



## Abordagem “One Health” na toxoplasmose: soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em suínos

“One Health” approach in toxoplasmosis: Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs

Douglas Ernani Vansetto<sup>1</sup>, Adriana Souto Pereira Nuncio<sup>1</sup>, Ezequiel Davi dos Santos<sup>1</sup>, Elci Lotar Dickel<sup>1</sup>, Franciele Maria Gottardo<sup>2</sup>, Fernando Pilotto<sup>1,2</sup>, Laura Beatriz Rodrigues<sup>1,2</sup>, Luciana Ruschel dos Santos<sup>1,2</sup>

**Resumo:** O objetivo desse estudo foi avaliar por imunofluorescência indireta (IFI) a soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em suínos, identificar por PCR a presença de *T. gondii* em linguças suínas defumadas e relacionar a epidemiologia e a transmissão de toxoplasmose aos humanos através de uma abordagem “One Health” integrando a saúde humana, a saúde animal e o consumo de alimentos seguros. Foram avaliadas 50 amostras de soro sanguíneo de suínos e 18 amostras de linguças suínas defumadas. No teste de imunofluorescência indireta (IFI) 8% dos animais foram positivos para *T. gondii* e no PCR todas as amostras foram negativas. Apesar dos resultados negativos no PCR, a presença de suínos soropositivos para *T. gondii* encaminhados ao abate e posterior industrialização da carcaça demonstra potencial risco à saúde pública, seja no consumo inadequado da carne *in natura* suína ou em subprodutos cárneos, reforçando assim, a abordagem “One Health” na toxoplasmose e sua contribuição na epidemiologia e transmissão de *T. gondii* aos humanos.

**Palavras-chave:** Soroprevalência, Toxoplasmose, Imunofluorescência indireta (IFI), PCR.

**Abstract** The aim of this study was to evaluate by indirect immunofluorescence (IFI) the seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pigs, to identify by PCR the presence of *T. gondii* in smoked pork sausages and to relate an epidemiology and the transmission of toxoplasmosis to humans through an “One Health” approach integrating human health, animal health and safe food consumption. 50 swine blood serum samples and 18 samples of smoked pork tongues were evaluated. In the indirect immunofluorescence test (IFI) 8% of the animals were positive for *T. gondii* and in the PCR all samples were negative. Despite the negative results in the PCR, the presence of pigs seropositive for *T. gondii* sent for slaughter and further industrialization of the carcass demonstrates a potential risk to public health, whether in the inadequate consumption of fresh pork or in meat by-products, thus reinforcing the “One Health” approach in toxoplasmosis and its contribution to the epidemiology and transmission of *T. gondii* to humans.

**Keywords** Seroprevalence, Toxoplasmosis, Indirect immunofluorescence (IFI), PCR.

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20200048>

Autor para correspondência. E-mail: fernandopilotto@upf.br

Recebido em 16.07.2020. Aceito em 30.12.2020

Dissertação de Mestrado do 1º autor.

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Bioexperimentação. Universidade de Passo Fundo (PPGBioexp/ UPF).

Programa de Pós Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

<sup>2</sup> Universidade de Passo Fundo (PPGCTa/UPF).

1 Douglas Ernani Vansetto, Médico Veterinário, PPGBioexp/ UPF. 164614@upf.br

1. Adriana Souto Pereira Nuncio, Médica Veterinária, PPGBioexp/ UPF. 182110@upf.br

1. Ezequiel Davi dos Santos, Médico Veterinário, PPGBioexp/ UPF. 68991@upf.br

1. Elci Lotar Dickel, Médico Veterinário, PPGBioexp/ UPF. elcidickel@upf.br

2. Franciele Maria Gottardo, nutricionista, PPGCTa/UPF. 180254@upf.br

1. 2. Fernando Pilotto, Médico Veterinário, PPGBioexp/ UPF. fernandopilotto@upf.br

2. 2. Laura Rodrigues, Médica Veterinária, PPGBioexp/ UPF. PPGCta/UPF. laurab@upf.br  
2.2. Luciana Ruschel dos Santos, Médica Veterinária, PPGBioexp/ UPF. PPGCta/UPF. luruschel@upf.br

## Introdução

A toxoplasmose é uma doença zoonótica causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, um parasita intracelular obrigatório com distribuição mundial que afeta praticamente todos os homeotérmicos, incluindo o homem (Dubey & Jones, 2008).

