

5.05.02 - Medicina Veterinária / Medicina Veterinária Preventiva

## DETECÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM PRIMATAS NÃO HUMANOS NO ESTADO DA BAHIA

Luis Eduardo B. Ferreira<sup>1\*</sup>, Beatriz S. Daltró<sup>1</sup>, Reizane P. Lordelo<sup>2</sup>, Sofia B. Valle<sup>2</sup>, George R. Albuquerque<sup>3</sup>

1. Estudante da Medicina Veterinária da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC)

2. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Ciencia Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz (PPGCA/UESC)

3. Professor do DCAA/UESC- Departamento de Ciencias Agrárias e Ambientais/Orientador

### Resumo

O *Toxoplasma gondii* é capaz de parasitar várias espécies, incluindo os primatas neotropicais. O objetivo do trabalho foi avaliar a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma* em primatas não humanos no estado da Bahia. Foram realizadas expedições em três regiões do estado, região oeste (Cocos, Coribe, Formosa do Rio Preto, Jaborandi e Santa Rita de Cássia), extremo sul (Itanhém, Jucuruçu e Lajedão) e o litoral sul (Ilhéus e Una) que resultaram em 62 amostras. 51 amostras de *Callithrix* spp (79,69%), 10 de *Leontopithecus crysomelas* (15,63%), 2 de *Alouatta guariba* (3,13%) e 1 de *Sapajus robustus* (1,55%). Para realização da sorologia foi utilizado o protocolo *Toxoplasma Modified Agglutination Test* (MAT) que resultou em duas amostras com a presença de anticorpos Anti-*Toxoplasma gondii* (2/64, 3,13%) sendo uma de *Alouatta guariba* e outra de *Sapajus robustus*. A sorologia desses animais é de grande importância, pois os primatas podem agir como sentinelas para a infecção em seres humanos.

**Autorização legal:** CEUA/UESC: 029/2019

**Palavras-chave:** Toxoplasmose; Sorologia; Neotropicais

**Apoio financeiro:** CNPq-AF.

**Trabalho selecionado para a JNIC:** Universidade Estadual de Santa Cruz

### Introdução

A toxoplasmose é uma doença parasitária causada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório da família Sarcocystidae. (DUBEY, SU, 2009). O *T. gondii* consegue parasitar uma grande variedade de animais, causando leves alterações subclínicas e patológicas em hospedeiros imunocompetentes (DUBEY, 2010). O felídeos são os hospedeiros definitivos, nos quais *T. gondii* se reproduz com o ciclo enteroepitelial, excretando os oocistos juntos às fezes (DUBEY, 2010; CASAGRANDE et al., 2013; MADERS, 2016).

*T. gondii* provou ser o um parasita de grande competência, capaz de parasitar quaisquer células de espécies homeotérmicas (INNES, 2010; ELMORE et al, 2010; CATÃO-DIAS et al, 2013). Ao contrário de outros coccídios não se atera apenas a um hospedeiro e pode se transmitido de várias formas, como pela ingestão de carne, via transplacentária e transmamária dando a possibilidade de ocupar novas áreas geográficas e alternar entre biomas e hospedeiros (INNES, 2010; ELMORE et al, 2010; CATÃO-DIAS et al, 2013).

Os primatas neotropicais apresentam maior susceptibilidade a infecção e quando acometidos, apresentam maior gravidade e mortalidade comparado a primatas do velho mundo. A susceptibilidade dos primatas do novo Mundo à toxoplasmose não é totalmente compreendida, entanto pressupõe-se que os platirrinos tenham evoluído sem a presença de felinos, conseqüentemente, não desenvolveram um sistema imune eficiente ao parasita. Bem como por apresentar hábitos arbóreos teriam minimizado o contato dos primatas com os oocistos do *T. gondii*. (CATÃO-DIAS, EPIPHANIO; KIERULFF, 2013; MINERVINO et al., 2017)

Pesquisas de anticorpos são de grande importância, pois visa avaliar a contaminação dos animais, uma vez que os animais infectados indicam a contaminação ambiental. Avaliar a soro positividade e sinais clínicos em primatas pode ajudar a explicar papel dessas espécies no ciclo epidemiológico da doença (DUBEY, 2010).

