

Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* pela detecção de anticorpos em galinhas-d'angola criadas extensivamente no estado do Rio de Janeiro, Brasil*

Occurrence of *Toxoplasma gondii* infection by antibody detection in guinea fowls free-range reared in the state of Rio de Janeiro, Brazil

Luiz Cláudio Ferreira,** Luciana Casartelli-Alves,** Fabiano Borges Figueiredo,**** Rodrigo Costa da Silva,***** Hélio Langoni,***** Leandro Batista das Neves,***** José Leonardo Nicolau,***** Maria Regina Reis Amendoeira,***** Rodrigo Caldas Menezes****

Resumo

O presente estudo teve por objetivo avaliar a ocorrência de infecção por *Toxoplasma gondii* sugerida pela detecção de anticorpos específicos em galinhas-d'angola criadas extensivamente no estado do Rio de Janeiro, Brasil. As aves foram oriundas de seis propriedades rurais: quatro no município de Maricá, uma no município de Silva Jardim e uma no município de Mangaratiba. Os soros das 114 galinhas-d'angola adultas foram examinados pelo teste de aglutinação modificado (MAT) para detecção de anticorpos anti-*T. gondii*. Foram realizadas as diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096. Títulos iguais ou maiores que 16 foram considerados positivos. Foi encontrada uma ocorrência de 12,3% (14/114) de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola do estado do Rio de Janeiro. Três (50%) das seis propriedades estudadas apresentavam, pelo menos, uma galinha-d'angola soropositiva para *T. gondii*. As ocorrências de galinhas-d'angola soropositivas para *T. gondii* em cada município foram: seis (30%) das 20 aves examinadas em Mangaratiba, sete (10,9%) das 64 aves examinadas em Silva Jardim e uma (3,3%) das 30 aves examinadas em Maricá. Os títulos de anticorpos encontrados foram: 16 (42,9%), 64 (35,7%) e 256 (21,4%). Pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro foi constatada a infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola. Esse resultado indica contaminação ambiental com possibilidade de infecção humana e animal pela ingestão da carne crua ou malcozida dessas aves na área estudada.

Palavras-chave: Galliformes, teste de aglutinação modificado, toxoplasmose.

Abstract

This study aimed to evaluate the occurrence of *Toxoplasma gondii* infection by antibody detection in guinea fowls free range reared in the state of Rio de Janeiro, Brazil. The birds were from six rural properties: four in the city of Maricá, one in the city of Silva Jardim and one in the city of Mangaratiba. The sera of 114 adult guinea fowls were examined by the modified agglutination test in order to detect antibodies anti-*T. gondii*. The sera were examined at 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 and 1:4096 dilutions. Titers equal or higher than 16 were considered positive. The occurrence of *T. gondii* infection was 12.3% (14/114) in the guinea fowls from the state of Rio de Janeiro. Guinea fowls seropositive for *T. gondii* were observed in three (50%) of the six farms investigated in this study. The occurrences of seropositive guinea fowls for *T. gondii* in each city were: six (30.0%) of the 20 birds examined in Mangaratiba, seven (10.9%) of the 64 birds examined in Silva Jardim and one (3.3%) of the 30 birds examined in Maricá. The antibody titers observed were 16 (42.9%), 64 (35.7%) and 256 (21.4%). For the first time in Rio de Janeiro state was observed the infection by *T. gondii* in guinea fowls. This result indicates environmental contamination and possibility of human and animal infection by ingesting raw or undercooked meat of these birds in the studied area.

Keywords: Galliformes, modified agglutination test, toxoplasmosis.

*Recebido em 8 de julho de 2013 e aceito em 13 de agosto 2013.

**Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC), Serviço de Anatomia Patológica, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

***FIOCRUZ, IPEC, Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

****FIOCRUZ, IPEC, Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*****Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, Botucatu, SP, Brasil.

