

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
MESTRADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS
INFECCIOSAS

REGIANE TRIGUEIRO VICENTE

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO
TOXOPLÁSMICA EM ALUNOS DO CURSO DE
MEDICINA VETERINÁRIA DE UNIVERSIDADES DO
RIO DE JANEIRO.**

RIO DE JANEIRO

2010

SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO
TOXOPLÁSMICA EM ALUNOS DO CURSO DE
MEDICINA VETERINÁRIA DE UNIVERSIDADES DO
RIO DE JANEIRO.

REGIANE TRIGUEIRO VICENTE

Dissertação apresentada ao curso de
mestrado em Pesquisa Clínica em
doenças Infecciosas do Instituto de
Pesquisa Clínica Evandro Chagas para
a obtenção do grau de mestre em 2010.

Orientadora: Dra. Maria Regina Reis
Amendoeira.

RIO DE JANEIRO

2010

REGIANE TRIGUEIRO VICENTE

**SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA EM
ALUNOS DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DE
UNIVERSIDADES DO RIO DE JANEIRO.**

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Pesquisa Clínica em doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para a obtenção do grau de mestre em 2010.

Orientadora: Dra. Maria Regina Reis Amendoeira.
Aprovada em 25 de março de 2010.

BANCA EXAMINADORA

Dr Rodrigo Caldas Menezes (Presidente)
Doutor em Biologia Parasitária - Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ
Instituto de Pesquisa Evandro Chagas – IPEC, Fiocruz

Dra Cláudia Maria Antunes Uchoa Souto Maior
Doutorado em Ensino em Biociências e Saúde
Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ.
Universidade Federal Fluminense - UFF

Dra Patrícia Riddell Millar Goulart
Doutorado em Medic.Veterin.(Hig.Veter.Proc.Tecn.Prod.Orig.Animal) -
Universidade Federal Fluminense, UFF
Universidade Federal Fluminense - UFF

A Deus Pai, Filho e Espírito Santo, por me dar forças e capacidade para conseguir essa conquista.

À minha amada família, meu irmão e principalmente à minha mãe e irmã pelos muitos incentivos em momentos de desespero e fraqueza. E a minha tia Vanda pelas muitas orações.

À memória do meu pai Fernandes e da minha avó Júlia.

Aos meus amigos e amigas mais que especiais e queridos sempre me ajudando bastante quando mais precisei.

A todos aqueles que me ajudaram direta ou indiretamente no desenvolvimento dessa conquista.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me ajudado a realizar esse sonho e por ter colocado anjos-amigos em meu caminho que só me ajudaram e socorreram.

À Dr^a Regina Amendoeira por ter me orientado não só no meu mestrado, mas por esses 15 anos de ensinamentos, carinho e ajuda.

À minha grande amiga Dr^a Patrícia Riddell Millar pelas sugestões, pelo incentivo, pela grande amizade, confiança, pelo carinho e por ser sempre essa pessoa maravilhosa e de um coração imensamente generoso, além de uma excelente profissional.

À minha confidente fiel e irmã-miga Tatiana da Costa por seu companheirismo, eterna amizade, grande incentivo, imensa ajuda, carinho e dedicação nesses 19 anos de amizade e 15 de parceria na vida profissional do Laboratório.

Ao meu querido amigo José Leonardo Nicolau, Técnico do LabTOXO da Fiocruz, pela amizade, carinho, torcida e gigantesca ajuda não só na parte do diagnóstico mas em todos os preparativos para os trabalhos de campo.

Ao querido amigo Leandro Batista das Neves, Técnico do LabTOXO da Fiocruz, por sua imensa ajuda, amizade e boa vontade em tudo que precisei para desenvolver o trabalho.

À minha queridíssima amiga Camila Mello M. de Jesus, Bolsista Tec Tec do LabTOXO da Fiocruz, pelos incentivos e por sempre me animar, me ajudando

sempre que podia. E à minha querida amiga Maíra Albuquerque, doutoranda do LabTOXO, por seu incentivo e torcida, sempre com muito carinho.

Ao meu querido amigo Anselmo Araújo, Técnico do LabTOXO da Fiocruz, pela incansável ajuda no trabalho de campo feito na Rural, e por todas as colaborações no laboratório.

Às alunas do curso de Especialização em Biologia Parasitária Eloíza de Paula, Rafaelle Soares Agra e em especial à querida amiga Thamires Elizabete Alves da Silva, pelas coletas feitas e por sempre estar pronta a ajudar com a melhor das intenções e boa vontade sempre.

Ao amigo Wagner Luís da Silva Rangoni, Técnico de Laboratório do Setor de Coleta do IPEC, por sua boa vontade em ajudar nas coletas sempre que necessário.

À minha grande amiga e incentivadora Isabel Cristina Fábregas Bonna, Tecnologista da Fiocruz, que a todo momento me deu forças e estímulo pra continuar. Que sempre tão solícita me tirou dúvidas, e me auxiliou em alguns assuntos.

À Professora e Coordenadora Miliane M. de Soares de Souza, da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por sua incondicional ajuda, disponibilidade e por me auxiliar em todos os momentos que estive no trabalho de campo na Universidade.

Aos alunos da Universidade Federal Fluminense e da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pela participação e colaboração nesta pesquisa, e pela paciência em todas as etapas e procedimentos necessários.

Ao Professor Carlos Klein, do Departamento de Epidemiologia da Escola Nacional de Saúde Pública, por sua imensa paciência, ajuda e contribuição na análise estatística desta dissertação.

Aos meus amigos de turma do mestrado, pelos ótimos e algumas vezes desesperadores momentos em sala. Em especial, às amigas Luciana Casartelli,

Maíra Cavalcante e Thalita Gaggini pela grande amizade estabelecida, pelos conselhos e pela ajuda.

Ao Programa e aos professores do Mestrado de Pós Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do IPEC, pela ajuda, apoio e os ensinamentos passados a nós alunos.

À CAPES pela contribuição financeira da bolsa de auxílio para estudos.

À Universidade Federal Fluminense e à Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, por ter permitido a pesquisa em seus campus.

Ao Serviço de gestão de projetos (SEGEPRO), ao Serviço de Gestão de Secretarias (SEGESE), especialmente à Josiane Pereira Silva pela dedicação e ajuda com os pedidos de transportes para os trabalhos de campo e ao Serviço de Apoio Predial (SEPREL) do Instituto Oswaldo Cruz.

Ao Serviço de Transporte DIRAC – Fiocruz, pelos serviços prestados com tamanha seriedade e confiabilidade, em especial aos motoristas Jorge Pinto, Vicente e Ailton pela dedicação e boa vontade.

Ao serviço de imunodiagnóstico do IPEC pela ajuda na parte laboratorial com a realização do diagnóstico de fator reumatóide em seis alunos.

À minha mãezinha amada Vilma Trigueiro, por sempre pedir a Deus por mim, sempre estar me dando forças, muito carinho, amor incondicional e cuidando de minha alimentação.

À minha irmã amada Aline Trigueiro, por seus conselhos, sua torcida, sua ajuda, seu amor sempre tão importante, sua cumplicidade em todos os momentos, seu exemplo de vida e por seus puxões de orelha quando necessário fosse.

Ao meu irmão amado Renato Trigueiro e cunhada Jorane Vicente, por compreenderem a minha ausência em algumas festas e comemorações.

À minha tia Vanda Trigueiro, tão querida, por sua preocupação com minha saúde e pelas várias orações e torcidas.

Aos meus tios, primos, amigos e amigas por compreenderem que não pude estar tão presente em suas vidas como gostaria, mas que foi por uma causa justa.

Tocando em Frente

“Ando devagar porque já tive pressa e
Levo esse sorriso porque já chorei demais
Hoje me sinto mais forte, mais feliz quem sabe
Só levo a certeza de que muito pouco eu sei
Ou nada sei ...

...

Ando devagar porque já tive pressa
E levo esse sorriso porque já chorei demais
Cada um de nós compõe a sua história,
Cada ser em si carrega o dom de ser capaz
De ser feliz.”

Composição: Almir Sater e Renato Teixeira

Vicente, RT. **Soroepidemiologia da infecção toxoplásmica em alunos do curso de Medicina Veterinária de Universidades do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro 2010. 87f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas

RESUMO

Toxoplasma gondii, protozoário agente causador da toxoplasmose, está presente em todos os continentes do mundo, sendo a ocorrência da infecção bastante elevada no Brasil. Estão envolvidos variados mecanismos de transmissão como: a ingestão de oocistos, a ingestão de cistos em tecidos de animais infectados; contato direto com secreções de animais parasitados e passagem do protozoário por via transplacentária. É de extrema importância estudar a ocorrência da infecção por *T. gondii* em populações onde o risco ocupacional, poderia levar, teoricamente, a uma maior probabilidade de o indivíduo entrar em contato com um dos diversos mecanismos de transmissão, como é o caso de alunos do curso de Medicina Veterinária (Grupo de Estudo) que têm prática clínica ou outras práticas com animais e suas carcaças. Sendo assim, este trabalho teve como objetivo analisar a ocorrência da infecção por *T. gondii* em universitários do Grupo de Estudo, tendo como Grupo Controle alunos de outros cursos não relacionados, da mesma Universidade, em duas instituições de ensino do Rio de Janeiro, correlacionando os resultados obtidos com as variáveis epidemiológicas. Foram estudados 839 universitários: 492 do Grupo de Estudo e 347 do Grupo Controle, sendo estes de outros cursos sem contato com animais nas disciplinas curriculares. Sendo 435 da Universidade Federal Fluminense (UFF): 228 no Grupo de Estudo e 207 do Grupo Controle, e 404 da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ): 264 do Grupo de Estudo e 140 do Grupo Controle. Algumas das variáveis contidas no questionário epidemiológico foram: idade, sexo, contato com gatos, ingestão de carne crua/mal cozida, manipulação de animais na clínica e da terra, utilização de Equipamentos de Proteção Individual (EPI) e conhecimento da profilaxia. Obteve-se, por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta e ELISA, uma soroprevalência de 21,81%, sendo 24,14% na UFF e 19,31% na UFRRJ. Não houve diferença significativa entre as duas instituições, agruparam-se então os alunos. A soroprevalência (RIFI e ELISA IgG) foi de 16,06% no Grupo de Estudo e 29,97% no Grupo Controle. As únicas variáveis significativas foram “idade” variando de 12,00% a 53,52% e “conhecimento da profilaxia” (dos alunos reagentes 18,31% tinham conhecimento e 24,22% não tinham). A ausência de associação significativa entre as variáveis: sexo, contato com gatos, contato com solo do campus, manipular terra, consumo de carne crua ou mal passada, manipulação de animais na clínica e o uso de EPIs, com a soropositividade, mostrou que essas variáveis não influenciaram na distribuição dos soros reagentes. A menor prevalência da infecção no Grupo de Estudo sugere que o acesso às informações sobre a profilaxia pode contribuir para diminuir as chances de infecção. A idade mostrou associação com a infecção toxoplásmica em ambos os grupos, pois quanto maior a faixa etária aumentam-se as chances do contato com um dos diversos mecanismos de transmissão.

Palavras-chave: 1-*Toxoplasma gondii*, 2-toxoplasmose, 3-soro-epidemiologia, 4- universitários.

Vicente, RT. **Seroepidemiologia da infecção toxoplásmica em alunos do curso de Medicina Veterinária de Universidades do Rio de Janeiro.** Rio de Janeiro 2010. 87f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

ABSTRACT

Toxoplasma gondii, the protozoan that causes toxoplasmosis, has been present in all continents of the world, and the occurrence of the infection is very high in Brazil, and may vary from region to region. There are various mechanisms of transmission involved such as ingestion of oocysts, ingestion of cysts from tissues and organs of infected animals, direct contact with secretions of animals parasited and when parasite pass through placenta. It is extremely important to study the occurrence of *Toxoplasma gondii* infection in populations in which the occupational hazard could theoretically lead to a greater likelihood of the individual to contact one of several mechanisms of transmission, as is in the case of students of Veterinary Medicine course (Study Group) who have clinical practice with animals or other practices with animals and their carcasses. Therefore, the aim of this study was to analyze the occurrence of *Toxoplasma gondii* infection in universities of the Study Group, being the Control Group students from other courses not related in the same University, in two education institutions of Rio de Janeiro, correlating the results obtained with the epidemiological variables. Eight hundred and thirty nine students were studied: 492 in Study Group and 347 in the Control Group, whose students were from other courses without contact with animals as a subject. From these students, 435 were Universidade Federal Fluminense (UFF): 228 in Study Group and 207 of Control Group, and 404 were Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ): 264 from Study Group and 140 from control group. Some of the variables of the epidemiological questionnaire were: age, gender, contact with cats, eating uncooked/undercooked meat, handling of animals at the clinic and ground handling, use of Personal Protective Equipment (PPE) knowledge of prevention among others. Was obtained, through the Immunofluorescence Assay and ELISA, a prevalence of 21.81%, being 24.14% in UFF and 19.31% in UFRRJ. There was no significant difference between both institutions, then the students were joined. Seroprevalence (IFA and ELISA IgG) was 16.06% in the Study Group and 29.97% in the Control Group. The only significant variables were "age" ranging from 12.00% to 53.52% and "knowledge of prophylaxis" (18.31% of the reagents students were aware and 24.22% were not). The lack of significant association between the variables: gender, contact with cats, contact with soil on campus, ground handling, ingestion of raw or undercooked meat, handling of animals at the clinic and the use of PPE, with seropositivity, showed that these variables did not influence in distribution of seropositivity. The lower prevalence of infection in Study Group suggests that access to information on prevention can help to reduce the chances of infection. The age was correlated with toxoplasmic infection in both groups, because the higher age increases the chances of contact with one of several mechanisms of transmission.

Key Words: 1- *Toxoplasma gondii*, 2- toxoplasmosis, 3- seroepidemiology 4- university students

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Taquizoítas de <i>T. gondii</i> .	5
Figura 2	Cisto íntegro de <i>T. gondii</i> localizado em encéfalo de camundongo experimentalmente infectado.	6
Figura 3	Oocisto esporulado de <i>T. gondii</i> .	7
Figura 4	Reação de Imunofluorescência Indireta positiva ao microscópio de imunofluorescência, sob objetiva de 40x. Taquizoítas com fluorescência periférica total.	17
Figura 5	Reação de Imunofluorescência Indireta negativa ao microscópio de imunofluorescência, sob objetiva de 40x. Taquizoítas sem fluorescência nas bordas.	18
Figura 6	Mapa do Rio de Janeiro mostrando a localização dos Municípios de Niterói e Seropédica.	23
Figura 7	Preenchimento do questionário epidemiológico realizado na UFRRJ.	26

Figura 8	Coleta de sangue realizada nos alunos da UFRRJ.	27
Gráfico 1	Correlação da distribuição dos 839 estudantes das universidades UFF e UFRRJ, correlacionando a faixa etária por “grupo da veterinária” e “grupo controle”, com os resultados da RIFI/ELISA para anticorpos classe IgG anti- <i>T.gondii</i> , no período de abril a outubro de 2009.	34

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Positividade na RIFI/ELISA para anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* da classe IgG nos 839 alunos do grupo de Veterinária e do Grupo Controle correlacionando com cada uma das universidades, UFF e UFRRJ. 31
- Tabela 2 Distribuição dos resultados da RIFI/ELISA para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos 839 alunos estudados das universidades UFF e UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, segundo os grupos. 32
- Tabela 3 Resultados da RIFI/ELISA para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos 839 alunos estudados de ambas as universidades UFF e UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, com relação ao sexo. 33
- Tabela 4 Distribuição dos 839 estudantes das universidades UFF e UFRRJ correlacionando a faixa etária com os resultado da RIFI/ELISA para anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii*, no período de abril a outubro de 2009. 33

Tabela 5	Resultados da RIFI/ELISA para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> da Classe IgG nos 839 universitários da UFF e UFRRJ com relação ao hábito de mexer ou não com terra, no período de abril a outubro de 2009.	35
Tabela 6	Resultados da RIFI/ELISA para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> da classe IgG nos 830 universitários da UFF e UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, com relação a variável “contato com gatos”.	36
Tabela 7	Distribuição dos resultados da RIFI/ELISA para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> da Classe IgG nos 828 universitários da UFF e UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, com relação às variáveis “hábito de comer carne crua ou mal passada” e “não possuir esse hábito”.	36
Tabela 8	Resultados da RIFI/ELISA para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> da Classe IgG nos 828 universitários da UFF e da UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, correlacionado-os com a variável “Contato com o solo do campus”.	37

- Tabela 9 Resultados da RIFI/ELISA para anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* da Classe IgG nos 838 universitários da UFF e da UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, correlacionado-o com a variável “Conhecimento de profilaxia”. 37
- Tabela 10 Distribuição dos resultados da RIFI/ELISA para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* nos 836 universitários da UFF e da UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, com relação às variáveis “contato com solo do campus”/ “mexer com terra”. 38
- Tabela 11 Resultado da RIFI/ELISA para anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* da Classe IgG nos 492 alunos de veterinária estudados nas universidades UFF e UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, correlacionado-o com a variável “Contato com a parte Clínica”. 38
- Tabela 12 Distribuição dos resultados da RIFI/ELISA -IgG anti-*Toxoplasma gondii* dos 492 universitários do Grupo de Estudo da UFF e da UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009, correlacionando-os com a variável “Utilização de Equipamentos de Proteção Individual”. 39

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1	Histórico	3
2.2	Sistemática	4
2.3	Morfologia e biologia	5
2.4	Ciclo biológico	7
2.5	Epidemiologia e mecanismo de infecção	9
2.6	Patogenia da toxoplasmose humana	12
2.7	Toxoplasmose em animais	14
2.8	Diagnóstico laboratorial	15
2.9	Profilaxia	19
3	OBJETIVOS	22
4	METODOLOGIA	23
4.1	Delineamento do estudo	23
4.2	Casuística e material examinado	24
4.2.1	Técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI)	27
4.2.2	Bioelisa Toxo IgG - Teste de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) para detecção qualitativa e quantitativa de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soro ou plasma humano.	29
4.2.3	Bioelisa TOXO IgM (Immunocapture) – Teste de ELISA para a detecção de anticorpos IgM anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soro ou plasma humano.	30
5	RESULTADOS	31

5.1	Estudo seccional da população:	31
5.1.1	Inquérito sorológico:	31
5.1.2	Inquérito epidemiológico:	32
6	DISCUSSÃO	40
6.1	Análise do perfil soropidemiológico da toxoplasmose em estudantes de veterinária e grupo controle (alunos de cursos diversos).	40
6.1.1	Variáveis Analisadas	42
7	CONCLUSÃO	49
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
9	ANEXOS	62
9.1	Anexo 1: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	63
9.2	Anexo 2: Questionário epidemiológico para Toxoplasmose	64
9.3	Anexo 3: Certificado de aprovação do CEP	66
9.4	Anexo 4: Termo de Compromisso e Responsabilidade	67
9.5	Anexo 5: Termo de Compromisso e Responsabilidade	68
9.6	Anexo 6: Folheto explicativo	69

1- INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii, coccídio intracelular obrigatório, é o agente causador da toxoplasmose, uma protozoose de ampla distribuição geográfica. No Brasil, a ocorrência da infecção é bastante elevada, sendo encontrada em diversas regiões (Amendoeira *et al.* 1999, Sobral *et al.* 2005). Isto ocorre como consequência dos diversos fatores que estão relacionados com hábitos alimentares, idade, padrões culturais da população e a procedência (urbana ou rural). (Amendoeira 1995, Contreras *et al.* 1996, Spalding *et al.* 2005).