O objetivo do trabalho foi identificar a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em primatas não humanos no estado da Bahia.

## Metodologia

Foram realizadas expedições para região oeste (Cocos, Coribe, Formosa do Rio Preto, Jaborandi e Santa Rita de Cássia), Extremo sul (Itanhém, Jucuruçu e Lajedão) e o litoral sul (Ilhéus e Una) do estado da Bahia. Por meio de entrevistas, identificou os principais locais de ocorrência de primatas não humanos. Levando também em consideração os dados epidemiológicos das principais doenças infecciosas que ocorrem na região, cedidos pelo serviço de vigilância epidemiológica municipal e estadual. Para as capturas utilizou-se a metodologia de AMARAL (2017) onde a captura foi feita com armadilhas do modelo Tomahawk, utilizando bananas e mamões como isca. Para a contenção química, foi utilizado anestesia inalatória com Isoflurano, através de um vaporizador universal Oxigel® de 50mL, ajustado para liberar de 1 a 2% do anestésico efeito dependente e 1,5L de O<sub>2</sub>/min.

Uma vez anestesiados, foram realizadas a coleta de sangue na veia femoral, puncionado até 3mL em primatas menores e 5mL dos animais maiores. Todo o procedimento durou cerca de 10 minutos ou menos, acompanhando e mensurando a cada cinco minutos a frequência cardíaca e respiratória, além da temperatura e reflexos palpebrais. Após a realização dos procedimentos todos os animais foram acompanhados até o retorno total da anestesia e liberados no mesmo local de captura.

As amostras coletadas foram dispostas em tubos sem anticoagulantes em temperatura ambiente por 20 minutos para retenção do coágulo, em seguida foram resfriadas a 2-4°C e centrifugadas a 5000rpm por 10min para separação do soro. O soro foi separado, armazenado em microtubo estéril e armazenado em nitrogênio líquido até o retorno a Universidade, onde em seguida foram acondicionadas no freezer -80°C do laboratório de Parasitologia Veterinária na UESC.

Para realização da sorologia foi realizado o protocolo *Toxoplasma Modified Agglutination Test* (MAT) proposto por DUBEY (2016). Os soros foram diluídos em PBS (Solução Fosfato Salina) (pH = 7,2) no ponto de corte de 1:25 em uma microplaca de fundo em U. Resultando em 125µL, 120µL e de PBS e 5µL do soro. Para o mix com antígeno de *T. gondii*, foi utilizado 2,5mL de tampão borato, 50µL de azul de Evans, 150µL do antígeno, 35µL 2-mercaptoetanol. Totalizando 2,735mL disposto em tubo falcon e refrigerado até o momento da diluição. Antes da utilização dos soros provenientes das amostras, foram realizadas quatro amostras controles, sendo duas positivas e duas negativas, visando verificar a confiabilidade do PBS e mix do antígeno.

Após 24 horas, foram analisadas e três das amostras foram negativas, sendo os dois controles negativos e um dos controles positivos CN1, CN2, CP1. O CP2 deu positivo. Após a realização dos testes de segurança, com o auxílio de uma pipeta multicanal foram adicionados a cada poço da microplaca de fundo em V 25µL do soro diluído em PBS e 25µL do mix contendo o antígeno. Posteriormente esta microplaca foi agitada por 2-3 minutos, revestida de papel lme e incubada a 37°C overnight (24h), para a realização da leitura. (DUBEY; DESMONTS, 1987). As leituras foram realizadas com auxílio de um Microscópio Estereoscópico Binocular, sendo considerados negativos quando houver formação de botão azul no fundo do poço em V e positivos quando for observada a formação de uma malha/tapete azul no poço

## Resultados e Discussão

Foram testadas 51 amostras de *Callithrix spp* (79,69%), 10 de *Leontopithecus crysomelas* (15,63%), 2 de *Alouatta guariba* (3,13%) e 1 de *Sapajus robustus* (1,55%) totalizando 64 amostras. Foram encontrados anticorpos de *Toxoplasma gondii* em duas amostras (2/64, 3,13%) sendo uma de *A. guariba* e outra de *S. robustus*.