*****FIOCRUZ, Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Departamento de Helminologia, Laboratório de Helminhos Parasitos dos Vertebrados, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

*****FIOCRUZ, IOC, Departamento de Protozoologia, Laboratório de Toxoplasmose, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Autor para correspondência: Rodrigo Caldas Menezes – rodrigo.menezes@ipecc.fiocruz.br

Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose mundialmente distribuída, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que acomete mamíferos e aves. As galinhas domésticas (*Gallus gallus*) criadas extensivamente são importantes na epidemiologia da toxoplasmose, pois constituem fonte de infecção para os gatos, outros animais e o homem que ingerem sua carne (Hill e Dubey 2013). Os gatos que se infectam ao ingerirem a carne de galinhas infectadas com *T. gondii* podem eliminar milhões de oocistos em suas fezes, contaminando o meio ambiente (Dubey et al. 2002). Outro importante papel epidemiológico das galinhas criadas extensivamente é o de indicadoras da contaminação ambiental, pois se alimentam no solo, estando expostas à infecção por oocistos (Dubey 2010; Hill e Dubey 2013).

Assim como as galinhas domésticas, as galinhas-d'angola (*Numida meleagris*) são aves pertencentes à ordem Galliformes (Fabichak 1997). Elas são originárias da África, possuem ampla distribuição mundial e são criadas para produção de carnes e ovos, ornamentação e controle biológico de insetos (National Research Council 1991; Mallmann et al. 2001; Contini et al. 2012). No Brasil, foram trazidas pelos colonizadores portugueses e são criadas principalmente no sistema extensivo (Fabichak 1997). Nesse sistema, as galinhas-d'angola entram em contato com o solo, apresentando risco de infecção pela ingestão de oocistos de *T. gondii* como constatado em galinhas domésticas (Hill e Dubey 2013).

As galinhas-d'angola podem se infectar naturalmente com *T. gondii*, desenvolver a toxoplasmose e vir a óbito por lesões em diferentes órgãos parasitados por taquizoítas e cistos de bradizoítas desse protozoário (Jones et al., 2012). Portanto, o fato da sua carne ser consumida em todo o país (Fabichak 1997; Contini et al. 2012), sobretudo na Região Nordeste brasileira (Araújo et al., 2005), pode representar um risco de infecção humana pelo *T. gondii*.

Os estudos sobre a ocorrência de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola no Brasil e no mundo são escassos na literatura consultada. Além disso, pouco se conhece sobre o seu papel como sentinela da contaminação ambiental, que já é bem definido em galinhas domésticas (Dubey 2010). Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a ocorrência de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola criadas extensivamente no estado do Rio de Janeiro, Brasil, pela detecção de anticorpos específicos.

Material e métodos

Uma amostra de conveniência de 114 galinhas-d'angola adultas criadas extensivamente em três municípios do estado do Rio de Janeiro foi utilizada no presente estudo. Sessenta e quatro dessas aves foram provenientes de uma propriedade rural (B) do município de Silva Jardim (22°39'S, 42°23'O), 30 foram provenientes de quatro propriedades rurais (C, D, E e F) do município de Maricá (22°56'S, 42°50'O) e vinte foram provenientes de uma propriedade rural (A) do município de Mangaratiba (22°57'S, 44°02'O). Amostras de sangue de todas as galinhas-d'angola de cada propriedade rural foram coletadas

por punção da veia braquial. Entretanto, em uma propriedade rural de Maricá (E) e na propriedade rural de Mangaratiba (F) não foi possível coletar o sangue de todas as aves.

O soro das amostras de sangue coletadas foi separado por centrifugação a 1600 g por 10 minutos, e armazenado a -20°C até a realização do teste de aglutinação modificado (MAT) para detecção de anticorpos anti-*T. gondii*, de acordo com Desmonts e Remington (1980). O antígeno usado no MAT foi uma suspensão de taquizoítas de *T. gondii*, cepa RH, fixados em formalina a 6% e preparados segundo Silva et al. (2002). Foram realizadas as diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096. A seguir, 25µl de cada diluição foram transferidos para as cavidades de microplaca com fundo em "V", adicionando-se então 25µl de 2-mercaptoetanol 0,2M e 50µl do antígeno por cavidade da microplaca. Em cada microplaca utilizada no teste foram acrescentados controles positivo e negativo. As placas foram incubadas à temperatura ambiente *overnight*. Títulos iguais ou maiores que 16 foram considerados positivos. O resultado foi considerado positivo quando se observou a formação de uma malha cobrindo o fundo da cavidade da placa, e negativo quando houve formação de um botão no fundo da mesma (Desmonts e Remington 1980).

