

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

**Fundação Oswaldo Cruz**

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

LUCIANA CASARTELLI ALVES

**OCORRÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* EM  
*Gallus gallus domesticus* CRIADOS EXTENSIVAMENTE  
PARA O CONSUMO HUMANO NO MUNICÍPIO DE RIO  
BONITO, RIO DE JANEIRO, BRASIL**

Rio de Janeiro

2009

**Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em *Gallus gallus domesticus* criados extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil**

LUCIANA CASARTELLI ALVES

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do grau de mestre em Ciências em 2009.

Orientador: Dr. Rodrigo Caldas Menezes  
Co-orientadora: Dra Tânia Maria Valente Pacheco

Rio de Janeiro

2009

LUCIANA CASARTELLI ALVES

**Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em *Gallus gallus domesticus* criados extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil**

Dissertação apresentada ao curso de mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas para obtenção do grau de mestre em Ciências em 2009.

Orientadores: Dr. Rodrigo Caldas Menezes  
Dra. Tânia Maria Valente Pacheco

Aprovada em 04 / 12 / 2009.

BANCA EXAMINADORA

---

Profª Dra. Maria Regina Reis Amendoeira  
Doutora em Ciências Biológicas  
Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ

---

Profª Dra. Isabel Cristina Fábregas Bonna  
Doutora em Ciências  
Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ

---

Profª Dra. Teresa Cristina Bergamo do Bomfim  
Doutora em Ciências Veterinárias  
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Ficha catalográfica elaborada pela  
Biblioteca de Ciências Biomédicas/ ICICT / FIOCRUZ - RJ

A474

Alves, Luciana Casartelli.

Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em *Gallus gallus domesticus* criados extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil / Luciana Casartelli Alves. – Rio de Janeiro, 2009.  
xiii, 84 f : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2009.

Bibliografia: f. 50-64

1. *Toxoplasma gondii*. 2. Galinhas. 3. Bioensaio em camundongos. 4. Reação de imunofluorescência indireta. 5. Epidemiologia. I. Título.

CDD 615 372

Aos meus pais e irmão com carinho.

DEDICO.

Longe do estéril turbilhão da rua,  
Beneditino, escreve! No aconchego  
Do claustro, na paciência e no sossego,  
Trabalha, e teima, e lima, e sofre e sua!

(...)

Não se mostre na fábrica o suplício  
Do mestre. E, natural, o efeito agrade,  
Sem lembrar os andaimes do edifício.

Olavo Bilac

## AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me ajudado a chegar até aqui e por ter colocado todas as pessoas citadas abaixo em minha vida.

Ao meus orientadores, doutor Rodrigo Caldas Menezes que vem me acompanhando desde a graduação e a doutora Tânia Maria Valente Pacheco por acreditarem em mim, pela paciência e incentivo.

À doutora Maria Regina Reis Amendoeira do Laboratório de Toxoplasmose (LABTOXO) do Instituto Oswaldo Cruz pela colaboração no projeto, apoio e carinho.

Ao Leandro Batista das Neves, José Leonardo Nicolau, Rafaelle Soares Agra, Thamires Elizabete Alves da Silva e Eloíza Paula de Freitas Trindade do LABTOXO pelo apoio no bioensaio.

À professora doutora Patrícia Riddell Millar da Universidade Federal Fluminense pela atenção e pela realização dos exames sorológicos.

Ao doutor Fabiano Borges Figueiredo, anjo da guarda do projeto, sempre prestativo e ajudando a solucionar todos os problemas e a toda a equipe do Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses (LAPCLIN-DERMZOO) pelo apoio, amizade e brincadeiras nos momentos mais árduos, tornando as tarefas mais leves.

Às queridas amigas Regiane Trigueiro Vicente (LABTOXO) pela realização dos exames sorológicos e pelo apoio no bioensaio e Maíra Cruz de Holanda Cavalcanti (LAPCLIN-DERMZOO) também pelo apoio no bioensaio e principalmente pelo carinho, por sempre estarem do meu lado nos momentos mais difíceis e pela amizade que foi uma das melhores coisas que aconteceram no decorrer do curso.

À doutora Maria de Fátima Madeira do Laboratório de Vigilância em Leishmanioses por ter acolhido tão gentilmente nosso projeto, cedendo o espaço do laboratório para realização do bioensaio e a Celia de Fátima Santos Moreira, a Cibele Baptista, ao Sidnei Silva, a Fernanda Puga Camargo e demais membros da equipe desse Laboratório por serem sempre tão atenciosos.

Ao biólogo Luiz Cláudio Ferreira pela generosidade, amizade, dinamismo e ajuda em todas as viagens, sem o qual não seria possível realizar esse trabalho.

À doutora Raquel de Vasconcellos Carvalhaes de Oliveira pela análise estatística e pela infinita paciência.

Ao doutor Luiz Cláudio de Souza Abboud, idealizador do projeto inicial, e demais profissionais do Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman pela atenção.

À doutora Isabel Cristina Fábregas Bonna e aos demais membros do Centro de Experimentação Animal pela atenção, colaboração e por sempre estarem prontos para resolver todas as questões que levava ao biotério.

À Josilene Pedreira Andreia, Luciana Silva de Matos e a equipe do Departamento de Produção Animal do Centro de Criação de Animais de Laboratório pelo fornecimento dos camundongos.

Ao doutor Itamar Teodorico Navarro da Universidade Estadual de Londrina pelo envio do material educativo sobre toxoplasmose.

Ao Marcos Francisco Lucas de Almeida e Flavia Jorio do Serviço de Anatomia Patológica do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas pela colaboração.

À equipe da Pós-graduação do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas por ajudarem a solucionar todos os problemas e pela atenção.

A CAPES pelo apoio financeiro.

A todos que colaboraram de alguma forma com esse trabalho.

A minha família e aos meus amigos por todo carinho e apoio.

Alves, LC. **Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em *Gallus gallus domesticus* criados extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil.** Rio de Janeiro, 2009, 84f. Dissertação [Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

## RESUMO

As galinhas de criações extensivas são hospedeiros indicadores da contaminação ambiental por oocistos de *Toxoplasma gondii*, pois se alimentam no solo. No Rio de Janeiro, há relatos de alta prevalência de toxoplasmose em humanos, porém não há estudos na região das Baixadas Litorâneas. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi realizar o levantamento da ocorrência da infecção por *T. gondii* em galinhas domésticas criadas extensivamente para o consumo humano no município do Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil. Com essa finalidade, foi realizada a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* por meio de exame sorológico e também do parasito em tecidos dessas aves utilizando-se a técnica de bioensaio em camundongos. Para realização dos exames sorológicos foram utilizadas 234 galinhas provenientes de 24 criações extensivas de cinco bairros de Rio Bonito: Praça Cruzeiro, Cachoeira dos Bagres, Nova Cidade, Prainha e Boa Esperança. Amostras de sangue dessas aves foram coletadas para a realização de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para detecção de anticorpos anti-*T. gondii*. Além disso, os proprietários de cada criação responderam um questionário epidemiológico para estudo de associações entre variáveis e a infecção por *T. gondii* em galinhas pelo teste T, adotando  $p < 0,05$ . Foi encontrada uma prevalência de 25,9% de soro-reagentes para *Toxoplasma gondii* em galinhas. As frequências encontradas nos bairros pelo teste T ( $p < 0,05$ ) foram: 34,1% (15,5-52,6%) em Prainha; 23,8% (4,3-43,4%) em Nova Cidade; 23,8% (0-47,8%) em Cachoeira dos Bagres; 21,7% (0-47,2%) em Praça Cruzeiro e 14,3% (0-51,4%) em Boa Esperança. Os resultados dos exames e orientações sobre medidas preventivas foram passados aos proprietários. Houve associação significativa da presença de roedores e alimentação de gatos com vísceras cruas ou mal cozidas de galinhas com a positividade da RIFI para anticorpos IgG anti-*T. gondii* em galinhas pelo teste T. Uma outra amostra de trinta galinhas foi selecionada aleatoriamente nos bairros estudados para comparar a RIFI em relação ao bioensaio em camundongos. Amostras de sangue foram coletadas para realização da RIFI e em seguida, as galinhas foram submetidas à eutanásia. Durante a necropsia, foram coletados cérebro, coração e musculatura da coxa para preparo de suspensão e inoculação em camundongos. O parasito *T. gondii* foi isolado de oito galinhas com sorologia positiva e um não-reagente pela RIFI. Os resultados obtidos pela RIFI e bioensaio em camundongos indicam a contaminação ambiental na região e a possibilidade de infecção em humanos, caso a carne dessas aves seja ingerida crua ou mal cozida. A técnica de RIFI apresentou baixa sensibilidade e especificidade e valor *kappa* moderado (0,416) na amostra estudada, porém um número maior de amostras é necessário para confirmar esses resultados.

**Palavras-chave:** 1. *Toxoplasma gondii*. 2. Galinhas. 3. Bioensaio em camundongos. 4. Reação de imunofluorescência indireta. 5. Epidemiologia.

Alves, LC. **Occurrence of *Toxoplasma gondii* infection in *Gallus gallus domesticus* in free-range chickens for human consumption in county of Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brazil.** Rio de Janeiro, 2009, 84p. Dissertation [Master degree in Clinical Research in Infectious Diseases] – Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas.

## ABSTRACT

Free-range chickens are good indicators of environmental contamination by *Toxoplasma gondii* because they feed from the ground. Studies in Rio de Janeiro reported high prevalences of toxoplasmosis in humans, but there aren't informations about the region of Baixadas Litorâneas. The aim of survey was to investigate the occurrence of *Toxoplasma gondii* infection in free-range chickens (*Gallus gallus domesticus*) for human consumption in the county of Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brazil. Search of antibodies to *T. gondii* by serology and of the parasite in tissues of chickens by bioassay in mice was realized. Twenty four breedings from five districts in Rio Bonito were investigated: Praça Cruzeiro, Cachoeira dos Bagres, Nova Cidade, Prainha and Boa Esperança. A total of 234 blood samples was collected from free-range chickens and antibodies to *T. gondii* were assayed by Indirect fluorescent antibody test (IFAT). The owners answered a questionnaire. Statistical association between the serologic status and several variables were analyzed by T test, adopting  $p < 0,05$ . The *T. gondii* seropositivity found in chickens was 25.9%. The frequencies found by T test in districts were: 34.1% (15.5-52.6%) in Prainha; 23.8% (4.3-43.4%) in Nova Cidade; 23.8% (0-47.8%) in Cachoeira dos Bagres; 21.7% (0-47.2%) in Praça Cruzeiro and 14.3% (0-51.4%) in Boa Esperança. Owners received results of tests and information about preventive measures. The significant association was observed between presence of rodents and feeding of cats with raw or undercooked visceras of chickens with seropositivity in chickens by T test. For comparison of IFAT and bioassay in mice, a other sample of 30 free-range chickens were randomly selected in districts studied. Blood samples of each chicken were collected and then euthanasia was performed. During the necropsy, brain, heart and leg muscle were collected, pooled and bioassayed in mice. The parasite *T. gondii* was isolated from eight seropositive chickens and one nonreactive by IFAT. The results obtained by IFAT and bioassay in mice suggest environment contamination in studied region and the possibility of human infection by eating raw or undercooked meat of chickens. Sensitivity and specificity of IFAT were low and the agreement was moderate ( $kappa = 0.416$ ), but more samples are necessary to confirm this results.

**Keywords:** 1. *Toxoplasma gondii*. 2. Chickens. 3. Bioassay in mice. 4. Indirect fluorescent antibody test. 5. Epidemiology.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	1
1.1 TOXOPLASMOSE	1
1.2 HISTÓRICO	1
1.3 AGENTE ETIOLÓGICO: MORFOLOGIA, CICLO E EPIDEMIOLOGIA	3
1.4 TOXOPLASMOSE HUMANA	5
1.5 TOXOPLASMOSE EM ANIMAIS DOMÉSTICOS	7
1.6 TOXOPLASMOSE EM GALINHAS	8
1.7 DIAGNÓSTICO DO <i>Toxoplasma gondii</i> EM GALINHAS	13
1.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DO <i>Toxoplasma gondii</i> EM GALINHAS	15
<b>2. JUSTIFICATIVA</b>	16
<b>3. OBJETIVO GERAL</b>	17
3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
<b>4. METODOLOGIA</b>	18
4.1 LOCAL DE ESTUDO	18
4.2 INQUÉRITO SOROLÓGICO	18
4.3 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO	20
4.4 BIOENSAIO EM CAMUNDONGOS	21
<b>4.4.1 Cálculo da amostra</b>	21
<b>4.4.2 Aquisição das galinhas</b>	21
<b>4.4.3 Coleta de sangue e realização de eutanásia das galinhas</b>	22
<b>4.4.4 Processamento de material para realização do bioensaio em camundongos</b>	22
<b>4.4.5 Inoculação dos camundongos no biotério</b>	23

<b>4.4.6 Observação dos camundongos e pesquisa de cistos e taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i></b>	24
<b>4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA</b>	24
<b>4.6 ASPECTOS ÉTICOS</b>	25
<b>5 RESULTADOS</b>	26
<b>5.1 INQUÉRITO SOROLÓGICO</b>	26
<b>5.2 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO</b>	29
<b>5.3 BIOENSAIO EM CAMUNDONGOS</b>	33
<b>5.4 COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS</b>	39
<b>6 DISCUSSÃO</b>	40
<b>7 CONCLUSÕES</b>	49
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	50
<b>ANEXOS</b>	65
<b>ANEXO A - Mapa da Região das Baixadas Litorâneas</b>	66
<b>ANEXO B - Medidas preventivas para toxoplasmose</b>	68
<b>APÊNDICES</b>	76
<b>APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido</b>	77
<b>APÊNDICE B - Inquérito Epidemiológico</b>	80

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1:** Presença de gato em criação extensiva de galinhas localizada no bairro de Prainha, Rio Bonito, Rio de Janeiro. 30
- Figura 2:** Presença de taquizoítas de *T. gondii* e infiltrado inflamatório de células mononucleares em *squash* de líquido peritoneal de camundongo *Swiss Webster* submetido a técnica de bioensaio a partir de tecidos de galinha. Coloração: Panótico Instantâneo. Objetiva de 100x. 34
- Figura 3:** Presença de cistos de *T. gondii* em exame direto de fragmento de cérebro de camundongo *Swiss Webster* submetido a técnica de bioensaio a partir de tecidos de galinha. Objetiva de 100x. 35
- Figura 4:** Piloereção e distensão abdominal em camundongo *Swiss Webster* submetido à técnica de bioensaio e infectado por *T. gondii* 36

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Frequência de toxoplasmose em galinhas domésticas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ) provenientes de criações extensivas no mundo e métodos de diagnóstico utilizados.	11
<b>Tabela 2:</b> Frequência de toxoplasmose em galinhas domésticas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ) provenientes de criações extensivas no Brasil e métodos de diagnóstico utilizados.	12
<b>Tabela 3:</b> Frequências de anticorpos IgG anti- <i>T. gondii</i> por meio da reação de imunofluorescência indireta em 234 galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ) criadas extensivamente para consumo humano por bairros do município de Rio Bonito, estado do Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.	27
<b>Tabela 4:</b> Frequências dos títulos de anticorpos IgG anti- <i>T. gondii</i> por meio da reação de imunofluorescência indireta em 234 galinhas ( <i>Gallus gallus domesticus</i> ) criadas extensivamente para consumo humano por bairros do município de Rio Bonito, estado do Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.	28
<b>Tabela 5:</b> Frequências da variável abastecimento de água das 24 propriedades do município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.	31
<b>Tabela 6:</b> Frequências das variáveis presença e quantidade de gatos na propriedade ou vizinhança, acesso dos gatos às aves, água e alimentos oferecidos às aves e acesso dos gatos à horta nas 24 propriedades do município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.	32

- Tabela 7:** Títulos de anticorpos IgG anti-*T. gondii* obtidos pela reação de imunofluorescência indireta e isolados de *T. gondii* obtidos pela técnica de bioensaio em camundongos a partir de 30 galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, de maio a agosto de 2009. 37
- Tabela 8:** Isolamento de *T. gondii* em órgãos de camundongos submetidos à técnica de bioensaio utilizando tecidos de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, de maio a agosto de 2009. 38
- Tabela 9:** Resultados comparativos da reação de imunofluorescência indireta em relação ao bioensaio em camundongos para diagnóstico de toxoplasmose em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, de maio a agosto de 2009. 39

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TOXOPLASMOSE

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* que acomete mamíferos e aves. Essa doença possui importância em Saúde Pública por ser cosmopolita, acometer fetos e crianças pequenas, apresentar-se como infecção oportunista em casos de imunossupressão e por causar impactos econômicos na produção animal, principalmente devido às perdas por morte e aborto (Millar et al. 2008, Fialho et al. 2009).

