

## Área: Tecnologia de Alimentos

### PCR PARA *Toxoplasma gondii* EM SALAMES ARTESANAIS

Ariane Remor<sup>1</sup>, Doglas Ernani Vansetto<sup>1</sup>, Ezequiel Davi dos Santos<sup>1</sup>, Elci Lotar Dickel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>PPGBioexp, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, RS

\*E-mail: [ariremor@yahoo.com.br](mailto:ariremor@yahoo.com.br)

**RESUMO** – A toxoplasmose é causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, o qual acomete os humanos através da ingestão de carne mal passada ou crua. O presente trabalho descreve o emprego de PCR em linguiças suínas defumadas (salames) para detecção de *T. gondii*, aliado a utilização do teste de imunofluorescência indireta na avaliação sorológica de suínos encaminhados para abate. No estudo, avaliaram-se 18 amostras de salames e 50 amostras de soro sanguíneo de suínos. Na PCR todas as amostras de salames se apresentaram negativas e no teste de imunofluorescência indireta 8% dos animais foram positivos para *T. gondii*. Embora PCR-negativas, as linguiças produzidas originaram-se de matéria-prima suína proveniente de estabelecimento de abate, cujo presente estudo identificou soroprevalência de 8% para o protozoário. Dessa forma, o consumo de carne mal passada ou crua e de subprodutos a base de carne crua, como os salames, devem ser evitados, principalmente, em grupos de risco como crianças e idosos.

**Palavras-chave:** toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, imuno-fluorescência indireta, PCR.

## 1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma enfermidade causada pelo *Toxoplasma gondii*. Os hospedeiros definitivos desse agente são os felídeos, sendo esses os responsáveis por eliminar os oocistos infectantes para o meio ambiente através de suas fezes (DUBEY, 1997; SWANGO et al., 1992). O protozoário apresenta ampla distribuição geográfica e alta prevalência na população humana (KAWAZOE, 2002). As duas formas direta de transmissão para os humanos e animais compreende a ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos esporulados e/ou o consumo de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais do parasita do protozoário, principalmente carne suína (FRENKEL, 1990; TENTER et al., 2000; SANTOS et al., 2015).

Os animais infectados, sobretudo os suínos, podem apresentar cistos do parasita em diferentes órgãos e músculos. Esses cistos não são detectados durante a inspeção post mortem nos abatedouros frigoríficos e, conseqüentemente a carne e vísceras de animais infectados seguem para a industrialização e comércio. A ingestão dessas carnes de forma crua ou mal cozida e a ingestão de embutidos a base de carne crua constituem a principal fonte de transmissão para humanos e animais domésticos (TENTER et al., 2009; DIAS et al., 2005; DUBEY & JONES, 2008). Em razão da dificuldade do diagnóstico da toxoplasmose post mortem nos abatedouros, diversos estudos sugerem a realização de inquérito soro-epidemiológico dos suínos durante o período de alojamento, o que proporcionaria ao serviço de inspeção dar o destino mais apropriado aos animais ou lotes soropositivos (FIALHO & ARAUJO, 2003; PEREIRA et al., 2005; BEZERRA et al., 2009; SOUSA et al., 2014).

A indústria, assim como muitos órgãos ligados à saúde pública, têm se preocupado com a qualidade das carnes e dos seus subprodutos. Principalmente, com relação a microrganismos não possíveis de identificar suas lesões macroscopicamente na inspeção post mortem, tal como o *T. gondii*. Os cistos desse parasita, presente nas carnes e produtos cárneos, podem ficar viáveis durante dias quando sob refrigeração. Entretanto, não resistem ao congelamento negativo de -12°C ou ao tratamento térmico acima de 67°C (DUBEY, 2004; DUBEY, 2010). Assim, o controle dessa enfermidade está diretamente relacionado às condições sanitárias dos animais e aos hábitos alimentares da população (NARDI et al., 2012). Especialmente porque até o momento não há um programa a nível nacional para o controle sanitário e detecção de cistos de *T. gondii* nas carnes, sobretudo a carne suína (MARCIANO et al., 2018). Em razão de tudo o que já foi exposto sobre *T. gondii*, o presente trabalho empregou o teste de PCR na detecção *T. gondii* em salames produzidos e comercializados na Região Norte do Rio Grande Do Sul, bem como avaliar sorologicamente os suínos que encaminhados para abate e industrialização.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi realizado mediante sua aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa e pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da Universidade de Passo Fundo (Protocolo 044/2017). Para o estudo foram coletadas amostras de sangue de 50 suínos encaminhados para abate. Os suínos eram provenientes de 10 diferentes granjas localizadas na Região Norte do Rio Grande Do Sul, sendo que todas elas encaminhavam os animais para abate no mesmo frigorífico. O estabelecimento de abate e distribuição das carcaças funciona sob serviço de inspeção municipal, e as carcaças dos animais abatidos são distribuídas para venda da carne *in natura* ou para a fabricação de subprodutos, inclusive os a base de carne crua, como as linguiças frescas e linguiças defumadas (salames). As amostras de sangue foram coletadas tanto de animais de terminação, quanto de matrizes encaminhadas para abate. O sangue coletado foi refrigerado a 4°C por 24 horas para separação e obtenção do soro. As amostras de soro foram enviadas para a realização do teste de imunofluorescência indireta (IFI) para *T. gondii*.