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), sob o número de licença LW-17/10.

Resultados e discussão

Foi encontrada uma ocorrência de 12,3% (14/114) de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola no presente estudo, considerando-se o número total de aves examinadas. Três (50%) das seis propriedades rurais estudadas apresentavam galinhas-d'angola soropositivas para *T. gondii* (Tabela 1). As ocorrências de galinhas-d'angola soropositivas para *T. gondii* em cada propriedade rural e município avaliados encontram-se na Tabela 1. Os títulos de anticorpos encontrados e suas respectivas frequências considerando o número total de galinhas-d'angola examinadas foram: 16 (42,9%), 64 (35,7%) e 256 (21,4%).

A detecção de galinhas-d'angola soropositivas em metade das propriedades rurais avaliadas indica elevada contaminação

Tabela 1: Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* pela detecção de anticorpos por meio do teste de aglutinação modificada em 114 galinhas-d'angola criadas extensivamente em seis propriedades rurais de três municípios do estado do Rio de Janeiro, Brasil

Município	Propriedades rurais	Nº galinhas examinadas	Galinhas-d'angola positivas		% Ocorrência no município
			n	%	
Mangaratiba	A	20	6	30,0	30,0
Silva Jardim	B	64	7	10,9	10,9
Maricá	C	5	0	0	3,3
	D	5	0	0	
	E	12	1	8,3	
	F	8	0	0	

n= número de galinhas-d'angola.

ambiental por oocistos de *T. gondii*. Esse resultado e o fato de *T. gondii* ser causador de zoonose demonstram a possibilidade

de infecção humana pelo *T. gondii*. Essa infecção pode ocorrer tanto pela ingestão de cistos teciduais desse parasito presentes na carne de galinhas-d'angola, como pela ingestão de oocistos esporulados presentes na água, frutas e verduras provenientes das propriedades rurais contaminadas. A ingestão da carne de animais infectados por *T. gondii*, incluindo a de galinhas-d'angola, representa risco de zoonose se for consumida crua ou mal passada (Hill e Dubey 2013). Devido ao fato da carne de galinhas domésticas assim como as galinhas-d'angola serem geralmente consumidas bem cozidas, esse risco é pequeno. Entretanto, a falta de higiene na manipulação das carnes cruas desses animais durante o preparo para o cozimento pode representar também um risco de infecção humana pelo *T. gondii* (Dubey et al. 2012). Adicionalmente, vísceras cruas de galinhas-d'angola abatidas, descartadas de forma inadequada, podem ser ingeridas por outros animais domésticos, aumentando a chance de propagação de *T. gondii* para outros hospedeiros. Esse descarte inadequado de vísceras é frequentemente observado em criações extensivas de galinhas domésticas no Brasil (Beltrame et al., 2012; Dubey et al. 2012).

A infecção natural de galinhas-d'angola por *T. gondii* já havia sido constatada no Brasil em galinhas-d'angola de criações extensivas do estado de Minas Gerais por Dubey et al. (2011). Esses autores encontraram em duas (20%) das 10 galinhas-d'angola examinadas anticorpos anti-*T.gondii* pelo MAT. Essa ocorrência de anticorpos anti-*T.gondii* foi superior à encontrada no presente estudo, considerando todas as galinhas-d'angola examinadas. Entretanto, foi inferior à ocorrência de infecção toxoplásmica na propriedade rural de Mangaratiba. Essas diferentes ocorrências podem estar relacionadas com o pequeno número de galinhas-d'angola examinadas, as diferenças de contaminação ambiental nas propriedades rurais estudadas e o mais baixo ponto de corte (1:5) utilizado no MAT por Dubey et al. (2011). Nesse estudo, Dubey et al. (2011) também realizaram a primeira caracterização genotípica de um isolado de galinhas-d'angola, que revelou o tipo clonal II, muito raro no Brasil, indicando a necessidade de mais pesquisas sobre os genótipos de *T. gondii* presentes nessas aves.