## 1.2 HISTÓRICO

Nicolle e Manceaux relataram, em 1908, a presença de um protozoário no tecido de uma espécie de roedor africano (*Ctenodactylus gondi*) utilizado na pesquisa de leishmaniose no Instituto Pasteur na Tunísia, classificando-o como gênero *Leishmania*. Ainda no mesmo ano, no Brasil, Splendore isolou o mesmo parasito a partir de um coelho e o classificou no mesmo gênero que os primeiros autores. No ano seguinte, esses perceberam que se tratava de uma nova espécie, visto que não apresentava a organela característica dos tripanossomatídeos, o cinetoplasto, e classificaram-na como *Toxoplasma gondii* (Nicolle; Manceaux 2009, Splendore 2009a,b).

Janku (1923 apud Amendoeira et al. 1999) descreveu o primeiro caso humano de infecção por *T. gondii* em uma criança que apresentava hidrocefalia, microftalmia

e presença de parasitos num dos globos oculares, na Tchecoslováquia. No Brasil, o primeiro caso foi relatado por Torres (1927 apud Amendoeira et al. 1999) que encontrou, *post-mortem*, o coccídeo no cérebro e em vários órgãos de uma criança.

Posteriormente, o *Toxoplasma* passou a receber denominações de acordo com a espécie animal em que era encontrado tais como, *T. avium*, *T. cuniculae*, *T. caviae*, *T. hominis*, mas posteriormente chegaram a conclusão de que se tratava de uma única espécie: *Toxoplasma gondii* (Reis; Nóbrega 1936). Com o desenvolvimento do teste do corante por Sabin e Feldman (1948), o qual possui grande sensibilidade e especificidade em humanos, houve um incremento nos estudos epidemiológicos sobre a incidência de infecção (Dubey 2008).

Durante a década de 1960, foram relatados a evidência epidemiológica da transmissão da doença por ingestão de carne crua ou mal cozida e a hipótese e o reconhecimento da função epidemiológica do gato na transmissão da doença (Desmonts et al. 1965 apud Dubey 2008, Hutchison 1965, Wallace 1969, Munday 1972).

Nas décadas de 1980 e 1990 foram desenvolvidos métodos para identificação de diferenças genéticas entre isolados de *T. gondii* provenientes do homem e animais (Dubey 2008). Esses podem ser infectados pelos três tipos de linhagens de *T. gondii*: I, II e III, com uma maior frequência em humanos das linhagens I e II e em animais, pelas linhagens II e III. Esses tipos variam quanto à virulência nos camundongos heterozigotos, havendo uma maior virulência da linhagem I em comparação às outras (Howe; Sibley 1995, Dubey et al. 2002, 2004a, 2005a). Recentemente, foi realizado um estudo sobre diversidade genética de isolados de *T. gondii* oriundos de galinhas em que foi demonstrada a presença das linhagens tipos I e III no Brasil (Dubey et al. 2008a).

A toxoplasmose em galinhas foi pela primeira vez descrita por Hepding (1939) apud Millar (2008) na Alemanha, enquanto no Brasil, foi relatada por Nóbrega et al. (1955).

### 1.3 AGENTE ETIOLÓGICO: MORFOLOGIA, CICLO E EPIDEMIOLOGIA

Com relação à Sistemática, o protozoário *Toxoplasma gondii* pertence ao Filo Apicomplexa Levine, 1970, à Classe Sporozoea Leuckart, 1879, à Sub-classe Coccidia Leuckart, 1879, à Ordem Eucoccidiida Léger & Duboscq, 1910, à Subordem Eimeriina Léger, 1911 e à Família Sarcocystidae Poche, 1913, Subfamília Toxoplasmatinae Biocca, 1957 (Tenter; Johnson 1997).

Seu ciclo é heteroxeno facultativo. Existem três estágios infectantes para os hospedeiros definitivos (felídeos) e intermediários (demais mamíferos e aves): os taquizoítas, que possuem forma alongada, ligeiramente arqueada, estando presentes em células nucleadas e líquidos corporais e que se caracterizam pela reprodução por endogenia no interior do vacúolo parasitóforo, formando com a célula hospedeira o grupo tecidual; os bradizoítas, de morfologia similar, diferindo-se do primeiro pela reprodução lenta dentro dos cistos teciduais que também ocorre por endogenia e oocistos, formas imaturas e não esporuladas, as quais são produzidas no epitélio intestinal dos felídeos e eliminadas nas fezes desses no meio ambiente (Amendoeira et al. 1999, Tenter et al. 2000).

O ciclo consiste de duas fases: assexuada (extra-epitelial) e sexuada (entero-epitelial). Ambas as fases ocorrem nos hospedeiros definitivos, enquanto somente a fase assexuada ocorre nos hospedeiros intermediários. Os hospedeiros definitivos se infectam por ingestão das formas infectantes que penetram ativamente no epitélio intestinal, onde ocorre a reprodução assexuada. Em seguida, a diferenciação de alguns esquizontes em gamontes resulta na produção de macrogametas e microgametas que copulam gerando o zigoto, que dará origem aos oocistos, os quais rompem as células epiteliais e são eliminados nas fezes (Moura et al. 2009).

Durante a primoinfecção, os taquizoítas, formas proliferativas do protozoário e responsáveis pela fase aguda da infecção, multiplicam-se rapidamente no interior das células, destruindo-as. Com o surgimento da resposta imune, a fase de multiplicação torna-se mais lenta, e os taquizoítas se transformam em bradizoítas no interior da célula. Esse processo de multiplicação implica na perda da estrutura da célula com formação de cistos teciduais. Ademais, é possível haver o rompimento

dos cistos, com liberação dos bradizoítas, o que pode gerar, em indivíduos imunocomprometidos, a transformação em taquizoítas e conseqüentemente, a reagudização da doença. Os cistos teciduais localizam-se predominantemente no sistema nervoso central, olhos e musculaturas estriada esquelética e cardíaca. (Tenter et al. 2000, Hill et al. 2005, Dubey 2008).

Os hospedeiros definitivos se infectam por ingestão de oocistos esporulados a partir do meio ambiente ou por ingestão de cistos teciduais de hospedeiros intermediários (Tenter et al. 2000).

A forma de infecção varia entre os hospedeiros intermediários. A transmissão pode ocorrer de forma vertical, por ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos, ingestão de ovo cru ou leite não pasteurizado contendo taquizoítas, manipulação de carnes infectadas com cistos, ingestão de oocistos eliminados nas fezes de felídeos contaminando água e alimentos crus e transfusão ou transplante de órgãos provenientes de pessoas infectadas com taquizoítas (Jacobs; Melton 1966, Amendoeira et al. 1999, Tenter et al. 2000, Mainardi et al. 2003, Sundar et al. 2007, Derouin; Pelloux 2008). Os animais domésticos ou silvestres podem se infectar por ingestão de oocistos esporulados presentes no solo, nas pastagens e feno contaminados, e conseqüentemente desenvolvem cistos teciduais que serão infectantes para os carnívoros, inclusive para os hospedeiros definitivos, os felídeos. No ambiente, oocistos são distribuídos por meio do vento, chuva e superfície de água ou forragem. Também podem ser disseminados por meio de minhocas, invertebrados coprófagos, tais como moscas e baratas, ou esterco. Palha e cereais também podem ser contaminados com fezes de gatos (Wallace 1973, Hill et al. 2005, Tenter et al. 2000, Millar et al. 2008, Tenter 2009).

## 1.4 TOXOPLASMOSE HUMANA

Estima-se que cerca de 20 a 90% da população mundial humana adulta esteja infectada por *T. gondii*, havendo infecção assintomática na maioria dos casos (Galván-Ramírez et al. 1998, Hill et al. 2005).

A toxoplasmose pode ser congênita ou adquirida. Na forma congênita, a possibilidade de transmissão é baixa e a doença grave quando a infecção ocorre no primeiro semestre de gestação, enquanto a possibilidade de transmissão é alta e a doença mais branda no último semestre de gestação. Quando a infecção materna ocorre meses ou anos antes da gestação, a possibilidade de transmissão materno-fetal é rara (Watson 1972, Wong; Remington 1994), exceções podem ser notadas em mulheres imunocomprometidas com lupus eritematoso sistêmico ou síndrome da imunodeficiência adquirida (Tenter et al. 2000). Nos casos de primoinfecção durante a gestação, o parasito pode se disseminar por via transplacentária causando morte fetal e abortamento. Casos de retardo do desenvolvimento físico e mental nas crianças sobreviventes são freqüentes. A toxoplasmose congênita pode causar retinocoroidite, calcificações cerebrais, hidrocefalia ou microcefalia, além de manifestações neurológicas entre as quais perturbações psicomotoras e convulsões generalizadas. Podem também estar presentes uma ampla variedade de sintomas não específicos tais como esplenomegalia, hepatomegalia, febre, anemia e linfadenopatia (Tenter et al. 2000, Hill et al. 2005, Dubey; Jones 2008).

Estudos no estado do Rio de Janeiro têm demonstrado altas soroprevalências da infecção em humanos. Em pacientes grávidas atendidas no município de Miracema, entre os anos de 2003 e 2006, foi encontrada uma soroprevalência de 75,1% de toxoplasmose (Silva 2008). Em outro estudo soroepidemiológico realizado entre outubro de 1994 e novembro de 1996 em pacientes grávidas do ambulatório do Instituto Fernandes Figueira provenientes de áreas da cidade do Rio de Janeiro e adjacências, foi encontrada uma soropositividade de 73,4% na cidade do Rio de Janeiro e 68,8% nas áreas periféricas. Além disso, o estudo demonstrou um risco relativo de 1,65 relacionado à infecção por meio da ingestão de carne crua ou mal cozida (Ferreira et al. 1997).

A forma adquirida pode se manifestar de diferentes formas em indivíduos imunocompetentes e imunocomprometidos. Em imunocompetentes, a infecção pode ser assintomática ou oligossintomática (Amendoeira et al. 1999). As adenopatias são comumente encontradas, principalmente na região cervical acompanhadas ou não de febre. Também podem ocorrer retinocoroidite e formas graves com presença inicial de exantema macropapular, febre, mal-estar, dores musculares e articulares seguidos de prostração, hepatite, esplenite, miocardite, meningite, encefalomielite e morte (Amendoeira et al. 1999, Hill et al. 2005, Tenter et al. 2000).

A encefalite acomete com frequência os imunocomprometidos, que podem apresentar como manifestações clínicas dor de cabeça, desorientação, sonolência, hemiparesia, alterações nos reflexos, convulsões e coma (Hill et al. 2005). Em pacientes com infecção por HIV, as manifestações neurológicas ocorrem em 40 a 70% dos casos, com presença de alterações anatomopatológicas *post-mortem* em até 90% deles (Puccioni-Sohler et al. 1991).

Com o número crescente de casos de AIDS (síndrome da imunodeficiência adquirida), aumentou também o número de casos de encefalite causada pela toxoplasmose, devido principalmente a reativação dos cistos no sistema nervoso central (Chimelli et al. 1992, Dannemann et al. 1992). No Brasil, *T. gondii* é o principal causador de lesões focais cerebrais e o terceiro patógeno mais comumente relacionado com complicações associadas ao vírus da imunodeficiência adquirida (Colombo et al. 2005). Além disso, foi constatada uma prevalência de 17,7% de lesões oculares por toxoplasmose adquirida na região Sul considerada superior a de outros países (Glasner et al. 1992, Dubey; Jones 2008).

Ferreira et al. (2008) investigaram as características genéticas das linhagens de *T. gondii* em amostras de sangue e líquido de pacientes com toxoplasmose cerebral e AIDS em São Paulo. Nesse estudo, encontraram os tipos I, II (considerado incomum na América do Sul) e III e amostras com alelos tipo I ou II, linhagens polimórficas (genótipo incomum) e outras não identificadas por nenhum dos marcadores. Os resultados sugeriram alta frequência de polimorfismo genético nas linhagens de *T. gondii* estudadas.

Khan et al. (2006) estudaram a estrutura da população de *T. gondii* em amostras de soro de humanos. Eles encontraram os três tipos de linhagens clonais (I, II e III) e combinações diferentes de alelos vistos nos três tipos clonais, concluindo que genótipos divergentes ou únicos contribuem para diferentes desfechos clínicos de

toxoplasmose em diferentes locais e que linhagens brasileiras podem sofrer recombinações genéticas mais freqüentes com formação de genótipos mistos. Além disso, esses genótipos divergiram dos encontrados na América do Norte e Europa.

## 1.5 TOXOPLASMOSE EM ANIMAIS DOMÉSTICOS

Em cães, embora a toxoplasmose clínica seja rara, pode causar sinais neuromusculares, estando freqüentemente associada imunossupressão e a cinomose (Dubey 2005). Moretti et al. (2002) relataram quatro casos de toxoplasmose em cães, dos quais três estavam co-infectados com o vírus da cinomose. A suspeita de toxoplasmose foi baseada na anamnese e nos sinais clínicos (linfadenopatia, esplenomegalia, pneumonia, sintomas neurológicos e secreção ocular purulenta) e confirmada por meio da realização da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e isolamento de *T. gondii* por meio de bioensaio em camundongos realizado a partir dos pulmões de dois cães que tiveram indicação para eutanásia. Anticorpos para *T. gondii* foram encontrados em 40,9% e 33,1% dos cães estudados em Minas Gerais e São Paulo, respectivamente (Brandão et al. 2006, Langoni et al. 2006).

Gatos geralmente apresentam infecção assintomática e raramente apresentam sinais como depressão, anorexia e morte súbita. A pneumonia é considerada a mais importante manifestação clínica, porém, hepatite, necrose pancreática, miosite, miocardite, uveíte e encefalite podem ocorrer. Ademais, a toxoplasmose clínica acomete de forma mais severa os filhotes de gatos (Dubey; Jones 2008). Dubey et al. (2004b) relataram uma soroprevalência de 84,4% em gatos domésticos no Paraná.

Nos animais de produção, a toxoplasmose é responsável por impactos econômicos (Millar et al. 2008). Em ovinos e caprinos pode causar morte embrionária e reabsorção, morte fetal e mumificação, aborto, natimortos, morte neonatal (Tenter et al. 2000, Dubey; Jones 2008). Em São Paulo, foi descrita uma

soroprevalência de 14,5% em caprinos e demonstrada a possibilidade de infecção humana por ingestão do leite *in natura* (Mainardi et al. 2003).

Em suínos, são relatadas pneumonia, miocardite, encefalite e necrose placentária (Hill et al. 2005). No Brasil, foi descrita uma prevalência de 17% de anticorpos anti-*T. gondii* em suínos em São Paulo (dos Santos et al. 2005). Bovinos e equinos são considerados hospedeiros mais resistentes à toxoplasmose clínica (Dubey; Jones 2008). Entretanto, foram encontrados diferentes títulos de anticorpos (14,8% e 71%) no gado leiteiro estudado no Rio de Janeiro (Santos et al. 2009, Albuquerque et al. 2005, Hill et al. 2005). Apesar de Dubey et al. (1999) afirmarem que não há evidência clínica da toxoplasmose em equinos, outros autores relataram a ocorrência de aborto, manifestações neurológicas e oculares (Macruz et al 1975, Turner; Savva, 1990, 1991, 1992).

## 1.6 TOXOPLASMOSE EM GALINHAS

Os felinos domésticos e selvagens, hospedeiros definitivos, eliminam nas fezes os oocistos que, esporulados, tornam-se infectantes e extremamente resistentes no ambiente, podendo sobreviver no solo por um ano ou mais. As galinhas criadas extensivamente são hospedeiros intermediários indicadores da contaminação ambiental, já que se alimentam no solo que pode estar contaminado com oocistos esporulados, se infectando e desenvolvendo cistos teciduais, sobretudo em áreas endêmicas. No entanto, a toxoplasmose clínica em aves é pouco freqüente e a prevalência em galinhas é pouco conhecida. Além disso, sabe-se que a ingestão de carne crua ou mal cozida de aves é uma das fontes de infecção para o homem e para outros animais (Acha; Szyfres 1986, Dubey et al. 2006a, Millar et al. 2008, Dabritz; Conrad 2010, Dubey 2010). Há também relato de que taquizoítas foram isolados de ovos crus de galinhas infectadas experimentalmente (Jacobs; Melton 1966).