Também foram coletadas 18 amostras de linguiças defumadas (salames), produzidas a base de carne suína crua e comercializadas na Região Norte do Rio Grande Do Sul. As amostras eram oriundas de nove diferentes estabelecimentos de comercialização de carne suína e produção de produtos cárneos a base de carne suína e, cuja matéria-prima era proveniente das granjas que abrigavam os suínos testados sorologicamente nesse estudo. As amostras de linguiças foram coletadas nos estabelecimentos comerciais, armazenadas sob refrigeração de 4-6°C e enviadas para o Laboratório de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ-UNESP), Botucatu-SP, onde foram submetidas ao teste de PCR para *T. gondii*.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O uso da PCR na avaliação de linguiças suínas defumadas (salames), em busca de DNA de *T. gondii*, apresentou resultado negativo para todas as 18 amostras analisadas. Embora PCR-negativas, cabe salientar que as linguiças produzidas nos nove estabelecimentos amostrados originaram-se de matéria-prima suína proveniente

do estabelecimento de abate, cujo presente estudo identificou soroprevalência de 8% para o protozoário. Ainda que possa parecer estranho a PCR ter se apresentado negativa para todas as amostras, o resultado é passível de compreensão e explicação. Afinal, o exame direto do produto cárneo para pesquisa de DNA de *T. gondii* é influenciado diretamente pela distribuição não homogênea dos cistos na carne (MECCA et al., 2011). Essa diferença na distribuição de cistos em tecidos já foi observada experimentalmente em diversos animais estudados (DUBEY, 1997). Portanto, nem todos os órgãos e músculos dos animais apresentaram cistos e, como as linguiças e salames são produzidos com algumas partes da carcaça suína é compreensivelmente possível a não detecção de *T. gondii* por métodos moleculares, mesmo que os animais sejam sabidamente soropositivos para o protozoário.

Assim, a PCR pode não expressar o potencial risco de infecção aos humanos através da ingestão de alimentos cárneos (ASPINALL et al., 2002). Entretanto, quando atrelado a outros métodos diagnósticos, fica evidente os riscos do consumo de alimentos de origem animal não submetidos à inspeção sanitária, tais como os salames e copas. Afinal, já foi constatado que animais provenientes de abate clandestino apresentam um risco de infecção mais alto, quando comparado aos abatidos sob algum tipo de serviço de inspeção (BEZERRA et al., 2009). Isso decorre do fato de que suínos abatidos sob serviço de inspeção são oriundos de granjas comerciais, enquanto os de abate clandestino são provenientes de criações rústicas e sem controle sanitário, fatores que associados propiciam maior contato dos suínos com oocistos de *T. gondii* e por consequência maior risco às pessoas que adquirirem carne ou produtos derivados desses suínos.

A avaliação de 50 amostras de soro sanguíneo de suínos, através de imunofluorescência indireta, revelou 8% de animais soropositivos para *T. gondii*. Os animais amostrados eram provenientes de 10 granjas distintas, porém com pouco tecnificação e apresentando falhas em programas sanitários. Durante a tecnologia de abate e na inspeção *post mortem* nenhum dos animais positivos apresentou qualquer tipo de alteração macroscópica, sugestiva de toxoplasmose, sendo todos encaminhados para industrialização e comércio.

Ha muito tempo, os estudos têm verificado que o tipo de criação é determinante na soropositividade dos suínos para *T. gondii* e muitos outros agentes patogênicos. Na prática, se verifica que animais confinados em granjas que atendem as exigências quanto à biosseguridade apresentaram menor percentual de soropositividade do que aqueles suínos criados de maneira rústica. Isso certamente ocorre devido a uma menor exposição dos animais de granjas tecnificadas aos oocistos presentes no solo e na água, bem como ao não contato com animais domésticos (BEZERRA et al., 2009; DUBEY, 2010). TSUTSUI et al. (2003) destaca que o acesso de animais, como caninos, felinos e roedores ao cocho de alimentação dos suínos constitui um dos principais fatores de risco. O mesmo estudo também demonstrou que a localização urbana da propriedade aumenta a possibilidade de infecção dos suínos. Isso porque a maior proximidade com centros urbanos propicia maiores fontes de alimentos para animais sinantrópicos e/ou errantes indesejáveis em uma granja de suínos.

