

Comunicação

[Communication]

Avaliação sorológica para *Toxoplasma gondii* pela imunofluorescência indireta e detecção do vírus da imunodeficiência felina pela *nested* PCR em felinos selvagens

[Serological evaluation for *Toxoplasma gondii* by indirect immunofluorescence and detection of feline immunodeficiency virus by nested PCR in wild felines]

A.V. Rivetti Jr.¹, F.A. Caxito², M. Resende², Z.I.P. Lobato^{3,4}

¹Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – Andradina, SP

²Instituto de Ciências Biológicas - UFMG – Belo Horizonte, MG

³Escola de Veterinária - UFMG – Belo Horizonte, MG

⁴Bolsista do CNPq

O vírus da imunodeficiência felina (FIV), que acomete gatos domésticos, está associado às síndromes de imunossupressão, devido ao seu tropismo por células linfóides do sistema imune. O FIV e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) pertencem à família *Retroviridae* e ao mesmo gênero dos lentivírus, com similaridades nas suas características biológicas e nas desordens clínicas e imunológicas que promovem (Dua et al., 1994).

A ocorrência natural de determinados lentivírus relacionados ao FIV, presente em gatos domésticos, tem sido documentada em espécies de felídeos selvagens, mas, até o momento, neles nenhuma alteração imunológica ou clínica foi observada. O aparente caráter não patogênico da infecção dos lentivírus relacionados ao FIV em felídeos selvagens é paralelo à situação da infecção por outros lentivírus, como o vírus da imunodeficiência simia (SIV) em macacos verdes africanos, em que episódios seletivos históricos podem ter conferido adaptações genômicas do vírus, bem como do hospedeiro, produzindo, assim, uma moderna coexistência (Courchamp e Pontier, 1994).

A toxoplasmose é considerada uma coccidiose dos felídeos e uma das mais comuns protozoonoses disseminadas em todo o mundo (Hill e Dubey, 2002). A infecção concomitante entre determinados agentes e o FIV pode potencializar as manifestações clínicas

relacionadas ao FIV. Este, por ser um agente imunossupressor, pode tornar os felinos acometidos mais susceptíveis a outras infecções. A toxoplasmose é relatada geralmente como um grave agente oportunista em felinos infectados por FIV, podendo a interação desses agentes em infecções simultâneas resultar na reativação da toxoplasmose (Foster et al., 1998).

O objetivo deste trabalho foi determinar a ocorrência e relatar a detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* e o FIV em felinos selvagens pertencentes à Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte.

Entre janeiro e novembro de 2005, 19 felinos selvagens foram avaliados: um jaguarundi *Herpailurus yagouaroundi*, três leões *Panthera leo*, três onças pintadas *Panthera onca*, dois tigres *Panthera tigris*, cinco onças parca *Puma concolor* e cinco jaguatiricas *Leopardus pardalis*.

A reação em cadeia pela polimerase (PCR) *nested* utilizada para detecção do DNA proviral do FIV foi descrita por Hohdatsu (1998), com modificações de Caxito (2003), e o controle positivo previamente confirmado por seqüenciamento (Caxito et al., 2006). O produto amplificado pertence a um fragmento do gene *gag* em uma região considerada extremamente conservada. A *nested* PCR foi realizada a partir do DNA extraído dos leucócitos no sangue total,

Recebido em 24 de outubro de 2007

Aceito em 25 de agosto de 2008

E-mail: anselmo_rivetti@hotmail.com

Apoio: FAPEMIG/CNPq

envolvendo a realização de duas reações: na primeira reação amplificou-se um fragmento de 733 pares de base (pb) e na segunda, posterior, um fragmento de 329pb a partir do fragmento inicial da primeira.

A técnica da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi utilizada para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii*. Lâminas fixadas com taquizoítos (Sabin, 1941) e soros-controle foram gentilmente cedidos pelo Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG. Os soros-teste foram incubados durante 30 minutos em câmara úmida a 37°C e após, com o mesmo período e temperatura, com imunoglobulina anti-IgG felino marcada com isotiocianato de fluoresceína.

Nenhum indício clínico de toxoplasmose foi evidenciado nos felinos selvagens avaliados. A avaliação como sororreagentes para *T. gondii* em 18 dos 19 felinos selvagens testados mostra alta prevalência, 94,7%, que pode ser explicada pela alimentação oferecida a esses animais, como, por exemplo, a carne bovina crua que pode ser a fonte de infecção comum para esses felinos mantidos em

cativeiro. Silva et al. (2007) encontraram sororreagentes com prevalência de 54,6% em 865 felinos selvagens de zoológicos de 20 estados brasileiros.

Uma amostra de sangue de uma jaguatirica foi positiva para o FIV por meio da *nested* PCR. Esse animal foi capturado na natureza e, portanto, pode ter se infectado antes ou após sua chegada ao zoológico já que na época da amostragem ele convivia com outros animais na jaula e nem todos eles foram testados para o vírus.

A observação da sorologia negativa para toxoplasmose apenas no felino selvagem positivo para FIV (Tab. 1) pode sugerir possível comprometimento do sistema imune por esse vírus. Lentivírus associados a várias espécies têm a característica de comprometer a resposta imune humoral para infecções concomitantes, com conseqüente influência no diagnóstico sorológico dessas. Tal comprometimento, no presente caso, pode ter refletido na não detecção de anticorpos para o *T. gondii* pelo RIFI.

