

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DA PARAÍBA CAMPUS SOUSA BACHARELADO EM
MEDICINA VETERINÁRIA**

Brendo Andrade Lima

**DETECCÃO DE IMUNOGLOBULINAS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM AMOSTRAS
DE SORO SANGUÍNEO E COLOSTRO DE OVINOS NATURALMENTE
INFECTADOS NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA**

SOUSA – PB

2023

Brendo Andrade Lima

DETECÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM
AMOSTRAS DE SORO SANGUÍNEO E COLOSTRO DE OVINOS
NATURALMENTE INFECTADOS NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte das exigências para a conclusão do Curso de Graduação de Bacharelado em Medicina Veterinária do Instituto Federal da Paraíba, Campus Sousa.

Orientadora: Prof. Msc. Larissa Claudino Ferreira

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

L732d	<p>Lima, Brendo Andrade. Detecção de imunoglobulinas anti-toxoplasma gondii em amostras de soro sanguíneo e colostro de ovinos naturalmente infectados no Semiárido da Paraíba / Brendo Andrade Lima, 2023.</p> <p>24 p.: il.</p> <p>Orientadora: Profa. Ma. Larissa Claudino Ferreira. TCC (Bacharelado em Medicina Veterinária) - IFPB, 2023.</p> <p>1.Ovinocultura. 2. Hospital Veterinário - IFPB Campus Sousa. 3. Toxoplasma gondii. I. Título. II. Ferreira, Larissa Claudino.</p>
IFPB Sousa / BC	CDU: 619


Milena Beatriz Lira Dias da Silva – Bibliotecária – CRB 15/964

Brendo Andrade Lima

DETECÇÃO DE IMUNOGLOBULINAS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM
AMOSTRAS DE SORO SANGUÍNEO E COLOSTRO DE OVINOS
NATURALMENTE INFECTADOS NO SEMIÁRIDO DA PARAÍBA

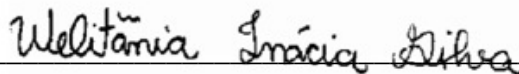
Monografia defendida e aprovado em pela Comissão Examinadora:

Orientador(a):

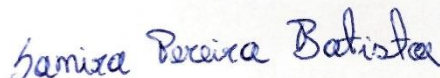


Professora Mestre Larissa Claudino Ferreira
IFPB – Campus Sousa
Professora Orientadora

Avaliadores(a):



Professora Mestre Welitânia Inácia Silva
IFPB – Campus Sousa
Examinadora 1



Professora Mestre Samira Pereira Batista
Centro Universitário de Juazeiro do Norte
Examinadora 2

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus.

Dedico também a minha família pelo apoio, em especial a minha mãe Maria das Graças, ao meu pai Francisco Pereira Lima e aos meus irmãos Matheus Andrade e Cilene Andrade, que durante os momentos mais felizes e os mais árduos nessa batalha nunca desistiram de mim. Agradeço a todos os que me ajudaram ao longo desta caminhada. Não há exemplo maior de dedicação do que o da nossa família.

Obrigado em especial a minha namorada Fernanda Amaral por todo o apoio.

Agradeço também a todos os meus colegas e desejo toda a sorte, dos quais não citarei nomes pois seria uma falha minha esquecer de alguém que me ajudou nesses longos anos. Agradecer a todos do LIDIC e LPV, especialmente a Ana Maria e Felipe Boniedj que colaboraram diretamente, me ajudando nas análises.

Aos Professores Larissa Claudino Ferreira, Thais Ferreira Feitosa e Vinicius Ribeiro Longo Vilela meu obrigado por todas as oportunidades e por me apresentarem esse mundo magnífico da pesquisa na Medicina Veterinária.

Meus agradecimentos a todos do Hospital Adílio Santos Azevedo.

RESUMO

Com aumento da ovinocultura no Semiárido Paraibano, a detecção de doenças torna-se de extrema importância tendo em vista as perdas econômicas que podem ocasionar. Pensando nisso, este estudo teve o objetivo de analisar a passagem de imunoglobulinas anti-*Toxoplasma gondii* em amostras de soro e colostro de ovinos nesta região. Foram coletadas amostras de matrizes e seus filhotes por punção da veia jugular, além do colostro das fêmeas. No Laboratório de Imunologia e Doenças Infectocontagiosas (LIDIC), do Hospital Veterinário do IFPB – Campus Sousa foi realizado o exame de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) na avaliação dos soros e colostros dos animais para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, utilizando amostra RH de taquizoítas de *T. gondii* fixados em lâmina. O colostro foi submetido à (RIFI), utilizando-se as diluições 1:64 como ponto de corte para *T. gondii*. A leitura das lâminas foi realizada em objetiva de 40x, em microscópio de fluorescência. A concordância kappa para a correlação entre os testes sorológicos das ovelhas e os resultados do colostro foi de 0,848. Em conclusão, houve um bom acordo em relação à detecção de anticorpos (IgG) anti-*T. gondii* entre as amostras de colostro e o soro dos cordeiros; o uso do colostro constitui uma nova opção de detectar *T. gondii* em rebanhos de ovinos. Levando-nos assim a estudar a ocorrência de anticorpos séricos e colostrais do *T. gondii* em ovinos naturalmente infectados no semiárido paraibano.