Com sua onipresença e grande variedade de hospedeiros, estimando-se que infecte até um terço da população humana global, a toxoplasmose se qualifica na abordagem “One Health”, pois afeta significativamente a saúde dos humanos, animais domésticos, vida selvagem e ecossistemas. Os felídeos são os únicos hospedeiros definitivos enquanto que os demais animais de sangue quente são hospedeiros intermediários para *T. gondii*. Os suínos tem destaque na cadeia epidemiológica da toxoplasmose por ser a espécie mais acometida pelo agente e possibilidade de cistos do parasita em diferentes órgãos e músculos. (AGUIRRE et al., 2019).

Tais cistos são indetectáveis macroscopicamente na inspeção *post mortem* nos abatedouros frigoríficos, o que, conseqüentemente, promove a continuidade da carne e vísceras de animais infectados nas etapas de

processamento industrial e comercialização, gerando risco à saúde humana pela ingestão desses produtos, sobretudo à base de carne crua como salames e copas (STELZER et al., 2019)

A produção de linguiças, salames e copas movimenta uma boa parcela da economia formal e informal no país, mas a ingestão destes embutidos constitui a principal fonte de transmissão de doenças aos humanos, visto que esses produtos muitas vezes são produzidos com carne de suínos oriundos de criadouros ou granjas pouco tecnificadas e com falhas nos programas sanitários, fatores que contribuem na disseminação da infecção por *T. gondii*. (DIAS et al., 2005).

A toxoplasmose é uma preocupação para à agroindústria e órgãos públicos de saúde, setores da sociedade que se propõe a oferecer alimentos seguros ao consumidor. Assim, uma abordagem “One Health” é essencial para compreender, prevenir e controlar a toxoplasmose, enquanto que lacunas nas informações epidemiológicas dirigidas a humanos, animais e ambiente ainda são uma realidade (AGUIRRE et al., 2019).

Nesse sentido, o objetivo desse estudo foi avaliar a soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em suínos por

imunofluorescência indireta (IFI), identificar a presença do agente em linguiças suínas defumadas oriundas destes animais e relacionar a epidemiologia e a transmissão de toxoplasmose aos humanos através de uma abordagem “One Health” integrando a saúde humana, a saúde animal e o consumo de alimentos seguros.

### **Material e métodos**

Este estudo foi realizado mediante aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), da Universidade de Passo Fundo (Protocolo 044/2017). Foram coletadas amostras de 50 suínos encaminhados ao abate, provenientes de 10 granjas da região norte do Rio Grande do Sul. O estabelecimento de abate atuava sob Serviço de Inspeção Municipal (SIM) e as carcaças eram distribuídas para comercialização de carne *in natura* ou fabricação de linguiças frescas e linguiças defumadas.

Para avaliar a soroprevalência de *Toxoplasma gondii*, foram coletados 10mL de sangue após a insensibilização dos suínos e as amostras refrigeradas a 4°C por 24h. para obtenção do soro e submetidas ao teste de imunofluorescência indireta (IFI) para *T. gondii*. Amostras de linguiças defumadas tendo como matéria-prima a carne suína proveniente dos animais

abatidos e analisados sorologicamente neste estudo foram coletadas e armazenadas entre 4 e 6°C para os ensaios de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) para a detecção do DNA de *T. gondii*. A PCR baseou-se na amplificação da região não-codificante de 529 pares de base (pb) (HOMAN et al., 2000).

Para a amplificação utilizou-se o kit GoTaq® Long PCR Master Mix (Promega) e os primers TOX 4 e TOX5. A reação total para cada amostra foi de 12,5uL, sendo 6,25uL de Go Taq Master Mix, 3,75uL de água ultra pura (Invitrogen), 0,5uL de cada primer (solução de uso a 10pmol) e 1,5uL de DNA. O perfil de ciclagem compreendeu a desnaturação inicial a 94°C por 7min., seguida de 35 ciclos de 94°C por 1min., 60°C por 1min. e 72°C por min., com extensão final a 72°C durante 10min.