O parasito é capaz de infectar uma grande diversidade de espécies de aves e mamíferos, silvestres ou domésticos, inclusive seres humanos. Estão envolvidos variados mecanismos de transmissão como: a ingestão de oocistos esporulados, eliminados junto com as fezes de felídeos parasitados (hospedeiros definitivos), que se espalham pelo meio ambiente contaminando água, solo e alimentos; a ingestão de cistos em tecidos de animais infectados; contato direto com carcaças e vísceras de animais com a protozoose, como demonstram as prevalências encontradas em trabalhadores de frigoríficos (Daguer *et al.* 2004) e passagem do parasito por via transplacentária. Além destes mecanismos de transmissão mais frequentes, a infecção pode ocorrer também pela ingestão de alimentos contaminados por oocistos esporulados carreados por hospedeiros transportadores como moscas e baratas, e por transfusão sanguínea (Amato-Neto *et al.* 1963) em menor frequência (Amendoeira 2010 *in press*).

A infecção do ser humano através dos animais produtores de carne, é de extrema importância, do ponto de vista médico e de saúde pública, porém devem ser esclarecidas as formas e vias de transmissão e os potenciais hospedeiros da infecção. Formas viáveis de *T. gondii* têm sido isoladas de grande variedade de carnes, e estudos sorológicos têm evidenciado ampla distribuição da infecção entre os animais de produção (Arias *et al.* 1994, Millar *et al.* 2007).

Além da transmissão da toxoplasmose pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos, há a possibilidade de infecção quando se manuseia, de forma contínua, produtos de origem animal, como, por exemplo, ao se preparar carne para refeições e magarefes ao executar suas tarefas em abatedouros (Amendoeira 1995, Millar *et al.* 2007, 2008ab).

A ingestão de leite, ovos de galinhas, patos e outras espécies contaminadas com taquizoítas também podem ser considerados uma forma potencial de transmissão do *T. gondii*, embora os parasitos tenham sido, raramente, isolados nestes produtos (Tenter *et al.* 2000, Hiramoto *et al.* 2001, Millar 2008).

A infecção, geralmente assintomática, pode apresentar-se de forma subclínica ou oligossintomática em indivíduos imunocompetentes. Entretanto, em alguns casos, leva a um quadro clínico grave, principalmente em indivíduos imunossuprimidos, onde a toxoplasmose aparece entre as principais infecções oportunistas envolvidas em Síndromes de Imunodeficiência, com altos índices de morbidade e mortalidade (Luft; Remington 1992).

A forma congênita humana, que é uma das mais graves, ocorre quando a mulher adquire a infecção pela primeira vez durante a gravidez, podendo acometer o feto. De acordo com o período gestacional pode ocasionar quadro clínico variável indo desde o aborto espontâneo (caso a primo-infecção ocorra no primeiro trimestre de gestação), passando por severas sequelas fetais (no segundo trimestre), até casos em que o neonato não apresenta sintomatologia compatível com a infecção ao nascer, podendo evoluir para lesões oculares tardias (Amendoeira; Camillo-Coura 2010).

Na toxoplasmose, a sintomatologia não é patognomônica, ou seja, os sinais e sintomas apresentados pelo indivíduo podem ser confundidos com uma série de outras doenças, sendo necessário o diagnóstico específico (Van Knapen 1984).

O diagnóstico de rotina utilizado para essa protozoose é baseado na resposta imune dos pacientes com suspeita de infecção, por meio de testes imunológicos para detecção de anticorpos para *T.gondii* no soro. A sorologia é utilizada não só no diagnóstico, como também no estudo epidemiológico da parasitose.

Na literatura é relatado que há um aumento na prevalência da infecção toxoplásmica quando são descritos o contato frequente do indivíduo com animais e suas carcaças (Daguer *et al.*, 2004, Millar *et al.*, 2007). Porém foram encontrados

poucos estudos, principalmente no Brasil e no Rio de Janeiro, que relacionassem alunos de Medicina Veterinária com a infecção por *T.gondii* e o risco desses estudantes entrarem em contato com o parasita devido suas atividades com animais e carcaças durante a graduação. Teoricamente, esses universitários poderiam ter maior probabilidade de contrair a protozoose.

Tendo por base o acima mencionado, podemos considerar que é de extrema importância o estudo da ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em populações onde o risco ocupacional, como é o caso de alunos de Medicina Veterinária. Estes estudantes, em seu curso, têm prática clínica/contato com carnes e produtos cárneos o que poderia levar, teoricamente, a uma maior probabilidade de o indivíduo entrar em contato com um dos diversos mecanismos de transmissão.

2- REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

Toxoplasma gondii, parasito intracelular obrigatório e causador da toxoplasmose, foi descoberto por Nicolle e Manceaux no ano de 1908. Eles acreditaram se tratar de uma forma de *Leishmania*, e por isso o denominaram de *Leishmania gondii*. Ao mesmo tempo aqui no Brasil, Splendore havia descrito o mesmo parasito em coelhos de laboratório. Somente em 1909 foi feita a renomeação para *Toxoplasma gondii*, pois o protozoário não possuía cinetoplasto, organela que é característica dos tripanossomatídeos (Nicolle; Manceaux 1909, 2009, Splendore 1908, 2009ab). A partir dessa data, a lista de espécies de *Toxoplasma* foi aumentando à medida que eram encontrados animais naturalmente

infectados. As espécies eram descritas de acordo com os diferentes hospedeiros, uma vez que morfológica e biologicamente eram semelhantes (Amendoeira *et al.* 1999).

Em 1939, Sabin concluiu que todas as espécies, até então encontradas, não eram nem hospedeiros específicos, nem imunologicamente diferentes e que deveriam pertencer a uma só espécie. Sendo assim, segundo a Lei da Prioridade, deveriam ser chamados de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Amendoeira *et al.* 1999, Nicolle; Manceaux 1909, 2009).

2.2 SISTEMÁTICA

A classificação vigente proposta pelo Comitê de Sistemática e Evolução da Sociedade de Protozoologia, citada por Amendoeira e colaboradores (1999), classifica o *Toxoplasma gondii* como pertencente ao:

- ❖ Reino Protista - Wittaker, 1977
- ❖ Filo Apicomplexa - Levine, 1970
- ❖ Classe Sporozoea - Leuckart, 1879
- ❖ Sub Classe Coccidia - Leuckart, 1879
- ❖ Ordem Eucoccidiida - Léger & Duboscq, 1910
- ❖ Sub Ordem Eimeriina – Léger, 1911
- ❖ Família Sarcocystidae - Poche, 1913
- ❖ Sub Família Toxoplasmatinae – Biocca, 1959
- ❖ Gênero *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909

Ainda segundo estes autores, na década de 90, Cavalier-Smith fez algumas alterações no Filo Apicomplexa Levine, 1970. Neste estudo, o autor criou o novo infra Phylum Sporozoa Leuckart, 1879: Super-classe Coccidida Leuckart, 1879 e Classe Eucoccidiea Cavalier-Smith, 1993; que classificou o Gênero *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909.

2.3 MORFOLOGIA E BIOLOGIA

Toxoplasma gondii pode apresentar três estágios em seu ciclo evolutivo capazes de infectar os seus hospedeiros por estas formas, que são: taquizoítas, bradizoítas em cistos teciduais e esporozoítas em oocisto.

Os taquizoítas são formas que possuem a multiplicação rápida, sendo característicos da infecção aguda, ocorrendo a reprodução por sucessivas endodiogenias dentro de vacúolos intracitoplasmáticos.

Eles podem ser encontrados em diversos líquidos corpóreos no interior de células nucleadas apresentando uma forma alongada, ligeiramente arqueada, medindo de 2 a 4 μm de largura por 4 a 8 μm de comprimento, com sua extremidade anterior mais afilada. Esta forma pode percorrer muitos tecidos por meio da corrente sanguínea parasitando principalmente o globo ocular, sistema nervoso central, musculaturas esqueléticas, cardíacas e a placenta.

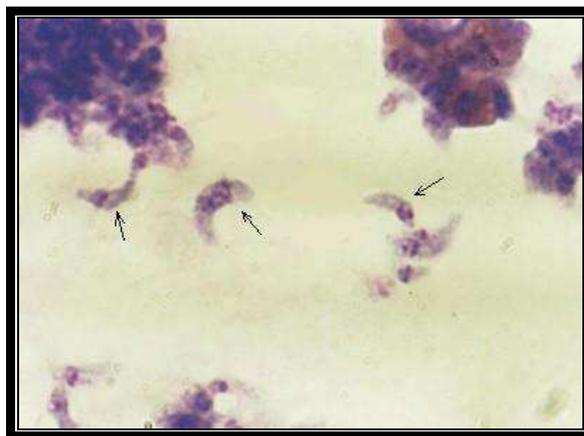


Figura 1: Taquizoítas de *T. gondii*.

Fonte: <http://www.ufrgs.br/para-site/siteantigo/Imagensatlas/Protozoa/Imagens/taquizoito.jpg>

Os bradizoítas são as formas encontradas no interior de cistos teciduais, caracterizando a fase crônica da infecção. Eles reproduzem-se lentamente no interior do cisto, por endodiogenia, podendo ser chamados de cistozoítas (Dubey 1998).

Esses cistos são encontrados principalmente em tecido nervoso, retina, musculaturas cardíacas e esqueléticas (Amendoeira *et al.* 1999). Geralmente permanecem durante toda a vida do hospedeiro. Apresenta tamanho variável de até 300 μm dependendo do número de bradizoítas no seu interior.

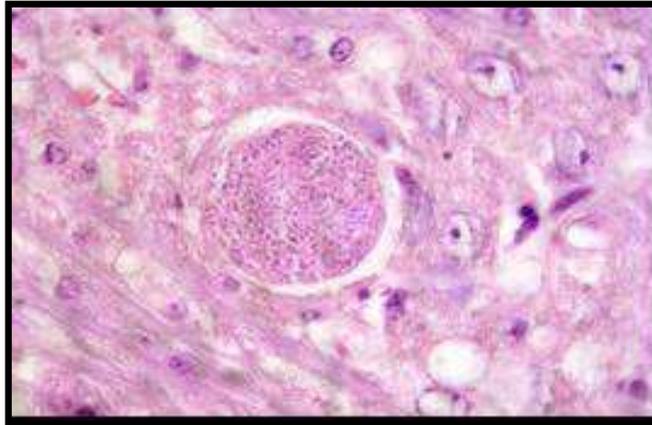


Figura 2: Cisto íntegro de *T. gondii* localizado em encéfalo de camundongo experimentalmente infectado. (sob ocular de 10X e objetiva de 100X)
Fonte: Laboratório de Toxoplasmose-IOC/FIOCRUZ.

Os oocistos são produtos da reprodução sexuada que ocorre apenas no intestino delgado do hospedeiro definitivo do *T. gondii*. Estes são liberados com as fezes do hospedeiro para o meio ambiente ainda na forma não esporulada, ou seja, com formato esférico ou sub-esférico.

Possuem de 10 a 12 μm de diâmetro com uma parede dupla bastante resistente às condições ambientais (Tenter *et al.* 2000), esporulando apenas no meio ambiente. Uma vez esporulado o oocisto passa a ter um formato mais elíptico, apresentando dois esporocistos, e em cada um destes, quatro esporozoítas (Dubey 1998).



Figura 3: Oocisto esporulado de *T. gondii* com formato elíptico, parede dupla, apresentando dois esporocistos em seu interior.
Fonte: <http://www.icb.ufmg.br/biq/prodap/2000/toxo/oocisto.htm>

O parasito é classificado como um agente de risco biológico moderado, no âmbito individual, sendo da classe de risco 2, e tendo limitado risco para a comunidade. O nível de biossegurança de um experimento é determinado pelo organismo que representa maior risco no desenvolvimento da pesquisa. Nos trabalhos com o *Toxoplasma gondii* o Nível de Biossegurança exigido é o 2 (NB-2) que: “Requer procedimentos para o trabalho com microorganismos (classe de risco 2) capazes de causar doença em seres humanos ou em animais de laboratório sem apresentar risco grave aos trabalhadores, comunidade ou ambiente. Agentes não transmissíveis pelo ar. Há tratamento efetivo e medidas preventivas disponíveis. O risco de contaminação é pequeno.” (CTBio – Fiocruz, 2005).

2.4 CICLO BIOLÓGICO

Toxoplasma gondii, protozoário heteroxênico facultativo e intracelular obrigatório, pode ser encontrado parasitando diferentes espécies de vertebrados, provavelmente todos os animais de sangue quente, incluindo humanos (Tenter *et al.* 2000, Amendoeira 2010 *in press*). Nestes, ocorre o processo de reprodução assexuada, caracterizando-os como hospedeiros intermediários. A reprodução

sexuada ocorre apenas em membros da família *Felidae*, sendo o gato doméstico o de maior importância. Estes são considerados hospedeiros definitivos, nos quais se observa no epitélio intestinal o processo de esquizogonia, gametogonia e esporogonia, resultando a formação de oocistos imaturos que são eliminados com as fezes dos felídeos (Dubey; Frenkel 1972, Moura *et al.* 2009). Por ser capaz de invadir uma ampla variedade de células nucleadas o parasito apresenta baixa especificidade (Yuan *et al.* 2007).

Os felinos são considerados hospedeiros completos por terem a capacidade de desenvolver tanto a fase sexuada (ciclo enteroepitelial) como também a assexuada (ciclo extra-intestinal), fazendo assim tanto o papel de hospedeiro definitivo como também de intermediário.

Fase sexuada - Ciclo Enteroepitelial

No gato e em outros felídeos, ocorre penetração do parasito nas células do epitélio intestinal, após a ingestão dos cistos ou oocistos, e inicia-se a multiplicação de forma assexuada por endodiogenia, seguidas de repetidas endopoliogonias (Tenter *et al.* 2000, Moura *et al.* 2009).

Neste ciclo, em fase anterior à formação de oocistos, ocorre formação de gametócitos que se diferenciam em microgametas flagelados e macrogametas. A fertilização ocorre no interior da célula que contém o macrogameta, formando o zigoto que sintetiza uma parede, tornando-se um oocisto não esporulado, sendo então liberado na luz intestinal ainda imaturo (Dubey; Frenkel 1972).

O amadurecimento do oocisto, denominado esporogonia, ocorre no meio ambiente, de um a cinco dias após a liberação, em condições climáticas ideais e vai dar origem ao oocisto contendo dois esporocistos e cada um possuirá quatro esporozoítas no interior.

Fase assexuada – Ciclo Extra-intestinal

Essa fase ocorre tanto nos hospedeiros definitivos como nos intermediários, estando associada à ingestão de formas infectantes (taquizoítas, bradizoítas e

esporozoítas) por esses hospedeiros, iniciando uma reprodução rápida, por endodiogenia, dentro de células nucleadas, no interior de um vacúolo parasitóforo, sendo então chamados de taquizoítas e são responsáveis pela fase aguda da infecção. Posteriormente a essa intensa multiplicação, a célula se rompe e deixa em liberdade esses taquizoítas, que são levados pela circulação sanguínea ou linfática, podendo invadir uma outra célula e, ainda, ser encontrados nos fluidos biológicos. O ritmo de multiplicação pode ser alterado por fatores relacionados principalmente à resposta imunológica do hospedeiro. Após uma série de divisões, à medida que o sistema imune do hospedeiro responde à infecção, a endodiogenia passa a ocorrer de forma lenta dando origem ao cisto tecidual contendo os bradizoítas (Dubey 1988, Montoya; Liesenfeld 2004). A presença destes cistos que irá caracterizar a fase crônica da infecção (Frenkel 1974). Eles são encontrados com maior frequência no sistema nervoso central, olhos e em músculos cardíacos e esqueléticos. Numa fase inicial, os cistos formados no meio intracelular, à medida que vão crescendo, rompem a célula hospedeira, porém mantêm a sua própria parede (Dubey 1998; Tenter *et al.* 2000). Os cistos teciduais podem permanecer por anos após a infecção aguda, pois a imunidade não erradica a infecção (Tenter *et al.* 2000, Hill *et al.* 2005, Dubey 2008).

