



PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS PARA *Toxocara canis* EM OVINOS NA REGIÃO SUL DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

RASSIER, Gabriela Lopes¹; PAPPEN, Felipe Geraldês¹; BORSUK, Sibeles¹; SCAINI, Carlos James; GALLINA, Tiago¹; PINTO, Janaína Suzieli¹; RODRIGUES, Suélen¹; BERNE, Maria Elisabeth Aires¹.

¹ Departamento de Microbiologia e Parasitologia da UFPel.
Campus Universitário – Caixa Postal 354 – CEP 96010-9002- gabrielarassier@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Toxocara canis é um ascarídeo parasita do intestino delgado de cães com distribuição cosmopolita. Seres humanos e outros mamíferos quando infectados por larvas deste nematódeo comportam-se como hospedeiros paratênicos, não permitindo o seu completo desenvolvimento. As larvas, contudo, podem sobreviver por longos períodos no organismo humano causando a síndrome *Larva Migrans Visceral* e *Larva Migrans Ocular*.

Larvas (L3) de *T. canis* presentes nos tecidos de um hospedeiro paratênico quando ingeridas podem alojar-se nos tecidos de um segundo hospedeiro. Em regiões onde são criados ovinos há uma grande prevalência de cães, possibilitando a eliminação de ovos de *T. canis* que contaminam o ambiente e conseqüentemente infectam os ovinos que se tornam hospedeiros paratênicos. Além dos ovinos, suínos, bovinos e aves também podem servir de hospedeiros paratênicos. No Japão, dois jovens foram diagnosticados como tendo toxocarose causada pela ingestão de frango cru (Nagakura et al., 1989), e uma larva de *Toxocara* foi encontrado em uma biópsia da pele a partir do tornozelo de um homem de 26 anos que tinha uma história ingestão de fígado bovino cru (Aragne et al., 1999). Na Suíça, um casal foi diagnosticado como tendo toxocarose causada pela ingestão de fígado de suíno cru (Sturchler et al., 1990). Na América do Norte, um homem de 63 anos de idade foi diagnosticado com toxocarose possivelmente causada pela ingestão de fígado cru de cordeiro (Salem & Schantz, 1992). Dongil (2008) relatou três casos de adultos com toxocarose visceral de uma família que consumia regularmente finos pedaços de fígado cru bovino. Morimatsu (2006), concluiu que o fígado bovino cru é uma importante fonte de infecção para toxocarose nos pacientes com eosinofilia de etiologia desconhecida.

Na região em estudo há grande consumo de carne ovina pela população rural e não existem informações sobre essa parasitose em ovinos, que podem ser uma importante fonte de infecção para o homem. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a presença de anticorpos anti-*T. canis* em ovinos do sul do Estado do RS.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Em 95 propriedades, da Região Sul do Estado do RS, (figura 1) foram coletadas 1840 amostras de sangue de ovinos por punção da veia jugular. Após os soros foram então separados dos coágulos, mediante centrifugação (2000G), e acondicionados em frascos tipo Eppendorff e armazenadas a -20°C até a realização dos testes sorológicos. Foram utilizados soros controles positivos obtidos através da infecção experimental de ovinos com ovos férteis de *T. canis* e soros controles negativos (obtidos de rebanhos sem contato com canídeos).

Para produção do antígeno de TES, formas adultas de *T. canis* foram recuperadas através da administração de pamoato de pirantel (15mg/kg) em cães de quatro a oito semanas de idade. Através de histerectomia de fêmeas do parasito fixadas em placa de Petry com fundo revestido de parafina, foram obtidos ovos, seguindo-se a incubação destes durante 28 dias em formalina 2% a 28°C. As larvas infectantes (L₃) foram liberadas dos ovos, conforme metodologia descrita por De (Maizels et al.,1991). As larvas liberadas foram cultivadas em meio RPMI a 37°C e 5-6% de CO₂. O sobrenadante do cultivo foi filtrado em membrana de *Millipore* 0,22µm (Page et al.,1991) e conservado com inibidor de protease (PMSF – fluoreto de fenilmetilsulfonila) a -20°C. Posteriormente, os sobrenadantes foram concentrados por ultrafiltração (Sigma Stirred Cell - 10KDa), dialisados contra água *Milli-Q* a 4°C durante 24 a 28 horas e liofilizados e após resuspenso em água *Milli-Q* e conservado em alíquotas a -70°C. A dosagem de proteínas do antígeno TES foi determinada pelo método de Bradford (1976), utilizando placa de microtitulação e leitor de ELISA (570nm).