Tabela 1. Detecção do DNA do FIV e de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* em felinos da Fundação Zôo-Botânica de Belo Horizonte

Felino	Sexo	N	PCR FIV	RIFI <i>T. gondii</i>
<i>Puma concolor</i>	♀	5	-	+
	♀		-	+
	♀		-	+
	♀		-	+
	♂		-	+
<i>Panthera leo</i>	♀	3	-	+
	♀		-	+
	♂		-	+
<i>Panthera onça</i>	♀	3	-	+
	♀		-	+
	♀		-	+
<i>Leopardus pardalis</i>	♀	5	-	+
	♀		-	+
	♀		+	-
	♀		-	+
	♀		-	+
<i>Herpailurus yagouaroundi</i>	♂	1	-	+
<i>Panthera tigris</i>	♀	2	-	+
	♀		-	+
Total		19	1 (5,3)	18 (94,7)

PCR: reação em cadeia pela polimerase; FIV: vírus da imunodeficiência felina;
RIFI: reação de imunofluorescência indireta.

Avaliação sorológica para *Toxoplasma gondii*

Foster et al. (1998) descreveram em gatos domésticos a possibilidade da reativação da toxoplasmose em infecções simultâneas entre FIV e *T. gondii*, entretanto as manifestações imunológicas e clínicas da infecção pelo FIV possuem variações quanto ao período pós-infecção. Em infecções prolongadas, acima de 25 meses, os gatos domésticos podem sofrer diminuição na capacidade da resposta aos antígenos T dependentes, diminuindo consideravelmente sua resposta imunológica humoral, devido ao decréscimo dos linfócitos T CD4⁺, permanecendo apenas com a resposta imunológica aos antígenos T independentes (Barlough et al., 1991).

Os estudos para a elucidação do comprometimento imunológico e clínico de lentivírus associados ao FIV em felinos submetidos ao cativeiro em parques e zoológicos, e suas infecções oportunistas como a toxoplasmose, devem ser considerados como de extrema importância dentro do conceito da medicina da conservação. O estabelecimento da prevalência dessas lentivirose deve ser realizado para dimensionar a exposição desses agentes para essas populações de felinos, assim como a associação entre as infecções oportunistas como a toxoplasmose que pode ser um risco em potencial para a saúde pública mediante reativação e conseqüente eliminação de oocistos do *T. gondii* em infecções concomitantes com o FIV.

ABSTRACT

Nineteen sera and blood samples from wild feline kept in captivity were tested for Toxoplasma gondii antibody and presence of feline immunodeficiency virus (FIV) DNA, respectively. Eighteen (94.7%) of them were seropositive for toxoplasma. However, the only negative animal, a Leopardus pardalis, was the only FIV positive. These results suggest that the infection by FIV may have compromised its immune system and interfered with antibody production for toxoplasma.

Keywords: feline, wild, virus, immunodeficiency, Toxoplasma gondii

AGRADECIMENTOS

À FAPEMIG pelo apoio financeiro e à Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARLOUGH, J.E.; ACKLEY, C.D.; GEORGE, J.W. et al. Acquired immune dysfunction in cats with experimentally induced feline immunodeficiency virus infection: comparison of short-term and long-term infections. *J. Acqui. Immune Defic. Syndr.*, v.4, p.219-227, 1991.

CAXITO, F.A. *Deteção e subtipagem do vírus da imunodeficiência felina em Minas Gerais*. 2003. 90f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

CAXITO, F.A.; COELHO, F.M.; OLIVEIRA, M.E. et al. Phylogenetic analysis of feline immunodeficiency virus strains from State of Minas Gerais. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.58, p.1222-1225, 2006.

COURCHAMP, F.; PONTIER, P. Feline immunodeficiency virus: an epidemiology review. *Comptes rendus De L'academie Des Sciences Paris*, v.317, p.1123-1134, 1994.

DUA, N.; REUBEL, G.; MOORE, P.F. An experimental study of primary feline immunodeficiency virus infection in cats and a historical comparison to acute simian and human immunodeficiency virus diseases. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, v.43, p.337-335, 1994.

FOSTER, S.F.; CHARLES, J. A.; CANFELD, P.J. Reactivated toxoplasmosis in a FIV – positive cat. *Austr. Vet. Pract.*, v.28, p.59-63, 1998.

HILL, D.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin. Microbiol. Infect.*, v.8, p.634-640, 2002.

HOHDATSU, T.; MOTOKAWA, K.; USAMI, M. et al. Genetic subtyping and epidemiological study of feline immunodeficiency virus by nested polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis of gag gene. *J. Virol. Meth.*, v.70, p.107-111, 1998.

SABIN, A.B. Toxoplasmic encephalitis in children. *J. Am. Med. Assoc.*, v.116, p.801-807, 1941.

SILVA, J.C.R.; MARVULO, M.F.V.; DIAS, R.R. et al. Risk factors associated with sero-positivity to *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. *Prev. Vet. Med.*, v.78, p.286-295, 2007.