As galinhas-d'angola são consideradas mais susceptíveis à toxoplasmose do que as galinhas domésticas (Sedlák et al. 2000). Entretanto, a ocorrência de soropositividade em galinhas-d'angola, com exceção da propriedade de Mangaratiba, foi muito inferior às encontradas em inquéritos sorológicos realizados em galinhas domésticas provenientes de criações extensivas do mesmo estado, mas em regiões diferentes. Outra exceção foi a prevalência de 14,8% encontrada por Millar et al. (2012) em frangos de corte criados extensivamente, apenas ligeiramente superior à ocorrência total do presente estudo. Todavia, esse valor foi bastante inferior à prevalência de 51,4% também encontrada por Millar et al. (2012) em galinhas poedeiras da mesma região investigada. De acordo com Millar et al. (2012),

a baixa prevalência em frangos de corte quando comparada com a de galinhas poedeiras provenientes da mesma região estudada pode ser explicada pelo fato de os frangos de corte ficarem por períodos mais curtos nas fazendas, em contato direto com o solo contaminado. Em contraste com os frangos de corte e semelhante às galinhas poedeiras do trabalho de Millar et al. (2012), as galinhas-d'angola do presente estudo eram adultas e, portanto, expostas por um período mais longo ao solo das propriedades rurais avaliadas. Nos demais inquéritos sorológicos realizados em galinhas domésticas criadas extensivamente no mesmo estado, as prevalências de anticorpos anti-*T. gondii* encontradas foram de 65,2% em Campos dos Goytacazes (Da Silva et al., 2003), 47,8% em Barra Mansa (Bonna et al., 2006) e 27,6% em Rio Bonito (Casartelli-Alves et al., 2012). Essa baixa ocorrência de soropositividade em galinhas-d'angola quando comparada à soropositividade em galinhas domésticas na maioria dos estudos realizados no mesmo estado pode indicar uma menor contaminação ambiental das áreas investigadas no presente estudo. Essas áreas foram diferentes das avaliadas em pesquisas realizadas em galinhas domésticas. Outra possibilidade é uma menor probabilidade de ingestão de oocistos de *T. gondii* presentes no solo pelas galinhas-d'angola quando comparada à galinha doméstica. Isso porque, diferentemente das galinhas domésticas, as galinhas-d'angola não escavam o solo com suas patas em busca de alimentos (National Research Council 1991).

Os resultados do presente estudo e os de Dubey et al. (2011) sugerem que as galinhas-d'angola são sentinelas da contaminação ambiental menos eficientes do que as galinhas domésticas, por geralmente apresentarem uma ocorrência inferior de anticorpos anti-*T.gondii*. A soroprevalência de *T. gondii* e a frequência de isolamento desse parasito de tecidos em galinhas domésticas criadas extensivamente são geralmente altos, podendo atingir 100% (Robert-Gangneux e Dardé 2012, Dubey et al., 2012), o que ainda não foi observado em galinhas-d'angola. Entretanto, mais estudos com uma amostra calculada e que investiguem um maior número de propriedades rurais são necessários para confirmar essa hipótese. Esses estudos devem avaliar e comparar as prevalências da infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola e galinhas domésticas provenientes de propriedades rurais com criações mistas dessas aves. Além de técnicas sorológicas, essas investigações devem utilizar a técnica do bioensaio em camundongos para o isolamento de formas viáveis de *T. gondii* e posterior genotipagem desse parasito.

Conclusões

Pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro, foi constatada a infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola, sugerida pela detecção de anticorpos, indicando contaminação ambiental e a possibilidade de infecção humana e animal pelo consumo da carne crua ou malcozida dessas aves na área estudada.

Agradecimentos

À Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), programa APQ1, processo E-26/111.977/2012, pelo apoio financeiro.