Araújo & Souza (1996), utilizando o teste de Imunofluorescência Indireta (IFI), avaliou 274 amostras de sangue de suínos oriundas de abatedouros da Região de Erechim-RS e verificou que 7,3% dos animais examinados foram sororeagentes à *T. gondii* pela Imunofluorescência Indireta (IFI). Apesar de passados 22 anos, verifica-se que utilizando metodologia análoga à do presente estudo e envolvendo um município localizado na Região Norte do Rio Grande do Sul, a pesquisa de Araújo & Souza (1996) obteve resultado de soroprevalência muito semelhante ao obtido no presente estudo. Quando comparados, os resultados indicam que mesmo com o

passar do tempo e com a criação de farta lista de exigências quanto à sanidade e biossegurança, os suínos da região estudada continuam expostos ao agente infeccioso na mesma proporcionalidade e, isso requer mais estudos para compreender quais fatores estão contribuindo para isso.

Ainda em nível de Estado, Fialho e Araujo (2003) encontraram uma soroprevalência de 33,75% em amostras de sangue de suínos oriundos de frigoríficos de Porto Alegre-RS. Todavia, Pereira (2005), na região de Pelotas-RS, investigou a soroprevalência de suínos para *T. gondii* utilizando as técnicas de Hemaglutinação Indireta e Imunofluorescência Indireta e, os resultados foram de 9,2% e 13,9% respectivamente. Em nível nacional, Bezerra et al. (2009), através do teste de ELISA, verificou uma positividade de 18,27% para *T. gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, enquanto no Piauí Sousa et al. (2014) encontrou uma soroprevalência de 25,5% em suínos também analisados através de ELISA. À primeira vista, os estudos sorológicos citados expõem uma 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 na saúde pública. 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 subprodutos cárneos, como os salames, o que constitui um risco para a infecção humana quando há o consumo de carne crua ou seus derivados.

#### 4 CONCLUSÃO

O presente estudo permitiu concluir que mesmo as amostras de salames tendo sido negativas para o DNA de *T. gondii*, elas ainda continuam representando risco a saúde pública. A literatura já demonstrou que o uso da PCR na pesquisa de protozoários em produtos cárneos pode apresentar algumas limitações, fato que fica evidenciado no presente estudo. Afinal, a matéria-prima suína para a fabricação das linguiças era oriunda de abatedouro no qual foram identificados 8% de suínos soropositivos para o protozoário, ficando evidenciado o risco quando do consumo dessas carnes de forma mal cozida, crua ou na forma de produtos a base de carne crua.

#### 5 AGRADECIMENTOS

#### 6 REFERÊNCIAS

ARAÚJO, F. A. P. & SOUZA, W. J. S. **Prevalência de toxoplasmose em suínos da região de Erechim (RS), detectados pela Imunofluorescência Indireta.** In: CONGRESSO PANAMERICANO DE CIÊNCIAS VETERINÁRIAS, Campo Grande, Brasil. 1996.

Aspinall, T.V. et al. 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.

BEZERRA, R.A. et al. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 1, p. 78-80. 2009.

DIAS, R.A.F. et al. *Toxoplasma gondii* em lingüiça de carne suína tipo frescal, com investigação soroe epidemiológica 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. Tissue cyst tropism in *Toxoplasma gondii*: a comparison of tissue cyst formation in organs of cats, and rodents fed oocysts. **Parasitology**, v. 15, n. 1, p. 15-20, 1997.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis - a waterborne, Zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1, p. 57-72, 2004.
- DUBEY, J.P. & JONES, J.L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1257-1278, 2008.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in pigs (*Suis scrofa*). In: Dubey J.P. (Ed.), **Toxoplasmosis of animals and humans**. 2nd Ed. CRC Press: Boca Raton. 2010.
- KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves D. P. **Parasitologia humana**. 10ª ed. Ateneu: São Paulo. 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.
- Frenkel, J. K. Toxoplasmosis in humans beings. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 2, p. 240-248, 1990.
- MARCIANO, M.A.M. et al. Avaliação da técnica de ELISA para pesquisa de IgG anti-*Toxoplasma gondii* em exsudatos de carnes de sol. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n.1, p. 1-6, 2018.
- MECCA, J.N. et al. 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.
- NARDI, G. et al. Toxoplasmose: aspectos de saúde pública e importância ao agronegócio. **Tékhnē e Logos**, v. 3, n.1, p. 1-19, 2012.
- PEREIRA, I.C. **Soroprevalência de anticorpo para *Toxoplasma gondii* em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal da região de Pelotas-RS**. (Dissertação de Mestrado em Veterinária). Universidade Federal de Pelotas, Pelotas. 2005.
- SANTOS, H.L.P.L. et al. Occurrence of infection by *Toxoplasma gondii* in slaughtered swine in the northwestern region of Paraná, Brazil. **Semina Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1999-2004, 2015.
- SOUSA, R.A. et al. 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.
- SWANGO, L.J. et al. *Infecções bacterianas, riquetsiais, protozoais, e outras*. In: Ettinger, S. J. (Ed.), **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 3ª ed. Manole: São Paulo. 1992.
- TENTER, A.M. et al. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, n. 2, p. 1217-1258, 2000.
- TENTER, A.M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104, n. 2, p. 364-369, 2009.
- TSUTSUI, V.S., et al. Soroepidemiologia e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 89, n. 2, p. 27-34, 2003.