Palavras-chave: Imunologia; Ruminantes; Toxoplasmose.

ABSTRACT

With the increase in sheep farming in the semi-arid region of Paraíba, the detection of diseases is extremely important in view of the economic losses they can cause. Thus, in this study, blood samples were collected from mothers and their offspring by puncture of the jugular vein, in addition to colostrum through manual milking, under aseptic conditions, where a total of 5 ml were collected from each animal. In test tubes that are sterile, in which the first 3 jets were discarded and approximately 5mL were collected from each animal. In the Laboratory of Immunology and Infectious Diseases (LIDIC), of the Veterinary Hospital of the IFPB – Campus Sousa, the Indirect Immunofluorescence Reaction (IFAT) test was carried out in the evaluation of the sera and colostrum of the animals to search for anti-*T. gondii*, using a RH sample of *T. gondii* tachyzoites fixed on a slide. Colostrum was tolerated (IFAT), using 1:64 dilutions as the cutoff point for *T. gondii*. The slides were read using a 40x objective, under a fluorescence microscope. The kappa concordance for the dynamic between the ewe serological tests and the colostrum results was 0.848. This was increased as the dams' success titers reached 1000 from the dams' 1:128 titer. Comparison of appetite detection results between offspring serum and colostrum showed a kappa agreement of 1.000. In conclusion, there was good agreement regarding the detection of anti-*T. gondii* between colostrum and serum samples from lambs; the use of colostrum constitutes a new option for detection of *T. gondii* in flocks of sheep. Thus leading us to study the occurrence of serum headache and colostrum *T. gondii* in sheep naturally infected in the semi-arid region of Paraíba.

Key words: Immunology; ruminants; toxoplasmosis

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Reação de imunofluorescência indireta de soro e colostro de ovelha positiva para o protozoário da *Toxoplasma gondii*. Visualizados em microscópio de imunofluorescência, sob a objetiva $\times 40$ (ampliação de $400\times$)7

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Identificação das ovelhas seu colostro e cordeiros sobre a reação positiva de anticorpos e titulação para *toxoplasma gondii* (IgG), por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI).....8 e 9

Tabela 2. Valores de concordância com o método de índice Kappa. Indo de 0,0 (Razoavel) a 1,0 (perfeito), indicando o a confiabilidade na análise cruzada dos dados.....10

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ANT-*T. gondii* – anticorpos contra *Toxoplasma gondii*

CEUA – comitê de Ética no uso de Animais

ELISA – ensaio de imuno absorção enzimática

IgG – imunoglobulina G

IgM – imunoglobulina M

MAT – teste de Aglutinação Modificado

RIFI – reação de imunofluorescência indireta

RPM – rotação por minuto

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	1
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	2
	2.1 Características socioeconômicas.....	2
	2.2 Impactos do parasito <i>Toxoplasma gondii</i> na ovinocultura.....	2
	2.3 Características da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em ovelhas.....	3
	2.4 Características fisiológicas e clínica.....	4
	2.5 Prevenção e controle.....	4
	2.6 Ciclo reprodutivo do <i>Toxoplasma gondii</i>	5
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	5
	3.1 Procedimentos éticos.....	5
	3.2 Local do experimento.....	5
	3.3 Coleta de dados.....	5
	3.3 Amostra de sangue e colostro.....	6
	3.4 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).....	6
	3.5 Teste sorológico e colostrais.....	6
	3.6 Análises Estatísticas.....	7
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	8
5.	CONCLUSÃO.....	12
6.	REFERÊNCIAS.....	13

1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura no Nordeste brasileiro tem tido grande desenvolvimento ao decorrer dos anos e por serem animais de fácil adaptação, vem ganhando maior espaço no setor agropecuário. IBGE, (2023). De acordo com o último censo agropecuário, a maior parcela da população de ovinos encontra-se no Nordeste brasileiro (SILVA et al., 2020). O Estado da Paraíba vem desempenhando importante papel no desenvolvimento agropecuário de ovinos no Brasil, albergando uma grande quantidade de cabeças, tendo em vista o tamanho populacional e territorial do Estado (IBGE, 2023). A Paraíba encontra-se em sétimo lugar na criação dessa espécie com cerca de 506.192 animais, estando distribuídos entre 44.509 estabelecimentos (IBGE, 2023). Apesar de estar amplamente distribuída na região, ainda há importantes fatores que levam a perdas econômicas, e assim como toda atividade pecuária, a ovinocultura deve ter grande produtividade para ser uma atividade lucrativa.

Dentre os fatores que implicam na produtividade do rebanho, a eficácia reprodutiva é um dos mais importantes. (SILVA et al., 2020). O abortamento, assim como a habilidade de ovulação e manutenção da gestação até o nascimento tem sido relacionado como importantes falhas reprodutivas capazes de causar grandes perdas econômicas na ovinocultura (PINHEIRO et al., 2000). Com esse contexto, há investigação da epidemiologia de doenças infecciosas e parasitárias que causam problemas reprodutivos em ovinos. Dentre essas doenças, destaca-se a toxoplasmose, causada pelo protozoário cosmopolita *Toxoplasma gondii*, que é um importante causador de aborto em ovinos (DUBEY & JITENDER PRAKASK, 2010).