O Brasil, atualmente, ocupa o terceiro lugar mundial na produção de frangos, perdendo apenas para os Estados Unidos e China. Só entre os meses de janeiro e

maio de 2008, foram produzidos para o mercado interno 2,9 milhões de toneladas de carne de frango, alcançando-se um consumo *per capita* de 38 kg/ano, o que significa um aumento de 2,5% em relação ao ano de 2007 (Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frango, 2009). Esses dados são referentes à avicultura industrial e tecnificada, onde as aves são criadas intensivamente, não tendo acesso ao solo e portanto, com menor possibilidade das aves adquirirem a infecção por *T. gondii*, a menos que haja falhas no manejo da higiene da criação (Millar 2008). No entanto, tem crescido no Brasil a avicultura familiar. Embora seja de pequena escala, estima-se que cerca de 80% da população global avícola seja proveniente desse tipo de avicultura, especialmente nos países em desenvolvimento, onde diversas famílias do meio rural criam galinhas para sua subsistência (Mack et al. 2005). Na avicultura familiar, as galinhas são criadas principalmente de forma extensiva e, portanto, menos estressante. Isso contribui para que a carne apresente um menor teor de gordura, coloração mais avermelhada e sabor diferenciado e os ovos apresentem gemas mais pigmentadas, quando comparados às galinhas de origem industrial. Essas características levam a maior aceitação dos produtos pelos consumidores (Siqueira 2007). Além disso, há um aumento da preocupação em consumir alimentos sem contaminação química (drogas antiparasitárias e promotores de crescimento) e esta preocupação vem se refletindo num aumento do consumo de aves provenientes de criações do tipo colonial/ caipira ou extensivas (Cardozo; Yamamura 2004), que podem ciscar no solo e, em conseqüência, possuem maior possibilidade de adquirir a infecção toxoplásmica.

Embora a toxoplasmose clínica em aves seja rara, nos Estados Unidos, Dubey et al. (2007a) relataram casos de toxoplasmose clínica em três galinhas. Essas apresentaram sinais neurológicos: torcicolo, dificuldade para se levantar e decúbito lateral. Em uma delas foi diagnosticada, no exame *post mortem*, uma encefalite não-supurativa com numerosos cistos teciduais e taquizoítas de *T. gondii*.

Sabe-se também que é difícil a detecção direta do oocisto no solo, bem como encontrar os gatos eliminando oocistos, e por esse motivo, as galinhas são usadas para indicar a contaminação do ambiente (Dubey et al. 2007b). Em estudos realizados em vários países, a soroprevalência de *T. gondii* em galinhas variou de 6,2% a 100% (Tabela 1). No Brasil, a soroprevalência é alta, variando de 10,3% a

100% (Tabela 2), indicando uma elevada contaminação do meio rural com oocistos do protozoário (de Oliveira et al. 2009).

Adicionalmente, em levantamento realizado nos isolados obtidos de galinhas de criações extensivas nos estados de Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Pará, Pernambuco, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rondônia, Rio Grande do Sul, Sergipe e São Paulo foi observada uma alta diversidade genética, com 58 genótipos identificados. Foi constatada a existência das linhagens dos tipos I e III no Brasil, sendo a primeira considerada rara, e a ausência da linhagem do tipo II (Dubey et al. 2008a). Em contrapartida, na América do Norte e Europa predomina a linhagem II (Pena et al. 2008).

Em estudo da estrutura da população de *T. gondii* e virulência desse agente para o camundongo, foi realizada a genotipagem de 125 isolados de *T. gondii* provenientes de gatos, cães e galinhas de diferentes regiões do Brasil. Foi encontrado um total de 48 genótipos. Quatro genótipos foram considerados pertencentes a linhagens clonais do Brasil. Essas linhagens são denominadas como Tipo BrI, BrII, BrIII e BrIV. Baseada na frequência de mortalidade em camundongos infectados, os isolados tipo Br I são virulentos, tipos Br II e IV, virulentos intermediários e tipo BrIII, não virulento (Pena et al. 2008).

**Tabela 1:** Frequência de toxoplasmose em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) provenientes de criações extensivas no mundo e métodos de diagnóstico utilizados.

País	Número de amostras testadas	Frequência de positivos %	Método de diagnóstico	Referência
Estados Unidos	11	100	MAT	Dubey et al. 2007a
	118	17	MAT	Dubey et al. 2003a
Nicarágua	98	85,7	MAT	Dubey et al. 2006b
Guatemala	50	74	MAT	Dubey et al. 2005b
Guiana	76	65,8	MAT	Dubey et al. 2007c
Gana	64	64	MAT	Dubey et al. 2008b
Chile	85	53,6	MAT	Dubey et al. 2006c
Uganda	85	47,1	MAT	Lindström et al. 2008
Israel	96	46,9	MAT	Dubey et al. 2004c
Colômbia	77	44,4	MAT	Dubey et al. 2005c
Argentina	61	41	MAT	Dubey et al. 2005d
	29	65,5	MAT	Dubey et al. 2003b
Egito	121	40,4	MAT	Dubey et al. 2003c
	108	47,2	MAT	El-Massry et al. 2000
Costa Rica	144	40,1	MAT	Dubey et al. 2006d
Sri Lanka	100	39	MAT	Dubey et al. 2005e
Áustria	830	36,3	MAT	Dubey et al. 2005f
China	210	34,7	ELISA	Zhu et al. 2008
Venezuela	46	32	MAT	Dubey et al. 2005g
Polônia	20	30	MAT	Dubey et al. 2008b
Irã	203	27,1	RIFI	Asgari et al. 2008
	45	51,1	LAT	Zia-Ali et al. 2007
Portugal	61	27,1	MAT	Dubey et al. 2006e
Peru	50	26	MAT	Dubey et al. 2004a
Indonésia	98	24,4	MAT	Dubey et al. 2008b
Vietnam	330	24,2	MAT	Dubey et al. 2008b
Índia	741	17,9	MAT	Sreekumar et al. 2003
Itália	80	12,5	MAT	Dubey et al. 2008b
México	208	6,2	MAT	Dubey et al. 2004d

MAT: teste de aglutinação modificada, RIFI: reação de imunofluorescência indireta, LAT: teste de aglutinação em látex.

**Tabela 2:** Frequência de toxoplasmose em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) provenientes de criações extensivas no Brasil e métodos de diagnóstico utilizados.

<b>Estado</b>	<b>Número de amostras testadas</b>	<b>Frequência de positivos %</b>	<b>Método de diagnóstico</b>	<b>Referência</b>
Alagoas	8	100	MAT	de Oliveira et al. 2009
Maranhão	20	70	MAT	de Oliveira et al. 2009
Ceará	25	68	MAT	de Oliveira et al. 2009
Rondônia	50	66	MAT	Dubey et al. 2006a
Pará	34	59	MAT	Dubey et al. 2007b
Minas Gerais	28	53,6	RIFI	Brandão et al. 2006
Bahia	20	50	MAT	de Oliveira et al. 2009
Pernambuco	20	50	MAT	de Oliveira et al. 2009
Rio de Janeiro	230	14,8	ELISA /RIFI	Millar 2008
	316	47,8	RIFI	Bonna et al. 2006
	198	65,2	MAT	da Silva et al. 2003
Sergipe	12	41,7	MAT	de Oliveira et al. 2009
Paraná	40	40	MAT	Dubey et al. 2003d
	155	10,3	RIFI	Garcia et al. 2000
São Paulo	82	39	MAT	Dubey et al. 2002
Rio Grande do Sul	50	38	MAT	Dubey et al. 2007b
Rio Grande do Norte	47	36,2	MAT	de Oliveira et al. 2009

MAT: teste de aglutinação modificada, RIFI: reação de imunofluorescência indireta.

## 1.7 DIAGNÓSTICO DO *Toxoplasma gondii* EM GALINHAS

Com relação ao diagnóstico nas aves, podem ser utilizadas técnicas moleculares e imunológicas, histopatologia, imunohistoquímica e bioensaio.

Não foram encontrados na literatura estudos comparativos das técnicas de aglutinação modificada (MAT), ELISA (*Enzime-Linked Imunno Sorbent Assay*), RIFI e bioensaio em camundongos. Entretanto, estudos comparando diferentes técnicas de diagnóstico para toxoplasmose já foram realizados em suínos, ovinos e gatos (Silva; Langoni 2001, Netto et al. 2003, Hill et al. 2006, Garcia et al. 2006).

O bioensaio é uma técnica sensível e específica, considerada padrão ouro no diagnóstico da infecção em tecidos (Homan et al. 2000). Ela é capaz de detectar parasitos viáveis (Yai et al. 2003) e demonstrar a possibilidade de infecção humana por *T. gondii* (Aspinall et al. 2002), diferente da técnica de reação em cadeia polimerase (PCR) que detecta o DNA do parasito mesmo em tecido mumificado ou em decomposição sem distingui-los, no entanto, entre viáveis e não viáveis (Aspinall et al. 2002, Dubey 2002, Yai et al. 2003, Terra et al. 2004). Por outro lado, o bioensaio é uma técnica onerosa, demorada e trabalhosa (Esteban-Redondo et al. 1999) e resultados negativos na PCR não significam necessariamente a ausência do parasito, pois fatores como sensibilidade, especificidade, capacidade de detecção do parasito na presença de DNA do hospedeiro e qualidade de extração do DNA podem estar envolvidos (Garcia et al. 2006).

Segundo Dubey e Desmonts (1987) e D'Agostino (1994), existem testes sorológicos para detecção de anticorpos que usam antígenos intactos como a MAT e a RIFI e outros que usam fragmentos de antígenos, como por exemplo, a técnica de ELISA e hemaglutinação indireta. Dentre os testes sorológicos, a MAT mensura aglutinação de anticorpos IgG, utilizando antígenos íntegros de *T. gondii* e dispensa uso de equipamentos especiais (Dubey; Desmonts 1987, Devada et al. 1998, Garcia et al. 2000, Dubey 2002, da Silva et al. 2003, Dubey et al. 2006a, Dubey 2010). Dubey (2010) está validando essa técnica, utilizando-a mundialmente e considera a MAT eficiente no diagnóstico de toxoplasmose em galinhas.

A RIFI baseia-se na evidenciação de anticorpos por soro anti-globulina conjugado à fluoresceína, a qual é responsável pela coloração da membrana do

parasita, a partir da diluição 1:16 (Amendoeira et al. 1999). Também utiliza antígenos íntegros de *T. gondii*. É uma técnica sensível e específica e de fácil realização e que possui como interferentes a subjetividade da leitura, sensibilidade do conjugado, filtros, objetivas do microscópio e luminosidade (Fialho; Araújo 2002).

Na técnica de ELISA, o marcador da reação imunológica é uma molécula de enzima que pode estar ligada ao antígeno ou ao anticorpo e que se torna visível com a formação do complexo imune, pois na segunda fase do processo, uma reação colorida indica se o teste foi positivo ou negativo (Sánchez et al. 1985, D'Agostino 1994, Uchôa 1996).

A técnica de hemaglutinação indireta consiste na fixação de antígenos provenientes do rompimento de taquizoítas (utilizando hemácias como suporte). A reação entre estes e o soro com anticorpos específicos produz a aglutinação visível. É uma técnica de simples execução, resultado rápido e de baixo custo, no entanto, possui menor índice de positividade do que a técnica de imunofluorescência indireta e podem ocorrer falsos negativos devido a interferência de anticorpos IgM (D'Agostino 1994, Araújo 1999, Fialho; Araújo 2002). Adicionalmente, não é uma técnica considerada sensível no diagnóstico de toxoplasmose em galinhas (Dubey 2010).

Segundo Dubey (2002), a histopatologia apresenta bons resultados, sendo possível também fazer um diagnóstico preliminar por exame citopatológico (*imprint*). Todavia, há relato de que o exame histopatológico é limitado pelo fato do protozoário poder ser confundido com células teciduais (Fayer; Dubey 1985), sendo por isso, recomendável que a demonstração do protozoário em cortes histológicos de lesões características seja auxiliada pelo isolamento dos organismos por inoculação em camundongos ou pela técnica de imunohistoquímica (Jones et al. 2000).

## 1.8 DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DO *Toxoplasma gondii* EM GALINHAS

O protozoário *T. gondii* deve ser diferenciado dos coccídios *Sarcocystis* e *Neospora caninum* em galinhas.

O protozoário *Sarcocystis* spp. pode causar doença generalizada principalmente em passeriformes e psitacídeos, sendo a pneumonia, o achado mais comum. Em galinhas, *Sarcocystis* spp. já foi associada a uma encefalite necrotizante e o diagnóstico confirmado por imunohistoquímica e exame da ultra-estrutura do parasito (Mutalib et al. 1995). O parasito possui uma forma de esquizogonia em que se torna multilobulado com conseqüente formação de quatro ou mais merozoítos, enquanto *T. gondii* se divide em dois merozoítos (Dubey 2002).

Galinhas são naturalmente infectadas por *Neospora caninum*, embora sua função no ciclo biológico ainda permaneça obscura e o isolamento do parasito a partir dessas aves seja necessário para comparação com isolados de mamíferos (Furuta et al. 2007, Costa et al. 2008). Morfologicamente, a parede dos cistos teciduais de *Neospora caninum* é mais espessa, medindo 0,5-4 $\mu$ m, enquanto a de *T. gondii* possui tamanho inferior a 0,5 $\mu$ m. Os taquizoítas e bradizoítas de *Neospora caninum* são maiores, medindo 7,5X2 $\mu$ m e 8,1X2 $\mu$ m e os de *T. gondii* medem 6,8X1,5-3 $\mu$ m e 7,5X2,5 $\mu$ m, respectivamente (Speer et al. 1999).

## 2. JUSTIFICATIVA

No Brasil, a prevalência sorológica da infecção em humanos varia de 50 a 80% com percentuais mais altos encontrados nos estados da região norte e sul do país (Oréfice; Bonfioli 2000). Nos poucos trabalhos realizados no estado do Rio de Janeiro constatou-se uma elevada ocorrência em galinhas e no homem (Souza et al. 1987, Medeiros; Lopes, 1996, Ferreira et al. 1997, Bahia-Oliveira et al. 2003, da Silva et al. 2003, Bonna et al. 2006, Bonna 2007, Millar 2008). Entretanto, existe uma carência de inquéritos epidemiológicos relativos à toxoplasmose humana e animal na Região das Baixadas Litorâneas, na qual se inclui o município de Rio Bonito.

Portanto, por meio do conhecimento da ocorrência da toxoplasmose e da contaminação de tecidos de galinhas criadas extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, será possível saber se existe a contaminação ambiental pelo oocisto e conseqüentemente, a possibilidade do homem adquirir a infecção toxoplásmica nessa localidade, tanto pela manipulação e ingestão de carne crua ou mal cozida infectada desses animais, como pelo consumo de água contaminada por oocistos esporulados (Amendoeira 1995, Devada et al. 1998, Bahia-Oliveira et al. 2003, Tenter 2009).

### 3. OBJETIVO GERAL

- ◆ Avaliar a ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em galinhas domésticas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para o consumo humano em diferentes bairros do município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil.

#### 3.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ Analisar a soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em galinhas domésticas por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI).
- ◆ Isolar o *T. gondii* em amostras de encéfalo, coração e musculatura da coxa de galinhas domésticas por meio da técnica bioensaio em camundongos.
- ◆ Avaliar a associação das variáveis relacionadas aos hábitos alimentares do homem e manejo animal das galinhas com os resultados de ocorrência de *T. gondii* em dessas aves obtidos pela RIFI.
- ◆ Comparar a sensibilidade e especificidade da RIFI com relação ao bioensaio (padrão ouro).

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 LOCAL DE ESTUDO

O município de Rio Bonito possui 462 Km<sup>2</sup> e uma população de 55.051 habitantes, está localizado na Região das Baixadas Litorâneas (Anexo A) no estado do Rio de Janeiro e apresenta altitude de 40m, latitude 22° 42' 28" sul, longitude 42° 37' 33" oeste (Wikipédia 2009). As principais atividades econômicas de Rio Bonito são: a agricultura, o comércio e indústria (Governo do Rio de Janeiro 2009). Segundo dados preliminares do censo agropecuário de 2006 realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (I.B.G.E. 2009), o município apresenta 251 estabelecimentos com aves, um rebanho de 7.990 cabeças e 88 estabelecimentos com produção de ovos de galinhas.