2.5 EPIDEMIOLOGIA E MECANISMO DE INFECÇÃO

A toxoplasmose é uma das zoonoses parasitárias mais comuns no mundo, sendo encontrada em todos os continentes e nos mais variados climas. A variabilidade de frequência da infecção está ligada a diversos fatores, tais como a área geográfica, padrões culturais da população, grupo étnico, seus hábitos alimentares, a idade e a procedência rural ou urbana (Amendoeira 1980, 1995, Melamed 1991, Sobral 2002, Spalding *et al.* 2005).

Em geral, não há diferenças significativas a respeito da prevalência da infecção com relação ao sexo. Em algumas situações têm sido descritas diferenças que se atribuem a hábitos e costumes locais (Sobral *et al.* 2005).

O fator idade também tem sido relacionado ao aumento da frequência da infecção por *T. gondii* (Jamra 1964, Remington 1974), pois nos indivíduos de maior faixa etária as chances de se entrar em contato com um dos diversos mecanismos de transmissão são maiores, se considerarmos fatores cumulativos (Apt *et al.* 1973, Osório *et al.* 1977, Amendoeira *et al.* 1999, Spalding *et al.* 2005).

Poucos inquéritos soropidemiológicos sobre a infecção por *Toxoplasma gondii* foram feitos em universitários do curso de veterinária, mas alguns dados da literatura mostram uma prevalência de: 30,34% em estudantes de Medicina Veterinária de Campo Grande, MS (Araújo *et al.* 2000). Figueiredo e colaboradores (2010 *in press*) encontraram prevalência de 39,00% em universitários dos cursos de Enfermagem e Ciências Biológicas de Mato Grosso do Sul. Mc Culloch e colaboradores (1963) acompanharam a prevalência de *T. gondii* em grupos de populações selecionadas na Universidade do Estado de Iowa e encontraram uma prevalência de 19,00% para pessoas que trabalhavam com animais selvagens e 20,00% em veterinários no ano de 1962. E Zimmermann (1976) após três anos encontrou uma prevalência de 24,00% em Veterinários na mesma Universidade (Zimmermann 1976).

Zimmermann (1976) encontrou na Universidade de Iowa uma prevalência de 17,80% em alunos de medicina e de veterinária, sendo 20,40% nos estudantes de medicina veterinária e 14,90% para os de medicina humana. A prevalência dos estudantes de veterinária em Illinois foi de 23,00%; de 20,10% em Minnesota e 17,00% no Estado de Iowa. Aqueles estudantes que tinham passado mais que 70,00% de suas vidas na fazenda tiveram um aumento significativo na proporção de testes positivos quando comparados àqueles que tinham passado mais de 70,00% de sua vida na cidade.

Uma soroprevalência de 18,00% foi obtida em veterinários e funcionários do Oeste de Nova York que tinham quase diariamente contato com gatos, enquanto nenhum indivíduo de um grupo similar, mas sem contato com felinos, eram soros reagentes (Zimmermann 1976).

Riemann e colaboradores (1974), estudando alunos e trabalhadores de faculdades de veterinária na Califórnia e no Brasil, observaram que havia uma

correlação entre a prevalência da infecção toxoplásmica humana e o contato com animais de uma maneira geral, mas não especificamente com gatos ou mesmo com uma determinada espécie animal ou hábitos alimentares. Ainda neste trabalho, os autores relatam uma prevalência de 20,00% nos estudantes de 2º ano na Califórnia e 41,00% nos estudantes de veterinária brasileiros. Portanto, o estilo de vida de uma determinada população também teria significância epidemiológica nesta infecção. No Brasil, acredita-se que a prevalência da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em humanos ocorra em torno dos 40,00 a 80,00% (Cantos *et al.* 2000, Sobral *et al.* 2005, Amendoeira 2010 *in press*). Devido à versatilidade desse parasito e sua complexa epidemiologia é difícil montar estratégias de controle ou prevenção da infecção, que sejam realmente eficazes mundialmente e para todos os grupos étnicos.

A transmissão para o ser humano pode ocorrer, principalmente, por três principais mecanismos, que são: ingestão de cistos teciduais em carnes cruas ou mal passadas; ingestão de água e alimentos crus contaminados com oocistos e pela transmissão vertical com taquizoítas pela via transplacentária.

Existem outros mecanismos de transmissão que mesmo tendo uma importância epidemiológica menor, não podem ser negligenciados: transmissão por transfusão de sangue e de componentes sanguíneos que contenham taquizoítas; por transplantes de órgãos que possuam cistos; ingestão de leite cru, contaminado com taquizoítas; ovos de galinha, patos e outras espécies contaminados com esta mesma forma do parasito. Estas últimas podem ser consideradas uma forma potencial de transmissão do *T. gondii*, embora os parasitos sejam raramente isolados nestes produtos (Tenter *et al.* 2000, Hiramoto *et al.* 2001, Millar *et al.* 2008b, Amendoeira 2010 *in press*), e ainda as decorrentes de acidentes de laboratório, como por exemplo, manuseio de animais infectados ou em necropsias, vidrarias e seringas contaminadas, sem a devida utilização dos equipamentos de proteção.

2.6 PATOGENIA DA TOXOPLASMOSE HUMANA

A toxoplasmose pode ser classificada em duas formas, de acordo com o mecanismo de transmissão e clínica, sendo estas: a forma congênita, quando a mãe passa para o conceito ao adquirir pela primeira vez a infecção toxoplásmica, e a forma adquirida, esta última sendo característica à infecção contraída pós-nascimento (Amato-Neto *et al.* 1982, Wong; Remington 1994) e de maior importância epidemiológica em pacientes imunocomprometidos (Ambroise-Thomas 2000).

Na forma congênita o parasito atinge o conceito via transplacentária, podendo vir a causar danos que, dependendo da virulência da cepa do parasito, da capacidade dos anticorpos maternos de protegerem o feto e do período gestacional em que a mãe se encontra, podem apresentar diferentes graus de patogenicidade.

À medida que aumenta o período gestacional, aumenta o risco de transmissão materno-fetal, porém decresce a severidade da infecção (Watson 1972, Beverley 1973, Bact; Gentry 1992, Wong; Remington 1994, Spalding *et al.* 2003).

Quando a infecção ocorre nos três primeiros meses da gestação, pode levar, na maioria das vezes, a um aborto espontâneo pelo fato do parasito ter se disseminado por todos os órgãos do feto (Spalding 2000, Tenter *et al.* 2000).

Já no segundo trimestre da gestação, uma pequena parte dos bebês apresentam a Tétrade de Sabin: hidrocefalia (com macro ou microcefalia), retinocoroidite, calcificações intracraniais e retardo mental, enquanto nos outros períodos gestacionais a infecção pode acarretar uma variedade de sintomas, que vão do comprometimento do sistema nervoso até sinais inespecíficos de uma infecção aguda, tais como, convulsões, hepatoesplenomegalia, febre e anemia

(Dubey; Beattie 1988, Roberts *et al.* 1994, Amendoeira; Camillo-Coura 2010 *in press*).

Quando a infecção ocorre nos três últimos meses de gestação, os efeitos no feto serão menos graves. Ao nascerem, os bebês não apresentam sinais ou sintomas, podendo, no entanto, posteriormente, apresentar lesões oculares que podem vir a ocasionar alterações visuais ou mesmo a cegueira (Spalding 2000, Aleixo *et al.* 2009).

A toxoplasmose adquirida em indivíduos imunocompetentes costuma ser assintomática podendo em alguns casos levar a quadros autolimitados e inespecíficos. Quando sintomática aparecem quadros de sintomatologia variável durando de semanas a meses, caracterizada por linfadenopatia, sensação de fadiga, febre, artralgia, mialgia, cefaléia e anorexia. Em alguns indivíduos podem ocorrer lesões na forma de retinocoroidite ou exantema generalizado (Neves *et al.* 2009).

Entretanto, em indivíduos com imunodeficiência (transplantados, portadores de neoplasias, infectados pelo vírus HIV, entre outros), a doença costuma evoluir para quadros bastante graves. Normalmente ocorrem casos generalizados, principalmente encefalite, podendo ocasionar a morte do paciente. Isso pode acontecer tanto decorrente de uma infecção aguda recente como também da reativação de uma infecção crônica (Amendoeira *et al.* 1999).

Têm sido reportados diversos casos de retinocoroidite (toxoplasmose ocular) em indivíduos com a forma adquirida, como resultado de uma infecção aguda ou de reativação em casos de infecção adquirida. As lesões oculares ocasionadas por *T. gondii* podem estar relacionadas com alguns casos de cegueira. Estas lesões podem ocorrer na retina, na coróide e na úvea, com evolução arrastada e períodos de reagudização, podendo ocorrer necroses com sequelas irreversíveis (Martins *et al.* 1990, Aleixo *et al.* 2009).

Tanto a toxoplasmose congênita quanto a adquirida, podem ocasionar lesões oculares, causando principalmente a retinocoroidite, onde lesões focais na retina, na coróide e na úvea, além de intensa reação inflamatória, são características, podendo causar dor, fotofobia, lacrimejamento e perda da visão (Dubey; Jones 2008, Aleixo *et al.* 2009).

No Brasil, o *Toxoplasma gondii* é o principal causador de lesões focais cerebrais e é o terceiro patógeno mais comumente relacionado com complicações associadas ao vírus da imunodeficiência adquirida (Colombo *et al.* 2005).

2.7 TOXOPLASMOSE EM ANIMAIS

Levando em consideração as várias formas e vias de transmissão que envolve direta ou indiretamente os animais e o contato com os mesmos (Millar *et al.* 2008b), os felinos, principalmente o gato doméstico, são os de maior importância epidemiológica por estes serem capazes de desenvolver tanto a fase sexuada como a fase assexuada, descritas anteriormente (Dubey *et al.* 2004).

Nos gatos, a toxoplasmose clínica acomete de forma mais grave os filhotes (Dubey; Jones 2008), sendo estes de maior importância na transmissão, pois é nesta fase de vida que podem estar eliminando oocistos nas fezes. Esta é a única fonte de infecção para os animais herbívoros (Langoni *et al.* 2001) e uma dentre as variadas fontes de risco de infecção para o ser humano e outros animais.

Geralmente a infecção nesses felinos é assintomática e a transmissão vertical só ocorre raramente, embora infecções latentes sejam comuns em gatos domésticos e felinos selvagens por todo o mundo (Dubey 1986).

Dependendo do tipo de alimentação e se o gato é mantido dentro ou fora do domicílio, ele vai apresentar um maior ou menor risco de contrair a infecção toxoplásmica, contribuindo no aumento da prevalência da infecção nesses animais. Eles vão se infectar com o *T. gondii* tanto pela ingestão de oocistos infectantes que estejam contaminando o meio ambiente ou a água, quanto pela ingestão de cistos contendo bradizoítas, no momento da predação, presentes nos tecidos dos hospedeiros intermediários (Tenter *et al.* 2000, Daguer *et al.* 2004).

Com relação aos animais de abate, estes poderiam ter importância epidemiológica (Bonna *et al.* 2006) quando manipulados, principalmente por profissionais que desempenham funções diretamente relacionadas com o manuseio dos animais e suas carcaças (Arias *et al.* 1994; Daguer *et al.* 2004, Millar *et al.* 2008). A alta prevalência encontrada em trabalhadores de frigoríficos pode sugerir que o manuseio de carcaças e vísceras também representa um risco de infecção para os manipuladores destas (Daguer *et al.* 2004). Adicionalmente, o consumo de produtos

cárneos desses animais apresenta uma grande importância na transmissão por ser hábito da população brasileira, em algumas regiões, ingerir a carne crua ou mal cozida, seja em churrascos ou em pratos nobres como o *carpaccio*. Essa prática é uma fonte de risco relevante, pois o cisto contendo bradizoítas permanece na carne desses animais por longo período de suas vidas, em estado de latência (Daguer *et al.* 2004).

Não podemos esquecer também daqueles animais que são criados com a finalidade de produção de leite (vacas, cabras, entre outros), pois, apesar desse alimento ser uma via de infecção pouco comum, não se pode descartar essa possibilidade, pois em alguns lugares ainda se mantém o hábito de tomar o leite cru, sem passar por nenhum dos processos necessários para se matar possíveis taquizoítas presentes, que seriam a pasteurização ou a fervura (Bonametti *et al.* 1997, Amendoeira 2010 *in press*). Deste modo, beber leite pode ser um potencial fator de risco para a transmissão humana (Tenter 2009).

As aves, por serem animais que vivem ciscando o solo, possuem uma alta prevalência com relação a essa parasitose (Millar *et al.* 2008b), e ao consumir em churrascos corações ou mesmo outras partes do frango, como coxas, mal passados, o indivíduo corre o risco de entrar em contato com uma das fontes de infecção da toxoplasmose. Outro risco de menor importância e prevalência é o consumo de ovos crus ou mal cozidos, já que este não é um hábito comum de nossa cultura.

2.8 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico clínico da toxoplasmose adquirida é difícil, por apresentar-se, na maioria das vezes, subclínica ou com sinais e sintomas que podem ser confundidos com outras etiologias. No entanto, exames clínicos, juntamente com a anamnese do paciente e com os resultados de testes sorológicos, poderão ajudar no diagnóstico da infecção toxoplásmica. Logo, para que se tenha confiabilidade no

diagnóstico, é imprescindível o uso de técnicas laboratoriais padronizadas para a sua confirmação (Amendoeira *et al.* 1999, Uchôa *et al.* 1999).

Comumente, o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é baseado em testes sorológicos com a detecção de imunoglobulinas das classes IgG e IgM (Camargo *et al.* 1995, Amendoeira 1997, Spalding *et al.* 2003) e menos frequentemente, Imunoglobulina A (IgA) (D'Agostino 1994).

Atualmente a baixa avidéz de anticorpos IgG tem sido referida como bom marcador para infecções primárias recentes causadas por diferentes agentes etiológicos inclusive o *Toxoplasma* (Camargo *et al.* 1991, Amendoeira; Camillo-Coura, 2010). Os anticorpos IgG sofrem um progressivo amadurecimento, levando a avidéz, que é uma medida global da força das interações entre o antígeno (purificado) e os diversos anticorpos que o reconhecem, para altos níveis na fase crônica da toxoplasmose (Camargo *et al.* 1995). Sendo assim, a baixa avidéz de IgG indica infecção aguda da toxoplasmose. Essa informação é importante para gestantes, pois sabendo-se se a infecção é ou não primária recente, será avaliada a real necessidade de uso de medicamentos e de serem feitos alguns exames que são invasivos.

As imunoglobulinas A e M específicas são as primeiras a serem detectadas em infecções humanas; já as imunoglobulinas G aparecem mais tarde, e seus níveis vão decrescendo gradualmente, persistindo com títulos baixos por um longo tempo da vida do hospedeiro. Os anticorpos IgM poderiam ser utilizados como indicadores de toxoplasmose recente, pois se negativariam na fase crônica. Porém, a utilização de técnicas com uma grande sensibilidade, permite a detecção de anticorpos IgM por períodos mais longos, durante vários meses, após a fase aguda da infecção, o que diminui o seu valor como marcadores (Camargo *et al.* 1995).

Jakubek e colaboradores (2006) indicaram a necessidade de uma avaliação crítica prévia do teste laboratorial de escolha com a finalidade de que sejam escolhidos os mais indicados para o estudo, pois dependendo da técnica escolhida para o diagnóstico podem-se ter diferenças significativas nos resultados (Fialho; Araújo 2003).

A reação de Sabin-Feldman ou teste do corante foi a primeira técnica utilizada para o diagnóstico sorológico. Atualmente são mais utilizadas as técnicas de imunofluorescência indireta, imunoenzimáticas e de aglutinação (Camargo *et al.* 1976, Uchoa *et al.* 1999).

A reação de imunofluorescência Indireta (RIFI), tão sensível quanto o teste do corante, tem sido utilizada no diagnóstico de muitas infecções, inclusive na toxoplasmose. Ela é considerada como teste padrão, sendo muito usada para a detecção de anticorpos IgG e IgM para o *Toxoplasma gondii*. Ela baseia-se na visualização, em microscópio de epifluorescência, de uma reação fluorescente que ocorre entre os antígenos íntegros de *Toxoplasma*, os anticorpos do paciente e finalmente um conjugado (anti-anticorpo com uma fluoresceína aderida). A reação positiva se dá a partir da diluição de 1:16 na cor verde maçã e a negativa num tom avermelhado, por não haver reação na membrana do taquizoíta (Amendoreira *et al.* 1999).

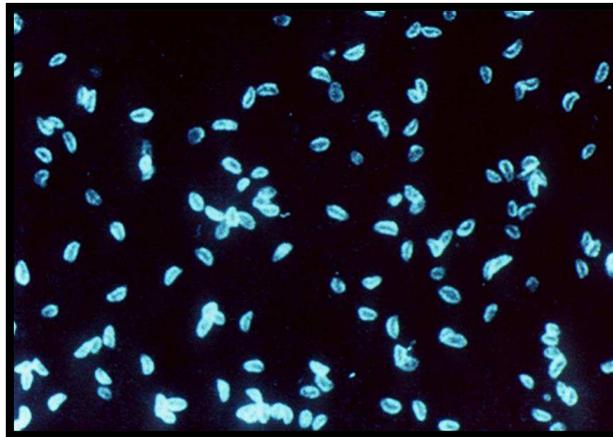


Figura 4- Reação de Imunofluorescência Indireta positiva ao microscópio de imunofluorescência, sob ocular de 10X e objetiva de 40x. Taquizoítas com fluorescência periférica total.