Referências

- ARAÚJO, W.M.C.; BOTELHO, R.B.A.; GINANI, V.C.; ARAÚJO, H.M.C.; ZANDONADI, R.P. *Da alimentação à gastronomia*. Brasília: UnB, 2005, 102 p.
- BELTRAME, M.A.; PENA, H.F.; TON, N.C.; LINO, A.J.B.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; PEREIRA, F.E.L. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Espírito Santo state, southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 188, p. 225-230, 2012.
- BONNA, I.C.F.; FIGUEIREDO, F.B.; COSTA, T.; VICENTE, R.T.; SANTIAGO, C.A.D.; NICOLAU, J.L.; NEVES, L.B.; MILLAR, P.R.; SOBREIRO, L.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. Estudo soropidemiológico por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. *Revista Brasileira Ciência Veterinária*, v.13, n. 3, p.186-189, 2006.
- CASARTELLI-ALVES, L.; FERREIRA, L.C.; VICENTE, R.T.; MILLAR, P.R.; OLIVEIRA, R.V.C.; AMENDOEIRA, M.R.R.; SCHUBACH, T.M.P.; MENEZES, R.C. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em galinhas criadas extensivamente em Rio Bonito, Rio de Janeiro. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 64, n. 5, p. 1308-1401, 2012.
- CONTINI, D.J.; LIMA-FILHO, D.O.; DRESCH, L.O. Perfil da produção agrícola para autoconsumo em territórios rurais de Mato Grosso do Sul. *Interações*, v.13, n. 2, p.203-212, 2012.
- DA SILVA, D.S.; BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; SCHEN, S.K.; KWOK, O.C.H.; LEHMAN, T.; DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *Journal of Parasitology*, v. 89, n. 2, p. 394-396, 2003.
- DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. *Journal of Clinical Microbiology*, v.11, n. 6, p. 562-568, 1980.
- DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses Public Health*, v. 57, n.1, p. 60-73, 2010.
- DUBEY, J.P.; GRAHAM, D.H.; BLACKSTON, C.R.; LEHMANN, T.; GENNARI, S.M.; RAGOZO, A.M.A.; NISHI, S.M.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.H.; 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, p. 99-105, 2002.
- DUBEY, J.P.; LAGO, E.G.; GENNARI, S.M.; SU, C.; JONES, J.L. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*, v. 139, n.11, p.1375-1424, 2012.
- DUBEY, J.P.; PASSOS, L.M.F.; FERREIRA, R.L.R.; GENNARI, S.M.; SU, C. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from feral guinea fowl (*Numida meleagris*) and domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from Brazil. *Journal of Parasitology*, v. 97, n. 5, p.842-845, 2011.
- FABICHAK, I. *Criação de Galinhas-d'Angola*. São Paulo: Nobel, 1997, 48 p.
- HILL, D.E.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. *International Journal for Parasitology*, v. 43, p. 107-113, 2013.
- JONES, K.H.; WILSON, F.D.; FITZGERALD, S.D.; KIUPEL, M. A natural outbreak of clinical toxoplasmosis in a backyard flock of guinea fowl in Mississippi. *Avian Diseases*, v. 56, n. 4, p. 750-753, 2012.
- MALLMANN, A.J.; SZEPIANIUCK, A.M.; STERTZ, E.; MARMITT, L.A. Controle da broca da erva-mate através da galinha-d'angola. *Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável*, v. 2, n. 3, p. 13-17, 2001.
- MILLAR, P.R.; ALVES, F.M.X.; TEIXEIRA, V.Q.; VICENTE, R.T.; MENEZES, E.M.; SOBREIRO, L.G.; PEREIRA, V.L.A.; AMENDOEIRA, M.R.R. Occurrence of infection with *Toxoplasma gondii* and factors associated with transmission in broiler chickens and laying hens in different raising systems. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n. 3, p. 231-236, 2012.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. *Microlivestock: little known small animals with promising economic future*. Washington DC: National Academy Press, 1991, 449 p.
- ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDÉ, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 25, n. 2, p. 264-296, 2012.
- SEDLÁK, K.; LITERÁK, I.; VITULA, F.; BENÁK, J. High susceptibility of partridges (*Perdix perdix*) to toxoplasmosis compared to other gallinaceous birds. *Avian Pathology*, p. 29, n. 6, p. 563-569, 2000.
- SILVA, A.V.; CUTOLO, A.A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos e felinos. *Arquivos do Instituto Biológico*, v. 69, n.1, p. 7-11, 2002.