### 4.2 INQUÉRITO SOROLÓGICO

Para verificar a prevalência da infecção toxoplásmica em galinhas em diferentes bairros do município de Rio Bonito foi calculada uma amostra assumindo prevalência de 50%, a fim de maximizar o tamanho calculado, nível de significância de 5%, erro absoluto de 5% e efeito de desenho igual a 2. Assim, foi calculado um n=192 galinhas adultas provenientes de criações extensivas em cinco diferentes bairros: Praça Cruzeiro, Cachoeira dos Bagres, Prainha, Nova Cidade e Boa Esperança. Os bairros foram escolhidos por conveniência, já que havia uma pessoa da comunidade acompanhando as visitas às propriedades para a realização de

cadastro, com objetivo de sensibilizar a população e conseqüentemente, obter maior número de adesões ao projeto. No período de janeiro a fevereiro de 2009, foram cadastradas 70 propriedades e em seguida, feito um sorteio para escolher as propriedades participantes do estudo. A amostragem foi realizada em múltiplos estágios de seleção, do tipo conglomerado. Cada bairro foi considerado um estrato diferenciado e a escolha das propriedades (conglomerados) em cada estrato foi realizada através de amostragem proporcional ao tamanho (PPT) do rebanho de galinhas na propriedade. Vinte e quatro propriedades foram sorteadas. Em cada propriedade foram amostradas dez galinhas ou o total de galinhas da propriedade, no caso de propriedades com número inferior de animais. No mês de fevereiro de 2009, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A) foi assinado pelos proprietários que acordaram em participar do estudo, após estarem cientes dos objetivos do estudo e do que seria feito.

Com objetivo de evitar perdas no tamanho da amostra, o sangue de 234 galinhas foi coletado no período de fevereiro a março de 2009, ou seja, 42 a mais do que a quantidade amostrada. Participaram do estudo cinco propriedades de Praça Cruzeiro, cinco de Cachoeira dos Bagres, seis de Nova Cidade, sete de Prainha e uma de Boa Esperança. O número de aves coletadas por bairro foi: 51 em Praça Cruzeiro, 50 em Cachoeira dos Bagres, 47 em Nova Cidade, 79 em Prainha e sete em Boa Esperança.

As galinhas foram contidas mecanicamente para coleta de sangue por punção da veia basílica utilizando seringas de 3mL com agulha 0,7 x 25 mm 22G, sendo identificadas individualmente por meio de colocação de anilha plástica numerada na pata esquerda. O sangue coletado foi transferido para tubos estéreis de 10 mL sem anticoagulante com gel separador de hemácias e transportadas em caixa de transporte de material biológico sob refrigeração para o Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos (LAPCLIN-DERMZOO) do Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas (IPEC)/ Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ). No laboratório, as amostras foram colocadas em banho-maria a 37°C por 2 horas até a retração do coágulo, e centrifugadas a 2500rpm durante 15 minutos. Em seguida, os soros foram separados com auxílio de pipeta Pasteur e armazenados em tubos de polipropileno estéreis, identificados e armazenados à -20°C no Laboratório de Toxoplasmose (LABTOXO) do Instituto Oswaldo Cruz (IOC). Os soros foram analisados pela RIFI. Essa técnica foi realizada conforme Camargo

(1996), utilizando-se taquizoítas da cepa RH com antígeno adsorvido em lâmina e conjugado anti-IgG de galinhas (Sigma-Chemical) marcado com fluoresceína. Os soros foram diluídos em PBS 0,01 M, pH 7,2, nas diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1: 4096. A leitura foi realizada em microscópio Y-FL de epi-fluorescência (NIKON®). A cada bateria de lâminas foram acrescentados controles positivo e negativo e um controle do conjugado que foram usados como controles da reação e guias para leitura, sendo considerados positivos aqueles com título maior ou igual a 16.

### 4.3 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

Foi aplicado um questionário epidemiológico (Apêndice B) por propriedade para avaliar a escolaridade das pessoas nas propriedades estudadas, os hábitos alimentares e o manejo animal.

Os dados obtidos por questionário epidemiológico foram armazenados no banco de dados EPIDATA® e analisados estatisticamente no programa SPSS (*Statistical Package for Social Science*) versão 17.

Os resultados da sorologia foram disponibilizados aos proprietários e foi fornecida informação sobre medidas preventivas (Anexo B).

## 4.4 BIOENSAIO EM CAMUNDONGOS

### 4.4.1 Cálculo da amostra

A sensibilidade da RIFI foi comparada com o padrão-ouro, considerando-se uma amostra calculada com 90% de sensibilidade esperada, erro absoluto de 10% na sensibilidade (variação de 80% a 100%) e *alpha* de 5%. Desse modo, estimou-se a amostra em 35 galinhas positivas. Entretanto, considerando-se a prevalência de toxoplasmose de 50% em galinhas na população em geral, encontrou-se um total de 60 galinhas a serem amostradas para alcançar o tamanho calculado, sendo que em cada propriedade foram amostradas três aves. Foi realizado um estudo preliminar, utilizando-se 30 galinhas para comparação da RIFI com relação ao bioensaio.

### 4.4.2 Aquisição das galinhas

As galinhas foram vendidas por livre e espontânea vontade dos proprietários que participaram da primeira etapa do estudo, quando houve a coleta de sangue das aves para a sorologia. Participaram dessa segunda etapa três propriedades de Praça Cruzeiro, três de Cachoeira dos Bagres, duas de Nova Cidade, duas de Prainha e uma de Boa Esperança no período de maio a agosto de 2009.

#### 4.4.3 Coleta de sangue e realização de eutanásia das galinhas

O sangue dessas aves foi coletado, identificado e processado pela mesma técnica descrita anteriormente no LAPCLIN-DERMZOO para a realização da sorologia no LABTOXO. No primeiro laboratório, esses animais foram submetidos à eutanásia por deslocamento cervical seguida de sangria.

#### 4.4.4 Processamento de material para realização do bioensaio em camundongos

Foram procedidas a necropsia das galinhas e coleta de material para realização do bioensaio. Os dados dos animais foram devidamente registrados.

Na necropsia, um *pool* de 20g de encéfalo, coração e musculatura da coxa foi coletado de cada galinha para realização do bioensaio em camundongos, de acordo com a técnica proposta por Dubey (1998). Esse *pool* de tecidos foi triturado e homogeneizado em liquidificador doméstico (Mallory Tornado Clean® de 2 velocidades/110 Volts) em baixa velocidade, sem solução salina, por 15s. Em seguida, 50mL de solução salina estéril a 0,9% foram adicionados ao material e triturados em liquidificador em alta velocidade por 30s. O homogeneizado final foi transferido para garrafa de cultivo celular devidamente identificada. O liquidificador foi rinsado com 50mL de salina e esse volume, transferido para a mesma garrafa de cultivo celular.

No Laboratório de Vigilância em Leishmanioses do IPEC/FIOCRUZ, o homogeneizado foi aquecido a 37°C em banho-maria e posteriormente foram adicionados a ele 100mL de solução de pepsina ácida, pH 1,1-1,2 (1,3 g de pepsina – atividade biológica 1:10.000 + 2,5 g de NaCl + 3,5 mL de HCl + água destilada para fazer um volume de 250 mL) recém preparada e aquecida em banho-maria à 37°C. Depois, o homogeneizado foi incubado em banho-maria a 37°C com agitação

durante 60 minutos e filtrado em duas camadas de gaze. Então, o homogeneizado foi centrifugado a 1200g/10min e o sobrenadante desprezado. O sedimento foi ressuspensionado em 20mL de PBS (pH 7,2) usando pipetas descartáveis e transferido para tubo cônico de 50mL, quando foram neutralizados com 12-15mL de bicarbonato de sódio a 1,2% (pH~8,3). O homogeneizado foi novamente centrifugado a 1200g/10min e o sobrenadante desprezado. Por último, foram acrescentados 5-10mL de solução com 1000 UI de penicilina G potássica e 100µg de estreptomicina por mL de suspensão. Os materiais utilizados foram esterilizados em água quente a 60°C com sabão, rinsados com água fria e por último, salina.

#### **4.4.5 Inoculação dos camundongos no biotério**

O Centro de Criação de Animais de Laboratório (CECAL) da FIOCRUZ forneceu os camundongos. Durante o estudo, esses animais foram mantidos num biotério do Centro de Experimentação Animal do IOC/FIOCRUZ.

Nesse local, o volume de 1mL do homogeneizado obtido da maceração dos tecidos de cada galinha foi inoculado em cinco fêmeas adultas de camundongos (*Mus musculus*) SPF (*Specific Pathogen Free*) da linhagem *Swiss Webster*, por via intraperitoneal, totalizando 150 camundongos, pesando cada um, em média, de 20 a 25g. O grupo controle, composto por um camundongo para cada galinha, totalizando 30 camundongos, foi inoculado via intraperitoneal com 1 mL de solução salina estéril a 0,9% (Medeiros; Lopes 1996). Antes da inoculação, foi feita a anti-sepsia da região abdominal com álcool a 70%. Cada grupo de cinco camundongos foi colocado em caixas de polipropileno com tampa e maravalha autoclavada e alimentado com ração e água filtrada *ad libitum* no biotério do referido Instituto e ambos os grupos foram alojados em condições idênticas. Todas as caixas foram devidamente identificadas.

#### **4.4.6 Observação dos camundongos e pesquisa de cistos e taquizoítos de *Toxoplasma gondii***

Após a inoculação, os camundongos foram observados diariamente, por um período de 45 a 48 dias, sendo também registrados os sinais clínicos. Caso houvesse morte, foram realizadas a necropsia, coleta de exsudato peritoneal para realização de esfregaço pela técnica de compressão (*squash*) e esfregaço por aposição (*imprint*) em lâmina de microscopia de encéfalo, fígado, baço, pulmões e coração. Esses esfregaços foram fixados em álcool metílico e corados pelo panótico instantâneo para exame citopatológico visando encontrar cistos e taquizoítos de *T. gondii*. Adicionalmente, foi feito exame direto de fragmento de encéfalo por compressão entre lâmina e lamínula para pesquisa de cistos do protozoário.

Os animais que apresentaram os sinais clínicos de piloereção, prostração, distensão abdominal e todos os camundongos sobreviventes, após o período de observação, foram submetidos à eutanásia com dose excessiva de tiopental por via intraperitoneal, necropsiados e foram procedidas a pesquisa de cistos e taquizoítos e coleta de amostras teciduais pelos mesmos procedimentos citados anteriormente (Medeiros; Lopes 1996, Dubey et al. 2006a).

Os camundongos foram considerados infectados com *T. gondii* quando taquizoítos ou cistos foram encontrados nos seus tecidos.

#### **4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Foi realizada análise exploratória dos dados do questionário por meio da descrição das frequências das informações sobre o proprietário e propriedade, além de realizar cruzamentos entre variáveis.

Devido ao fato do plano amostral ser do tipo conglomerado com seleção em diversos estágios até chegar a propriedade, foi considerado o peso amostral de cada

propriedade. Além disso, o cálculo de variâncias foi corrigido por uma estimação de variância robusta, para que a inclusão do peso amostral não distorça os resultados dos testes estatísticos.

Na análise de associação entre variáveis categóricas foi empregado o teste de qui-quadrado com ajuste de segunda ordem de Rao-Scott. Na avaliação da prevalência de toxoplasmose foram empregados a comparação das medidas de razão e seus respectivos intervalos de confiança. Para verificar diferenças entre a prevalência segundo outras variáveis (água fornecida aos animais, água consumida pelos seres humanos, presença e controle de roedores na propriedade, presença de gatos na propriedade ou vizinhança, quantidade de gatos, acesso dos gatos às aves e aos alimentos e água fornecidos a elas, alimentação do gato, consumo de carne crua ou mal cozida, consumo de ovo cru ou mal cozido e de carne de caça) foi utilizado o teste T. P-valores < 0,05 indicaram associações estatisticamente significativas em todos os testes empregados.

Na validação da RIFI foram descritos valores de sensibilidade, especificidade, acurácia, falso positivo e falso negativo entre o referido teste e o padrão-ouro (bioensaio). A concordância entre os testes foi avaliada por meio da medida de concordância total e estatística *kappa* simples (Cohen 1960), classificada segundo Landis e Koch (1977).

## 4.6 ASPECTOS ÉTICOS

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) sob número de licença L-012/09 e pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana sob número de protocolo 0034.0.009.000.09.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 INQUÉRITO SOROLÓGICO

Um total de 62 (25,9%) dos 234 animais foi reagente na RIFI. As frequências de galinhas com anticorpos IgG anti-*T. gondii* pela RIFI por bairros do município de Rio Bonito encontram-se na Tabela 3. As frequências dos títulos de anticorpos IgG anti-*T. gondii* por bairros encontra-se na Tabela 4. Em relação às 24 propriedades estudadas, 72,8% apresentaram animais soropositivos ao *T. gondii* e em 27,2% não havia aves sorologicamente positivas, sendo que a soropositividade nas galinhas variou de 15% a 36,7%.

**Tabela 3:** Frequências de anticorpos IgG anti-*T. gondii* por meio da reação de imunofluorescência indireta em 234 galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano por bairros do município de Rio Bonito, estado do Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.

<b>Bairro</b>	<b>Número de propriedades</b>	<b>Número de galinhas examinadas</b>	<b>Frequência %</b>	<b>Intervalo de confiança de 95%</b>
<b>Prainha</b>	7	79	34,1	15,5-52,6
<b>Nova Cidade</b>	6	47	23,8	4,3-43,4
<b>Cachoeira dos Bagres</b>	5	50	23,8	0-47,8
<b>Praça Cruzeiro</b>	5	51	21,7	0-47,2
<b>Boa Esperança</b>	1	7	14,3	0-51,4

**Tabela 4:** Freqüências dos títulos de anticorpos IgG anti-*T. gondii* por meio da reação de imunofluorescência indireta em 234 galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano por bairros do município de Rio Bonito, estado do Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.

Bairro	Total	Títulos de anticorpos IgG anti <i>T. gondii</i>					
		NR n(%)	16 n(%)	64 n(%)	256 n(%)	1024 n(%)	4096 n(%)
<b>Praça Cruzeiro</b>	51	41(78,3)	5(10,6)	3(6,7)	2(4,4)	-	-
<b>Cachoeira dos Bagres</b>	50	40(76,2)	5(10,2)	4(10,3)	1(3,3)	-	-
<b>Nova Cidade</b>	47	37(76,2)	6(15,7)	4(8,1)	-	-	-
<b>Prainha</b>	79	48(65,9)	12(11,3)	10(13,4)	6(6,2)	2(1,9)	1(1,2)
<b>Boa Esperança</b>	7	6(85,7)	-	1(14,3)	-	-	-

NR: não-reagente.

## 5.2 INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

Todas as propriedades eram de subsistência, sendo que 47,5% delas também tinham finalidade comercial. Em 21,3% das propriedades eram criados além das aves, carneiros, porcos, bois e cavalos.

Com relação a origem das galinhas 76,4% dos proprietários relataram que todas nasceram na propriedade, 14,9% relataram que algumas das aves nasceram na propriedade e 8,6% relataram que as aves não nasceram na propriedade.

Os gatos (Figura 1) eram alimentados em 13% das propriedades com carne ou miúdos de galinhas crus ou mal cozidos, em 18,3% com carne crua ou mal cozida de bovinos, suínos e peixes, em 25,7% com restos de alimentos, em 29,5% com ração e em 69%, os proprietários não souberam responder, pois os gatos eram errantes ou da vizinhança. Em 91,6% das propriedades em que foi observada a presença de gatos, esses eram errantes ou da vizinhança.

Em 59,9% das propriedades foi relatada a presença de roedores, sendo que o controle desses em 75,8% das propriedades era realizado por métodos ativos (produtos químicos, armadilhas, destruição de tocas), em 17,6% por métodos passivos (uso de gatos e/ ou depósito de ração a prova de roedores) e em 6,6% por ambos os métodos.