Fonte: <http://br.monografias.com/trabalhos/doencas-por-parasitos/Image8952.gif>

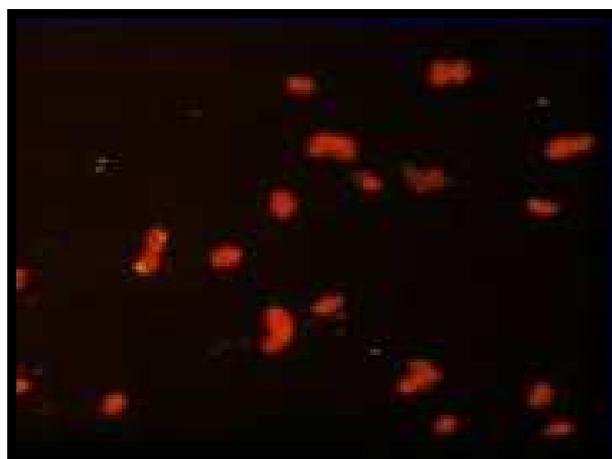


Figura 5- Reação de Imunofluorescência Indireta negativa ao microscópio de imunofluorescência, sob ocular de 10X e objetiva de 40x. Taquizoítas sem fluorescência nas bordas.

Fonte: <http://br.monografias.com/trabalhos/doencas-por-parasitos/Image8952.gif>

O ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), atualmente é a técnica mais utilizada, por conta da sua automação, em laboratórios de análises clínicas para o diagnóstico da toxoplasmose nas suas variações, ou seja, ELISA direta e a indireta. Esta última se baseia na pesquisa de anticorpos no soro, e pode ser desenvolvida de forma clássica ou por captura.

No ELISA indireta clássica podem-se detectar anticorpos totais ou aqueles dos tipos IgG, IgM, IgA ou IgE. Já a ELISA direta se baseia na detecção de antígenos circulantes do parasito. O marcador da reação imunológica é uma molécula de enzima, ligada seja ao antígeno, seja ao anticorpo, mas capaz de tornar visível uma reação colorida que de acordo com a densidade da leitura óptica feita por um espectrofotômetro indica, após alguns cálculos, se o teste foi positivo ou negativo. O teste dá resultados objetivos, extremamente sensíveis, e é adaptável tanto ao simples exame visual como a diversos sistemas de leituras por densidades fotocolorimétricas, com substratos coloridos, fluorescentes e luminescentes (Uchôa 1996, Luciano 2009).

Atualmente o mais indicado é a utilização dos *Biokits* de ELISA comerciais, que são mais seguros, reduzindo consideravelmente erros de diagnósticos e também os riscos de contaminação dos manipuladores com relação à produção de antígenos em animais de laboratório, contribuindo também para uma menor utilização desses animais.

Muitos autores têm verificado boa concordância entre as técnicas ELISA e RIFI, sugerindo que a RIFI poderia ser substituída pela técnica de ELISA (Sánchez *et al.* 1985), o que atualmente está ocorrendo em laboratórios de rotina.

A reação de hemaglutinação indireta (HAI), apesar de ser uma técnica de fácil e rápida execução, de baixo custo (Fialho; Araújo 2002) e ter alta sensibilidade, não é ideal para o diagnóstico precoce devido à presença predominante de antígenos citoplasmáticos, podendo produzir reações falsamente negativas em casos de infecções congênitas (D'Agostino 1994). Esta técnica dispensa o uso de imunoglobulinas espécie-específica (Amendoeira *et al.* 1999, Luciano 2009) sendo um teste muito usado em estudos epidemiológicos, pois seus "kits" costumam ser de baixo custo.

O diagnóstico parasitológico da toxoplasmose tem como base a detecção do parasito por meio da inoculação em animais, exames histológicos, ensaios de

cultivos celulares e pela reação em cadeia da polimerase (PCR). As pesquisas diretas do protozoário podem ser realizadas em amostras biológicas (líquor, sangue, lavado brônquico e urina) originadas de indivíduos com suspeita de infecção. O exame oftalmológico e estudos radiográficos podem auxiliar no diagnóstico da parasitose (Montoya; Liesenfeld 2004, Coutinho; Vergara 2005).

O isolamento do parasito de sangue ou outros fluidos corporais indica uma possível infecção aguda. Por ser um parasito intracelular obrigatório, a cultura *in vitro* pode ser utilizada, embora tenha um custo elevado e necessite de um longo tempo para obterem-se resultados, sendo efetiva, na maioria das vezes, em menos de 50,00% dos casos. O isolamento do parasito pode ser feito por meio da inoculação em camundongos, o que é mais sensível, porém requer de três a seis semanas e manutenção de animais em biotérios (Kompalic-Cristo *et al.* 2005).

A Técnica de PCR baseia-se na amplificação da sequência de DNA do parasito, sendo de alto valor diagnóstico. Esta reação tem grande especificidade (superior a 98,00%), e sensibilidade (cerca de 92,00%) e o resultado é obtido em 24 horas (Hohifeld *et al.* 1994, Spalding 2000, Kompalic-Cristo *et al.* 2005).

2.9 PROFILAXIA

As medidas preventivas utilizadas para se evitar entrar em contato com o *Toxoplasma gondii* estão diretamente relacionadas com os variados mecanismos e fontes de transmissão. Com base nisso, algumas atitudes são indicadas como fundamentais (Dubey *et al.* 2004, Dubey; Jones 2008).

A lavagem das mãos com água e sabão após: mexer com terra, manipular carnes cruas e caixas de areia, é uma maneira simples, mas de grande importância na profilaxia da parasitose. Indica-se o uso de luvas em caso de pessoas que pratiquem jardinagem ou mesmo aquelas que manipulam frequentemente a areia ou o local onde os gatos eliminam suas fezes (Dubey 1994).

Recomenda-se o consumo apenas de carnes bem cozidas e bem assadas, para que desta forma os cistos sejam destruídos, evitando-se assim a transmissão da infecção. O mesmo é aconselhável para os embutidos e derivados. Provar a carne durante o preparo (antes do cozimento total ou durante a condimentação) ou embutidos caseiros em fase de maturação não é recomendado (Dubey 1994, Dubey *et al.* 2004), assim como o preparo da carne no forno de microondas, pois sendo o cozimento desigual, os cistos do parasito não são destruídos (Dubey 1996).

A água de consumo deve ser sempre filtrada e na impossibilidade deve-se ferver antes de ser consumida, pois o seu tratamento com hipoclorito de sódio ou com ozônio não é suficiente para matar o oocisto (Wainwright *et al.* 2007). Os oocistos de *Toxoplasma gondii* são altamente resistentes aos desinfetantes, mas são destruídos em temperaturas acima de 60°C (Dubey ; Jones 2008).

Os alimentos consumidos crus, como legumes, frutas e verduras devem ser lavados de forma rigorosa e eficiente antes de serem ingeridos. Assim como os leites nunca devem ser bebidos crus, independente da origem animal.

Indivíduos que possuam gatos na residência devem se preocupar com o destino das fezes de seus animais. Ao manipulá-las é recomendado o uso de luvas, principalmente para as gestantes. As caixas de areia utilizadas pelos gatos devem ser limpas diariamente, impossibilitando assim a esporulação do oocisto, que ocorre em cerca de três dias dependendo das condições climáticas (Dubey 1994, Dubey *et al.* 2004). Além disso, esses felinos devem ser alimentados com ração e nunca com vísceras cruas, ossos e não caçarem roedores ou outras presas.

Geralmente gatos errantes, que vivem fora do ambiente domiciliar, possuem uma probabilidade maior de entrar em contato com as diversas formas e vias de infecção, sendo então de maior importância na epidemiologia da toxoplasmose.

As gestantes devem estar cientes dos riscos da transmissão da infecção pelo *T. gondii*, redobrando a atenção e os cuidados, uma vez que adquirindo a protozoose pela primeira vez estará correndo um grande risco de passar a infecção para o seu concepto.

Recomenda-se que seja feito um exame prévio para toxoplasmose em todas as mulheres que pretendem engravidar, identificando assim os riscos das futuras gestantes ou as que já estão imunes (Coutinho; Vergara 2005).

Uma prevenção eficaz seria a criação de uma vacina para o *Toxoplasma gondii*, o que ainda não está disponível (Coutinho; Vergara 2005), mas que com o avançar das pesquisas e da ciência muito em breve ela será descoberta.

3- OBJETIVOS

OBJETIVOS GERAIS:

- Avaliar a soroprevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em dois grupos de universitários, Medicina Veterinária e Grupo Controle (cursos das Áreas de Humanas e Exatas), de duas instituições de ensino da Região Metropolitana do Estado do Rio de Janeiro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Estimar a soroprevalência de anticorpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma gondii* nos dois grupos de universitários, Medicina Veterinária e Grupo Controle.
- Analisar as variáveis epidemiológicas com os resultados sorológicos obtidos, para detectar prováveis mecanismos de infecção envolvidos na transmissão do *T. gondii* nos grupos estudados.
- Orientar os universitários sobre a prevenção primária, para o controle da infecção pelo protozoário, por meio de folhetos explicativos baseados nas normas de Biossegurança.

4- METODOLOGIA

4.1 DELINEAMENTO DO ESTUDO

Foi realizado um Estudo Seccional, no período de 25 de abril a 09 de outubro de 2009, para avaliar a soroprevalência da infecção por *T. gondii* em estudantes de duas universidades do Estado do Rio de Janeiro. As instituições selecionadas foram a Universidade Federal Fluminense (UFF), localizada no município de Niterói, e a Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica.

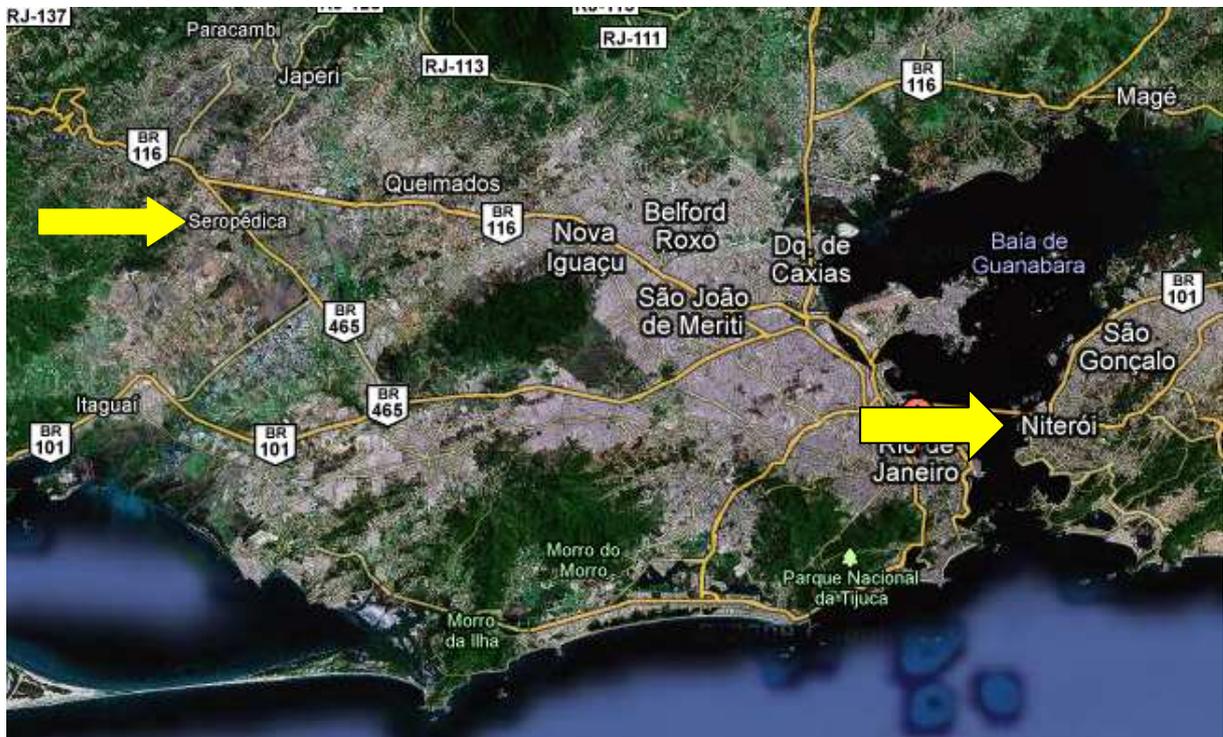


Figura 6: Mapa do Estado do Rio de Janeiro mostrando a localização dos municípios de Niterói (UFF) e Seropédica (UFRRJ).

<http://maps.google.com.br/maps>

4.2 CASUÍSTICA E MATERIAL EXAMINADO

O delineamento básico consistiu na comparação de dois grupos de alunos universitários, o dos estudantes de Medicina Veterinária e o Grupo Controle, estudantes das Áreas de Humanas e Exatas. O cálculo da amostra foi realizado a partir da suposição de que as prevalências esperadas de infecção seriam de 40% e 30% nos estudantes de Medicina Veterinária e nos do Grupo Controle, respectivamente. Para um erro de primeiro tipo de 5% e uma potência de 80% seria necessário examinar pelo menos 376 estudantes em cada grupo (Dean *et al.*1997). As demais estatísticas, para estimar prevalências e testes de Qui-quadrado (X^2) foi processada no programa Stata 10.1 (Stata Corp 2009).

Os estudantes de Medicina Veterinária e os das Áreas de Humanas e Exatas de todos os períodos, da UFF e UFRRJ, foram convidados a participar da pesquisa, por meio de cartazes e panfletos, para obtenção da amostra estimada.

Os alunos que se interessaram em participar da pesquisa foram incluídos no estudo após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 1). Na sequência, preencheram o questionário epidemiológico (ANEXO 2).

Critério de exclusão: alunos dos cursos de Zootecnia, Biologia, Geologia e Medicina Humana. Estes são cursos que apresentam, em seu currículo acadêmico, disciplinas com o mesmo risco ocupacional da Medicina Veterinária ou com outros mecanismos de transmissão de importância na epidemiologia da toxoplasmose, como o contato com o solo.

Os estudantes foram divididos em dois grupos: Medicina Veterinária e Grupo Controle, este grupo foi constituído pelos cursos de Administração, Letras, Física, História, Economia doméstica, Filosofia e Pedagogia.

Obteve-se uma adesão total de 839 universitários. Destes 435 foram oriundos da UFF, 228 de Medicina Veterinária e 207 do Grupo Controle; e 404 da UFRRJ, 264 de Medicina Veterinária e 140 do Grupo Controle.

Em cada estudante foi efetuada uma coleta de sangue para a realização de testes sorológicos, com o objetivo de dosar imunoglobulinas do tipo IgG e IgM. As técnicas utilizadas foram Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA).

Questões éticas

Este projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) com Seres Humanos do IPEC/Fiocruz, sob o protocolo 0015.0.009.000-09 (ANEXO 3).

Questionário epidemiológico

Após a assinatura do TCLE, os universitários responderam o questionário epidemiológico (ANEXO 2) padrão do Laboratório de Toxoplasmose, do Instituto Oswaldo Cruz (IOC), Fiocruz. As variáveis: sexo, idade, práticas com animais, uso de equipamentos de proteção individuais (EPI), contato com gatos vadios, conhecimento sobre a profilaxia da infecção, manusear terra, ter contato com solo do *campus* da Universidade e ingerir carne crua ou mal cozida foram utilizadas para análise epidemiológica (variável *versus* resultado sorológico) pelo teste Qui-quadrado (X^2).

A variável dicotômica “práticas com animais” foi considerada positiva (sim) para universitários que relataram atividades como: estágios em clínica veterinária, Zoológicos e frigoríficos; e aulas práticas com animais, em cursos externos ou da própria faculdade.

O uso concomitante de luvas e jaleco pelo aluno, nas práticas com animais, foi o fator para considerar que ele utilizava EPI. A utilização de apenas um EPI como máscara, touca ou óculos foi considerado que o aluno não utilizava.

O conhecimento sobre a profilaxia da toxoplasmose foi avaliado sobre três aspectos: a doença, os mecanismos de transmissão e a prevenção. O grupo “sim”, para esta variável, foi formado por alunos que relataram conhecimento sobre a doença, a forma de adquiri-la e citaram, pelo menos, duas maneiras corretas de prevenção. Na classificação dos alunos quanto o conhecimento sobre a profilaxia, os que apontavam pelo menos dois dos seguintes fatores: não ingerir carne crua ou mal cozida; lavar bem as frutas e verduras que são ingeridas cruas, lavar as mãos

após manipular terra ou areia e beber sempre água filtrada ou fervida; foram incluídos no grupo que conheciam a profilaxia.



Figura 7: Alunos realizando o preenchimento do questionário epidemiológico realizado na UFRRJ, outubro de 2009.

Coleta, procedimentos com o material biológico e orientações:

A coleta de sangue foi realizada por enfermeiros e técnicos de laboratório. Obtendo-se de 5mL a 10mL de sangue por punção venosa, com agulhas descartáveis, em tubos a vácuo sem anticoagulante. Após ocorrer a retração do coágulo, o soro foi separado em alíquotas e guardado em freezer a -70°C , para posterior armazenagem no banco de soros do Laboratório de Toxoplasmose do IOC, Fiocruz.



Figura 8: Coleta de sangue realizada nos alunos da UFRRJ, outubro de 2009.

A detecção de anticorpos IgG e IgM anti-*T. gondii*, foi feita pelas técnicas de RIFI e ELISA (Biokit) no Laboratório de Toxoplasmose do IOC, Fiocruz.

As orientações sobre a profilaxia primária, com o controle da protozoose, foram oferecidas por meio de palestras e folhetos explicativos (Anexo 6) para os alunos. Nos casos de IgM soro reagentes ou IgG com título igual ou maior que 1024, os universitários foram orientados a procurar atendimento médico, com um infectologista.

