

# DIAGNÓSTICO DE *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* POR MEIO DA PCR E HISTOPATOLOGIA EM OVINOS

Lara Nogueira Silenciato<sup>1</sup>; Rosane Farias Carvalho<sup>2</sup>; Helcimar Barbosa Palhano<sup>3</sup>; Andressa Ferreira da Silva<sup>4</sup>

1. Discente do curso de Medicina Veterinária IV/ UFRRJ; 2. Discente do curso de Medicina Veterinária IV/ UFRRJ; 3. Professor do Departamento de Biologia Animal, IB/UFRRJ 4. Professora do Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, IV/UFRRJ.

**Palavras- chave:** Toxoplasmose, Neosporose, PCR, Histopatologia.

## INTRODUÇÃO

O estudo de toxoplasmose em ovinos é de suma relevância, em função das perdas econômicas e por ser um dos causadores de abortos em fêmeas ovinas (CHESA et al., 2014). A transmissão para o homem se dá pela ingestão de carne, vísceras cruas ou mal cozidas contendo cistos de *Toxoplasma gondii* (VIDOTTO et al., 1992).

O *Neospora caninum* é um protozoário muito semelhante ao *T. gondii*, contudo, apresenta características distintas na sua estrutura antigênica e patogenia relacionada ao hospedeiro (DUBEY, 1999). Em ovelhas prenhes a neosporose é responsável pela ocorrência de abortamentos (McALLISTER et al., 1996)

O objetivo do presente estudo foi detectar os parasitas *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* por meio do teste molecular e histopatológico em amostras de tecidos de ovinos destinados ao consumo.

## MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo número 206/2012. Foram coletados amostras de 25 ovinos destinados ao abate no Estado do Rio de Janeiro para análise molecular e histopatológica. No momento do abate foram coletados fragmentos de cérebro, coração, pulmão, rim, fígado e musculatura esquelética, totalizando 150 amostras. Os fragmentos destas amostras foram armazenados em parte no refrigerador a -20 C°, até a realização dos testes moleculares, e parte no formol tamponado 10%, para realização dos exames histopatológicos.

O DNA de *T. gondii* foi amplificado por meio de uma NESTED-PCR (nPCR) para o marcador SAG3 (FRAZÃO-TEIXEIRA et al., 2011). Os pares de primers externos e internos utilizados amplificam fragmentos de 311 e 225 pb respectivamente (SU et al., 2006).

Os fragmentos de tecidos coletados foram fixados em formol tamponado a 10%, e posteriormente cortadas em seções de 5-6µm de espessura e coradas de acordo com a técnica de hematoxilina e eosina para realização dos exames histopatológicos (SILVA et al., 2013).

Para verificar a associação entre os resultados obtidos pelo método molecular nos órgãos, o teste de McNemar foi utilizado.

Para descrição dos achados microscópicos na histopatologia foi usado análise descritiva dos resultados obtidos.

A análise estatística foi processada com auxílio do programa SAS (Statistical Analysis System, Versão 5 - Microsoft®, 2001) e foi considerada significativas quando  $P < 0,05$ .

## RESULTADO E DISCUSSÃO.

Dos ovinos avaliados pela PCR, 11(44%) dos 25 animais apresentaram DNA de *Toxoplasma gondii* em pelo menos um tecido analisado. Na análise estatística nenhum tecido analisado demonstrou equivalência, ou seja, todos tiveram os valores de  $P < 0,05$ .

Chesa e colaboradores (2014) mostram a detecção de *T. gondii* pela técnica de PCR em tecidos de ovinos abortados, demonstrando que o DNA do parasito está presente em vários órgãos. Nossos dados estão de acordo com os encontrados por Chesa.

Não foi possível realizar a detecção de *N. caninum* pela PCR, porque a técnica não foi padronizada no nosso laboratório.

Não foi possível encontrar parasitos de *T. gondii* e *N. caninum* nos tecidos avaliados pela histopatologia, porém foram encontradas lesões sugestivas, como congestão, infiltrado inflamatório mononuclear focal e multifocal, em todos os tecidos amostrais.

## CONCLUSÃO

O diagnóstico de ambos os parasitas é de suma importância, pois atuaria como um modo de prevenção da transmissão de *Toxoplasma gondii* aos humanos através da ingestão de carnes e vísceras cruas ou mal cozidas, e evitaria perdas econômicas com *Neospora caninum* diminuindo o índice de abortos e outros problemas reprodutivos em ovinos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CHESA, G., CHISU V., PORCU R & Masala G: **Molecular characterization of *Toxoplasma gondii* Type II in sheep abortion in Sardinia, Italy**. *Parasite*, 2014.

FRAZÃO-TEIXEIRA, E., SUNDAR, N., DUBEY, J.P., GRIGG, M.E., OLIVEIRA, F.C.R. **Multi-locus DNA sequencing of *Toxoplasma gondii* isolated from Brazilian pigs identifies genetically divergent strains**. *Vet Parasitol.*, v.175,p. 33-9, 2011

McLIISTER, M.M.; McGUIRE, A.M.; JOLLEY, W.R.; LINDSAY, D.S.; TREES, A.J.; STOBART, R.H.. **Experimental neosporoses in pregnant ewes and their offs pring**. *Vet Pathol*, v. 33(6), p. 647- 55, 1996.

SILVA, A.F., OLIVEIRA, F.C.R., LEITE, J.S., MELLO, M.F.V., BRANDÃO, F.Z., LEITE, R.I.J.C.K., FRAZÃO-TEIXEIRA, E., LILENBAUM, W., FONSECA, A.B.M., FERREIRA, A.M.R. **Immunohistochemical identification of *Toxoplasma gondii* in tissues from Modified Agglutination Test positive sheep**. *Veterinary Parasitology* (Print), 2013.

SU, C., ZHANG, X., DUBEY, J. P. **Genotyping of *Toxoplasma gondii* by RFLP markers: a high resolution and simple method for identification of parasites**. *Int J for Parasitol*, v.36, p. 841-848, 2006.

VIDOTTO O,. **Toxoplasmose: epidemiologia e importância na saúde animal**. *Semina:CL. Agr.*, v. 13, n.1, p. 69-75, 1992