Nas Tabelas 5 e 6 encontram-se os resultados do questionário epidemiológico referentes às variáveis abastecimento de água e presença e quantidade de gatos na propriedade ou vizinhança, acesso dos gatos às aves, água e alimentos oferecidos às aves e acesso dos gatos à horta. Em 80% das propriedades, a água oferecida aos animais era proveniente de poço e nas demais, proveniente de rio ou fonte.

A presença de horta foi relatada em 6,1% das propriedades.

Nas 24 propriedades estudadas havia um total de 75 pessoas. Dessas, 58 pessoas tinham o 1º grau incompleto.

Em todas as propriedades, havia o hábito de se lavar as mãos antes de cozinhar. Com relação ao consumo de carnes, não foi relatado o hábito de consumir carne crua de galinhas e em apenas 2,8% das propriedades, a carne das galinhas era consumida mal cozida. Em relação ao consumo de outras carnes, em 22,5% das

propriedades foi relatado o hábito de consumi-las mal cozida e em 92,6% eram consumidas cozidas. Quanto ao consumo de carne de caça, 74,4% dos proprietários relataram ter o hábito de comer carne de tatu, gambá, preá, lagarto, paca e quati. Os ovos de galinhas eram consumidos mal cozidos em 49,8% e bem cozidos em 64,2% das propriedades e em nenhuma propriedade foi relatado o consumo de ovo cru.

Um percentual de 8,4% dos proprietários relataram a presença de casos de toxoplasmose na propriedade e 5,9% deles, na região.



**Figura 1:** Presença de gato em criação extensiva de galinhas localizada no bairro de Prainha, Rio Bonito, Rio de Janeiro.

**Tabela 5:** Freqüências da variável abastecimento de água das 24 propriedades do município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.

<b>Variável</b>		<b>Freqüência %</b>
<b>Origem da água ingerida pelos humanos</b>	Rio ou fonte	12,3
	Poço	87,7
<b>Água filtrada ingerida pelos humanos</b>	Sim	69,7
	Não	30,3
<b>Poço tampado</b>	Sim	96
	Não	4

**Tabela 6:** Freqüências das variáveis presença e quantidade de gatos na propriedade ou vizinhança, acesso dos gatos às aves, água e alimentos oferecidos às aves e acesso dos gatos à horta nas 24 propriedades do município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, no período de fevereiro a março de 2009.

<b>Variável</b>	<b>Freqüência %</b>	
<b>Presença de gatos na propriedade ou vizinhança</b>	Sim	54,5
	Não	45,5
<b>Quantidade de gatos</b>	1 a 5	68,6
	6 a 10	25,6
	Mais de 10	5,7
<b>Acesso dos gatos às aves</b>	Sim	89,5
	Não	10,5
<b>Acesso dos gatos a água e alimentos das aves</b>	Sim	71,7
	Não	28,3
<b>Acesso dos gatos a horta</b>	Sim	100
	Não	-

Verificou-se significância estatística das variáveis: presença de roedores ( $p=0,016$ ) e alimentação de gatos com miúdos de galinhas crus ou mal cozidos ( $p=0,015$ ) com a positividade da RIFI em galinhas.

### 5.3 BIOENSAIO EM CAMUNDONGOS

Os resultados referentes à sorologia das 30 galinhas submetidas ao bioensaio, dia do óbito ou eutanásia dos camundongos, número de camundongos positivos e número de camundongos inoculados encontram-se na Tabela 7. O número de isolados de *T. gondii* (Figuras 2 e 3) obtidos no bioensaio por órgão dos camundongos encontra-se na Tabela 8 com exceção do *imprint* de cérebro, pois não se obteve isolado de *T. gondii* nesse tecido.

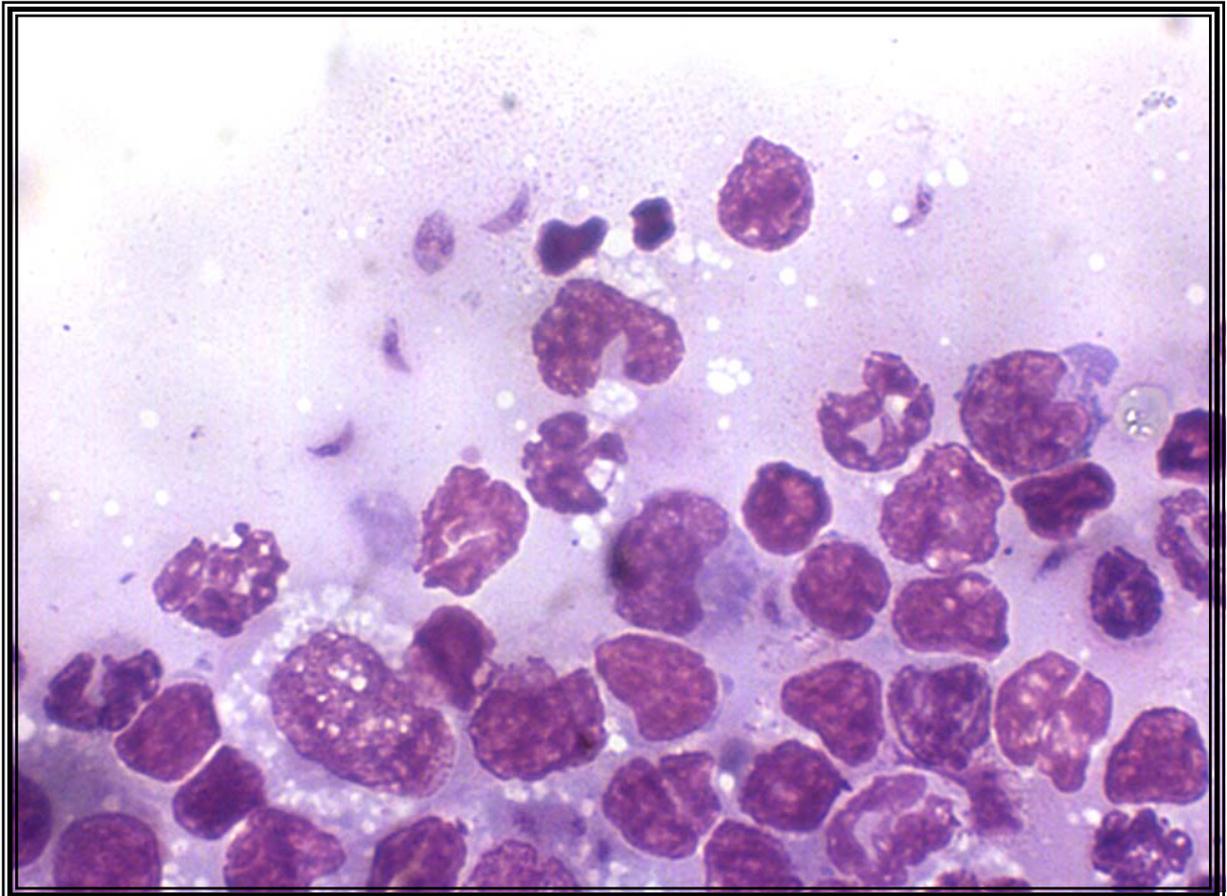
Quatro camundongos morreram em período anterior à inoculação e, portanto, para quatro galinhas foram inoculados quatro camundongos para cada uma, em vez de cinco conforme preconizado na metodologia. Não foi possível substituir esses roedores, pois o pedido de animais é feito na quantidade exata a ser usada no experimento e com antecedência de seis meses para que o CECAL possa atender a necessidade dos pesquisadores.

Apenas um camundongo correspondente à galinha 341 e outro camundongo correspondente à galinha 336 foram a óbito nos dias 2 e 18 pós-inoculação, respectivamente. Apenas o segundo animal estava infectado com *T. gondii*.

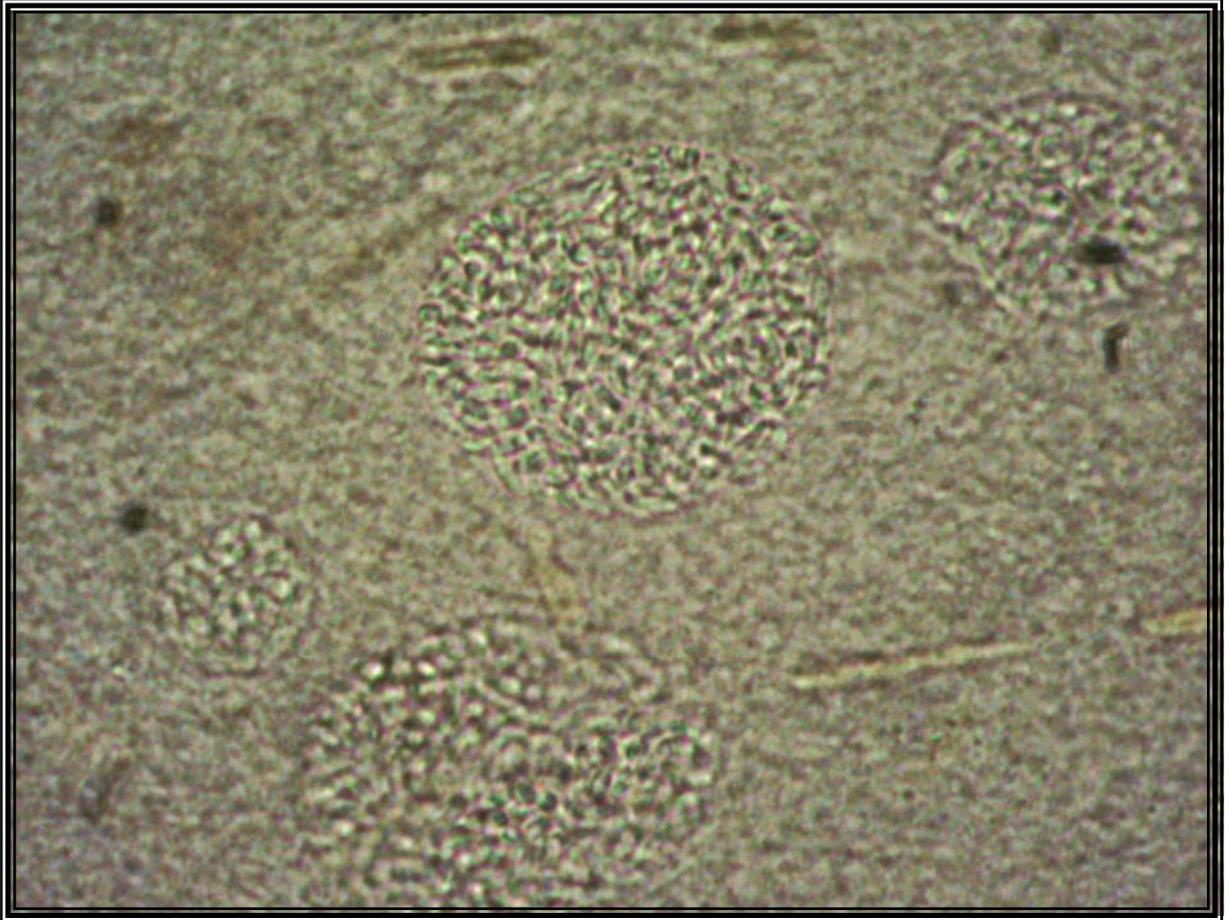
Os demais camundongos foram submetidos à eutanásia. Entre o nono e o trigésimo dia pós-inoculação, foram observados os seguintes sinais clínicos: prostração, respiração abdominal, piloereção e distensão abdominal (Figura 4). Após esse período, não foram observados mais sinais clínicos.

Foi encontrada uma frequência de 53,3%(16/30) de galinhas com anticorpos anti-*T. gondii* pela RIFI com títulos de anticorpos anti-*T. gondii* variando entre 16 e 1024. Das trinta aves necropsiadas, o *T. gondii* foi isolado de 9 (30%). Considerando apenas as 16 galinhas com sorologia positiva, o *T. gondii* foi isolado de 56%. As galinhas nas quais o *T. gondii* foi isolado na técnica de bioensaio apresentaram

títulos de anticorpos anti-*T. gondii* variando de 16 a 1024 e uma das aves foi não-reagente.



**Figura 2:** Presença de taquizoítas de *T. gondii* e infiltrado inflamatório de células mononucleares em *squash* de líquido peritoneal de camundongo *Swiss Webster* submetido a técnica de bioensaio a partir de tecidos de galinha. Coloração: Panótico Instantâneo. Objetiva de 100x.



**Figura 3:** Presença de cistos de *T. gondii* em exame direto de fragmento de cérebro de camundongo *Swiss Webster* submetido a técnica de bioensaio a partir de tecidos de galinha. Objetiva de 100x.



**Figura 4:** Piloereção e distensão abdominal em camundongo *Swiss Webster* submetido à técnica de bioensaio e infectado por *T. gondii*

**Tabela 7:** Títulos de anticorpos IgG anti-*T. gondii* obtidos pela reação de imunofluorescência indireta e isolados de *T. gondii* obtidos pela técnica de bioensaio em camundongos a partir de 30 galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, de maio a agosto de 2009.

Galinha		Bioensaio em camundongos	
Número	Título de anticorpo	Número de camundongos infectados/ número de camundongos inoculados	Dia do óbito ou eutanásia (PI*)
315	16	0/5	45
329	16	0/5	45
335	16	0/4	45
340	16	3/5	15, 45
364	16	0/5	45
316	64	0/5	45
338	64	3/5	10, 15, 45
339	64	4/4	9
361	64	4/5	13
365	64	3/5	11, 31
336	256	1/5	18, 26, 46
337	256	5/5	10
341	256	0/5	2, 47
360	256	0/4	18, 45
326	1024	3/5	14, 23, 45
334	1024	0/5	45
313	NR**	0/5	45
314	NR**	0/5	30, 45
317	NR**	0/5	45
324	NR**	0/5	45
325	NR**	0/5	45
327	NR**	0/5	45
328	NR**	0/5	45
333	NR**	0/5	45
363	NR**	0/5	45
369	NR**	0/5	15, 47
370	NR**	0/5	47
371	NR**	0/5	47
1000	NR**	4/5	13, 14
1001	NR**	0/4	48

\*PI: pós-inoculação.

\*\*NR: não-reagente.

**Tabela 8:** Isolamento de *T. gondii* em órgãos de camundongos submetidos à técnica de bioensaio utilizando tecidos de galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, de maio a agosto de 2009.

Número da galinha	Camundongos positivos/ inoculados no bioensaio					
	Exame Direto	<i>Imprint</i>				<i>Squash</i>
	Cérebro	Pulmões	Coração	Baço	Fígado	Líquido peritoneal
326	2/5	2/5	0/5	0/5	0/5	0/5
336	0/5	1/5	0/5	0/5	0/5	0/5
337	0/5	5/5	2/5	4/5	2/5	5/5
338	0/5	3/5	0/5	0/5	0/5	2/5
339	0/5	3/4	1/4	1/4	0/4	4/4
340	0/5	2/5	0/5	0/5	0/5	2/5
361	0/5	4/5	0/5	1/5	1/5	4/5
365	0/5	3/5	2/5	1/5	1/5	2/5
1000	0/5	4/5	0/5	0/5	0/5	4/5

## 5.4 COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS

O *kappa* calculado foi de 0,416 (concordância moderada). Analisando a RIFI em relação ao bioensaio em camundongos (Tabela 9), observou-se uma sensibilidade e especificidade da RIFI de 89% e 62%, respectivamente e valores preditivo positivo e negativo de 50% e 93%, respectivamente. A acurácia foi de 70%. No total, foram observadas 8 galinhas positivas e 13 negativas em ambos os testes (Tabela 9).

**Tabela 9:** Resultados comparativos da reação de imunofluorescência indireta em relação ao bioensaio em camundongos para diagnóstico de toxoplasmose em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) criadas extensivamente para consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, de maio a agosto de 2009.