A infecção por *T. gondii* em ovinos geralmente é inaparente e quando observado em animais adultos acomete principalmente sistema nervoso e reprodutivo (DUBEY & JITENDER PRAKASK, 2010). Apesar da capacidade dos animais desenvolverem imunidade, os abortos podem ocorrer de forma esporádica ou frequente dentro de um sistema de produção, dependendo do tempo e fontes de infecção ao antígeno, outros fatores como manejo tipo de sistema empregado contato com o hospedeiro e suas fezes (DALLA et al, 2010).

Neste contexto, o estudo sobre *T. gondii* é relevante devido à potencial ocorrência de problemas da esfera reprodutiva e a possibilidade de transmissão do agente para o homem, pelo consumo de carne com cistos viáveis (LIMA et al, 2022). Para desenvolver estratégias de controle e profilaxia, o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é de fundamental importância devido às falhas reprodutivas poderem resultar de uma variedade de outras doenças infecciosas. Dessa forma, o diagnóstico pode ser realizado por testes sorológicos como a RIFI (Reação de

imunofluorescência indireta), ELISA (Ensaio de Imuno absorção Enzimática) e MAT (Teste de Aglutinação Modificado) (LUGOCH et al., 2018).

Portanto, algumas formas de análises podem ser empregadas no diagnóstico da doença e secreções sendo elas, soro sanguíneo e colostro reúne as experiências imunológicas da mãe na forma de Igs (imunoglobulinas), e o cordeiro recebe essa proteção através da ingestão dele. Visto que o colostro é rico em Igs, o diagnóstico sorológico de anti-*T. gondii* no colostro de ovelhas pode ser um instrumento importante para detectar possíveis infecções nos rebanhos. Deste modo, esta pesquisa teve como objetivo realizar o perfil sorológico de fêmeas ovinas e seus cordeiros para *T. gondii* no semiárido paraibano.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Características socioeconômicas

Com o aumento da população, juntamente com a demanda de alimento busca-se o melhor desempenho produtivo e menos perdas ao longo da produção agropecuária. Com isso, a ovinocultura vem crescendo por todo Brasil e principalmente no nordeste brasileiro, podemos destacar o estado da Paraíba que vem apresentando uma constante evolução IBGE (2023).

Estudos são importantes para prever surtos de determinadas doenças, por isso diversos tipos de enfermidades são investigados. Os protozoários são parasitos que frequentemente ocasionam prejuízos a produção de ovinos e por muitas vezes apresentarem sinais clínicos em períodos muito específicos podem passar despercebidos (LUGOCH et al., 2018).

O semiárido Paraibano uma tendência a aumentar sua produção de animais em relação à agricultura de subsistência, especificamente na região árida do Nordeste Brasileiro, onde os animais são produzidos em relação à agricultura de maneira cultural, e trazendo subsídios para a agricultura familiar nessas regiões (ANDRADE et al., 2012).

2.2 Impactos do parasito *Toxoplasma gondii* na ovinocultura.

No Brasil, são raros os estudos sobre a contribuição de *T. gondii* para o aborto e o óbito fetal em ovinos, por não causar danos aparentes ou logo à infecção da doença, é negligenciado trazendo assim a não mensuração da profilaxia da doença. Por isso, há pesquisas pontuais sobre surtos, como o estudo de Moraes et al. (2011), em Pernambuco, que encontraram 14,3% de 35 fetos ovinos abortados positivos para *T. gondii*, por meio da análise da placenta e de órgãos fetais através da PCR e exame histopatológico.

Quando se trata de ovelhas, a principal fonte de infecção é a ingestão de oocistos esporulados, por meio de água ou alimentos contaminados com fezes de felídeos domésticos.

Outra importante fonte de infecção para esta espécie é a transmissão vertical, com a ovelha transmitindo ao feto durante a gestação, podendo levar a abortamentos ou nascimentos de fetos infectados (DUBEY & JITENDER PRAKASK, 2010).

Um protozoário que traz prejuízos à ovinocultura e indiretamente, à saúde pública, é *T. gondii* que provoca abortos e pode causar outros problemas ao longo de ciclos reprodutivos (LUGOCH et al., 2018).

2.3 Características da infecção por *Toxoplasma gondii* em ovelhas.

Quando se adquire a doença, através dos fômites, pode se desenvolver doenças neurológicas, além de dificuldades reprodutivos, levando ao aborto devido a sua busca por tecidos celulares com alta taxa de multiplicação, assim dificultando a gestação promovendo abortos DUBLEY, (1998).

As ovelhas se infectam pela primeira vez durante a gestação, normalmente ocorre infecção aguda e os taquizoítos invadem e multiplicam-se dentro dos septos carunculares no placentoma, resultando em necrose e mineralização da placenta. A infecção transplacentária ocorre quando os taquizoítos continuam e invadem as células de trofoblasto fetal adjacentes onde podem se espalhar para o resto do feto e, como consequência, acontecer aborto espontâneo, má formação fetal, natimortos e placentite (JONES et al., 2000).

Se tratando de ovelhas, a principal fonte de infecção é a ingestão de oocistos esporulados, por meio de água ou alimentos contaminados com fezes de felídeos domésticos. Outra importante fonte de infecção para esta espécie é a transmissão vertical, com a ovelha transmitindo ao feto durante a gestação, podendo levar a abortamentos ou nascimentos de fetos infectados (DUBEY & JITENDER PRAKASK, 2010).