Os produtos das reações de PCR foram submetidos à eletroforese horizontal (Major ME-20 Horizontal Electrophoresis System) em gel de agarose 1,5% em tampão de ácido bórico-Tris-EDTA (TBE) e revelados com Nancy 520 (Sigma Life Science). Os fragmentos de DNA foram analisados comparativamente com marcadores de DNA 100pb, sendo analisados e fotografados em analisador de imagens (Gel Doc- It – Imaging System

(UVP) – DNA Analyser).

### Resultados e discussão

A avaliação da soroprevalência de *Toxoplasma gondii* nos suínos, através do teste de imunofluorescência indireta (IFI),

revelou que 8% dos animais (4/50) (Figura 1) foram soropositivos para *T. gondii*. Já a PCR para avaliação de linguças suínas defumadas apresentou resultados negativos em todas as amostras analisadas.

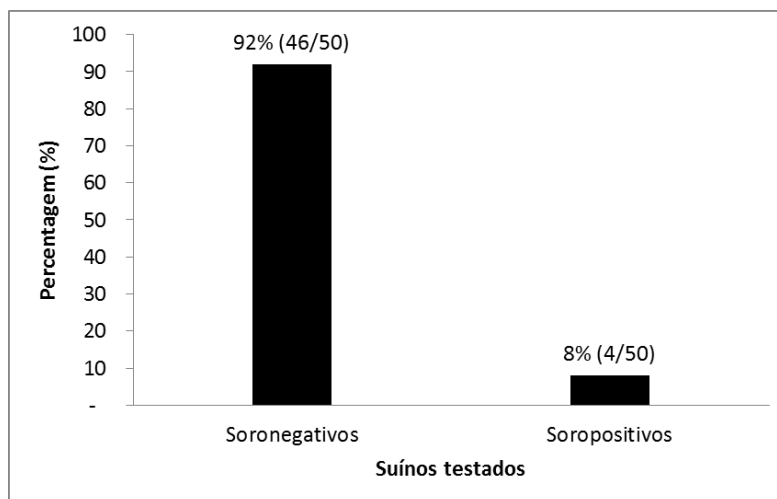


Fig.1. Percentagem de suínos soropositivos para *T. gondii*.

Sabe-se que a infecção humana por *T. gondii* ocorre principalmente pela ingestão, acidental ou opcional, de carne suína crua ou mal cozida contendo o parasita (PINTO et al., 2009). O consumo de produtos cárneos tradicionais a base de carne suína como as linguças têm despertado grande preocupação quanto ao risco de serem veículos para os cistos de *T. gondii*. Tal fato decorre devido ao protozoário ter se mostrado experimentalmente resistente às baixas concentrações de cloreto de sódio e de condimentos empregados nos produtos à base de carne suína crua bem como a

alguns tratamentos térmicos (NAVARRO et al., 2009)

A maioria dos perigos à saúde do consumidor é composta por microrganismos que não causam lesões observáveis nas linhas de inspeção, tal como o *T. gondii* (KICH et al., 2019). A interrupção do ciclo de transmissão do parasito deve ocorrer ainda na etapa de criação dos animais. No entanto, havendo falha na interrupção do ciclo, os cistos presentes nas carnes e produtos cárneos podem ficar viáveis por dias quando sob refrigeração. Já os processos de congelamento e cocção seriam as únicas

ferramentas disponíveis, uma vez que *T. gondii* não causa lesões passíveis de serem identificadas e removidas da carcaça do suíno infectado (JONES & DUBEY, 2012)

A realização de inquérito soropidemiológico dos suínos durante o período de alojamento possibilitaria aos serviços de inspeção o destino correto dos animais ou lotes soropositivos (SOUZA et al., 2014). Entre as técnicas mais utilizadas para averiguar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de suínos encontram-se os testes de imunofluorescência indireta (IFI) e de hemaglutinação indireta (FIALHO et al., 2002).