RIFI	Bioensaio em camundongos		
	Positivo n(%)	Negativo n (%)	Total n(%)
<b>Positivo</b>	8(26,7)	8(26,7)	16(53,4)
<b>Negativo</b>	1(3,3)	13(43,3)	14(46,6)
<b>Total</b>	9(30)	21(70)	30(100)

## 6 DISCUSSÃO

A soroprevalência de 25,9% encontrada em Rio Bonito foi inferior às relatadas por outros autores nos municípios de Barra Mansa (Bonna et al. 2006) e Campos dos Goytacazes (da Silva et al. 2003), estado do Rio de Janeiro, que foram respectivamente de 47,8% e 65,2%. Também foi inferior às soroprevalências relatadas em outras localidades do país: em São Paulo, 35,3% (Dubey et al. 2002); Paraná, 40% (Dubey et al. 2003d); em Rondônia, 66% (Dubey et al. 2006a); Minas Gerais, 53,6% (Brandão et al. 2006); Nordeste, 53,3% (de Oliveira et al. 2009); Pará, 59% (Dubey et al. 2007b); Rio Grande do Sul, 38% (Dubey et al. 2007b). Todavia, foi superior à relatada no Paraná, de 10,3% (Garcia et al. 2000) e no Rio de Janeiro, de 14,8% (Millar 2008). Em diversos países, a soroprevalência de *T. gondii* em galinhas de criações extensivas apresenta ampla variação: nos Estados Unidos de 17% a 100% (Dubey et al. 2003a, Dubey et al. 2007a); na América Latina, de 6,2% no México (Dubey et al. 2004d) a 85,7% na Nicarágua (Dubey et al. 2006b); na Europa, de 12,5% na Itália (Dubey et al. 2008b) a 30% na Polônia (Dubey et al. 2008b); na Ásia, de 17,9% na Índia (Sreekumar et al. 2003) a 51,1% no Irã (Zia-Ali et al. 2007) e na África, de 40,4% no Egito (Dubey et al. 2003c) a 64% em Gana (Dubey et al. 2008b). De acordo com Garcia et al. (2000), diferenças nas soroprevalências de *T. gondii* em galinhas podem estar relacionadas à níveis diferentes de infectividade nos ecossistemas estudados ou às diferenças de sensibilidade entre as técnicas utilizadas para o diagnóstico.

Os resultados encontrados sugerem uma maior contaminação ambiental do bairro de Prainha em relação aos outros e uma menor contaminação ambiental do bairro de Boa Esperança. Os baixos títulos encontrados no presente estudo sugerem que os animais estavam numa fase crônica da infecção ou que não tenha havido tempo hábil para formação de títulos de anticorpos mais elevados, indicativos de infecção aguda. Independente da fase da infecção, esses resultados demonstram

que existe a possibilidade de infecção do homem caso a carne dessas aves seja consumida crua ou mal cozida.

Considerando-se o inquérito epidemiológico, todas as criações extensivas investigadas possuíam finalidade de subsistência e quase metade delas, também tinham finalidade comercial, o que significa que a possibilidade de infecção por *T. gondii* não se restringe apenas às famílias dos criadores, mas também aos compradores dessas aves. Embora não quantificado, alguns proprietários que relataram utilizar a criação somente para a subsistência, eventualmente davam aves aos vizinhos. Millar et al. (2008) afirmam que criações de galinhas em escala industrial possuem pequena importância na epidemiologia da infecção toxoplásmica em humanos, visto que o tipo de manejo e o sistema de criação são rápidos, não permitindo o contato com felinos e outras fontes de infecção, diferente da criação doméstica em pequena escala, do tipo caipira, onde os animais estão sujeitos ao contato com gatos, solo e água contaminados, convivendo durante anos nesse mesmo ambiente. Araújo et al. (1989) detectaram por meio da prova de hemaglutinação indireta, uma prevalência de 2,8% em frangos de criação intensiva abatidos em matadouros de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Em outro estudo realizado por Millar (2008), foi verificado que aves de criações do tipo caipira têm 0,16 vez mais chance de se infectar do que aves de criação intensiva.

Apesar de um baixo percentual de consumo de carne de frango mal passada por humanos ter sido observado e portanto, a possibilidade de infecção por esta via ser pequena na região estudada, em metade das propriedades, os ovos eram consumidos mal cozidos. A possibilidade de infecção para o homem por consumo de ovos crus é rara e está relacionada ao número de ovos de galinhas ingeridos por indivíduo, visto que o protozoário *T. gondii* raramente é encontrado nesses. No entanto, o consumo de ovos crus deve ser evitado, não somente para evitar a infecção por *T. gondii*, mas também por *Salmonella* sp (Jacobs; Melton 1966, Dubey 2010). O consumo de carne e de produtos cárneos crus ou mal cozidos contendo cistos de *T. gondii* pode causar também a infecção pelo protozoário, entretanto o risco de infecção varia de acordo com a região, devendo-se considerar a taxa de consumo e a soroprevalência na espécie animal estudada (Cook et al. 2000, Dubey et al. 2005h, Millar et al. 2008). Segundo Tenter et al. (2000), os cistos de *T. gondii* podem ser encontrados com frequência em galinhas, perdendo apenas para suínos, ovinos e caprinos, respectivamente. O hábito de lavar as mãos antes de cozinhar foi

relatado por todos os proprietários, tal medida é importante, visto que a higiene é importante para evitar a contaminação cruzada de alimentos com cistos teciduais de *T. gondii* e conseqüentemente, a infecção toxoplásmica (Amendoeira 1995, Devada et al.1998, Tenter 2009).

Camargo et al. (1995) realizaram um estudo caso-controle em Minas Gerais para determinar se as variáveis ligadas com contato com animais no passado e presente poderiam estar associadas à prevalência da infecção humana por *T. gondii* utilizando a RIFI nos anos de 1983 e 1984. A proporção de indivíduos que apresentaram contato com gatos no domicílio, assim como contato constante com galinhas, tanto no passado quanto na residência atual, foi maior no grupo que apresentou sorologia reativa. Esses mesmos autores também encontraram associação entre contato com porcos no passado e soropositividade no momento do estudo. A associação entre contato com galinhas e soropositividade em humanos por meio da técnica de ELISA também foi observada em estudo realizado por Alvarado-Esquivel et al. (2009) no México.

A presença de horta nas propriedades não pareceu ser um fator importante na epidemiologia da toxoplasmose nas propriedades avaliadas no presente estudo, concordando com os achados de Alvarado-Esquivel et al. (2009), que não encontraram associação entre atividades como agricultura e jardinagem com a soropositividade por *T. gondii* em gestantes do México. Contudo, na propriedade em que havia horta, os gatos podiam acessá-la livremente e por conseguinte, essa estaria sujeita a contaminação por fezes de felinos, podendo servir de fonte de infecção para o homem, caso a lavagem das verduras antes do consumo não fosse feita de forma eficiente. Jones et al. (2006) encontraram associação entre trabalho com jardinagem e infecção aguda por *T. gondii* em humanos na cidade de Erechim, Rio Grande do Sul.

Foi encontrada uma grande população de gatos nas propriedades estudadas. Esses animais recebiam na alimentação carne crua ou mal cozida de aves e outras espécies animais e tinham acesso às aves e aos alimentos e água fornecidos a elas. Sabe-se que gatos são comumente utilizados em criações extensivas como método de controle de roedores. É importante ressaltar que uma importante via de infecção para os gatos é a ingestão de tecidos contendo *T. gondii* logo após o nascimento (Jones; Dubey 2010). Segundo Dubey (2010), tecidos de galinhas infectadas são uma eficiente fonte de infecção para os gatos. A não associação observada entre a

presença desses animais com a soropositividade das galinhas concorda com Cavalcante et al. (2006) que não encontraram associação entre a presença de gatos e a soroprevalência em humanos no estado de Rondônia. A presença de gatos no ambiente mantém o ciclo de *T. gondii* por serem hospedeiros definitivos e raramente apresentarem sinais clínicos, sendo capazes de eliminar sob condições experimentais milhões de oocistos (Dubey 2001, Dabritz; Conrad 2010), contaminando o ambiente e servindo de fonte de infecção para o homem, galinhas e outras espécies animais. Besné-Mérida et al. (2008) encontraram associação entre ingestão de alimentos crus pelos gatos (*odds ratio*=2,21) com a soropositividade para anticorpos anti-*T. gondii* para essa mesma espécie. A soropositividade da infecção por *T. gondii* em humanos foi associada à presença de gatos em estudos realizados em Campos dos Goytacazes e México (Bahia-Oliveira et al. 2003, Alvarado-Esquivel et al. 2009). Jones et al. (2009) realizaram um estudo caso-controle em pacientes humanos adultos recém-infectados por *T. gondii* e encontraram um elevado risco de infecção associado ao fato de possuir mais de três gatos.

Spalding et al. (2005) analisaram vários fatores de risco para a transmissão da toxoplasmose em gestantes de áreas rurais e urbanas do Rio Grande do Sul e não observaram associação entre a soroprevalência da infecção toxoplásmica e a presença de gatos em área rural. Esses mesmos autores demonstraram que outros fatores de risco poderiam estar envolvidos, tais como: contato com solo, contato com gatos, presença de roedores, consumo de leite cru, consumo de embutidos feitos em casa e consumo de carne mal cozida. Além disso, foi verificado que a soroprevalência ajustada de gestantes com infecção por *T. gondii* está associada a vários fatores de risco e não somente a uma única fonte de infecção. Segundo Tenter (2009), a prevalência da infecção toxoplásmica não está relacionada a presença de certos hospedeiros, já que o ciclo biológico pode se perpetuar pela transmissão por meio de ingestão de cistos teciduais entre hospedeiros intermediários, mesmo na ausência dos hospedeiros definitivos, e também transmissão por ingestão de oocistos esporulados entre os hospedeiros definitivos. Outros fatores como a ingestão de hospedeiros invertebrados de transporte (como por exemplo, minhocas) e disseminação de oocistos pelo vento e água das chuvas, com conseqüente contaminação da água e ambiente onde vivem as galinhas,

podem estar relacionados a soropositividade da infecção por *T. gondii* nessas aves no presente trabalho.

A presença de roedores também teve associação significativa com soropositividade para anticorpos IgG anti-*T. gondii* pela RIFI em galinhas no estudo realizado por Bonna et al. (2006), corroborando com o observado neste trabalho. Entretanto, Camargo et al. (1995) não encontraram associação entre presença de roedores e soropositividade pela RIFI em humanos. Ratos podem servir de reservatórios para infecção de suínos, caninos e possivelmente felinos já que se alimentam desses animais vivos ou mortos (Dubey; Frenkel 1998). Foi observada no México uma prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* usando a MAT de 0,8% em ratos e 3,1% em camundongos, não tendo se obtido nenhum isolado viável pela técnica de bioensaio em camundongos. Nesse mesmo estudo, gatos apresentaram uma soroprevalência de 9,3% que foi considerada baixa e possivelmente associada a baixa prevalência da infecção pelo protozoário nos roedores e aves que esses animais costumavam caçar na área estudada (Dubey et al. 2009). A prevalência relatada previamente em galinhas (6,2%) pela MAT na mesma região, também foi considerada baixa (Dubey et al. 2004d). Apesar de roedores também serem considerados indicadores de contaminação ambiental, as galinhas possuem importância epidemiológica grande, sobretudo no meio rural e são mais importantes do que os roedores devido a sua longevidade (Dubey 2010). Vários fatores, tais como frequência de eliminação de oocistos pelos felídeos no ambiente e clima, afetam a sobrevivência dos oocistos no ambiente influenciando na prevalência da infecção toxoplásmica nos ratos (Dubey; Frenkel 1998).

Num elevado percentual (74,4%) de propriedades, o consumo de carne de caça foi descrito. A intensa contaminação ambiental pode gerar um efeito acumulativo nesses animais à medida que a idade aumenta. Gambás, por exemplo, são altamente suscetíveis ao *T. gondii*, apesar da soroprevalência ser geralmente mais baixa do que a dos mamíferos (Tenter 2009). No presente estudo, não foi observada a associação desta variável com a soropositividade em galinhas, esse achado corrobora com o estudo realizado em seres humanos por Camargo et al. (1995) em Minas Gerais e Bahia-Oliveira et al. (2003) em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro. Todavia, Alvarado-Esquivel et al. (2009), encontraram associação entre consumo de carne de caça e soroprevalência da infecção por *T. gondii* em gestantes no México.

No presente estudo, a origem da água consumida pelos humanos e animais era de poço e riacho ou fonte, sendo que uma parcela dos seres humanos não ingeria água filtrada ou fervida, podendo, portanto, servir de fonte de infecção para os homens e os animais. Apesar dos poços serem tampados na maioria das propriedades, a água das chuvas poderia funcionar como carreadora de oocistos eliminados pelos gatos, disseminando a contaminação no ambiente e nas fontes de água. A infecção por *T. gondii* em humanos associada à ingestão de água não filtrada já foi relatada. Um inquérito sorológico e epidemiológico foi realizado na região de Campos dos Goytacazes entre os anos de 1997 e 1999 para verificar a infecção por *T. gondii* em humanos motivado por relatos de uveíte por toxoplasmose. Após ajuste dos resultados por idade, foi constatada maior soropositividade no grupo de nível socioeconômico baixo (84%), quando comparada aos grupos de níveis socioeconômicos intermediário (62%) e superior (23%) e um aumento da soropositividade em todas as populações estudadas em função da idade. Os grupos de níveis socioeconômicos baixo e intermediário apresentaram maior chance de infecção por *T. gondii* por ingestão de água não filtrada em relação àqueles que não tem esse hábito (Bahia-Oliveira et al. 2003).

Um surto envolvendo 155 humanos no município de Santa Isabel do Ivaí, Paraná foi associado à ingestão de água contaminada com oocistos de *T. gondii* ou sorvete preparado com essa água. A contaminação do reservatório de água foi implicada como fonte de infecção do surto e foi possivelmente atribuída a presença de gata com filhotes vivendo no topo do reservatório que continha rachaduras e não era adequadamente protegido da água da chuva e conseqüentemente, da contaminação das fezes de gatos. Além disso, o processo de tratamento de água não incluía as etapas de floculação e filtração. O reservatório foi fechado e um novo foi construído (de Moura et al. 2006). Segundo Jones e Dubey (2010), oocistos de *T. gondii* são resistentes às influências ambientais, inclusive congelamento, não sendo inativados pelos tratamentos físico e químico comuns aplicados no tratamento de água, inclusive cloração, uso de raios ultravioleta e tratamento com ozônio. Eles podem sobreviver por mais de 54 meses em água fria. Sistemas de tratamento de água devem incluir a etapa de filtragem da água para eliminar *Cryptosporidium* sp. (3-5µm) e conseqüentemente, *T. gondii* (10-12µm).

Segundo Tenter et al. (2000), é possível manter criações de aves e porcos livres de *T. gondii* por meio de medidas de confinamento, higiene e prevenção. Para

isso, deve-se utilizar sistemas de confinamento livres de roedores, pássaros e insetos, alimentar os animais com ração esterilizada e controlar o acesso à criação e ao local de estocagem de ração para impedir a entrada de animais no local. Porém, na região estudada, considerando que se trata de uma população com baixo nível socioeconômico que usa a criação com finalidade principal de subsistência, com carência de condições para investir na criação, tais ações tornam-se impraticáveis. Nesse caso, as seguintes medidas profiláticas poderiam ser eficientes: lavar as mãos após o contato com a terra ou horta, antes de cozinhar e após o contato com carne crua, lavar bem as frutas e verduras antes de consumi-las, não ingerir carnes e ovos crus ou mal cozidos, beber somente água filtrada ou fervida, beber apenas leite fervido ou pasteurizado, lavar as mãos após o contato com os animais, fornecer ração ou alimentos bem cozidos aos gatos e cobrir os poços afim de evitar que os gatos defiquem na água.

O relato de casos de toxoplasmose existentes nas propriedades investigadas e na região aponta a necessidade de estudos sobre a infecção toxoplásmica em humanos no município de Rio Bonito. Resultados mais conclusivos poderiam ser obtidos por meio de inquérito sorológico na população humana e investigação das variáveis associadas à infecção dessa por *T. gondii*.

Em relação ao bioensaio, a virulência de *T. gondii* nos camundongos depende de diversos fatores tais como, o estágio do parasito, rota, dose, linhagem dos camundongos e do parasito. De acordo com a virulência parasitária de *T. gondii* para camundongos, o protozoário pode ser classificado em: virulento, quando causa 100% de mortalidade nos camundongos nas quatro primeiras semanas; virulento intermediário, quando causa mais de 30% de mortalidade nesse período e não-virulento, quando causa mortalidade igual ou inferior a 30%. Esse critério é definido conforme a mortalidade de camundongos infectados positivos na técnica de bioensaio dentro das quatro primeiras semanas de inoculação (Pena et al. 2008). No presente estudo, não foi possível classificar quanto à virulência parasitária segundo esse critério, já que devido a questões éticas, os camundongos que apresentaram sinais clínicos citados anteriormente foram submetidos à eutanásia, seguida de pesquisa de cistos e taquizoítas.