O teste de ELISA indireto foi realizado em placas de poliestireno sensibilizadas com 1µg/mL de antígeno TES. Os soros foram processados na diluição 1:200 e o conjugado peroxidase anti-ovino na diluição de 1:5000 em tampão PBS/leite em pó 5%. Como cromógeno utilizou-se ortofenilenodiamina (OPD), na concentração de 0,4 mg/ml, em tampão citrato-fosfato pH 4,0, acrescida de 0,04% de água oxigenada 30% (v/v). A densidade óptica (OD) foi determinada a 492nm em leitor de ELISA. O ponto de corte foi estabelecido pela média de 32 soros negativos mais três desvios padrões.

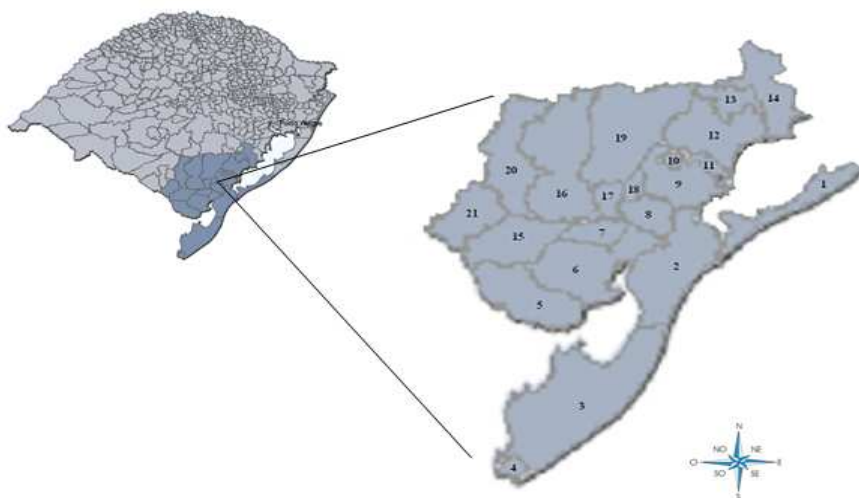


Figura 1 – Mapa do Estado do Rio Grande do Sul, com destaque para a zona sul e a localização dos municípios envolvidos no estudo (1. São José do Norte; 2. Rio Grande; 3. Santa Vitória do Palmar; 4. Chuí; 5. Jaguarão; 6. Arroio Grande; 7. Pedro Osório; 8. Capão do Leão; 9. Pelotas; 10. Arroio do

Padre; 11. Turuçu; 12. São Lourenço do Sul; 13. Cristal; 14. Camaquã; 15. Herval; 16. Piratini; 17. Cerrito; 18. Morro Redondo; 19. Canguçu; 20. Pinheiro Machado; 21. Pedras Altas). Fonte: IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), 2006.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Até o momento foram processados 410 soros de ovinos através de um ELISA indireto utilizando o antígeno TES que detecta anticorpos da classe IgG específicas contra o antígeno TES. Uma percentagem relativamente elevada (51%) de ovinos mostrou anticorpos contra o *T. canis* acima do ponto de corte (0,174) obtido pelos soros negativos, demonstrando que estes animais provavelmente tiveram contato com o parasito. Das 20 propriedades analisadas todas apresentavam cães de pastoreio e 60% cães errantes, o que é um importante fator de risco para a contaminação de ovinos com *T. canis*. Estudo similar foi realizado no do país de Gales com 400 soros, entretanto com prevalência 31%, menor ao detectado no presente estudo (Lloyd, 2006). Talvez esta diferença esteja relacionada à presença de cães nas propriedades, visto que na região do presente estudo os cães estão sempre presentes nas propriedades e muito utilizados no manejo dos ovinos. Desta forma a infecção natural dos ovinos com *T. canis* pode ocorrer pela contaminação da pastagem com fezes de cães infectados, sendo os cães jovens os principais disseminadores de ovos de *T. canis* no meio ambiente (Hughes, 1991)