A baixa soroprevalência pode ser explicada pela distribuição baixa ou dispersa de oocistos pelos por felídeos selvagens, expondo os macacos a infecção que pode ter ocorrido pela ingestão de frutas, insetos ou cistos teciduais decorrentes da predação de aves e roedores (SILVA et al. 2013). Em comparação com estudos semelhantes e utilizando primatas não humanos, foram observadas diferentes prevalências. Garcia et al. (2005) estudando o *Alouatta caraya* observaram (3/17, 17,6%), Leite et al. (2008) com *Cebus apella nigrinus* (4/13, 30,8%), Silva et al. (2013) com *Cebus apella nigrinus* (3/36, 8,33%), Molina et al. (2014) relataram *A. caraya* (15/20, 75%) e (8/48, 16,6%) com *C. penicillata*, Da Silva, (2016) com animais de zoológico observou (16/43, 37,2%), Cano-Terriza et al. (2019) encontraram (48/189, 25,80%) em primatas de cativeiro, Niehaus et al. (2020) com primatas de vida livre identificaram anticorpos Anti-Toxoplasma em (28/47, 59,6%) enquanto em animais de cativeiro foi de (23/198, 11,6%).

O total de amostras negativas de *Callithrix spp* (51/51, 100%) e *Leontopithecus crysomelas* (10/10, 100%) pode ser explicado pela família Callitrichidae ser extremamente susceptível a doença, levando os animais a óbito de forma aguda e sem sinais clínicos específicos, percorrendo de 1- 11 dias após o contato inicial com o agente, ao ponto de tal característica impossibilitar a produção de anticorpos e amostragem de animais positivos (CATÃO-DIAS, EPIPHANIO, KIERULFF, 2013).

A prevalência encontrada em *A. guariba* (1/2, 50%) é considerada alta e próxima do que foi observado por

Niehaus et al. (2020) que relatou prevalência de (2/5, 40%) em *A. palliata*. Tais prevalências surpreendem quando observado o comportamento alimentar do gênero que é em sua maior parte frugívora, sendo essa uma característica que minimiza sua exposição ao parasita. Na dieta desses animais a maior parte da água eles precisam é obtida por meio dos alimentos (WAINWRIGHT, 2007). No entanto, eles podem beber água acumulada em galhos, troncos, bromélias ou em pontos acumulados no terreno. Sendo a fonte de infecção para buggios seriam corpos d'água infectados com oocistos (GILBERT, 1989), (ALMEIDA-SILVA et al. 2005).

O resultado obtido com *Sapajus robustus*. (1/1, 100%) e próxima do que foi relatado por Minervino et al. (2017), que observaram prevalência de 100% em *Sapajus nigritus* e 78,6% *Sapajus apella*. O caso do animal amostrado é um exemplo da relação desarmoniosa entre primatas e espécies domésticas. O animal em questão vivia em cativeiro, no mesmo ambiente de cães, gatos, suínos e por cooperação dos “tutores” foi retirada a amostra para realização do trabalho. Ao contrário da família Callitrichidae, no gênero *Alouatta* e *Sapajus* observa-se a ocorrência de surtos graves, entando com mortalidade variável e sobrevivência razoável, podendo ocorrer o desenvolvimento de anticorpos e amostragem sorologia positiva, variando entre 15% a 66% (CATÃO-DIAS,; EPIPHANIO, KIERULFF, 2013).

Da Silva et al (2013) analisaram um risco significativo de ocorrência de toxoplasmose em humanos por meio de análises sorológicas de primatas não humanos, visto que, estes primatas podem agir como sentinelas para a infecção em seres humanos. Uma vez que habitando áreas antropizadas podem se alimentar com frutas e vegetais contaminados com oocistos, demonstrando o risco de infecção humana por este tipo de alimento. Em zonas rurais e terras indígenas, primatas não humanos são comumente caçados e utilizados como alimento, tornando-os um risco para infecção no ser humano.

## Conclusões

Os resultados obtidos com estudo contribuem para a variedade de espécies de primatas não humanos que podem ser infectada pelo *T. gondii*. Novos estudos são necessários para compreender a patogênese e a sintomatologia clínica nesses animais. Levando em consideração que a toxoplasmose pode causar alta mortalidade em colônias de macacos e representa uma grande ameaça para preservação dessas espécies.