A toxoplasmose é uma enfermidade de distribuição mundial. acomete mamíferos e aves, os felinos domésticos e silvestres são os hospedeiros definitivos, sendo o gato (*Felis catus domesticus*) o principal deles. Os hospedeiros susceptíveis podem se infectar por *T. gondii* através da transmissão transplacentária e ingestão de alimentos contaminados por oocistos esporulado, sendo estas as principais fontes de infecção e proliferação da doença (DUBEY & JITENDER PRAKASK, 2016).

O semiárido Paraibano uma tendência a aumentar sua produção de animais em relação à agricultura de subsistência, especificamente na região árida do Nordeste Brasileiro, onde os animais são produzidos em relação à agricultura de maneira cultural, e trazendo subsídios para a agricultura familiar nessas regiões ANDRADE (2012).

2.4 Características fisiológicas e clínica

A toxoplasmose é uma doença que afeta todos os animais endotérmicos, inclusive o homem. Para ovinos, pode causar prejuízo reprodutivo quando infectado e em estado de prenhez (LIMA et al., 2008) pode ocasionar dificuldades reprodutivas de gestação, acarretando perdas econômicas.

A transmissão vertical ou transplacentária acarreta diferentes quadros clínicos, dependendo do estágio da gestação em que ocorra a infecção. Infecções adquiridas no início da gestação resultam em absorção fetal, abortamentos, natimortalidade ou nascimento de animais fragilizados e, infecções ao final da gestação, podem ocasionar o nascimento de animais clinicamente saudáveis, contudo cronicamente infectados (BUXTON et al., 2006).

Nos ovinos a placenta é do tipo sindesmocorial, essa característica não permite a passagem de anticorpos da mãe para o feto durante a gestação, sendo imprescindível que o neonato faça a ingestão do colostro para adquirir as imunoglobulinas (Ig) protetoras de origem materna (TIZARD, 2019). Uma vez ligada a estes receptores, os anticorpos são ativamente pinocitadas pelas células epiteliais, passando através dos capilares intestinais. Nos animais infectados, os títulos de anticorpos IgG (imunoglobulina G) são crescentes ou permanentes por se tratar de anticorpos mais específicos, e os anticorpos IgM (imunoglobulina M) são de curta duração, por ter um escalonamento maior com o início da infecção, ambas imunoglobulinas podem ser passadas para o cordeiro na forma de colostro, em média as IgM tendem a durar 14 dias (TIZARD, 2014).

2.5 Prevenção e controle

O primeiro relato de aborto em ovinos provocado pela toxoplasmose ocorreu em 1954, numa descrição de uma grande quantidade de animais que abortavam sem muitas explicações (HARTLEY, 1954).

Com o intuito de uma prevenção da doença uma vacina foi desenvolvida e é comercializada desde 1988 é constituída de taquizoítos vivos atenuados e vem sendo comercializada desde então em algumas partes do mundo com nome comercial de Toxovax® e no momento produzido pelo MERCK SHARP AND DOHME ANIMAL HEALTH (2019), entretanto essa vacina não está disponível no Brasil, desse modo reforça a necessidade do estudo da profilaxia da doença e suas dimensões em território brasileiro.

Outro fator se caracteriza pela limpeza dos estabelecimentos, trazendo todas as diretrizes de higiene para o ambiente, rotacionar piquetes pode ser uma alternativa, fornecer

alimento de boa qualidade e água tratada, evitar o contato com o hospedeiro definitivo (DUBLEY, 2014).

2.6 Ciclo reprodutivo do toxoplasma *Gondii*.

Toxoplasma gondii é um parasita unicelular que requer dois estágios de seu ciclo de vida, o primeiro é o sexo no tecido extra intestinal de um gato, que é o hospedeiro definitivo. o segundo é a assexualidade no tecido intestinal de diversos vertebrados como cães, cavalos, ovelhas, que são os hospedeiros intermediários (TOLEDO et al., 2021).

Os felídeos são os únicos animais que têm a capacidade de completar o seu ciclo de procriação. Depois de comer um gato, o parasita será infectado por *T. gondii* nas células do intestino. Os felinos secretam os oocistos nas fezes assim infectando outros felinos e animais que assim ingerirem acidentalmente os oocistos encontrados nas fezes (TORQUATO, 2022).

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Procedimentos éticos

A pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (CEUA/IFPB), de acordo com as normas e regulamentos vigentes, sob número de registro 23000.000526.2018-22.

3.2 Local do experimento.

Foram utilizadas 20 fazendas de criação de ovinos no Estado da Paraíba, sendo todas escolhidas por conveniência e em localidades diferentes do Estado Paraibano. Todas as fazendas visitadas apresentavam histórico de abortos espontâneos e partos prematuros. Com isso foi estabelecido para coleta de dados e a mostras.

3.3 Coleta de dados

Durante o período do estudo, foram coletadas 162 amostras de sangue e colostro de ovelhas e 182 amostras de neonatos, no caso de nascimentos gemelares, foram coletadas amostras de ambos os cordeiros. Nas fazendas, após a realização do exame físico nos animais, as ovelhas hígdas foram selecionadas para coleta de soro sanguíneo e colostro, todas tinham parido recentemente, e apresentavam tempo máximo de cinco dias pós-parição, e na mesma visita foram coletas amostras sorológicas dos cordeiros.