4.2.1- TÉCNICA DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI)

a) Preparação do Antígeno

O antígeno foi obtido do exsudato peritoneal de camundongos *Swiss Webster* infectados com a cepa RH de *T. gondii*. Ao exsudato peritoneal foi adicionado um volume duas vezes maior de Formol a 2%. Após 30 minutos em repouso, o material foi centrifugado a 500 rpm durante 5 minutos com a finalidade de sedimentar as células do hospedeiro. Transferiu-se o sobrenadante para outro tubo e depois este foi centrifugado a 3000 rpm por 10 minutos, para a separação dos parasitos.

Desprezou-se o sobrenadante e o sedimento foi ressuspenso, com aproximadamente 5 mL de solução salina tamponada (PBS) a 0,01M e pH 7,2 sendo centrifugado novamente a 3000 rpm por 10 minutos, e repetindo-se por mais duas vezes para lavagem do material (parasito). Após a última centrifugação, o sedimento foi ressuspenso em uma pequena quantidade de PBS estéril e feita a contagem em câmara de *Newbauer*, onde a concentração de parasitos foi ajustada para a obtenção de cerca de 7×10^6 parasitos por mL.

b) Procedimento Técnico

O antígeno previamente preparado foi utilizado na sensibilização das lâminas de imunofluorescência limpas em solução de álcool éter (50% álcool + 50% éter). Em cada retículo da lâmina foram colocados 10 μ L de antígeno, deixando-a secar em temperatura ambiente. Para a pesquisa de IgG os soros foram diluídos em PBS nas diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096. Para a pesquisa de IgM foi utilizada apenas as duas primeiras diluições, no caso de positividade na última, a reação foi repetida com as cinco. Em seguida, 10 μ L das diluições foram distribuídos nas áreas sensibilizadas das lâminas, colocadas em câmara úmida e levadas à estufa a 37° C por uma hora. Após essa etapa, as lâminas foram lavadas duas vezes em PBS, por cinco minutos, e secas ao ar livre. Na sequência, colocou-se o conjugado anti-IgG humano com fluoresceína (SIGMA), na diluição de 1:32 (previamente titulado), em solução de Azul de Evans a 1 mg%, preparado na proporção de 1:10, nas lâminas correspondentes. Para o conjugado anti-IgM utilizou-se a diluição de 1:64 (previamente titulado), incubando-se novamente na estufa a 37° C por uma hora. Após este período, as lâminas foram lavadas duas vezes em PBS por cinco minutos e secas em temperatura ambiente. Depois colocou-se uma gota de glicerina tamponada e a lamínula (24 x 50mm). As lâminas foram observadas em microscópio óptico Y-FL de epi-fluorescência (NIKON), com lâmpada de mercúrio, filtro ND16, com objetiva de 40 vezes e ocular de 10 vezes. Na avaliação das amostras positivas, o resultado final da leitura foi definido pela reação da última diluição em que ainda havia fluorescência completa na borda dos taquizoítas, em pelo menos 50% deles (Figura 4). A ausência de fluorescência ou apenas na extremidade dos parasitos (reação polar) foi considerada como reação negativa (Figura 5).

4.2.2- Bioelisa Toxo IgG - Teste de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) para detecção qualitativa e quantitativa de anticorpos IgG anti- *Toxoplasma gondii* em soro ou plasma humano.

O bioelisa Toxo IgG é um teste de ELISA para a detecção qualitativa e quantitativa de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em soro ou plasma humano. As amostras diluídas foram incubadas em pocinhos de uma microplaca recobertos com antígeno toxoplásmico. Nas amostras positivas, os anticorpos anti-*T. gondii* ligaram-se com os antígenos adsorvidos ao pocinho. Em seguida, lavou-se os pocinhos para eliminar a amostra residual e se adicionou anticorpos anti-IgG humana marcados com uma enzima (conjugado).

Em amostras positivas, o conjugado se ligará às IgG anti-*T. gondii* que se uniram aos antígenos do pocinho, durante a primeira incubação. Após outra lavagem para remover o material não fixado, procedeu-se à adição de uma solução de substrato enzimático que continha um cromógeno, esta reação desenvolveu cor azul. Depois do bloqueio com ácido sulfúrico, a cor da reação passou de azul a amarela. A intensidade da cor foi proporcional à quantidade de IgG anti-*T. gondii* presente na amostra. A concentração de anticorpos na amostra foi determinada a partir de uma curva de calibração (BioKit Bioelisa REF. 3000 -1214, 96 testes).

Após o bloqueio da reação foi realizada a leitura da placa, em espectrofotômetro da marca *Anthos Labtec Instruments Reader 2010* com os filtros de absorvância de 450 e 620 nanômetros.

4.2.3 - Bioelisa TOXO IgM (Immunocapture) – Teste de ELISA para a detecção de anticorpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* em soro ou plasma humano.

O bioelisa TOXO IgM é um ensaio imunoenzimático de captura, para a determinação de anticorpos IgM anti-*T. gondii* no soro ou plasma humano. As amostras analisadas foram diluídas em pocinhos, sensibilizados com anticorpos de coelho anti-IgM humana, de uma microplaca e incubadas.

Os anticorpos IgM presentes na amostra positiva, combinaram-se com os anticorpos anti-IgM do pocinho previamente sensibilizado. Em seguida, os pocinhos foram lavados para extrair o material não fixado. Após este procedimento, adicionou-se antígeno de *T. gondii* conjugado com peroxidase. Nas amostras positivas, o conjugado reagiu com as IgM anti-*Toxoplasma* capturadas na primeira incubação. Posteriormente foi feita outra lavagem para eliminar o material não fixado e incubou-se com uma solução de substrato enzimático e cromógeno. As amostras que continham IgM anti-*T. gondii* desenvolveram reação de cor azul, que passou a amarelo após o bloqueio da reação com ácido sulfúrico (BioKit Bioelisa REF. 3000-1210, 96 testes).

Após o bloqueio da reação foi realizada a leitura da placa, em espectrofotômetro da marca *Anthos Labtec Instruments Reader 2010* com os filtros de absorbância de 450 e 620 nanômetros.

5- RESULTADOS

5.1- ESTUDO SECCIONAL DA POPULAÇÃO

5.1.1. Inquérito sorológico

A soroprevalência da toxoplasmose em 839 universitários da UFF e da UFRRJ foi de 21,81%. A prevalência de soros reagentes nos alunos da UFF foi maior que a encontrada na UFRRJ. Observou-se uma ocorrência de IgG anti-*T. gondii* maior no Grupo Controle, em ambas as universidades estudadas, que nos estudantes de Medicina Veterinária (Tabela 1). Entre os alunos analisados na pesquisa seis foram IgM soros reagentes, na qual cinco positivos apenas no ELISA e um em ambas as técnicas, ELISA e RIFI. Desses alunos, quatro eram do Grupo Controle da UFF e um de cada grupo da UFRRJ.

Tabela 1: Positividade na RIFI ou ELISA para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos dos grupos de Medicina Veterinária e Controle, segundo as Universidades, UFF e UFRRJ, no período de abril a outubro de 2009

Grupo	UFF	UFRRJ	Total
	% (n)	% (n)	% (n)
Medicina Veterinária	16,67 (228)	15,53 (264)	16,06 (492)
Controle	32,37 (207)	26,43 (140)	29,97 (347)
Total	24,14 (435)	19,31 (404)	21,81 (839)

Na análise dos dados pelo teste Qui-quadrado, ocorreu diferença significativa relacionada às variáveis “Medicina Veterinária” e “Grupo Controle” de ambas as Universidades (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ, segundo os grupos, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Medicina Veterinária	Grupo Controle	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	83,94 (413)	70,03 (243)	78,19 (656)
Positivo	16,06 (79)	29,97 (104)	21,81 (183)
Total	100,00 (492)	100,00 (347)	100,00 (839)

($\chi^2 = 23,10$; $p = 0,001$)

5.1.2. Inquérito epidemiológico:

Na análise estatística, os alunos das duas Universidades foram divididos em dois grupos, Medicina Veterinária e Grupo Controle, e estes relacionados às variáveis de interesse no estudo.

Pelo teste Qui-quadrado, não houve diferença significativa na prevalência de IgG anti-*T. gondii* entre homens e mulheres (Tabela 3).

Tabela 3: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ com relação ao sexo, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Feminino	Masculino	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	79,29 (513)	74,48 (143)	78,19 (656)
Positivo	20,71 (134)	25,52 (49)	21,81 (183)
Total	100,00 (647)	100,00 (192)	100,00 (839)

($\chi^2 = 2,01$; $p = 0,156$)

Na distribuição dos alunos, em faixas etárias, ocorreu um aumento progressivo da frequência de soros reagentes com o evoluir da idade. Observou-se diferença estatisticamente significativa em relação à prevalência de IgG anti-*T. gondii* e as faixas etárias (Tabela 4).

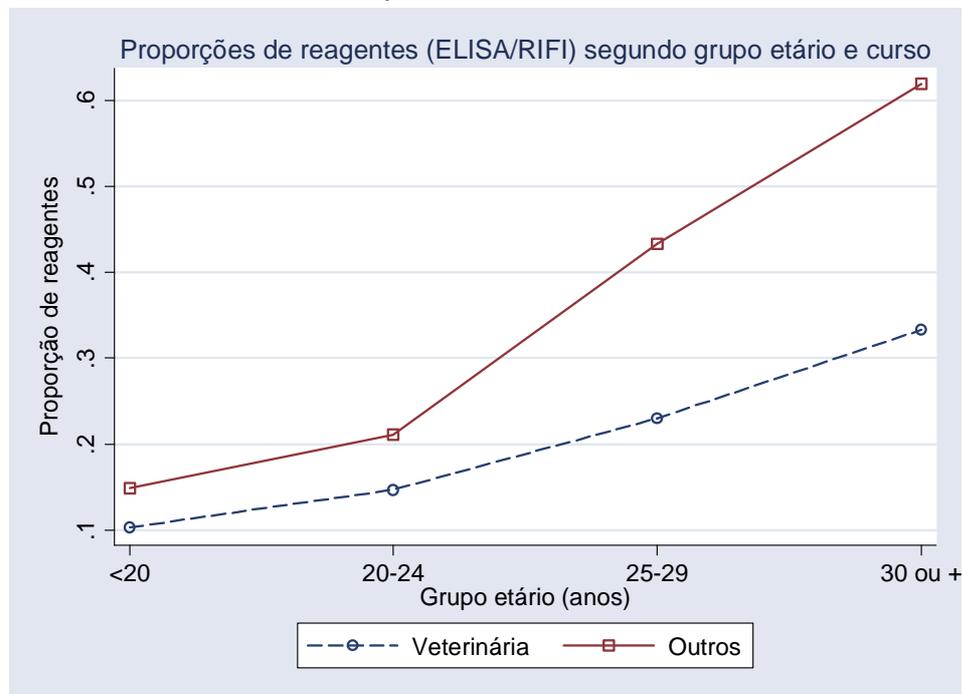
Tabela 4: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das universidades UFF e UFRRJ com relação a faixa etária, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	<20 anos	20-24 anos	25-29 anos	>30	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	88,00 (110)	82,91 (422)	67,91 (91)	46,48 (33)	78,19 (656)
Positivo	12,00 (15)	17,09 (87)	32,09 (43)	53,52 (38)	21,81 (183)
Total	100,00 (125)	100,00 (509)	100,00 (134)	100,00 (71)	100,00 (839)

($\chi^2 = 64,29$ e $p = 0,001$)

Os resultados sorológicos relacionados ao fator idade estão apresentados no Gráfico 1 de acordo com os Grupos: Medicina Veterinária e Controle. Observa-se que em todas as faixas etárias a prevalência de IgG anti-*T. gondii* foi maior no Grupo Controle que nos estudantes de Medicina Veterinária, todavia na faixa etária de 20-24 anos evidencia-se um aumento em ambos os grupos estudados, sendo que no Grupo Controle este aumento foi ainda mais acentuado.

Gráfico 1- Positividade na RIFI ou ELISA para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG, segundo grupo etário e grupos de estudantes (Veterinária e Controle), nas universidades UFF e UFRRJ no período de abril a outubro de 2009



Pelo teste Qui-quadrado, o hábito de mexer com terra, o contato com gatos vadios, o hábito de comer carne crua ou mal passada, o contato com solo do *campus*, a manipulação de animais nas aulas práticas e a não utilização de EPI em relação à prevalência de IgG anti-*T. gondii* não foram observadas diferenças estatisticamente significativas (Tabelas 5, 6, 7, 8, 9 e 10).

Tabela 5: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ, com relação ao hábito de mexer ou não com terra, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Não mexe	Mexe	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	81,10 (296)	75,95 (360)	78,19 (656)
Positivo	18,90 (69)	24,05 (114)	21,81 (183)
Total	100,00 (365)	100,00 (474)	100,00 (839)

($\chi^2 = 3,203$ e $p = 0,074$)

Tabela 6: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ, com relação a variável “contato com gatos”, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Sem Gato/Só dentro de casa	Gato sai da residência	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	79,63 (520)	71,75 (127)	77,95 (647)
Positivo	20,37 (133)	28,25 (50)	22,05 (183)
Total	100,00 (653)	100,00 (177)	100,00 (830*)

*nove estudantes não relataram ter gato na residência.
 $\chi^2 = 5,032$ e $p = 0,025$

Tabela 7: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ, com relação às variáveis “hábito de comer carne crua ou mal passada” e “não possuir esse hábito”, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Não ingere	Ingere	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	73,31 (346)	84,55 (301)	78,14 (647)
Positivo	26,69 (126)	15,45 (55)	21,86 (181)
Total	100,00 (472)	100,00 (356)	100,00 (828*)

*onze estudantes não relataram o hábito de comer carne crua ou mal cozida.
 $\chi^2 = 15,024$ e $p = 0,001$

Tabela 8: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ, com relação a variável “Contato com o solo do *campus*”, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Sem contato	Mantém contato	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	80,71 (431)	73,47 (216)	78,14 (647)
Positivo	19,29 (103)	26,53 (78)	21,86 (181)
Total	100,00 (534)	100,00 (294)	100,00 (828*)

*onze estudantes não relataram se mantinham contato com o solo do *campus*.
($\chi^2=5,822$ e $p= 0,016$)

Tabela 9: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos de Medicina Veterinária estudados nas Universidades UFF e UFRRJ, com relação a variável “Contato com a parte clínica”, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Com a parte clínica	Sem a parte clínica	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	82,47 (240)	86,07 (173)	83,94 (413)
Positivo	17,53 (51)	13,93 (28)	16,06 (79)
Total	100,00 (291)	100,00 (201)	100,00 (492)

$\chi^2=1,14$ e $p= 0,286$

Tabela 10: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos de Medicina Veterinária estudados nas Universidades UFF e UFRRJ, com relação a variável “Utilização de Equipamentos de Proteção Individual”, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Usa EPI	Não usa EPI	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	89,13 (82)	82,75 (331)	83,94 (413)
Positivo	10,87 (10)	17,25 (69)	16,06 (79)
Total	100,00 (92)	100,00 (400)	100,00 (492)

$\chi^2=2,26$ e $p=0,133$

Ao analisar pelo teste Qui-quadrado, concomitantemente, o hábito de mexer com terra e ter contato com o solo do *campus*, em relação aos resultados sorológicos para toxoplasmose dos universitários, observou-se que esta associação permaneceu sem significância estatística (Tabela 11).

Tabela 11: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ, com relação a variável “contato com solo do *campus*”/ “mexer com terra”, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Com contato/Mexe	Sem contato/Não mexe	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	81,40 (210)	76,64 (443)	78,11 (653)
Positivo	18,60 (48)	23,36 (135)	21,89 (183)
Total	100,00 (258)	100,00 (578)	100,00 (836*)

$\chi^2=2,36$ e $p=0,125$

* 3 alunos não responderam as variáveis acima.

Pelo teste Qui-quadrado, o conhecimento da profilaxia da infecção por *Toxoplasma gondii* em relação à prevalência de IgG anti-*T. gondii* foi observada diferença estatisticamente significativa (Tabela 12).

Tabela 12: Distribuição dos resultados da ELISA/RIFI para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* da classe IgG nos alunos estudados das Universidades UFF e UFRRJ, com relação a variável “Conhecimento de profilaxia”, no período de abril a outubro de 2009

ELISA/RIFI	Conhece	Não conhece	Total
IgG	% (n)	% (n)	% (n)
Negativo	81,69 (290)	75,78 (366)	78,28 656
Positivo	18,31 (65)	24,22 (117)	21,72 182
Total	100,00 (355)	100,00 483	100,00 838*

* um aluno não mencionou conhecimento sobre profilaxia.
 $\chi^2=4,21$ e $p=0,040$

6- DISCUSSÃO

6.1. ANÁLISE DO PERFIL SOROEPIDEMIOLÓGICO DA TOXOPLASMOSE EM ESTUDANTES DE MEDICINA VETERINÁRIA E GRUPO CONTROLE (ALUNOS DE CURSOS DIVERSOS).

Nos universitários da UFF e da UFRRJ, nos dois grupos de estudo, observou-se uma prevalência de 21,81% de soros reagentes para infecção por *T. gondii*. Esta foi menor do que a encontrada por Figueiredo e colaboradores (2010 *in press*) em estudantes da Universidade de Anhanguera - Uniderp no Mato Grosso do Sul e do que a observada por Rey e Ramalho (1999) em estudantes de Fortaleza com idades entre 10 a 19 anos. Assim como, na maioria dos levantamentos sorológicos realizados no Brasil em populações adultas, em que a frequência da toxoplasmose tem variado de 50,00% a 83,00% (Cantos *et al.* 2000, Coelho *et al.* 2003, Sobral *et al.* 2005, Spalding *et al.* 2005, Boia *et al.* 2008). Em geral, quem ingressa em uma Universidade provêm de famílias mais estruturadas, com melhores condições de infraestrutura e mais acesso a informações, o que poderia ter interferido nos resultados sorológicos deste estudo.