## Referências bibliográficas

- ALMEIDA-SILVA, Bárbara et al. Deslocamento terrestre e o comportamento de beber em um grupo de barbados (*Alouatta guariba clamitans* Cabrera, 1940) em Minas Gerais, Brasil. **Neotropical Primates**, v. 13, n. 1, p. 1-3, 2005.
- AMARAL, Rodrigo Gonçalves. Captura, marcação e manejo de primatas para coleta de material biológico e estudos de comportamento, Brasília-DF, 2017. 2017.
- CANO-TERRIZA, David et al. Levantamento sorológico de *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos cativos em zoológicos da Espanha. **Imunologia comparativa, microbiologia e doenças infecciosas**, v. 65, p. 54-57, 2019.
- CASAGRANDE, Renata A. et al. Toxoplasmose em primatas neotropicais: estudo retrospectivo de sete casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 94-98, 2013.
- CATÃO-DIAS, José Luiz; EPIPHANIO, Sabrina; KIERULFF, Maria Cecília Martins. Primatas neotropicais e sua suscetibilidade ao *Toxoplasma gondii*: novos insights para um antigo problema. In: **Primatas, patógenos e evolução**. Springer, New York, NY, 2013. p. 253-289.
- DA SILVA, Rodrigo Costa et al. Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigritus*) from an ecological station in the State of São Paulo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 251-253, 2013.
- 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, Jitender Prakask. **Toxoplasmosis of animals and humans**. CRC press, 2010.
- DUBEY, J. P.; SU, Chunlei. Population biology of *Toxoplasma gondii*: what's out and where did they come from. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 190-195, 2009.
- DUBEY, J. P et al. Validation of the modified agglutination test for the detection of *Toxoplasma gondii* in free-range chickens by using cat and mouse bioassay. **Parasitology**, v. 143, n. 3, p. 314-319, 2016.
- ELMORE, Stacey A. et al. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. **Trends in parasitology**, v. 26, n. 4, p. 190-196, 2010.
- GILBERT, K. A.; STOUFFER, P. C. Use of a ground water source by mantled howler monkeys (*Alouatta palliata*). Utilización de una fuente de agua subterránea por los monos congo (*Alouatta palliata*). **Biotropica**, v. 21, n. 4, p. 380, 1989.

- INNES, Elisabeth A. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 20, n. 2, p. 131-138, 1997.
- GARCIA, João Luis et al. Levantamento soropidemiológico para toxoplasmose em macacos selvagens do Novo Mundo (*Cebus* spp .; *Alouatta caraya*) na bacia do rio Paraná, Estado do Paraná, Brasil. **Parasitologia veterinária** , v. 133, n. 4, pág. 307-311, 2005.
- LEITE, Tânia Nadia B. et al. OCORRÊNCIA DE INFECÇÃO POR *Leishmania* SPP. E *Toxoplasma gondii* EMMACACOS-PREGO (*Cebus apella*) DE CAMPO GRANDE, MS. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 1, p. 307-310, 2008.
- MADERS, Pamela Reichelt. Estudo retrospectivo dos casos de primatas neotropicais atendidos no Preservas-UFRGS. 2016.
- MOLINA, Camila Vieira et al. Sero-epidemiological survey for brucellosis, leptospirosis, and toxoplasmosis in free-ranging *Alouatta caraya* and *C. allithrix penicillata* from São Paulo State, Brazil. **Journal of medical primatology**, v. 43, n. 3, p. 197-201, 2014.
- MINERVINO, Antonio Humberto Hamad et al. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in captive non-human primates in the Amazon region, Brazil. **Journal of medical primatology**, v. 46, n. 6, p. 343-346, 2017.
- NIEHAUS, Carmen et al. Environmental factors associated With *Toxoplasma gondii* Exposure in Neotropical Primates of Costa Rica. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 7, p. 727, 2020.
- SILVA, Daniela Barbosa da. Diagnóstico sorológico e molecular de *Toxoplasma gondii* em primatas não humanos em parque zoológico. 2016.
- SILVA, Rodrigo Costa da et al. Frequency of *Toxoplasma gondii* antibodies in tufted capuchin monkeys (*Cebus apella nigratus*) from an ecological station in the State of São Paulo, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 251-253, 2013.