3.3 Amostra de sangue e colostro

A coleta das amostras de sangue foi realizada segundo a ordem de coleta da mãe, seguida do seu colostro, depois coleta de sangue do cordeiro, o local de coleta, se optou pela veia jugular, por ser mais calibrosa e de melhor visualização e eficácia para a coleta. Todas as amostras foram identificadas individualmente. De cada matriz que foi coletado o sangue, em seguida era coletado o colostro por meio de ordenha manual, seguindo para armazenamento em tubos eppendorf, e armazenados a -20°C. O colostro foi coletado de maneira asséptica, em tubos de ensaio estéreis, descartando os três primeiros jatos, coletando aproximadamente 5 ml de cada ovelhas e seguidas refrigeradas a -20°C. As coletas de colostro foram realizadas dentro os períodos estabelecidos e animais que apresentam mastite clínica não foram incluídos no estudo.

As amostras de sangue foram centrifugadas a 1000 rpm (rotação por minuto) por 10 min para obtenção de soro para análise. O colostro também foi centrifugado e, após esse procedimento, a camada superficial de gordura (sobrenadante) foi descartada e apenas o colostro precipitado foi utilizado para as análises. O soro sanguíneo e o precipitado colostro de cada animal foram devidamente identificados e, a seguir, armazenados a -20 °C até o momento do exame.

3.4 Reação de imunofluorescência indireta (RIFI)

Os soros dos ovinos coletados foram submetidos à pesquisa de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* (CAMARGO, 1973). Utilizou-se como antígeno taquizoítas da cepa RH. Foram utilizados conjugados marcados com uma molécula de Fluoresceína isotiocianato de fluoresceína, específico para as espécies no caso conjugado para ovinos, e soros controle positivos e negativos. Considerou-se para o ponto de corte das diluições partiu de $\geq 1:64$ DUBEY et al, (1998).

3.5 Teste sorológico e colostrais

A utilização das amostras de soro sanguíneo de ovelhas e cordeiros, e as amostras de colostro precipitado foram submetidas ao teste de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para anticorpos de *Toxoplasma gondii*, utilizando o mesmo protocolo de diagnóstico buscando evitando falsos positivos. Como diagnóstico complementar, para evitar falsos positivos, o soro sanguíneo de todas as ovelhas foram utilizados, após isso o envio de amostras de soro sanguíneo de todos os animais testados para teste de imunofluorescência (RIFI) para detectar os anticorpos de anti-*Toxoplasma gondii*, assim visto na Figura 1.

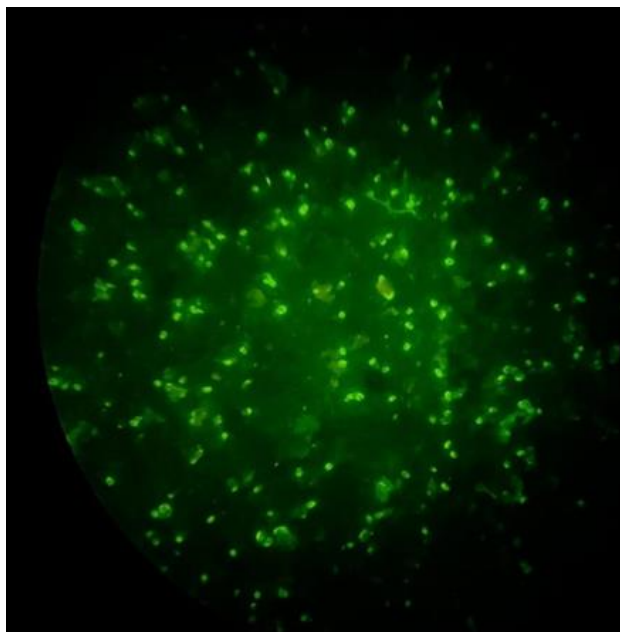


Figura 1. Amostra de soro positiva no teste de RIFI, visualizados sob $\times 40$ objetivas (ampliação de $400\times$).

A RIFI para anti-*T. gondii*, foi-se utilizado a diluição de soro sanguíneo com um ponto de corte de 1:64 para soro e colostro. As RIFIs para anticorpos anti-*T. gondii*. O teste foi realizado usando uma cepa ME49 taquizoítos de *T. gondii* fixados em lâmina, com ponto de corte de 1:64. As análises foram realizadas no Laboratório de Imunologia e Doenças Infecciosas (LIID) do Instituto Federal da Paraíba, campus Sousa. Foi utilizada uma molécula inteira de conjugado anti-IgG de ovelha (SIGMA, St. Louis, MO, EUA). As amostras de soro e o precipitado de colostro que reagiram em diluição maior ou igual a 1:64 foram consideradas positivas. Precipitação reativa de soro e colostro as diluições seriadas foram tituladas na base dois até serem negativas

3.6 Análises Estatísticas

Usando o coeficiente de análises estatística sobre o índice kappa, uma análise de concordância de colostro e soro foi realizada. Esta análise determina a sensibilidade e especificidade da detecção de anticorpos no colostro, utilizando o método de diagnóstico RIFI para detectar anticorpos no soro sanguíneo de ovelhas e cordeiros (CAMARGO, 1964). Em seguida, esta análise é realizada em resultados de detecção de anticorpos de amostras de soro de sangue de cordeiros e filhotes das ter terminadas ovelhas. Uma comparação precisa poder ser feita entre esses resultados para determinar a sensibilidade e especificidade do RIFI. Além disso, esta análise usa resultados de detecção de anticorpos de amostras de soro sanguíneo de

cordeiros para estimar a sensibilidade e especificidade para detecção de anticorpos no colostro Dubley, (1998).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 162 amostras sorológicas de ovelhas, 73 foram positivas para anti-*T. gondii* IgG equivalente a 45,1%, com título entre 1:64 e 16384 (Tabela 1).