A prevalência da toxoplasmose em alunos de Medicina Veterinária, UFF e UFRRJ, foi menor que a encontrada (41,00%) por Riemann e colaboradores (1974) em estudantes de Medicina Veterinária, também no Brasil. Assim como no presente estudo, Mc Culloch e colaboradores (1963) observaram em diversas localidades dos EUA uma baixa ocorrência da infecção entre os estudantes de Medicina Veterinária nas Universidade de Iowa (17,00%), de Minnesota (20,10%) e de Illinois (23,00%). Entretanto, também nos EUA, pesquisadores encontraram uma prevalência maior em estudantes de Medicina Veterinária (34,00%) na Universidade de Ohio.

A extratificação dos estudantes por períodos acadêmicos tanto no Grupo Controle (Área de Humanas e Exatas) quanto no da Medicina Veterinária não foi possível, pois o número de alunos por período dos cursos não foi adequado para análise estatística. Além disso, no curso de Medicina Veterinária os alunos de

períodos iniciais já realizavam estágios em clínicas, frigoríficos e zoológicos. Portanto, o risco ocupacional já estava presente desde o início da faculdade.

A UFF é uma Universidade localizada em área urbana e a UFRRJ rural. E ao contrário do esperado, na correlação dos grupos de Medicina Veterinária, entre as Universidades, e a soropositividade, observamos uma prevalência de IgG anti-*T. gondii* maior nos estudantes da UFF. O mesmo perfil ocorreu no Grupo Controle. Em ambientes com características rurais a prevalência da toxoplasmose é maior do que em ambientes urbanos, como o encontrado por Spalding (2000) onde as gestantes de área rural possuíam maior prevalência que as da área urbana.

Quando comparamos os alunos de Medicina Veterinária com os do Grupo Controle, em cada Universidade, observamos uma prevalência de soros reagentes para *T. gondii* maior no Grupo Controle, apesar das práticas impostas por diversas disciplinas do currículo do curso de Veterinária. Historicamente, os alunos de Medicina Veterinária provêm de grupos sociais mais elitizados, com maior poder aquisitivo, além de ingressarem mais jovens na Faculdade. Portanto, a origem destes alunos pode influenciar diretamente nos resultados sorológicos para a toxoplasmose, devido aos hábitos e costumes que podem aumentar/diminuir a exposição aos fatores de risco. Em trabalhos que avaliam as condições sócio-econômicas de populações, observa-se que quanto menor forem estas condições, maior a prevalência da infecção (Bahia-Oliveira *et al* 2003).

O risco ocupacional, apesar de não apresentar correlação com a infecção nesta pesquisa, em alunos de Veterinária existe e pode estar ligado ao aumento da prevalência de IgG anti-*T. gondii*. Aulas práticas, contato com carcaças (Daguer *et al* 2004, Millar 2005) e animais, além do mal uso de EPI, podem ser fatores que explicariam o aumento acentuado da prevalência de IgG anti-*T. gondii* a partir dos 20 anos de idade nos alunos de Veterinária, nas duas Universidades. Já no Grupo Controle este aumento estaria vinculado à origem dos alunos, baseada em fatores sócio-econômicos e culturais que antecedem ao ingresso na Faculdade.

6.1.1 Variáveis Analisadas

Esperava-se que houvesse diferenças significativas entre as duas universidades, com relação a ocorrência de soros reagentes para infecção por *T. gondii*, uma vez que a UFRRJ estava em área rural e a UFF em área urbana. Como tal fato não ocorreu passou-se a analisar os estudantes em dois grupos (alunos da Medicina Veterinária e do Grupo controle) independente da Universidade.

Ao correlacionar a presença de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* com a variável idade observou-se um considerável aumento na prevalência com o passar dos anos. Este fato já era esperado uma vez que o parasito, *T. gondii*, possui um ciclo biológico complexo com inúmeros fatores de risco (Dubey 1998) e no decorrer da vida, podem aumentar as chances do indivíduo entrar em contato com um dos possíveis mecanismos de transmissão da toxoplasmose. O que tem sido também observado por vários pesquisadores (Amendoeira 1980, Souza *et al.* 1987, Garcia *et al.* 1999, Sobral 2002, Spalding *et al.* 2005, Bonna 2007), inclusive em algumas tribos indígenas (Amendoeira *et al.* 2003, Sobral *et al.* 2005) e em gestantes (Spalding *et al.* 2005).

Assim como descrito por Quites (2009), em uma população rural de analfabetos e aposentados/pensionistas do Vale do Jequitinhonha em Minas Gerais, no nosso estudo também ocorreu uma prevalência de IgG anti-*T. gondii* maior em indivíduos mais velhos.

Observamos que os alunos do Grupo Controle iniciavam o seu curso com uma prevalência de IgG anti-*T. gondii* superior a encontrada nos de Medicina Veterinária (Gráfico 1), o que indica que a transmissão da infecção provavelmente estava relacionada com a origem dos universitários e não com as atividades do curso de Medicina Veterinária, considerada de maior risco por manipular animais e carcaças. Adicionalmente, quando os alunos chegam aos 20 anos de idade, há um acentuado aumento do número de indivíduos com reação sorológica positiva, em ambos os grupos. No Grupo Controle esse aumento foi ainda maior. Este fato pode reafirmar a origem dos universitários como um fator que influenciou na prevalência

da toxoplasmose, sendo de relevância o conhecimento sobre as condições sócio-econômica e cultural (Bahia-Oliveira *et al.* 2003).

A classe social tem sido tema de estudo, como o realizado em gestantes atendidas na rede pública de saúde do município de Londrina, Paraná, que revelou uma soropositividade de anticorpos IgG anti-*T. gondii* de 49,2% em uma amostragem de 492 gestantes. Os fatores associados à infecção foram a baixa renda *per capita*, o baixo grau de escolaridade, a presença de gato na residência e o hábito de ingerir verduras e legumes crus. Não houve associação com a ingestão de carne crua ou mal passada e o contato com solo (Lopes *et al.* 2009) como no presente trabalho.

Com relação aos resultados sorológicos e o conhecimento dos alunos sobre as medidas profiláticas, este poderia estar contribuindo para reduzir a infecção toxoplásmica. O que foi evidenciado com os resultados sorológicos entre aqueles que relataram ter ou não os conhecimentos sobre as medidas profiláticas da protozoose. Nos universitários que tinham conhecimento da infecção por *T. gondii* a prevalência foi de 18,31% e naqueles que relataram não ter o conhecimento foi de 24,22%. Alunos, de cursos fora das Áreas de Saúde e Agrárias, que desconhecem os mecanismos de transmissão da parasitose poderiam estar mais susceptíveis à infecção por *T. gondii*.

Em Cuiabá, num estudo realizado em gestantes (Leão *et al.* 2004), constatou-se que apenas 21,90% delas conheciam a doença, enquanto que as demais (78,10%) afirmaram nunca ter ouvido falar em toxoplasmose. O conhecimento de prevenção da infecção toxoplásmica, aspecto interessante e pouco citado na literatura, seria uma das formas de se prevenir a infecção. Como nos estudos feito por Spalding (2000), Bonna (2007) e Bueno (2008), que indicaram a necessidade de que sejam implantadas estratégias de prevenção primária como forma de controle da doença.

Num estudo realizado na Bélgica (Jones *et al.* 2001) durante o período de 1979 a 1990, avaliando a efetividade de programas educacionais para a prevenção primária da toxoplasmose, constataram um decréscimo de 63% nas taxas de soroconversão materna após a adoção de medidas de prevenção primária, sugerindo que aqueles programas são benéficos para a redução desta infecção em gestantes.

No presente estudo, não foi encontrada relação entre a prevalência da parasitose e as variáveis: sexo, mexer com terra, contato com gatos, comer carne crua ou mal passada, ter contato com solo do *campus* da Universidade, ter contato com animais durante as aulas práticas no curso de Medicina Veterinária e a utilização de EPI.

Levando em consideração a distribuição da prevalência da infecção por *T. gondii* com relação ao sexo, não foram encontradas diferenças significativas entre os indivíduos examinados. Este achado está em concordância com os observados por outros pesquisadores (Horio *et al.* 2001, Daguer *et al.* 2004, Sobral *et al.* 2005, Millar *et al.* 2007). Na população estudada, as atividades exercidas pelos universitários de ambos os sexos não influenciou a ocorrência da infecção, não havendo diferenças significativas entre eles. Os estudantes estavam expostos, pelo menos no *campus* da Universidade, aos mesmos fatores de risco, independente do sexo, sugerindo exposição na mesma intensidade e frequência. O sexo isoladamente não seria fator de resistência ou susceptibilidade à parasitose (Amendoeira *et al.* 2003) e sim quando ligado a hábitos culturais diferenciados pelo sexo, como em tribos indígenas (Sobral *et al.* 2005).

O contato com o solo contaminado com oocistos do *T. gondii*, pode ser considerado um fator de risco de grande importância na transmissão do protozoário (Coutinho *et al.* 1982). Assim como, a manipulação da terra em jardinagem, plantação de hortas e areias de parques são fatores de risco importantes na epidemiologia da toxoplasmose (Spalding *et al.* 2005, Cook 2000). Apesar de muitos trabalhos descreverem o hábito de mexer com a terra como um fator de importância na transmissão da protozoose em determinadas regiões (Garcia *et al.* 1999, Spalding *et al.* 2005), no presente estudo esta variável não contribuiu para a prevalência da infecção. Isto poderia ser explicado pelas características da população estudada, pois esta é heterogênea e oriunda de diferentes localidades, portanto, não possuía características culturais, hábitos e costumes similares. Este fato foi também evidenciado por Millar (2005), uma vez que em ambos os grupos estudados não houve diferença significativa entre os indivíduos que tinham contato com solo e os que não tinham.

Spalding e colaboradores (2005), ao realizarem avaliação de fatores de risco para a transmissão de *T. gondii* em 2.126 gestantes no sul do Brasil, observaram

que a variável “contato com solo” foi a que apresentou associação mais intensa com a protozoose, o que também foi demonstrado por Cook e colaboradores (2000).

O contato com gatos (Jamra 1964, Souza *et al.* 1987, Camargo *et al.* 1995, Garcia *et al.* 1999, Barbosa 2008, Figueiredo *et al.* 2010 *in press*) e a ingestão de carne crua ou mal cozida são importantes fontes de infecção (Souza *et al.* 1987, Bonametti *et al.* 1997, Barbosa 2008). Em nosso estudo, assim como no de Zimmerman e colaboradores (1976) com universitários e trabalhadores da Faculdade de Veterinária de Iowa, não foi encontrada relação direta entre anticorpos de *T. gondii* com estas variáveis. Fatores que poderiam avaliar esta questão seriam os sócio-econômicos, pois a maior frequência da ingestão de carne aumentariam os riscos de infecção, assim como a qualidade de moradia e o acesso a água tratada (Bahia-Oliveira *et al.* 2003).

O binômio gato/roedor é de grande importância epidemiológica na transmissão do *T. gondii* (Camargo *et al.* 1995, Araújo 1999) e o hábito de caçar aumentaria as chances do felino contrair a infecção toxoplásmica e de contaminar o ambiente e o homem (Svoboda; Svobodova 1987, Fernández *et al.* 1995). De acordo com Dubey (1998) e Dubey e colaboradores (2004), a presença de gatos nas residências é considerada relevante para a epidemiologia da transmissão da protozoose, por serem os hospedeiros definitivos do parasita.

Apesar da importância epidemiológica a presença do gato nas residências dos universitários não influenciou na prevalência da toxoplasmose, ao contrário do que foi encontrado em universitários por Figueiredo e colaboradores (2010 *in press*). De acordo com os nossos achados, Dubey (1994) citou que o contato físico direto com felinos parece ser de pouca importância epidemiológica, devido aos hábitos de higiene destes animais. O fato de ter gato e deste não sair à rua poderia ter diminuído as chances de contrair a toxoplasmose. O ciclo biológico do parasita foi interrompido, já que esse animal não caçava e não andava em locais que pudessem estar contaminados com oocistos de outros felinos ou qualquer outro mecanismo de transmissão.

Assim como em nossos resultados, Zimmermann e colaboradores (1976) não encontraram associação significativa na exposição de empregados e estudantes de Medicina Veterinária com felinos e a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii*. Millar (2005), em trabalhadores de um frigorífico, e Luciano (2009), em trabalhadores

de abatedouros, observaram um leve aumento na prevalência da infecção toxoplásmica nos indivíduos que relataram ter contato com gatos, apesar de não ter sido considerado estatisticamente significativo. Os hábitos de higiene pessoal são fatores que poderiam explicar a não associação, pois ações como lavar as mãos antes das refeições e após manipular gatos, além de cuidados com a alimentação e com os dejetos dos mesmos, diminuiriam as chances de infecção.

Por outro lado, Daguer e colaboradores (2004) relataram que a prevalência de trabalhadores soros reagentes que não mantinham contato com gato era maior do que a dos que tinham. Este achado foi discordante do presente estudo e de muitos autores (Camargo *et al.* 1995, Garcia *et al.* 1999, Barbosa 2008, Lopes *et al.* 2009).

Riemann e colaboradores (1974), ao estudarem alunos e trabalhadores de faculdades de Medicina Veterinária na Califórnia e no Brasil, observaram que havia uma correlação entre a prevalência da infecção toxoplásmica humana e o contato com animais de uma maneira geral, mas não especificamente com gatos ou mesmo com uma determinada espécie animal ou hábitos alimentares (Horio *et al.* 2001, Daguer *et al.* 2004, Luciano 2009).

O costume de consumir carnes ou produtos de origem animal, crus ou mal cozidos, tem grande importância epidemiológica para a toxoplasmose (Arias *et al.* 1994, Daguer *et al.* 2004, Spalding 2000). Este hábito foi apontado como fonte de infecção em muitos estudos (Navarro *et al.* 1992, Amendoeira 1995, Baril *et al.* 1999, Spalding *et al.* 2005, Casartelli 2009). Na presente pesquisa não foi constatada diferença estatisticamente significativa entre os universitários com relação a esta variável, assim como nos estudos de Daguer e colaboradores (2004) e Araújo e colaboradores (2000). Isso nos sugere que o risco da infecção pode variar de acordo com a região, devido aos hábitos culturais como a frequência e o tipo de carne ingerida pela população (Cook *et al.* 2000, Dubey *et al.* 2005, Millar *et al.* 2008b).

No município de Rio Bonito, RJ Casartelli (2009) isolou *T. gondii* em tecidos de frangos em criações extensivas, demonstrando assim que a ingestão da carne desses animais poderia ser considerada como fonte de infecção para o ser humano e outros animais daquela localidade. No entanto, o presente estudo, assim como nos de Araújo e colaboradores (2000) e Daguer e colaboradores (2004) foram encontrados resultados que demonstraram frequência de soros reagentes mais

elevada nos indivíduos que não consumiam carne crua ou mal passada, o que pode ter ocorrido ao acaso.

A conscientização da importância do uso de EPI vem crescendo em instituições de ensino e pesquisa, com a criação de Comissões, materiais didáticos e cursos. Na literatura, não encontramos estudos que abordassem a questão. Na análise feita nesta pesquisa, não foi encontrada correlação do uso de EPI com a protozoose, mas sabe-se que a utilização de luvas, além da lavagem das mãos com água e sabão após a manipulação de animais, pode reduzir a possibilidade de infecção pelo *T. gondii* (Dubey 1996) e de outras infecções. O risco de contaminação dos profissionais da área de saúde ao manipular animais, secreções e carcaças é grande. Nestes, podem estar presentes uma grande variedade de microorganismos patogênicos, com diferentes graus de patogenicidade, deste modo, faz-se necessário o uso dos EPI para que se tenha uma total segurança do manipulador (NR6).

Outro problema detectado entre os universitários estudados foi o uso inadequado ou apenas parte do EPI necessário para sua proteção. Além da possibilidade da omissão na resposta sobre o uso adequado dos EPI pelos alunos. O Ministério do Trabalho e Emprego estabelece Normas Regulamentadoras, que determinam tanto ao empregador quanto ao empregado (ou usuário) as normas para a correta utilização dos EPI (NR6) sendo possível, desta forma, uma segurança física adequada e necessária para se manter a saúde do indivíduo.

As variáveis analisadas em nosso questionário epidemiológico, possivelmente, tiveram resultados inesperados que podem ser justificados por omissões dos universitários ou respostas socialmente aceitas. Isto pode ser explicado pelo medo da própria exposição ou mesmo por achar que prejudicariam a imagem da Universidade.

Para estudos que envolvam populações com diferentes origens, como universitários, devem ter questões referentes à suas condições sócio-econômicas, culturais e características ambientais da sua origem. Estas variáveis seriam fundamentais para o direcionamento das análises. Já que, possivelmente, estes fatores poderiam alterar as prevalências nos grupos estudados, em ambas as universidades.

A infecção toxoplásmica, além de ter abrangência mundial, atinge diversos níveis sócio-econômicos. O principal e mais grave fator de risco desta protozoose

parece ser a desinformação e a falta de infraestrutura básica (Bahia-Oliveira *et al.* 2003, Bonna 2007) . Ao serem conduzidos estudos com uma população que chega ao ensino superior, mais clara fica esta questão, uma vez que a prevalência neste extrato populacional tem sido, pelo menos no presente estudo, menor do que em outros estudos realizados em populações de baixa renda (Bahia-Oliveira *et al.* 2003, Lopes 2009). Outro importante destaque, visto nesta pesquisa, foi a importância do uso adequado de EPI para prevenção desta e de outras infecções, nas mais variadas atividades de trabalho e ensino, como indicado pela Normativa 6 do MTE.