No estado do Rio Grande do Sul, em diferentes regiões, Fialho & Araújo (2003) encontraram um soroprevalência de 33,75% em amostras de sangue de suínos oriundos de frigoríficos no município de Porto Alegre, RS. Já em estudos nacionais, com o teste de ELISA, um estudo mostrou positividade de 18,27% para *T. gondii* em suínos criados e abatidos no estado da Bahia, enquanto no Piauí evidenciou-se soroprevalência de 25,5% para *T. gondii* em suínos (SOUZA et al., 2014).

À primeira vista, os estudos sorológicos citados expõem a discrepância entre os resultados, porém é

necessário admitir que eles, acima de tudo, demonstram que ainda há muito a ser estudado sobre o tema, principalmente quanto à repercussão da soropositividade no contexto “One Health”. Afinal, todos os suínos que atualmente chegam aos abatedouros frigoríficos, independente da sorologia, são encaminhados para abate e industrialização de sua carcaça, seja para a venda *in natura* ou para a fabricação de produtos cárneos industrializados, como os salames, o que constitui um risco para a infecção humana quando há o consumo de carne crua ou seus derivados.

Os cuidados dispensados pelos criadores aos animais sob regime tecnificado como, por exemplo, maior rigor no controle de outros animais na área, inclusive felinos e roedores, e melhor sistema de limpeza e desinfecção ambiental devem ter seguramente contribuído para minimizar os riscos de infecção pelo protozoário. Na prática, verifica-se que os animais confinados em granjas que atendem as exigências quanto à biosseguridade apresentam menor percentual de soropositividade do que aqueles suínos criados de maneira rústica, pois o acesso de animais, caninos, felinos e roedores, ao cocho de alimentação dos suínos constitui um dos principais fatores de risco (WEIGEL et al., 1995). As 10 granjas distintas amostradas neste estudo

possuíam pouca tecnificação e apresentavam falhas em programas sanitários, tal como a presença de felinos em contato direto com os suínos (Figura 2A), o que caracteriza o pré-requisito para a infecção toxoplásmica nesta espécie.

A repercussão dessa enfermidade é maior em alguns grupos de risco, tais como indivíduos imunocomprometidos, crianças, idosos e gestantes. E, dentre os distúrbios causados pela infecção, destacam-se lesões ao sistema nervoso central, alterações oculares e aborto (SILVA et al., 2006).

Assim, pesquisas sobre os impactos da toxoplasmose aumentam a necessidade de uma maior conscientização institucional com o uso da abordagem “One Health”, para que ocorra a interrupção do ciclo de transmissão do parasito anterior ao processamento da carne suína, controlando assim, a possível transmissão

da doença aos humanos (SUVISAARI et al., 2017).

Quanto ao teste de PCR, mesmo que o resultado tenha sido negativo para todas as amostras, tal fato é passível de compreensão e explicação, pois o exame direto do produto cárneo para pesquisa de DNA de *T. gondii* é influenciado diretamente pela distribuição não homogênea dos cistos na carne (MECA et al., 2011). Dessa forma, o teste de PCR pode não expressar o potencial risco de infecção aos humanos através da ingestão de alimentos cárneos (ASPINALL et al., 2002).

No caso do presente trabalho, foram produzidos e comercializados salames (Figura 2B) oriundos de matéria prima de suínos positivos para toxoplasma e, mesmo que a PCR não tenha demonstrado essa positividade, poderia configurar uma fonte de contaminação para o consumidor final.



Fig.2. A) Propriedade com falhas sanitárias, onde felinos entram em contato direto com os suínos. B) Salames fabricados com carne dos suínos testados e comercializadas na região do estudo.

## Conclusão

Ao identificar soroprevalência positiva nos suínos analisados, o presente estudo demonstrou a possível participação desses animais na epidemiologia e transmissão da doença aos humanos, sobretudo através do consumo de carne suína mal passada ou crua ou produtos à base de carne crua. Assim, mesmo que as amostras de linguiça defumada (salames e copas) tenham sido negativas no teste de PCR, ainda representaram risco a saúde pública, necessitando de ações abrangentes e transdisciplinares, através de uma abordagem “One Health”, a fim de controlar a transmissão desse patógeno aos humanos.