Tabela 1: Detecção e titulação de anticorpos anti-Toxoplasma gondii (IgG) por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em amostras de soro sanguíneo e colostro de ovelhas e no soro de seus cordeiros.

ID de Ovelhas e Cordeiros	Pós-parto Dias	Titulação de Soro de ovelhas	Titulação de Colostro	Titulação de Soro de cordeiros
1	4	2048	256	128
2	4	256	512	64
3	3	512	64	512
9	2	512	128	-
10	5	2048	128	64
11	2	128	256	128
12-	3	256	64	128
12-	3	256	64	64
12-	3	256	64	64
15-	3	256	64	1024
15-	3	256	64	128
20	2	128	64	256
21	2	64	256	1024
22-	2	512	512	1024
22-	2	512	512	2048
23	2	2048	256	4096
24	2	128	64	1024
27-	4	64	-	64
27-	4	64	-	64
31	3	256	-	128
33	4	256	128	2048
34	3	64	64	128
41-	5	128	64	512
41-	5	128	64	64
41-	5	128	64	64
42	4	256	64	1024
44	4	256	64	128
45	2	256	64	512
46-	3	128	256	512
46-	3	128	256	64
47	3	1024	64	256
48-	4	16384	2048	64
48-	4	16384	2048	128
50	4	128	-	-
51	3	128	1024	128
53-	2	8192	-	512
53-	2	8192	-	256
54	3	2048	64	-
55	4	512	512	64

57	4	64	-	64
58	2	2048	64	128
59	3	4096	64	64
60	4	1024	1024	256
61	2	4096	-	128
63	2	512	64	128
64	2	256	64	128
65-	4	4096	64	128
65-	4	4096	64	256
66	4	2048	64	128
67	3	8192	512	512
68	4	4096	64	64
74	3	8192	-	-
75	4	512	64	64
79-	4	256	512	1024
79-	4	256	512	1024
80	3	4096	2048	128
81	4	256	64	128
85	2	512	64	512
86	3	256	64	2048
87	4	8192	64	4096
88	3	8192	64	8192
89	4	512	64	4096
93	3	4096	128	512
96	2	4096	512	128
101	5	2048	128	1024
105	3	512	64	2048
111	4	1024	-	-
113	3	64	64	512
115	4	1024	64	8192
117	2	64	64	512
118	3	128	64	256
136	2	64	-	64
141	4	64	-	64
145	4	1024	64	4096
146	5	1024	64	128
147	4	64	-	512
149	3	1024	256	256
151	3	4096	2048	256
152	4	256	4096	64
154	3	128	512	256
155	3	64	512	512
156	3	512	256	512
157	5	128	256	512
161	3	4096	-	-
162	3	8192	512	64

Notou-se que para 50% (25/50) das ovelhas positivas para anti-*T. gondii* no soro, nenhum anticorpo para este protozoário foi detectado em seu colostro. Os títulos dessas ovelhas variaram entre 1:64 e 1:16384 (Tabela 1).

As ovelhas que tiveram colostro positivo, seus descendentes (cordeiros) por fatores de absorção de imunoglobulinas durante a amamentação em função do colostro ou falhas de manejo entrelaçados com a falta de experiência materna das ovelhas, com a pouca quantidade de colostro produzido, por serem de raças que já tem como característica a pouca produção de

leite, derivados da maioria dos casos mestiças de Santa Inês (RIBEIRO, 2007). As ovelhas com títulos maiores que 1:128 apresentaram maiores possibilidades de imunizar seus descendentes, exceto nos casos de transmissão transplacentária em que os descendentes nascem com anti-*T.gondii*. Houve um padrão entre as amostras que foram positivas na RIFI. o soro amostras das ovelhas tinham níveis maiores ou iguais aos níveis dos títulos de colostro, e os títulos de seus descendentes eram menores ou iguais aos títulos de colostro. Concordância moderada foi observada nos resultados das RIFIs nas ovelhas, em correlação com os resultados do colostro, com coeficiente kappa de 0,848 (Tabela 2).

Verificou-se também que os resultados dos títulos dos animais tiveram influência no kappa resultados dos coeficientes: as ovelhas com títulos imunológicos baixos apresentaram resultados distintos daquelas do respectivo colostro, enquanto as ovelhas com títulos mais elevados apresentaram concordância kappa (Tabela 2).

Tabela 2: Valores Kappa: 0,20 a 0,40 indica concordância razoável; 0,40 a 0,60 indica concordância moderada; 0,60 a 0,80 indica acordo substantivo; e 0,80 a 1,00 indica perfeita concordância diagnóstica entre os testes avaliados.