A ingestão de carne crua ou mal cozida de hospedeiros paratênicos como coelho (Srurchler et al., 1990), ovino (Salem; Schantz, 1992), suíno (Fan et al., 2004) e frango (Morimatsu et al., 2006) tem sido considerada como fator de risco para toxocarose Kwon et al., observaram que em adultos, a prevalência foi de oito vezes maior em pacientes com histórico de ingestão de carne crua em relação aqueles que não apresentavam esse tipo de hábito. Na região em estudo há grande consumo de carne ovina pela população rural e não existem informações sobre essa parasitose nesta espécie animal, que podem constituir uma importante fonte de infecção para o homem. Os resultados indicam que é necessário programar medidas sanitárias para os cães presentes nas propriedades, buscando assim, diminuir a contaminação do ambiente com ovos de *T. canis* e conseqüentemente a infecção dos ovinos.

4. CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que os ovinos dessa região tiveram contato com o parasito e o ELISA aqui desenvolvido pode servir como um diagnóstico epidemiológico da *Larva Migrans* Visceral para esta espécie.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAGNE, K., AKAO, N., MATSUYAMA, T., SUGITA, M., NATSUAKI, M., KITADA, O., 1999. Fever, cough, and nodules on ankles. **Lancet**, 1872, p.354.

BRADFORD, M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, 1976, v.72, p.246.

DONGIL CHOIL, JAE HOON LIM, DONG CHOLL CHOI², SEUNG WOON PAIK², SUN-HEE KIM³ AND SUN HUH. Toxocariasis and Ingestion of Raw Cow Liver in Patients with Eosinophilia. **Korean J Parasitol.** 2008, Vol. 46, No. 3: 139-143.

FAN, C-K et al. Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal schoolchildren living in contaminated districts in eastern Taiwan. **Tropical Medicine and International Health**, 2004, v.9, p.1312-1318.

HUGHES, P.L., Internal parasitism in farm dogs. In: Proceedings of the 21st Seminar of Sheep and Beef Cattle Society, **New Zealand Veterinary Association, New Zealand**, 1991.

LLOYD, SHEELAGH. Seroprevalence of *Toxocara canis* in sheep in Wales. **Veterinary Parasitology**, 2006, 269-272.

MAIZELS, R.M.; BLATEX, M.L.; ROBERTSON, B.D.; SELRIRK, M.E. Parasite antigens, parasite genes. A laboratory manual for molecular parasitology. **Cambridge: Cambridge University Press**, 1991, 224 p.

MORIMATSU, Y. et al Case reports: a familial case of Visceral Larva Migrans after ingestion of raw chicken livers: appearance of specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid of the patients. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 2006 v.75, p.303-306.

NAGAKURA K, TACHIBANA H, KANEDA Y, KATO Y. Toxocariasis possibly caused by ingesting raw chicken. **J Infect Dis**, 1989;160: 735-736

PAGE, A.P.; RICHARDS, D.T.; LEWIS, J.W.; OMAR, H.M.; MAIZELS, R.M. Comparison of isolates and species of *Toxocara* and *Toxascaris* by biosynthetic labeling of somatic and ES proteins from infective larvae. **Parasitology**, 1991, v.103, p.451-464.

SALEM, G.; SCHANTZ, P. Toxocaral Visceral larva migrans after ingestion of raw Lamb liver. **Clinical Infectious Diseases**, 1992, v.15, p.743-744.

SCHANTZ, P.M.; GLICKMAN, L.T. Ascaridos de perros y gatos: un problema de salud pública y de Medicina veterinaria. **Boletín de La Oficina Sanitaria Panamericana**. 1983 v.94, n.6, p.571-586.

STURCHLER, D.; WEISS, N.; GASSMAN, M. Transmission of Toxocariasis **Journal of Infectious Diseases**, 1990 v.162, p.571.

