

TÉCNICAS DE IMUNO-HISTOQUÍMICA E HISTOPATOLOGIA NA DETECÇÃO DE *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM TECIDOS DE OVINOS

Rosane Farias Carvalho¹, Lara Nogueira Silenciato², Helcimar Barbosa Palhano³, Andressa Ferreira da Silva⁴

1. Bolsista de Iniciação Científica FAPERJ, Discente do Curso de Medicina Veterinária, IV/UFRRJ; 2. Bolsista de Iniciação Científica PROIC, Discente do Curso de Medicina Veterinária, IV/UFRRJ; 3. Professor do DBA/IB/UFRRJ; 4. Professora do DMCV/IV/UFRRJ

Palavras-chave: alterações histopatológicas, ruminantes, zoonose, parasitas, anticorpos

Introdução

Toxoplasma gondii é um parasito intracelular obrigatório, tem como hospedeiros definitivos os felídeos e os demais animais domésticos e silvestres como hospedeiros intermediários (FILHO et al., 2010), é de caráter zoonótico e causa problemas reprodutivos como o aborto, morte fetal e defeitos congênitos em animais de produção, principalmente em ovinos, desencadeando grandes prejuízos econômicos (MORENO et al, 2012; SILVA et al., 2013). O *Neospora caninum* se assemelha ao *T. gondii*, porém tem como hospedeiro definitivo o cão e é responsável por causar desordens neuromusculares, paralisia e morte nestes animais, além disso é causador de abortamentos e nascimento de animais prematuros em bovinos, caprinos e ovinos (FIGLIUOLO, 2002).

O exame histopatológico associado a imuno-histoquímica tem sido utilizado no diagnóstico de diversos agentes infecciosos, dentre eles, a infecção por *T. gondii* e *N. caninum*, pois estabelece um diagnóstico definitivo e os diferencia dos outros protozoários (LINDSAY et tal., 1989). No Estado do Rio de Janeiro a produção de carne ovina vem se expandindo e nota-se que as enfermidades nestes rebanhos tendem a surgir com maior frequência (FIGLIUOLO, 2002). Para a saúde pública o diagnóstico do *T. gondii* em ovinos destinados ao abate é de suma importância, pois o cozimento insuficiente de carnes destes animais podem servir de fonte de infecção para os humanos (DE BRITO et al., 2002). Assim, o principal objetivo deste estudo foi identificar *T. gondii* e *N. caninum* por meio de técnicas de diagnóstico que permitam localizar estruturalmente ambos os agentes etiológicos em ovinos.

Metodologia

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob o protocolo de número 260/2012. Foram selecionados 25 ovinos destinados ao abate para detecção de *T. gondii* e *N. caninum*. Para os exames histopatológicos, as amostras de cérebro, coração, fígado, pulmão, rim e diafragma foram fixadas em formol a 10% e submetidas a técnica de histopatologia usual. Para a imuno-histoquímica foram utilizados os blocos parafinados da histopatologia, que foram seccionados e incubados junto a anticorpo primário de coelho anti-*T. gondii* e anticorpo secundário (Envision + System, HRP anti-rabbit, code nº K4003, DAKO Corporation, Carpinteria, CA, USA). Para os controles positivos da imunorreação foram utilizados cortes histológicos de cérebro humano positivos para *T. gondii* e para os controles negativos o anticorpo primário foi omitido. Foi realizada uma análise estatística descritiva dos dados.

Resultados e Discussão

Observou-se alterações histopatológicas nos tecidos dos animais infectados por ambos os parasitos que variaram de infiltrado inflamatório mononuclear ou polimorfonuclear a congestão, porém nenhum parasito foi encontrado nos tecidos avaliados. Dentre os animais infectados por *T. gondii*, 100% dos tecidos apresentaram algum tipo de alteração hepática, cujo autor Pereira-Bueno et al. (2004) também relatou as mesmas alterações em seu estudo realizado com fetos ovinos infectados com toxoplasmose. Todos os animais infectados por *N. caninum* apresentaram algum tipo de alteração no coração, fígado e pulmão, sendo que as lesões hepáticas e pulmonares encontradas neste estudo foram semelhantes às observadas por Oviedo et al. (2003) e Pescador et al. (2007) em seus respectivos estudos. Dos ovinos avaliados pela imuno-histoquímica, 52% (13/25) apresentaram marcação positiva para o *T. gondii*, diferentemente do estudo realizado por Steuberet et al. (1995) que, utilizando a técnica de PCR, encontrou 10,6% de positividade. Não se realizou imuno-histoquímica para detecção de *N. caninum*, pois não conseguiu-se padronizar a técnica.

Conclusão

O teste imuno-histoquímico utilizado neste estudo comprova eficiência no diagnóstico e a importância na identificação da infecção por *T. gondii* em ovinos, uma vez que o parasito não foi encontrado nas amostras e também pelo fato de ser um agente zoonótico. Apenas por meio da histopatologia não foi possível diferenciar os parasitos.

Referências Bibliográficas

- DE BRITO, A. F. et al. Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 97, p. 31-35, 2002.
- FIGLIUOLO, L. P. C. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em ovinos da região oeste do Estado de São Paulo. In: XII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2002. Rio de Janeiro. *Anais...* Rio de Janeiro, 2002. 1 CD.
- FILHO, E. B.; RAMOS, O. S.; FREITAS, J. A. Inquérito sorológico de *Toxoplasma gondii* em ovinos na microrregião castanhal, Pará, Brasil. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v77_4/bragafilho.pdf>. Acesso em 04 jun. 2015.
- LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. *Am J Vet Res*, v. 50, p. 1981-1983, 1989.
- MORENO, B. et al. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Veterinary Parasitology* 187, 312– 318, 2012.
- OVIEDO, M. T. et al. Histopatologia de la infección experimental de ovejas sin lana *Ovis aries* por *Neospora caninum*. *Revista MVZ Córdoba*, v. 85(2), p. 382-4, 1999.
- PEREIRA-BUENO, J. et al. Evaluation of ovine abortin associated with *Toxoplasma gondii* in Spain by diferente diagnostic techniques. *Vet Parasitol*, v. 121 (1-2), p. 33-437, 2004.
- PESCADOR, C. A. et al. Histopatological and immunohistochemical aspects of *Neospora caninum* diagnosis in bovine aborted fetuses. *Vet Parasitol*, v. 150, p. 159-163, 2001.
- SILVA, A. F. et al. Immunohistochemical identification of *Toxoplasma gondii* in tissues from Modified Agglutination Test positive sheep. *Veterinary Parasitology*, v.191, p. 347-352, 2013.
- STEUBERET, S.; NIU, A.; BAUER, C.; REETZ, J.; REETZ, J.; ROTH, A.; JANITSCHKE, K. The detection of *Toxoplasma gondii* in abortion tissues of sheep using the polymerase chain reaction. *Dtsch Tierarzti*