Título das ovelhas	Ovelhas Positivas/Ovelhas Analisadas (%)	Colostro Positivo Ovelhas Positivas (%)	Kappa
1:64	10/162 (6,2%)	5/10 (50%)	0.652
1:128	10/162 (6,2%)	9/10 (90%)	0.944
1:256	13/162 (8,0%)	12/13 (92,3%)	0.957
1:512	10/162 (6,2%)	10/10 (100%)	1.000
1:1024	7/162 (4,3%)	6/7 (85,7%)	0.920
1:2048	7/162 (4,3%)	7/7 (100%)	1.000
1:4096	9/162 (5,6%)	7/9 (77,8%)	0.990
1:8192	6/162 (3,7%)	4/6 (66,7%)	0,794
1:16384	1/162 (0,6%)	1/1 (100%)	1.000
Total	73/162 (45,1%)	61	0.848 *

No estudo proposto, anti-*T. gondii* foram encontrados através da RIFI em amostras de colostro das ovelhas avaliadas. Estas primeiras análises estudo que avaliou a detecção de anticorpos contra *T. gondii* no colostro de ovelhas e a concordância da RIFI quanto aos níveis séricos de anticorpos em ovelhas e cordeiros. A infecção por *T. gondii* em ovinos, além de estar contaminando carnes e derivados destinados ao consumo humano, está sendo responsável por perdas econômicas a ovinocultores em diversas regiões Brasileiras (OLIVEIRA et. Al., 2014).

A região do semiárido paraibano, tem grandes concentrações de ovinos, mudou seu sistema de produção, passando da agricultura extensiva, que ocupa grandes áreas, para a agricultura intensiva, com grande concentração de animais, próxima aos centros urbanos., onde

a propagação de doenças infecciosas é facilitada pelo contato com outras espécies e manejo intensivo de animais SANTOS (2012). Com isso a presença de hospedeiros definitivos foi acontecendo com maior frequência deixando fontes de contaminação que quando atreladas ao manejo por falta de higiene, vem acarretando maiores áreas de contaminação, com isso sua detecção se torna cada vez mais frequente e com níveis séricos de titulação cada vez maiores (SILVA, 2023).

Sobre a detecção de anticorpos anti-*T.gondii* nos principais fluidos corporais (soro, leite, secreção vaginal e saliva) de bovinos aonde podem ser detectados pela RIFI (DUBLEY, 2021). O estudo observou alta sensibilidade, porém os anticorpos contra o parasita foram detectados com maior frequência no soro desses animais, seguido do leite, assim observando também por SANTOS (2012). Que se notou a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em diagnóstico de RIFI, em cinco, dos oito cordeiros de ovelhas naturalmente infectadas por *T. gondii*, logo ao nascimento (pré-colostro). elucidando que houve passagem de anticorpos pela placenta com isso o próprio embrião em formação pode produzir anticorpos contra *T. gondii*.

Em um estudo experimental em ovinos, (OLIVEIRA et al., 2023), observou-se que nas ovelhas quando a taxa de parição são elevadas em determinados períodos, ou em números de cordeiros por parição a taxa de imunização podem mudar e ser alteradas, assim partos gemelares a passagem de imunoglobulinas se torna menores em decorrência da divisão colostrada, da própria disputa de tetos pelo colostro, e pela habilidade materna juntamente com a baixa produção colostrada nessa fase inicial da vida materna das ovelhas.

Em relação à concordância entre a taxa de titulados de IgG contra o antígeno do *T. gondii* com título sérico maior ou igual a 1:256, a concordância com o colostro e soro de cordeiro foi elevada, em decorrência do grande número de anticorpos circulantes. Isso permite a análise combinada de colostro e soro de cordeiros usando apenas soro ou colostro de fêmeas adultas, pois fêmeas soropositivas com título de 1:256 terão títulos de colostro mais elevados a semelhança assim, a prole dessas ovelhas adquirirá imunidade passiva. Portanto, analisar apenas soro ou colostro de ovelhas com títulos maiores, ou iguais a 1:256 pode tornar a análise mais prática para os rebanhos, tendo em vista a maior taxa de níveis séricos de IgG encontrado circulante no organismo do animal.

As taxas de anticorpos que estão entre o soro de ovelha e o colostro, e o título é maior principalmente em ovelhas em decorrência do seu desenvolvimento imunológico. Além disso, existe uma relação excelente entre o colostro e o soro de cordeiro. Isso permite o uso de RIFI no colostro como uma alternativa não invasiva para avaliar a imunidade passiva da progênie.

Relacionando a forma de passagem colostro-positiva e para diagnosticar *T. gondii* em rebanhos de ovelhas, assim sendo possível ver quais as melhores ovelhas com taxa de passagem e Resistência anti-*T. gondii*.

5. CONCLUSÃO

Através dos dados obtidos pode-se concluir que a passagem de anticorpos e os níveis séricos de IgG anti-*T. gondii* podem ser vistos e equiparados na mãe, seu cordeiro e no colostro materno. Com isso, a forma de apuração não evasiva desses dados, seguido da RIFI se mostrou eficaz tendo uma boa análise. Por meio das análises pode-se verificar as taxas e níveis de anticorpos entre mãe e filho, assim como verificar e identificar se há falhas na passagem de imunoglobulinas no colostro de rebanhos, certificando mães que teriam problemas reproduzir em decorrência da toxoplasmose.