7- CONCLUSÃO

- ❖ A frequência de universitários soros reagentes para a toxoplasmose nas duas Universidades do Rio de Janeiro foi baixa (21,81%). A idade foi um fator que contribuiu para o aumento da prevalência de IgG anti-*T. gondii*, em ambos os grupos estudados.
- ❖ A ocorrência de anticorpos IgM anti- *T.gondii* encontrada nos alunos do Grupo Controle foi superior à encontrada no da Medicina Veterinária. O mesmo ocorreu com os resultados de IgG anti- *T. gondii*, nestes universitários.
- ❖ A idade e o conhecimento sobre a profilaxia da toxoplasmose influenciaram na prevalência da infecção por *T. gondii*. No caso do Grupo Controle, a exposição aos fatores de risco parece anteceder ao ingresso dos alunos na universidade.
- ❖ A origem dos universitários, com ênfase aos fatores sócio-econômicos e culturais, pode estar diretamente relacionada com a prevalência do IgG anti-*T. gondii* nos dois grupos estudados.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aleixo ALQC, Benchimol EI, Neves ES, Palhano Silva CS, Camillo-Coura L, Amendoeira MRR. Frequência de lesões sugestivas de toxoplasmose ocular em uma população rural do Estado do Rio de Janeiro. Rev Soc Bras Med Trop 2009;42 (2):165-169.

Amato-Neto V, Cotrim JX, Laus WC, Gomes COM. Nota sobre o encontro do *Toxoplasma gondii* em sangue destinado à transfusão. Rev Inst Med Trop São Paulo 1963; 5:68-69.

Amato-Neto V, Campos R, Baruzzi RG, Duarte MIS. *Toxoplasmosis*. Savier, São Paulo 1982;159.

Ambroise-Thomas P, Pelloux H. Toxoplasmosis – congenital and in immunocompromised patients: a parallel. Parasit Today 2000;9:61-63.

Amendoeira MRR. Tentativa de evidenciação de *Toxoplasma gondii* em saliva e/ou amígdalas em dois grupos de indivíduos do Rio de Janeiro. Aspectos sorológicos. IOC – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. (Dissertação de Mestrado em Ciências). 1980;82 pp.

Amendoeira MRR. Mecanismos de transmissão da toxoplasmose. Anais da Academia Nacional de Medicina, Rio de Janeiro 1995; 155(4):224-225.

Amendoeira MRR. Toxoplasmosis - Research Approach. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1997. (Suppl. I) Rt 06.

Amendoeira MRR, Costa T, Spalding SM. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. Revista Souza Marques 1999; 1(1):15-29.

Amendoeira MRR, Sobral CAQ, Teva A, Lima JN, Klein CH. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop 2003; 36(6): 671-676.

Amendoeira MRR. Epidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii*. Boletim da área de vigilância. Lab Toxoplasmose, Instituto Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Fevereiro 2010.

Amendoeira MRR, Camillo-Coura L. Uma breve revisão sobre toxoplasmose congênita. *Scientia Medica* 2010;20(1) (*in press*).

Apt W, Thiermann E, Niedmann G, Pasmanik S. *Toxoplasmosis*, Universidade do Chile, Santiago. 1973.163p.

Araújo FAP. Avaliação soropidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii*, Nicolle e Manceux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da Região da Grande Erechim, RS. Brasil, detectados através das Técnicas de Imunofluorescência Indireta e Imunoenzimática. Tese [Doutorado em Biologia Parasitária] – Instituto Oswaldo Cruz;1999.

Araújo FR de, Sarti EC, Crocci AJ, Seabra VMS, Amorim JH, Cusinato FQ, *et al*. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em estudantes de medicina veterinária de Campo Grande, MS, Brasil. *Ciência Rural* 2000; 30(6):1017-1019.

Arias ML, Reyes L, Chinchilla M, Linder E. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa) in meat producing animals in Costa Rica. *Rev Biol Trop* 1994;42:15-20

Backt FR, Gentry LO. Toxoplasmosis in pregnancy: an emerging concern for family physicians. *Am Fam Physician* 1992;45: 1683 – 90.

Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2003;9(1):55-62.

Barbosa, IR. Estudo epidemiológico da toxoplasmose em gestantes atendidas na maternidade escola Januário Cicco, Natal, Rio Grande do Norte. Dissertação [Mestrado em Ciências Biológicas] – Universidade Federal do Rio Grande do Sul;2008.

Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carme B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case-control study in France. *Scandinavian Journal of Infections Diseases*, Oslo 1999;31:305-309.

Beverley JKA. Toxoplasmosis. *Br Med J*. 1973;2: 475–478.

Boia MN, Carvalho-Costa FA, Sodré FC et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among indian people living in Iauareté, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2008;50:17-20.

Bonametti AM, Passos JN, Silva EMK, Macedo ZS. Probable transmission of acute toxoplasmosis through breast feeding. *J Trop Pediatrics* 1997;43: 116.

Bonna ICF, Figueiredo FB, Costa T, Vicente RT, Santiago CAD, Nicolau JL, et al. Estudo soropidemiológico por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. *R Bras Ci Vet* 2006;13(3):186-9.

Bonna ICF. Estudo eco-epidemiológico, sorológico e clínico da infecção por *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em região rural do município de Barra Mansa, RJ (2004-2006). Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas da FIOCRUZ, 2007.

Bueno WF. Perfil, conhecimento e comportamento preventivo para toxoplasmose em gestantes atendidas pelo PEPES/toxoplasmose/IPEC, 2005-2007. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas da FIOCRUZ, 2008.

Camargo ME, Leser PG, Leser, WSP. Diagnostic information from serological tests in human toxoplasmosis: Evolutive study of antibodies and serological patterns in acquired toxoplasmosis is detected by hemagglutination, complement fixation. IgG and IgM immunofluorescence tests. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1976;18 (4):215–226.

Camargo ME, Da Silva SM, Leser PG, Granato CH. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. *Rev Int Med Trop São Paulo* 1991;33: 213–218.

Camargo MCV, Antunes CMF, Chiari CA. Epidemiologia da Infecção por *Toxoplasma gondii* no município de Ribeirão das Neves, MG. Importância dos animais domésticos como fonte de infecção do *T. gondii* para o homem. *Ver Soc Bras Med Trop* 1995;28(3):211-214.

Cantos GA, Prando MD, Siquiera MV, Teixeira RM. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. *Rev da Ass Med Bras* 2000; 46(4):335-41.

Casartelli LA. Ocorrência de toxoplasmose em *Gallus gallus domesticus* criadas extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas da FIOCRUZ, 2009.

Coelho RA, Kobayaashi M, Carvalho Jr LB. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. Rev Inst Med Trop São Paulo 2003;45(4):229-31.

Colombo FA, Vidal JE, Oliveira ACP, de Hernandez AV, Bonasser Filho F, Nogueira RS, *et al.* Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: importance of molecular and immunological methods using peripheral blood samples. J Clin Microbiol 2005;43:5044-7.

Comissão Técnica de Biossegurança da Fiocruz (CTBio – Fiocruz). Procedimentos para a manipulação de microorganismos patogênicos e/ou recombinantes na Fiocruz. Nov 2005.

Contreras M, Schenone H, Salinas P, Sandoval L, Rojas A, Villarroel F, Solis F. Seroepidemiology of human toxoplasmosis in Chile. Rev Inst Med Trop São Paulo 1996;38(6): 431-451.

Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum W, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. British Med J 2000;321:142-7.

Coutinho SG, Lobo R, Dutra G. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. J Parasitol 1982; 68(5):866-8.

Coutinho SG, Vergara TRC. Toxoplasmose: In: Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. 1. ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan;2005:815-32.

D'Agostino LE. Diagnóstico serológico de toxoplasmosis. Actualización. Acta Bioquím Clin Latinoam 1994;28(3):399-403.

Daguer H, Vicente RT, Costa T, Virmond MP, Hamann W, Amendoeira MRR. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. Ci Rural 2004;34(4):1133-1137.

Dean JA, Coulombier D, Smith DC, Brendel KA, Arner TG, Dean AG: Epi-Info, Version 6.04b, Atlanta, CDC, 1997. [Acesso em 20 maio 2010]. Disponível em: www.cdc.gov

Dubey JP, Frenkel JF. Cyst induced Toxoplasmosis in cats. *J Protozool* 1972;19(1):155-77.

Dubey JP. Toxoplasmosis in cats. *Feline Pract* 1986;(16):12 – 45.

Dubey JP. Long-term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. *Am J Vet Res, Am Vet Med Ass* 1988;49(6):910-13.

Dubey JP, Beattie CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton, FL CRC Press; 1988.

Dubey JP. Toxoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc* 1994;205(11):1593-8.

Dubey JP. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. *Vet Parasitol* 1996;64:65-70.

Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii* *Int J Parasitol* 1998; 28:1019-24.

Dubey JP, Navarro IT, Sreekumar C, Dahl E, Freire RL, Kawabata HH, et al. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brazil: Seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. *J Parasitol* 2004;90(4):721-6.

Dubey JP, Hill DE, Jones JL, Hightower AW, Kirkland E, Roberts JM, et al. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers. *J Parasitol* 2005;91(5):1082-93.

Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii* – The first 100 years. *J. Eukaryot Microbiol* 2008;55(6):467-75.

Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol* 2008;38:1257-78.

Fernández F, Ouviaña G, Clot E, Fernandes Guido R, Codoni C. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats in the western part of great Buenos Aires, Argentina, 1993. *Vet Parasitol* 1995;59(1):75-9.

Fialho CG, Araújo FAP. Comparação entre os testes de imunofluorescência indireta e indireta para a detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de suínos. *Acta Sci Vet* 2002;30:185-9.

Fialho CG, Araújo FAP. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região da grande Porto Alegre-RS, Brasil *Ci Rural* 2003; 33(5):893-97.

Figueiredo HR, Favero S, Amendoeira MRR, Cardozo C. Inquérito soropidemiológico para toxoplasmose e avaliação dos condicionantes para sua transmissão em universitários de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Sci Med* 2010;20(1) (*in press*).

Frenkel JK. Advances in the biology of sporozoa. *Z Parasitenkd* 1974 45: 125 – 162.

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Oliveira RC. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. *Ci Rural* 1999;29:91-7.

Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim Health Res Rev* 2005;6(1):41-61.

Hiramoto RM, Mayrbaurl-Borges M, Galisteo Jr AJ, Meirelles LJ, Macre MS, Andrade Jr HF. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. *Ver Saúde Pub* abr 2001; 35(2):113-118.

Hohifeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *J Med* 1994; 331: 695-699.

Horio M, Nakamura K, Shimada M. Risk of *Toxoplasma gondii* infection in slaughterhouse workers in Kitakyushu City. J Univ Occup Environ Health 2001; 23(3):233-243.

Jakubek EB, Lundén A, Aggla A. Seroprevalences of *Toxoplasma gondii* and *Neospora sp.* Infections in Swedish horse. Vet Parasit 2006;138:194-9.

Jamra LMF. Contribuição para a epidemiologia de toxoplasmose. Inquérito em 100 famílias de uma área da cidade de São Paulo. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Tese de Doutorado), 1964;96pp.

Jones J, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R. Congenital Toxoplasmosis: a review. Obstet Gynecol Surv 2001; 56(5):296-305.

Kompalic-Cristo A, Britto C, Fernandes O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. J Bras Patol Med Lab 2005;41(4):229-35.

Langoni H, Silva AV, Cabral KG, Cunha ELP, Cutolo AA. Prevalence of toxoplasmosis in cats from São Paulo and Paraná States. Braz J Vet Res Anim Sci 2001;38(5):243-4.

Leão PRD, Meirelles Filho J, Medeiros SF. Toxoplasmose: soroprevalência em puérperas atendidas pelo Sistema Único de Saúde. Rev Bras Ginecol Obstet 2004; 26(8):627-32.

Lopes FMR, Mitsuka-Bregano R, Gonçalves DD, Freire RL, Karigyo CJT, Wedy GF. Factors associated with seropositivity for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women of Londrina, Parana, Brazil. Mem Inst Osw Cruz 2009;104:378-2.

Luciano DM. Soroepidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais de produção e em funcionários de abatedouros e propriedades rurais do Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado em Medicina Tropical] – Instituto Oswaldo Cruz; 2009.

Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in Aids. Clin Infect Dis 1992;15: 211–222.

Martins MC, Silveira CM, Jamra LMF, Barros PM, Belford JR, Rigueiro MP, Neves RA. Isolamento de *Toxoplasma gondii* de carnes e derivados, provenientes de região endêmica de toxoplasmose ocular – Erechin – R.S . Arq Bras Oftal 1990;53:60 – 66.

Mc Culloch WF, Braun JL, Heggen DW, Top FH. Studies on medical and veterinary students skin tested for toxoplasmosis. Public Health Rep 1963; 78:689-98.

Melamed J. *Retinocoroidite Toxoplásmica*. Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. (Tese de Doutorado) 1991;210pp.

Millar PR. Soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em trabalhadores de um matadouro-figorífico na cidade de Palmas, Paraná, Brasil. Niterói. Dissertação [Mestrado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal] – Universidade Federal Fluminense; 2005.

Millar PR, Daguer H, Vicente RT, Costa T, De Carli AL, Sobreiro LG, Amendoeira MRR. Soroprevalência de anticorpos anti-Toxoplasma gondii em trabalhadores de um matadouro de suínos e em indivíduos com outras atividades na cidade de Palmas, Paraná, Brasil. Ciência Rural 2007;37: 292-295.

Millar PR. Epidemiologia da Toxoplasmose: Avaliação sorológica de aves de corte e postura produzidas em diferentes tipos de criação na mesoregião metropolitana do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Niterói. Tese [Doutorado em Higiene Veterinária e Processamento Tecnológico de Produtos de Origem Animal] – Universidade Federal Fluminense; 2008.

Millar PR, Sobreiro LG, Bonna ICB, Amendoeira MRR. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. Semin, Cienc Agrar 2008a;29(3):693:706.

Millar PR, Daguer H, Vicente RT, Costa T, Sobreiro LG, Amendoeira MRR. *Toxoplasma gondii*: estudo soro-epidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. Pesq Vet Bras, 2008b; 28(1):15-18.

Ministério do Trabalho e Emprego - Norma Regulamentadora 6 (NR6) [Homepage na internet]. [Acesso em 9 maio 2010]. Disponível em: http://www.mte.gov.br/legislacao/normas_regulamentadoras/nr_06.pdf

Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. The Lancet 2004;363:1965-76.

Moura MA, Amendoeira MRR, Barbosa. Primary culture of intestinal epithelial cells as a potential model for *Toxoplasma gondii* enteric cycle studies. Mem Inst Oswaldo Cruz 2009;10(6):862-4.

Navarro IT, Vidoto O, Giraldo N, Mitsuka R. Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em linguiça de suínos. Bol of Sanit Panam 1992;112(2):138-43.

Neves ES, Bicudo LN, Curi AL, Carregal E, Bueno WF, Ferreira RG, et al. Acute acquired toxoplasmosis: clinical-laboratorial aspects and ophthalmologic evaluation in a cohort of immunocompetent patients. Mem Inst Oswaldo Cruz 2009;104(2):393-396.

Nicolle C, Manceaux L. Sur un Protozoaire nouveau du Gongi. Compt Rend Acad Sci 1909;148:369-72.

Nicolle C, Manceaux L. On a new protozoan in gundis (*Toxoplasma* N. Gen). Mem Inst Oswaldo Cruz 2009;104(2):1-3.

Osório MR, Garcia VC, Maldonado JL, Gonzalez FP. Seroepidemiologia de la toxoplasmosis I- Estudio realizado em sueros humanos por la tecnica de inmunofluorescencia indirecta. Rev Iber Parasitol 1977;37:123-132.

Quites HF de Oliveira. Fatores associados à infecção com *Toxoplasma gondii* em comunidade rural do Vale do Jequitinhonha, Minas Gerais. Dissertação [Mestrado em Enfermagem e Saúde] - Universidade Federal de Minas Gerais;2009.

Remington JS. Chronic Toxoplasma in the adult. Bull Ny Acad Med 1974;50: 211 – 227.

Rey LC, Ramalho ILC. Soroprevalência da toxoplasmose em Fortaleza, Ceará, Brasil. Rev Inst Med Trop S Paulo. 1999; 41(3):171-74.

Riemann HP, Brant PC, Franti CE, Reis R, Buchanan AM, Stormont C, et al. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Coxiella burnetii* among students and other personnel in veterinary colleges in California and Brazil. Am J Epidemiol 1974;100:197-208.

Roberts T, Murrell KD, Marks S. Economic losses caused by Foodborne Parasitic Diseases. Parasitol Today 1994; 10 (11):419-23.

Sánchez RM, Castilho FC, Grana, JP. Comparación de ELISA com las técnicas de inmunofluorescência indirecta y fijación del complemento para el diagnóstico de la toxoplasmosis. Rev Cub Med Trop 1985;37: 269 – 277.

Schenurrenberger PR, Tjalma RA, Wentworth FH, Wentworth BB. An association of human reaction to intradermal toxoplasmin with degree of animal contact and rural residence. *Am J Trop Med Hyg* 1964;13:281-86.

Sobral CAQ. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em populações de três etnias indígenas brasileiras com diferentes graus de aculturação aspectos epidemiológicos. Rio de Janeiro. Dissertação [Mestrado em Biologia Parasitária] – Instituto Oswaldo Cruz; 2002.

Sobral CAQ, Amendoeira, MRR, Teva A, Patel BN, Klein CH. Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous brazilian populations. *Am J Trop Med Hyg* 2005;72(1):37-41.