O desenvolvimento de pneumonia toxoplásmica em camundongos no presente trabalho corrobora com os achados de outros trabalhos (Dubey et al. 2002, 2006a, 2007b), além disso, Jamra e Vieira (1991) recomendam o exame a fresco do

pulmão como substituto ou confirmação do exame do exsudato peritoneal, seja no macerado ou no *imprint* do órgão. Dubey et al. (2006a) relataram dificuldade em encontrar cistos teciduais, os quais foram mais facilmente encontrados no cérebro de camundongos soropositivos seis semanas após a inoculação. No presente trabalho, cistos de *T. gondii* foram encontrados no cérebro de dois animais submetidos à eutanásia nos dias 23 e 45 pós-inoculação, respectivamente. De forma geral, a baixa frequência de cistos encontrada nesse órgão pode ser devido ao fato dos animais com sintomatologia terem sido submetidos à eutanásia até o trigésimo dia pós-inoculação, não havendo tempo hábil para formação de cistos de *T. gondii* no cérebro.

Considerando-se o percentual de isolamento obtido de aves com sorologia positiva, os resultados do presente trabalho concordam com os de outros autores que encontraram altos percentuais positivos como os encontrados nos Estados Unidos (Dubey et al. 2003a) de 55% e na Guatemala (Dubey et al. 2005b) de 42%. No Brasil, nossos achados foram inferiores aos encontrados em São Paulo (Dubey et al. 2002) de 75,8%, no Paraná (Dubey et al. 2003d) de 81,3%, em Rondônia (Dubey et al. 2006a) de 72,3%, no Pará (Dubey et al. 2007b) de 59% e superiores aos encontrados no Rio Grande do Sul (Dubey et al. 2007b) de 38% e no Nordeste (de Oliveira et al. 2009) de 28,3%. O isolamento de *T. gondii* a partir de tecido de galinha cuja sorologia foi negativa, foi também demonstrado em outros trabalhos, indicando que a galinha foi possivelmente infectada recentemente e não apresentava ainda anticorpos detectáveis e que o bioensaio é capaz de detectar parasitos viáveis, mesmo quando a sorologia é negativa (da Silva et al. 2003, Brandão et al. 2006, Dubey et al. 2004a). A variabilidade dos isolados encontrados depende da idade das galinhas, do número de aves examinadas e tecidos submetidos ao bioensaio (Dubey 2010).

Os resultados negativos no bioensaio realizado com tecidos de sete galinhas com títulos de anticorpos anti-*T. gondii* podem estar associados à localização do parasito em tecidos diferentes do coração, encéfalo e musculatura da coxa, como o ovário, conforme foi constatado por Jacobs e Melton (1966).

Com relação ao diagnóstico, estudos realizados em suínos compararam as técnicas de PCR e bioensaio em camundongos e verificaram melhores resultados por meio dessa última técnica em relação a técnica de PCR (Silva; Langoni 2001, Garcia et al 2006). A RIFI vem sendo usada em inquéritos sorológicos em humanos

(Camargo et al. 1995) e como método de triagem para seleção de amostras utilizadas em estudos comparativos de técnicas (Silva; Langoni 2001, Yai et al. 2003). Cavalcante et al. (2006) compararam as técnicas de MAT e RIFI em humanos, tendo encontrado 100% de concordância entre as técnicas.

Inquéritos sorológicos em galinhas utilizando a RIFI têm sido realizados (Garcia et al. 2000, Bonna et al. 2006, Brandão et al. 2006, Asgari et al. 2008, Millar 2008). Segundo Dubey (2010), pouco se sabe sobre a validade e a acurácia da RIFI no diagnóstico de toxoplasmose em galinhas. Entretanto, Millar (2008) comparou as técnicas de RIFI e ELISA para o diagnóstico de toxoplasmose em galinhas e verificou que essas técnicas são eficazes na detecção da infecção por *T. gondii* nesses animais com uma concordância acentuada ( $kappa=0,865$ ). Dubey (2010) considera a técnica de ELISA como conveniente para o diagnóstico da infecção toxoplásmica em galinhas em estudos de grande escala. A MAT, apesar de muito utilizada, ainda não foi validada para o diagnóstico de toxoplasmose em galinhas (Dubey 2010).

A RIFI apresentou baixa sensibilidade e especificidade e o valor  $kappa$  moderado obtido não foi satisfatório. Esses resultados podem ser explicados devido ao tamanho da amostra e prevalência, demonstrando a necessidade de mais estudos. Apesar de não terem realizado comparação da RIFI com relação ao bioensaio, Brandão et al. (2006) obtiveram resultados semelhantes aos nossos, ao realizar o bioensaio em camundongos a partir de tecidos de 28 galinhas. Esses autores isolaram *T. gondii* de nove das 15 galinhas com sorologia positiva pela RIFI e em duas de 13 galinhas com sorologia negativa para mesma técnica. Foram considerados positivos títulos iguais ou superiores a 16 e os títulos encontrados variaram entre 16 e 1024.

## 7 CONCLUSÕES

As frequências de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em galinhas e um elevado percentual de propriedades com casos positivos encontrados no município de Rio Bonito sugerem grande contaminação ambiental na área estudada.

A maior frequência de galinhas positivas e os títulos mais altos encontrados em Prainha sugerem uma maior contaminação ambiental nesse bairro em relação aos outros.

O isolamento de *T. gondii* em tecidos de galinhas do município de Rio Bonito demonstra a existência de parasitos viáveis, capazes de infectar o homem e outros animais pela ingestão de carne crua ou mal cozida dessas aves e confirmam a contaminação ambiental na região.

A presença de roedores e alimentação dos gatos com miúdos de galinhas crus ou mal cozidos tiveram associação com a positividade da RIFI para anticorpos IgG anti-*T.gondii* em galinhas.

A RIFI apresentou baixa sensibilidade e especificidade e valor *kappa* moderado na amostra estudada, porém um número maior de amostras é necessário para confirmar esses resultados.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acha PN, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 2ª edición. Washington: Organización Panamericana de la Salud/ Organización Mundial de la Salud; 1986.

Albuquerque GR, Munhoz AD, Flausino W, Silva RT, Almeida CRR, Medeiros SM, et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros do Vale do Paraíba Sul Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. Rev Bras Parasitol Vet 2005;14(3):125-8.

Alvarado-Esquivel C, Torres-Castorena A, Liesenfeldt O, Garcia-Lopez CR, Estrada-Martinez S, Sifuentes-Alvarez, et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in rural Durango, Mexico. J Parasitol 2009;95(2):271-4.

Amendoeira MRR. Mecanismos de transmissão da toxoplasmose. An Acad Nac Med 1995;155(4):224-5.

Amendoeira MRR, Costa T, Spalding SM. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. Rev Souza Marques 1999;1(1):15-35.

Araújo, FAP, Silva NRS, Chaplin EL Bigatti LE. Prevalência de Anticorpos toxoplásmicos em frangos abatidos para consumo humano em Porto Alegre, Rio Grande do Sul. Arq Fac Vet UFRGS, Porto Alegre, 1989;17:23-8.

Araújo FAP. Avaliação soropidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle and Manceaux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da região da Grande Erechim, RS – Brasil detectados através das técnicas de imunofluorescência indireta e imunoenzimática. Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Biologia Parasitária] - Instituto Oswaldo Cruz. 1999.

Asgari Q, Mohajeri FA, Kalantari M, Esmailzadeh B, Farzaneh A, Moazeni M, et al. Chicken toxoplasmosis in different types of breeding: a seroprevalence survey in Southern Iran. Int J Poultry Sci 2008;7(12):1247-50.

Aspinall TV, Markee D, Hyde JE, Sims PFG. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction-food for thought? Int J Parasitol 2002;32:1193-9.

Associação Brasileira dos Produtores e Exportadores de Frangos [acesso em 16 abr 2009]. Disponível em: <http://www.abef.com.br/default.php#>

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

Besn -Mérida A, Figueroa-Castillo Já, Martinez-Maya JJ, Luna-Past n H, Calderón-Segura E, Correa D. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Mexico City. Vet Parasitol 2008;157:310-13.

Bonna ICF, Figueiredo FB, Costa T, Vicente RT, Santiago CAD, Nicolau JL, et al. Estudo soroepidemiológico 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 infec o 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.

Brandão GP, Ferreira AM, Melo MN, Vitor RWA. Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. Parasite 2006;13:143-9.

Camargo MCV, Antunes CMF, Chiari CA. Epidemiologia da infec o por *T. gondii* no município de Ribeirão das Neves, MG. I. Importância dos animais domésticos como fonte de infec o do *T. gondii* para o homem. Rev Soc Bras Med Trop 1995;28(3):211-4.

Camargo ME. Toxoplasmose. In: Ferreira AW,  vila SLM. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1996.

Cardozo SP, Yamamura MH. Parasitas em produ o de frangos no sistema de cria o tipo colonial/ caipira no Brasil. Semin, Cienc Agrar 2004;25(1):63-74.

Cavalcante GT, Aguiar DM, Camargo LMA, Labruna MB, Andrade HF, Meireles LR, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in human from rural Western Amazon, Brazil. *J Parasitol* 2006;92(3):647-9.

Chimelli L, Rosemberg S, Hahn MD, Lopes MB, Netto MB. Pathology of the central nervous system in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV): a report of 252 autopsy cases from Brazil. *Neuropath Appl Neurobiol* 1992;18:478-88.

Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ Psychol Meas* 1960;20(1):37-46.

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.

Cook AJC, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, Foulon W, et al. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMJ* 2000;321:142-7.

Costa KS, Santos SL, Uzêda RS, Pinheiro AM, Almeida MAO, Araújo FR, et al. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. *Int J Parasitol* 2008;38:157-9

Dabritz HA, Conrad PA. Cats and *Toxoplasma*: implications for Public Health. *Zoonoses Public Health* 2010;57(1):34-52.

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

Dannemann B, Mccutchan JA, Israelski D, Antoniskis D, Leport C, Luft B, et al. Treatment of toxoplasmic encephalitis in patients with AIDS. A randomized trial comparing pyrimethamine plus clindamycin to pyrimethamine plus sulfadiazine. The California Collaborative Treatment Group. *Ann Intern Med* 1992;116:33-43.

da Silva DS, Bahia-Oliveira LMG, Shen SK, Kwok OCH, Lehman T, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J Parasitol* 2003;89(2):394-6.

de Moura L, Bahia-Oliveira LMG, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis* 2006;12(2):326-9.

de Oliveira L, Costa Junior LM, Mello C, Ramos Silva J, Bevilaqua CM, Azevedo S, Muradian V, et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the Northeast region of Brazil. *J Parasitol* 2009;95(1):235-7.

Derouin F, Pelloux H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(12):1089-101.

Devada K, Anandan R, Dubey JP. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Mandras, India. *J Parasitol* 1998;84(3):621-2.

dos Santos CBDA, de Carvalho ACFB, Ragozo AMA, Soares RM, Amaku M, Yai LEO, et al. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo state, Brazil. *Vet Parasitol* 2005;131(3-4):207-11.

Dubey JP, Desmonts G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Equine Vet J* 1987;19(4):337-9.

Dubey JP. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues 1998;74:75-7.

Dubey JP, Frenkel JK. Toxoplasmosis of rats: a review, with considerations of their value as an animal model and their possible role in epidemiology. *Vet Parasitol* 1998;77:1-32.

Dubey JP, Kerber CE, Granstrom DE. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in horses in Brazil. *J Am Vet Med Assoc* 1999;215(7):970-2.

Dubey JP. Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. *J Parasitol* 2001;87:215-9.

Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. *Vet Parasitol* 2002;106:121-53.

Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, Lehmann T, Gennari SM, Ragozo AM, et al. Biological and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int J Parasitol* 2002;32(1):99-105.

Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Lehmann T, Davis MF, et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the United States. *J Parasitol* 2003a;89(5):1060-2.

Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, Piscopo M, Dahl E, Sreekumar C, et al. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Argentina. *J Parasitol* 2003b;89(5):1063-4.

Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Hilali M, El-Ghayash A, Sreekumar C, et al. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens and ducks from Egypt. *Vet Parasitol* 2003c;114(2):89-95.

Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from Paraná, Brazil. *Vet Parasitol* 2003d;117(3):229-34.

Dubey JP, Levy MZ, Sreekumar C, Kwok OC, Shen SK, Dahl E, et al. Tissue distribution and molecular characterization of chicken isolates of *Toxoplasma gondii* from Peru. *J Parasitol* 2004a;90(5):1015-8.

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* 2004b;90(4):721-6.

Dubey JP, Salant H, Sreekumar C, Dahl E, Vianna MC, Shen SK, et al. High prevalence of *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications of free-range farming. *Vet Parasitol* 2004c;121(3-4):307-22.

Dubey JP, Morales ES, Lehmann T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. *J Parasitol* 2004d;90(2):411-5.

Dubey JP. Toxoplasmosis and cats and dogs. In: 30<sup>th</sup> World Small Animal Veterinary Association [Evento na Internet] 2005; Mexico. [acesso em 06 set 2009]. Disponível em:

<http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2005;PID=10951;O=Generic>

Dubey JP, Bhaiyat MI, Allie C, Macpherson CNL, Sharma RN, Sreekumar C, et al. Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens in Grenada, West Indies. J Parasitol 2005a;557-60.

Dubey JP, Lopez B, Alvarez M, Mendonza C, Lehmann T. Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Guatemala. J Parasitol 2005b;91(4):955-7.

Dubey JP, Gomez-Marin JE, Bedoya A, Lora F, Vianna MC, Hill D, et al. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Colombia, South America. Vet Parasitol 2005c;134(1-2):67-72.

Dubey JP, Marcet PL, Lehman T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Argentina. J Parasitol 2005d;91(6):1335-6.

Dubey JP, Rajapakse RP, Ekanayake DK, Sreekumar C, Lehmann T. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens from Sri Lanka. J Parasitol 2005e;91(6):1480-2.

Dubey JP, Edelhofer R, Marcet P, Vianna MC, Kwok OC, Lehmann T. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria. Vet Parasitol 2005f;133(4):299-306.

Dubey JP, Hill DE, Jones JL, Hightower AW, Kirkland E, Roberts JM, et al. *Toxoplasma gondii* infections in chickens from Venezuela: isolation, tissue, distribution, and molecular characterization. J Parasitol 2005g;91(6):1332-4.

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 and risk assesment to consumers. J Parasitol 2005h;91(5):1082-93.

Dubey JP, Gennari SM, Labruna MB, Camargo LMA, Vianna MCB, Marcet PL, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. J Parasitol 2006a;92(1):36-40.

Dubey JP, Sundar N, Pineda N, Kyvsgaard NC, Luna LA, Rimbaud E, et al. Biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Nicaragua, Central America. *Vet Parasitol* 2006b;142(1-2):47-53.

Dubey JP, Patitucci AN, Su C, Sundar N, Kwok OC, Shen SK. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Chile, South America. *Vet Parasitol* 2006c;140(1-2):76-82.

Dubey JP, Su C, Oliveira J, Morales JA, Bolaños RV, Sundar N, et al. Biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Costa Rica, Central America. *Vet Parasitol* 2006d;139(1-3):29-36.

Dubey JP, Vianna MC, Sousa S, Canada N, Meireles S, Correia da Costa JM, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. *J Parasitol* 2006e;92(1):184-6.

Dubey JP, Webb DM, Sundar N, Velmurugan GV, Bandini LA, Kwok OC, et al. Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: clinical disease, diagnosis, biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*). *Vet Parasitol* 2007a;148(3-4):207-12.

Dubey JP, Sundar N, Gennari SM, Minervino AH, Farias NA, Ruas JL, et al. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. *Vet Parasitol* 2007b;143(2):182-8.

Dubey JP, Applewhaite L, Sundar N, Velmurugan GV, Bandini LA, Kwok OC, et al. Molecular and biological characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from Guyana, South America, identified several unique and common parasite genotypes. *Parasitology* 2007c;134(11):1559-65.

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.

Dubey JP, Velmurugan GV, Chockalingan A, Pena HF, de Oliveira LN, Leifer CA, et al. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Brazil. *Vet Parasitol* 2008a;157(3-4):299-305.