6. REFERÊNCIAS

ANDRADE, J. S. L. et al. Ocorrência e fatores de risco associados à infecção por *Corynebacterium pseudotuberculosis* em caprinos e ovinos do semiárido paraibano. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, p. 116–120, 2012.

AQUINO, R. S. et al. A realidade da caprinocultura e ovinocultura no semiárido brasileiro: um retrato do sertão do Araripe, Pernambuco. **PubVet**, v. 10, n. 4, p. 271–281, 2016.

BUXTON, D. et al. Toxoplasmosis: The possibility of vertical transmission. **Small Ruminant Research**, v. 62, n. 1–2, p. 43–46, 2006.

CAMARGO, M. E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 6, n. 3, p. 117–118, 1964.

DUBEY, J. P. et al. Serodiagnosis of postnatally and prenatally induced toxoplasmosis in sheep. **American Journal of Veterinary Research**, v. 48, n. 8, p. 1239–1243, 1987.

DUBEY, J. P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. **Veterinary parasitology**, v. 74, n. 1, p. 75–77, 1998.

DUBEY, J. P. et al. Detection and survival of *Toxoplasma gondii* in milk and cheese from experimentally infected goats. **Journal of food protection**, v. 77, n. 10, p. 1747–1753, 2014.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. [s.l.] CRC press, 2021.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. **Veterinary Parasitology**, v. 77, n. 1, p. 1–32, 1998.

FERNANDES, M. A. M. et al. Métodos para avaliação de produção de leite ovino. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 15, n. 1–4, 2009.

HARTLEY, W. J.; MARSHALL, S. C. Toxoplasmosis as a cause of ovine perinatal mortality. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 5, n. 4, p. 119–124, 1957.

IBGE. **Sistema IBGE de Recuperação Automática. Banco de Dados Agregados**. Tabela 74: Efetivo dos rebanhos, por tipo de rebanho, 2011. 2023. Disponível em: https://censos.ibge.gov.br/agro/2017/templates/censo_agro/resultadosagro/pecuaria.html Acesso em: 01 de jun. de 2023.

JIANG, J.-H. et al. Anti-toxoplasmosis effects of oleuropein isolated from *Fraxinus rhychophylla*. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v. 31, n. 12, p. 2273–2276, 2008.

JONES, T. C.; HUNT, R. D. Patologia veterinária. Em: **Patología veterinaria**. [s.l.: s.n.].

LIMA, J. T. R. et al. Prevalence to *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibodies in goats from Mossoró, Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 2008.

LUCIANO, D. M. et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em caprinos e ovinos de três municípios do Estado do Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, p. 569–574, 2011.

LUGOCH, G.; NORO, M.; DE ANDRADE, J. Metanálise da prevalência de toxoplasmose em gatos e ovinos no Brasil. **Revista de Ciência Veterinária e Saúde Pública**, v. 6, n. 1, p. 41–70, 2019.

MORAES, L. M. DE B. et al. Occurrence of anti-Neospora caninum and anti-Toxoplasma gondii IgG antibodies in goats and sheep in western Maranhão, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, p. 312–317, 2011.

OLIVEIRA, F. C. DE et al. Significância econômica da toxoplasmose ovina no Sul do Brasil. **XLII Jornadas Uruguayas de Buiatría**, 2014.

OLIVEIRA, F. C.; CAMOZZATO, J. N. B.; MAGGI, G. Interação reprodução x produção na ovinocultura: Aspectos reprodutivos relacionados com produtividade. **Rev Bras Reprod Anim**, v. 47, n. 2, p. 134–139, 2023.

OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE). **Métodos de investigação epidemiológica em doenças transmissíveis**. Brasília, v. 1, p. 116, 1997.

SANTOS, T. R. DOS. Toxoplasmose congênita em ovelhas reinfectedas experimentalmente. 2012.

SILVA, A. V. DA et al. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soropidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. **Ciência Rural**, v. 33, p. 115–119, 2003.

TOLEDO, M. E. O.; KOWALSKI, T. W. Etiologia, patogênese e diagnóstico de toxoplasmose: uma revisão de literatura com ênfase em toxoplasmose congênita. **ANAIS DA MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO CESUCA-ISSN 2317-5915**, n. 15, 2021.

TORQUATO, J. V. M. B. et al. Toxoplasmose e gestação: revisão de literatura Toxoplasmosis and pregnancy: a literature review. **Brazilian Journal of Development**, v. 8, n. 5, p. 35265–35272, 2022.

UENO, T. E. H. et al. Prevalence of Toxoplasma gondii and Neospora caninum infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, p. 547–552, 2009.

TIZARD I. R. **Imunologia Veterinária**. Elsevier, Rio de Janeiro, 565 a 568p, 2014.

Documento Digitalizado Ostensivo (Público)

Entrega de TCC

Assunto: Entrega de TCC
Assinado por: Brendo Andrade
Tipo do Documento: Anexo
Situação: Finalizado
Nível de Acesso: Ostensivo (Público)
Tipo do Conferência: Cópia Simples

Documento assinado eletronicamente por:

- **Brendo Andrade Lima, ALUNO (201718730027) DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA - SOUSA**, em 16/08/2023 14:17:46.

Este documento foi armazenado no SUAP em 16/08/2023. Para comprovar sua integridade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifpb.edu.br/verificar-documento-externo/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 911017
Código de Autenticação: 7400cc0775