Souza, WJS, Coutinho SG, Lopes CWG, Santos CS, Neves NM, Cruz AM. Epidemiological aspects of toxoplasmosis in schoolchildren residing in localities with urban or rural characteristics within the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1987;82(4):475-482.

Spalding SM. Acompanhamento de gestantes com risco de transmissão de infecção congênita por *Toxoplasma gondii*, Nicolle & Manceaux, 1909-diagnóstico e aspectos epidemiológicos. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Biologia Parasitária]- Instituto Oswaldo Cruz; 2000.

Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. Prospective study of pregnant women and babies with risk of congenital toxoplasmosis in municipal district of Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras de Med Trop* 2003;31(4): 483-91.

Spalding SM, Amendoeira MRR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005;38(2):173-7.

Splendore A. Sur un nouveau Protozoaire parasite du lapin (Deuxième note préliminaire) *Bull Soc Pathol Exot* 1908; 2:462-5.

Splendore A. A new protozoan parasite of rabbit found in histological lesions similar to human Kala-Azar. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009a;104(2):1-2.

Splendore A. On a new protozoan parasite of rabbits. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009b;104(2):1-2.

Stata Corp: Stata software, College Station, Texas, 2009.

Svoboda M, Svobodova V. Effects of breed, sex, age, management and nutrition on the incidence of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs and cats. *Acta Veterinaria (Brno)* 1987;56(3):315-30.

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 2000;30(12-13): 1217-1258.

Tenter AM. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;104(2):364-9.

Uchôa CMA. Toxoplasmose: tentativa de detecção do parasito em saliva e sangue de pacientes HIV positivos-aspectos sorológicos e epidemiológicos. Rio de Janeiro. Tese [Mestrado em Ciências em Biologia Parasitária]- Instituto Oswaldo Cruz; 1996.

Uchôa CMA, Duarte R, Laurentino-Silva V, Alexandre GMC, Ferreira HG, Amendoeira MRR. Padronização de ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de Imunofluorescência Indireta. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999;32(6):661-9.

Van Knapen FV. *Immunodiagnosis of Toxoplasmosis*. Drukkerij Veenmam V. Wageningen 1984.

Wainwright KE, Miller MA, Barr BC, Gardner IA, Melli AC, Essrt T, *et al* Chemical inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts in water. *J Parasitol* 2007;93(4):925-31.

Watson WA. Toxoplasmosis in human and veterinary medicine. *Vet Rec* 1972;91:254-58.

Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in pregnancy. *Clin Infect Dis* 1994;18:853–862.

Yuan Z, Gao S, Liu Q, Xia X, Liu X, Liu B *et al.* *Toxoplasma gondii* antibodies in cancer patients. *Cancer Letters* 2007;254:71-4.

Zimmermann WJ. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among veterinary college staff and students, Iowa State University. Public Health Reports 1976; 91:526-32.

9- ANEXOS

9.1 Anexo 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título: SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA EM ALUNOS DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DE UNIVERSIDADES DO RIO DE JANEIRO.

Coordenadoras do Projeto: Dra Maria Regina Reis Amendoeira e Regiane Trigueiro Vicente.

Eu, _____ fui informado(a) que este estudo é para obter mais conhecimentos sobre a toxoplasmose.

A minha participação será para retirar sangue para testes sorológicos e se necessário, no caso de infecção aguda, serei orientado para receber ajuda médica em um Serviço de Infectologia, assim como fornecer dados sobre alguns dos meus hábitos e costumes.

Os resultados deste estudo me beneficiarão diretamente, assim como, no futuro poderão beneficiar outras pessoas que venham adquirir a infecção por *Toxoplasma gondii*.

O procedimento será o seguinte: será coletado um volume de cinco a dez mL de sangue por punção da veia do antebraço, podendo em algum outro momento da pesquisa ser solicitada uma nova coleta de material.

Possíveis riscos e desconforto, se ocorrerem, relacionados à coleta de sangue, serão aqueles como dor local e/ou hematoma (roxidão no local de punção), estes apresentarão duração de três a cinco dias.

Todos os cuidados apropriados serão tomados, dentro das normas de biossegurança, como uso de seringas e agulhas estéreis e descartáveis, gaze descartável e álcool para assepsia local, entre outros.

A retirada de sangue poderá ser feita por um (a) médico (a), um (a) enfermeiro (a) ou técnico (a) habilitado (a) para este tipo de trabalho, da Fundação Oswaldo Cruz ou da Universidade relacionada.

Os resultados deste estudo serão relatados à minha pessoa e considerados confidenciais, podendo os mesmos ser divulgados na forma de comunicação científica, entretanto, não será permitido a minha identificação, garantindo a minha privacidade.

O material biológico coletado, após os exames, será estocado, podendo ser usado posteriormente, em outras pesquisas com fins semelhantes mas somente após uma nova avaliação pela Comissão de Ética em Pesquisa, que poderá dispensar a assinatura de um novo termo de consentimento livre e esclarecido, portanto mantendo sempre o sigilo da minha identidade.

O médico(a) e/ou pesquisador(a) responsável esclareceu(ram) todas as informações aqui citadas, estando a disposição para atender minhas perguntas sempre que eu tiver novas dúvidas. Também tenho toda liberdade para contatar os demais professores envolvidos neste estudo.

A minha participação neste projeto é inteiramente voluntária, e sou livre para recusar a participação, ou retirar-me em qualquer fase da pesquisa, sem que isto possa afetar ou prejudicar-me.

Recebi uma cópia deste termo de consentimento, e pelo presente, consinto voluntariamente em participar deste estudo, permitindo que os procedimentos descritos acima sejam realizados em minha pessoa.

Assinatura: _____ RG.: _____

Testemunha: _____ RG.: _____

Pesquisador assinante: _____

Data: ____/____/____

(Telefones para contato: Dra Regina Amendoeira ou Regiane Trigueiro-2562 4418- Fiocruz).

9.2 Anexo 2

Questionário epidemiológico para Toxoplasmose

Projeto: SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA EM ALUNOS DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DE UNIVERSIDADES DO RIO DE JANEIRO.

1- Nome: _____

N.º _____

2- Sexo: ()M ()F 3- Data de nascimento: ____ / ____ / ____

4- Naturalidade: _____ Cidade: _____ Estado: ____ País: _____

5- Ocupação (Curso): _____

6- Endereço: Rua _____

Nº _____ complemento: _____ Bairro: _____

Município: _____ Cidade: _____ Cidade de origem: _____

7- Você tem hábito de mexer com terra? ()Sim ()Não ()As vezes

a) Quando isso acontece, você lava as mãos? ()Sim ()Não ()As vezes

8- Costuma encontrar fezes de gatos nessa terra? ()Sim ()Não ()Não sabe

9- Há gatos em sua residência? ()Sim ()Não a) Quantos? (_____)

b) Vivem: ()Só dentro de casa ()Dentro e fora de casa ()Só fora de casa

10- Seu gato come carne crua ou caça? ()Sim ()Não ()Não Sabe

11- Você teve contato com gatos fora de sua residência? ()Sim ()Não.

E na Faculdade? ()Sim ()Não

12- Você bebe água: a) ()Filtrada ()Não filtrada ()Fervida ()Outros.

b) E na faculdade? _____

13- Você observou a presença de animais próximos ao local de captação de água:

()Sim ()Não. Quais? _____

14- Você ingere hortaliças (verduras) cruas: ()Sim ()Não. Qual? _____

15- a) Você ingere leite? ()Sim ()Não

b) Que tipo? ()Pasteurizado ()Não pasteurizado ()Fervido ()Cru ()Caixa

16- Você consome carne crua ou mal cozida? ()Sim ()Não

17- Qual tipo de carne costuma consumir?

()Bovina ()Suína ()Carneiro ()Frango ()Pato ()Cabra ()Outra

18- Costuma consumir: ()Churrasco mal passado ()Presunto cru ()Lingüiça crua

()Queijo da roça ()Alimentos crus ()Frutas sem lavar.

DADOS ACADÊMICOS:

19- Faculdade/Universidade: _____

20- Curso: _____ Turma: _____ Período: _____

Ano de ingresso: _____

21- Contato com a parte clínica com animais? () Sim () Não () Às vezes

22- Qual(is) a(s) espécie(s) animal(is) que manipula? _____

23- Qual(is) a(s) área(s) da veterinária e espécie(s) animal(s) na(s) qual(is) faz estágio? _____ / _____

24- No *campus* da faculdade encontram-se animais livres? () Sim () Não

Quais? _____

25- Como é a limpeza do *campus* (lixos ou resto de comida exposta)?

() Ruim () Regular () Boa () Ótima

26- Existem fezes de animais (principalmente de gatos) no chão? () Sim () Não

27- Você mantém algum contato com o solo do *campus*? () Sim () Não

28- Utiliza, nas aulas práticas, equipamentos de proteção individual ?

() Não () Sim

a) Com que frequência? () Sempre () Às vezes.

b) Quais? _____

A infecção por *Toxoplasma gondii*.

29- Você sabe o que é toxoplasmose? () Sim () Não

30- Você sabe como se adquire a infecção? () Sim () Não

31- Quais as medidas de prevenção que você conhece para evitar a infecção por *T.gondii*?

32- Você já teve a infecção por *T. gondii*? () Sim () Não

a) Quando? () Menos de um mês () Entre um a dois meses () Mais de dois meses

33- Ficou sabendo pelo resultado de sorologia específica? () Sim () Não

34- Apresentou IgM reagente? () Sim () Não () Não se lembra

9.3 Anexo 3



Comitê de Ética em Pesquisa

PARECER CONSUBSTANCIADO – 014/2009

Protocolo 0015.0.009.000-09

1. Identificação:

Título do Projeto: "Métodos de prevenção da infecção toxoplásmica adquirida por alunos do curso de veterinária de universidades do Rio de Janeiro".
Pesquisadora Responsável: Dra. Maria Regina Reis Amendoeira (IOC).
Mestranda: Regiane Trigueiro Vicente (IPEC).
Instituição Responsável: Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ.
Data de Apresentação ao CEP: 03/03/2009.

2. Sumário:

Visa a analisar soroepidemiologicamente a ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em universitários, nos diferentes períodos acadêmicos, de medicina veterinária em duas instituições de ensino do Rio de Janeiro e fazer a prevenção primária para o controle da infecção pelo protozoário, por meio das normas de Biossegurança. Serão convidados a participar do estudo todos os alunos de veterinária de todos os períodos, espera-se a adesão de cerca de 60 estudantes em cada um deles, de um total de 8 a 16 períodos (ciclo básico e profissional) e todos universitários de um outro curso (teórico, por exemplo administração, comunicação, direito entre outros – grupo controle) na mesma proporção de alunos do curso de veterinária, que será o grupo controle, e duas universidades situadas no estado do Rio de Janeiro. Serão utilizadas no estudo duas universidades (já foram contatadas, a Universidade Federal Fluminense e a Universidade Castelo Branco) que possuem cursos de medicina veterinária e cursos teóricos (que servirão de controle do Campus). Uma delas possuirá "fazendinha" no Campus e uma, que servirá de controle, sem "fazendinha", ou seja, sem área.

3. Observações Gerais: (Atendendo à Resolução CNS 196/96).

Projeto com delineamento adequado. O termo de consentimento livre e esclarecido foi elaborado em linguagem acessível ao sujeito da pesquisa. O recurso financeiro para o desenvolvimento deste projeto será de responsabilidade do Laboratório de Toxoplasmose do Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz.

4. Diligências:

Sim. Foram satisfeitas.

5. Parecer: APROVADO.

Data: 07 de maio de 2009.

Assinatura do Coordenador:

Lea Cavallari
 Coordenadora do Comitê
 de Ética em Pesquisa
 IPEC / FIOCRUZ

9.4 Anexo 4

TERMO DE COMPROMISSO E RESPONSABILIDADE

Eu, **Regiane Trigueiro Vicente**, uma das coordenadoras do projeto intitulado **“SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA EM ALUNOS DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DE UNIVERSIDADES DO RIO DE JANEIRO”** comprometo manter a confidencialidade assim como a privacidade dos participantes do projeto.

A identidade dos participantes, assim como os resultados obtidos com este projeto, serão mantidos em um banco de dados sob minha responsabilidade.

Os resultados obtidos com esta pesquisa serão divulgados em comunicações científicas mantendo o anonimato dos participantes. O material coletado não será empregado em outras pesquisas a não ser quando abertos novos protocolos e após avaliação pela Comissão de Ética em Pesquisa, não sendo, portanto, necessária a assinatura de um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Rio de Janeiro, 07 de fevereiro de 2009.

9.5 Anexo 5

TERMO DE COMPROMISSO E RESPONSABILIDADE

Eu, **Maria Regina Reis Amendoeira** coordenadora do projeto intitulado **“SOROEPIDEMIOLOGIA DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA EM ALUNOS DO CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA DE UNIVERSIDADES DO RIO DE JANEIRO”** comprometo manter a confidencialidade assim como a privacidade dos participantes do projeto.

A identidade dos participantes, assim como os resultados obtidos com este projeto, serão mantidos em um banco de dados sob minha responsabilidade.

Os resultados obtidos com esta pesquisa serão divulgados em comunicações científicas mantendo o anonimato dos participantes. O material coletado não será empregado em outras pesquisas a não ser quando abertos novos protocolos e após avaliação pela Comissão de Ética em Pesquisa, não sendo, portanto, necessária a assinatura de um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Rio de Janeiro, 07 de fevereiro de 2009.

9.6 Anexo 6

<p style="text-align: center;">O QUE É TOXOPLASMOSE?</p> <p>É uma zoonose (doença que acomete animais e humanos), causada por um protozoário chamado <i>Toxoplasma gondii</i>. Na maioria das vezes os sintomas são leves ou passam despercebidos, mas podem ocorrer complicações severas em alguns casos.</p> <p style="text-align: center;">TRANSMISSÃO Como a infecção é adquirida?</p> <ul style="list-style-type: none"> • Comendo carnes cruas ou mal cozidas. • Bebendo leite cru e comendo ovos crus ou mal cozidos. • Bebendo água contaminada com formas resistentes do parasita. • Levando à boca mãos sujas de terra ou de areia. • Comendo hortaliças, frutas e legumes crus sem lavar. • Transmissão da mãe com infecção aguda para o feto, durante a gravidez. • Raramente por transfusões de sangue e transplantes. 	<p style="text-align: center;">TRATAMENTO</p> <ul style="list-style-type: none"> • Somente o médico poderá avaliar se é necessário tratar a infecção. • Quando o tratamento tiver que ser feito, um médico experiente deve acompanhar o paciente. <p style="text-align: center;">COMPLICAÇÕES</p> <ul style="list-style-type: none"> • A pessoa com toxoplasmose pode desenvolver sintomas leves que na maioria das vezes não são percebidos. • Na fase aguda da doença pode ser confundida com uma gripe, podendo aparecer dor de cabeça, mal estar, febre, dores musculares, dores nas articulações, cansaço, irritação, e ainda, inguinas na região das axilas, virilha e na região do pescoço. • Em alguns casos podem ocorrer alterações visuais com redução ou até mesmo perda da visão. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se a mulher se infecta durante a gravidez pode, em alguns casos, passar para o feto e causar lesões graves no bebê. <p style="text-align: center;">TOXOPLASMOSE E IMUNIDADE</p> <ul style="list-style-type: none"> • Em pacientes com sérios problemas de imunidade (como em transplantados, em alguns tipos de câncer e nos pacientes com AIDS avançada ou não tratada), a toxoplasmose pode afetar o cérebro. <p style="text-align: center;">DIAGNÓSTICO</p> <ul style="list-style-type: none"> • O diagnóstico da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> se faz pela combinação dos exames clínicos e laboratoriais, principalmente por sorologia específica (exame feito no sangue).
<p style="text-align: center;">COMO EVITAR A INFECÇÃO POR <i>Toxoplasma gondii</i> ?</p> <ul style="list-style-type: none"> • Antes de comer, lavar com bastante água limpa frutas, legumes e hortaliças cruas. • Lavar muito bem as mãos antes de ingestão de qualquer alimento. • Lavar as mãos após o manuseio de terra, hortaliças, caixa de areia e animais. • Evitar a presença de gatos próximos a reservatório de água, das plantações de hortaliças, legumes e frutas. • Evitar a presença de moscas, baratas e formigas próximo a alimentos e água. • Cozinhar bem carnes, ferver o leite e não comer embutidos crus (por exemplo lingüiça) de procedência duvidosa. • A mulher grávida que se infectar durante a gestação deverá ser acompanhada por um infectologista para tentar evitar a transmissão do parasita ao seu bebê. 	<p>Em caso de manipulação de animais utilizar os seguintes EPIs:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Luva; - Jaleco; - Máscara; - Óculos <p>Lembre-se de que o <i>Toxoplasma gondii</i> é encontrado em fluidos biológicos, carcaças e tecidos de animais.</p> <p>PREVINA-SE SEMPRE!!!</p> <div style="text-align: center;">  <p>FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ Instituto Oswaldo Cruz Laboratório de Toxoplasmose</p> </div>	<p style="text-align: center;">TOXOPLASMOSE: UM RISCO EM POTENCIAL</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>Os indivíduos infectados com o <i>Toxoplasma gondii</i> podem ser encontrados em todas as partes do mundo.</p> <p>No Brasil, cerca de 70% da população adulta já teve contato com o parasita, sendo que a maioria dos casos sem sintomas aparentes.</p> <p>Esta infecção é comum tanto nas pessoas quanto em animais, entre mamíferos e aves.</p> <p>As fezes de pombo não são importantes para transmissão do parasita.</p> <p>O gato doméstico e outros felídeos selvagens são os únicos hospedeiros definitivos da infecção.</p>