*, v.96, p.709-712, 2010.
- DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M.; LABRUNA, M.B. *et al.* Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. *J. Parasitol.*, v.92, p.36-40, 2006.
- GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L. *et al.* Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. *Cienc. Rural*, v.30, p.123-127, 2000.
- MILLAR, P.R.; SOBREIRO, L.G.; BONNA, I.C.B. *et al.* A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. *Semin. Cienc. Agrar.*, v.29, p.693-706, 2008.
- MILLAR, P.R. *Epidemiologia da Toxoplasmose: Avaliação sorológica de aves de corte e postura produzidas em diferentes tipos de criação na mesorregião metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil*. 2008. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Faculdade de Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói.
- OLIVEIRA, L.; COSTA JUNIOR, L.M.; MELLO, C. *et al.* *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the Northeast region of Brazil. *J. Parasitol.*, v.95, p.235-237, 2009.
- SILVA, D.S.; BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; SHEN, S.K. *et al.* Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J. Parasitol.*, v.89, p.394-396, 2003.