## Referências bibliográficas

- AGUIRRE, A.A., LONGCORE, T., BARBIERI, M. The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. *EcoHealth*, v.16, p. 378–390, 2019.
- ASPINALL, T.V.; MARLEE, D., HYDE, J.E. & SIMS, P.F. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction-food for thought. *International Journal for Parasitology*, v.32, n 9, p.1193–1199. 2002
- DIAS, R.A.F., NAVARRO, I.T., RUFFOLO, B.B., BUGNI, F.M., CASTRO, M.V., FREIRE, R. L. *Toxoplasma gondii* em linguiça de carne suína tipo frescal, com investigação soroepidemiológica em trabalhadores de estabelecimentos produtores. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v.47, n. 4, p. 185-189, 2005.
- DUBEY, J.P. & JONES, J.L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *International Journal of Parasitology*, v. 38, n. 11, p. 1257-1278, 2008.
- FIALHO, C.G. & ARAÚJO, F.A.P. Comparação entre os testes de imunofluorescência indireta e hemaglutinação indireta para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de suínos. *Acta Scientia Veterinariae*, v. 30, n. 3, p. 85-89. 2002.
- FIALHO, C.G. & ARAUJO, F.A.P. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da grande Porto Alegre-RS, Brasil. *Ciência Rural*, v.33, n.5, p. 893-897, 2003.
- HOMAN, W.L.; VERCAMMEN, M.; DE BRAEKELEER, J.; VERSCHUEREN, H. Identification of a 200- to 300- fold repetitive 529bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *International Journal for Parasitology*, v. 30, p. 69-75, 2000.
- JONES, J.L.& DUBEY, J.P. Foodborne toxoplasmosis. *Clinical Infectious Diseases*, v. 55, p. 845–851, 2012.
- KICH, J.D, COLDEBELLA, A, ALBUQUERQUE, E.R, CARDOSO, M.R.I, CORBELLINI, L.G, COSTA, E.F. Modernização da inspeção sanitária em abatedouros suínos: inspeção baseada em risco. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*. Curitiba, v. 17, supl. 3, p. 63-65, 2019.
- MECCA, J.N., MEIRELES, L.R., ANDRADE, J.H.F. Quality control of *Toxoplasma gondii* in meat packages: standardization of an ELISA test and its use for detection in rabbit meat cuts. *Meat Science*, v.88, n. 3, p. 584-589, 2011.
- NAVARRO, I.T, VIDOTTO, O., GIRALDI, N. FREIRE, R.L. Estudo da resistência do *Toxoplasma gondii* ao efeito do cloreto de sódio e condimentos em linguiça frescal de suínos. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana*, v.112, n. 1, p. 138-43. 1992.
- PINTO, L.D., CARLI, C.M, ÁVILA, R.B. Prevalência da toxoplasmose na medicina veterinária e sua importância como zoonose: revisão. *Veterinária em Foco*, v. 7, n. 1, p. 36-45, 2009.
- SILVA, F.W.S., ALVES, N.D., AMÓRA, S.S.A, TEXEIRA, F.H.V., ACCIOLY, M.P., CARVALHO, C.G., NÓBREGA R.M., FILGUEIRA, K.D., FEIJÓ, F.M.C. Toxoplasmose: uma revisão. *Ciência Animal*, v. 16, n. 2, p. 71-77, 2006.

SOUSA, R.A., LEMOS, J.F., FARIAS, L.A., LOPES, C.D., & SANTOS, K.R. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pigs in southern Piauí. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 23, n. 1, p. 98-100, 2014.

STELZER, W. BASSO, J. BENAVIDES SILVÁN, L.M. ORTEGA-MORA, P. MAKSIMOV, J. GETHMANN, F.J. CONRATHS, G. SCHARES, *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in farm animals: Risk factors and economic impact, Food and Waterborne Parasitology, v. 15, 2019.

SUVISAARI, J., TORNIAINEN-HOLM, M., LINDGREN, M., HARKANEN, T., YOLKEN, R.H. *Toxoplasma gondii* infection and common mental disorders in the Finnish general population. Journal of Affective Disorders, v. 223, p. 20-25, 2017.

WEIGEL, R.M., DUBEY, J.P., SIEGEL, A.M. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. Journal of Parasitology, v. 81, n. 5, p. 736-741, 1995.