Dubey JP, Huong LT, Lawson BW, Subekti DT, Tassi P, Cabaj W, et al. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens in Ghana, Indonesia, Italy, Poland, and Vietnam. *J Parasitol* 2008b;94(1):68-71.

Dubey JP, Velmurugan GV, Alvarado-Esquivel C, Alvarado-Esquivel D, Rodríguez-Peña S, Martínez-García S, et al. Isolation of *Toxoplasma gondii* from animals in Durango, Mexico. *J Parasitol* 2009;95(2):319-22.

Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. *Zoonoses Public Health* 2010;57(1):60-73.

El-Massry A, Mahdy AO, El-Ghayshi A, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of turkeys, chickens, and ducks from Egypt. *J Parasitol* 2000;86(3):627-8

Esteban-Redondo I, Maley SW, Thomson K, Nicoll S, Wright S, Buxton D, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. *Vet Parasitol* 1999;86:209-17.

Fayer R, Dubey JP. Methods of controlling transmission of protozoan parasites from meat to man. *Food Technol* 1985;39(3):57-60.

Ferreira HG, Alexandre GMC, Costa T, Vicente RT, Nogueira MCA, Cunha CLM, et al. Toxoplasmosis in pregnant women from Instituto Fernandes Figueira – FIOCRUZ – RJ, in a period between 1994 and 1996 – Epidemiological aspects. In: XIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Protozoologia. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997;92(Supl I):126.

Ferreira IMR, Vidal TA, Costa-Silva TA, Meira CS, Hiramoto RM, Oliveira ACP, et al. *Toxoplasma gondii*: Genotyping of strains from Brazilian AIDS patients with cerebral toxoplasmosis by multilocus PCR-RFLP markers. *Exp Parasitol* 2008;118:221-7.

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, Teixeira MC, Araújo FAP. Toxoplasmose animal no Brasil. *Acta Sci Vet* 2009;37(1):1-23.

Furuta PI, Mineo TW, Carrasco AO, Godoy GS, Pinto AA, Machado RZ. *Neospora caninum* infection in birds: experimental infections in chicken and embryonated eggs. *Parasitol* 2007;134(14):1931-9.

Galván-Ramírez ML, Guillen-Vargas C, Saavedra-Durán R, Islas-Rodríguez A. Analysis of *Toxoplasma gondii* antigens with sera from toxoplasmosis patients. *Rev Soc Bras Med Trop* 1998;31(3):271-7.

Garcia JL, Gennari SM, Machado RZ, Navarro IT. *Toxoplasma gondii*: detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. *Exp Parasitol* 2006;113:267-71.

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Marana ERM. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. *Cienc Rural* 2000;30(1):123-7.

Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D, Martins MC, Burnier Júnior M, Silveira S, et al. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. *Am J Ophthalmol* 1992;114:136-44.

Governo do Rio de Janeiro [homepage na Internet]. [acesso em 23 out 2009]. Disponível em: <http://www.governo.rj.gov.br/municipal.asp?M=53>

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.

Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP, Lunney JK, Gamble HR. Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. *Vet Parasitol* 2006;141:9-17.

Homan WL, Vercammen M, Braekeleer J. Identification of a 200 to fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. *Int J Parasitol* 2000;30:69-75.

Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis* 1995;172:1561-66.

Hutchison WM. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. *Nature* 1965;206:961-2.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [homepage na Internet]. Cidades [acesso em 8 nov 2009]. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php>

Jacobs L, Melton ML. Toxoplasmosis in chickens. *J Parasitol* 1966;52:1158-62.

Jamra LMF, Vieira MPL. Isolamento de *Toxoplasma gondii* de exsudato peritoneal e órgãos de camundongos com infecção experimental. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 1991;33(6):435-41.

Jones JL, Muccioli C, Belfort R, Holland GN, Roberts JM, Silveira C. Recently acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2006;12(4):582-7.

Jones JL, Dargelas V, Roberts J, Press C, Remington JS, Montoya JG. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in the United States. *Clin Infect Dis* 2009;49(6):878-84.

Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. *Exp Parasitol* 2010;124(1):10-25.

Jones TC, Hunt RD, King NW. *Patologia Veterinária*. São Paulo: Manole, 2000.

Khan A, Jordan C, Muccioli C, Vallochi AL, Rizzo LV, Belfort Jr R, et al. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2006;12(6):942-8.

Langoni H, Modolo JR, Pezerico SB, Silva RC, Castro APB, da Silva AV, et al. Serological profile of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of city of Botucatu, São Paulo State, Brazil. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis* 2006;12(1):142-8.

Lindström I, Sundar N, Lindh J, Kironde F, Kabasa JD, Kwok OC. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gonii* from Ugandan chickens reveals frequent multiple infections. *Parasitology* 2008;135(1):39-45.

Mack S, Hoffmann D, Otte J. The contribution of poultry to rural development. *World's Poult Sci Assoc* 2005;61:7-14.

Macruz R Oswaldo L, Ishizuka MM, Omar M, Cunha RAF. Toxoplasmose em eqüinos PSI. Estudo sorológico. Rev Fac Med Vet Zootec Univ São Paulo 1975;12(7): 277-82.

Mainardi RS, Modolo JR, Stachissimi AVM, Padovani CR, Langoni H. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no Estado de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop 2003;36(6):759-61.

Medeiros SM, Lopes CWG. Pleomorfismo de um amostra acistogênica de *Toxoplasma gondii* Nicolle Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolada de uma galinha naturalmente infectada. R Bras Med Vet 1996;18(2):71-3.

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 2008;29(3):693:706.

Moretti L D’Arc, Ueno TE, Ribeiro MG, Aguiar DM, Paes AC, Pezerico SB, et al. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. Semin, Cienc Agrar 2002;23(1):85-91.

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.

Munday BL. Serological evidence of *Toxoplasma* infection in isolated groups of sheep. Res Vet Sci 1972;13:100-102.

Mutalib A, Keirs R, Maslin W, Topper M, Dubey JP. *Sarcocystis*-associated encephalitis in chickens. Avian Dis 1995;39(2):436-40.

Netto EG, Munhoz AD, Albuquerque GR, Lopes CWG, Ferreira AMR. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle ; Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. Rev Bras Parasitol Vet 2003;12(4):145-9.

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

Nóbrega P, Trapp E, Giovannoni M. Spontaneous toxoplasmosis in fowls. Arq Inst Biol (São Paulo) 1955;22:43-49.

Oréface F, Bonfioli AA. Toxoplasmose. In: Oréface F, editor. Uveíte Clínica e cirúrgica. Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica, 2000.

Pena HFJ, Gennari SM, Dubey JP, Su C. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. Int J Parasitol 2008;38:561-9.

Puccioni-Sohler M, Corrêa RB, Perez MA, Schechter M, Ramos Filho C, Novis. Complicações neurológicas da síndrome de imunodeficiência adquirida. Arq Neuro-Psiquiat 1991;49(2):159-63.

Reis J, Nóbrega P. Doença produzida por protozoário de posição sistemática incerta. In: Tratado de doença das aves. São Paulo: Editora Melhoramentos, 1936.

Sabin AB, Feldman HA. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science 1948;108:660-3.

Sanchez RM, Castillo FC, Grana JP. Comparación de ELISA con las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y fijación del complemento para el diagnóstico de la toxoplasmosis. Rev Cuba Med Trop 1985;37(3):269-277.

Santos TR, Costa AJ, Toniollo GH, Luvizotto MC, Benett AH, Santos RR, et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dairy cattle, dogs and humans from the Jauru micro-region, Mato Grosso state, Brazil. Vet Parasitol 2009;161(3-4):324-6.

Silva ACR. Estudo sorológico e determinantes de risco para toxoplasmose em gestantes, seus conceitos e grupamentos familiares no município de Miracema, noroeste fluminense (2003-2006). Rio de Janeiro. Tese [Doutorado em Biologia Parasitária] – Instituto Oswaldo Cruz. 2008.

Silva AV, Langoni H. The detection of *Toxoplasma gondii* by comparing cytology, histopathology, bioassay in mice, and the polymerase chain detection (PCR). Vet Parasitol 2001;97:191-8.

Siqueira A. Criação, manejo e comercialização de galinhas caipiras e ovos [Palestra proferida no XI Seminário Nordestino de Pecuária; 26 jun 2007; Fortaleza, Ceará]. [acesso em 21 jul 2008]. Disponível em:

<http://www.pecnordeste.com.br/pecnordeste/doc/avicultura/Cria%C3%A7%C3%A3o%20Manejo%20e%20Comercializa%C3%A7%C3%A3o%20de%20Galinhas%20Caipiras%20e%20Ovos%20-%20Andr%C3%A9%20Siqueira.pdf>

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.

Souza SLP, Gennari SM, Yai LEO, D'Auria SRND, Cardoso MS. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in será from dogs of the urban and rural áreas from Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2003;12(1):1-3.

Spalding SM, Amedoeira 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.

Speer CA, Dubey JP, McAllister MM, Blixt JA. Comparative ultrastructure of tachyzoites, bradyzoites, and tissue cysts of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol* 1999;29:1509-19.

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.

Sreekumar C, Graham DH, Dahl E, Lehmann T, Raman M, Bhalerao DP, et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from India. *Vet Parasitol* 2003;118(3-4):187-94.

Sundar P, Mahadevan A, Jayshree RS, Subbakrishna DK, Shankar SK. *Toxoplasma* seroprevalence in healthy voluntary blood donors from urban Karnataka. *Indian J Med Res* 2007;126(1):50-5.

Tenter AM, Johnson AM. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidia. *Adv Parasitol* 1997;39:70-139.

Tenter AM, Heckerroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 2000;30:1217-58.

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

Terra MABL, Bello AR, Bastos OM, Amendoeira MRR, Coelho JMCO, Ferreira LF, Araújo A. Detection of *Toxoplasma gondii* DNA by polymerase chain reaction in experimentally desiccated tissues. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004;99(2):185-8.

Turner CB, Savva D. Detection of *Toxoplasma gondii* in an equine placenta. Vet Rec 1990;127(5):96.

Turner CB, Savva D. Detection of *Toxoplasma* in equine eyes. Vet Rec 1991;129(6):128.

Turner CB, Savva D. Transplacental infection of a foal with *Toxoplasma gondii*. Vet Rec 1992;131(6):179-80.

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

Wallace GD. Serologic and epidemiologic observations on toxoplasmosis on three Pacific Atolls. Am J Epidemiol 1969;90:103-11.

Wallace GD. Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. Am J Trop Med Hyg 1973;22(4):456-64.

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

Wikipédia [homepage na Internet]. [acesso em 23 out 2009]. Disponível em: [http://pt.wikipedia.org/wiki/Rio\\_Bonito](http://pt.wikipedia.org/wiki/Rio_Bonito)

Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in pregnancy. Clin Infect Dis 1994;18:853-62.

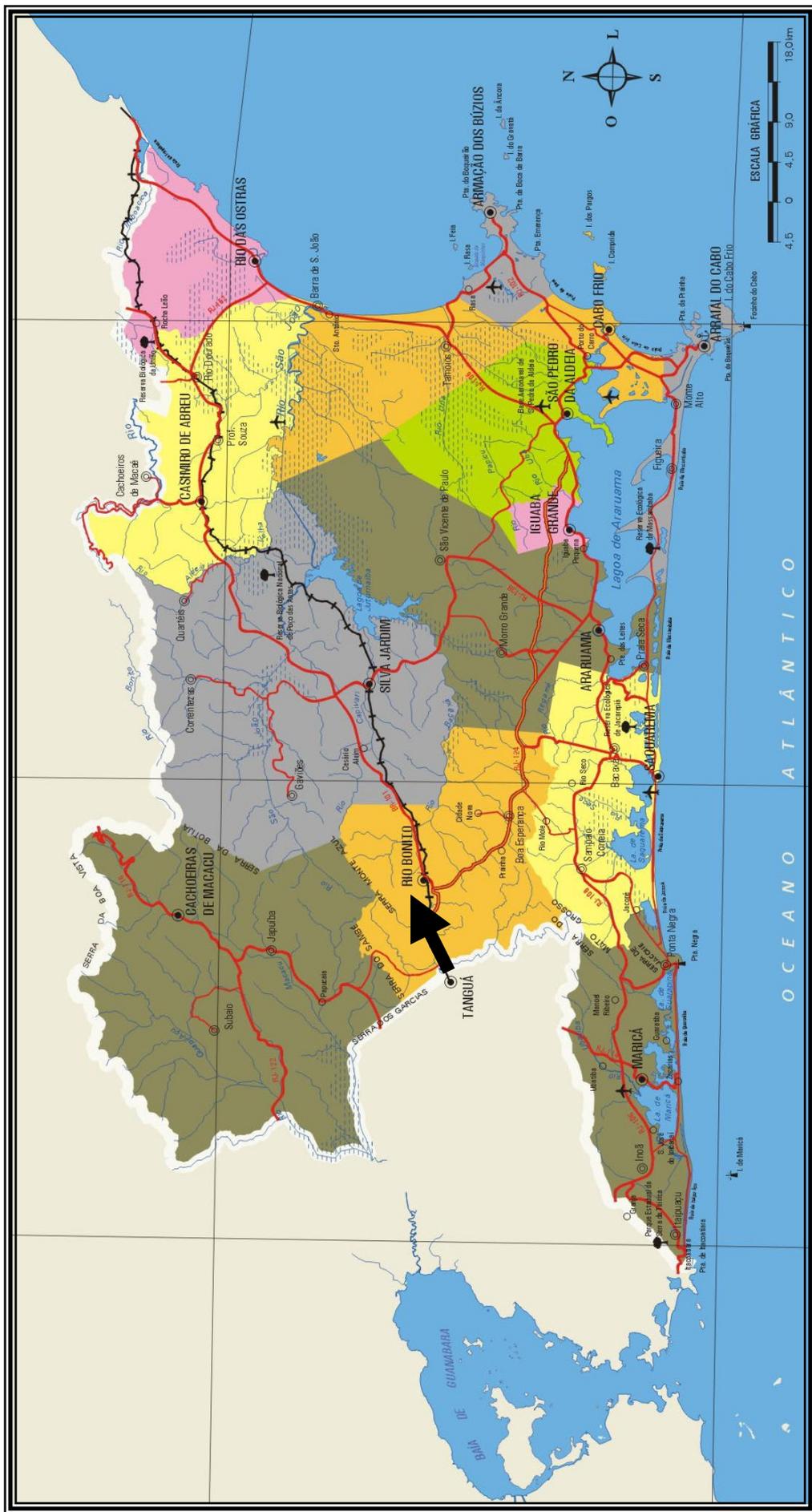
Yai LEO, Vianna MCB, Soares RM, Cortez A, Freire RL, Ritchzenhain LJ, et al. Evaluation of experimental *Toxoplasma gondii* (Nicolle and Manceaux, 1909) infection in pigs by bioassay in mice and polymerase chain reaction. *Braz J Vet Res Anim Sci* 2003;40:227-34.

Zia-Ali N, Fazaeli A, Khoramizadeh M, Ajzenberg D, Dardé M, Keshavarz-Valian H. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains from different hosts in Iran. *Parasitol Res* 2007;101(91):111-5.

Zhu J, Yin J, Xiao Y, Jiang N, Ankarlev J, Lindh J, et al. A sero-epidemiological survey of *Toxoplasma gondii* infection in free-range and caged chickens in northeast China. *Vet Parasitol* 2008;158(4):360-3.

## **ANEXOS**

## **ANEXO A - Mapa da Região das Baixadas Litorâneas**



Mapa da Região das Baixadas Litorâneas (Rio de Janeiro), na qual se inclui o município de Rio Bonito (seta). Fonte: Centro de Informações e Dados do Rio de Janeiro (CIDE).

## **ANEXO B - Medidas preventivas para toxoplasmosis**



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Pesquisa Clínica Evandro Chagas  
Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas

## **MEDIDAS PREVENTIVAS PARA TOXOPLASMOSE**

- 1- Lavar bem as frutas e verduras antes de consumi-las.
- 2- Não ingerir carnes e ovos crus ou mal cozidos.
- 3- Lavar bem as mãos após o contato com a terra ou horta.
- 4- Beber somente água filtrada ou fervida.
- 5- Beber apenas leite fervido ou pasteurizado.
- 5- Lavar as mãos após o contato com os animais.
- 6- Fornecer ração ou alimentos bem cozidos aos gatos.
- 7- Cobrir os poços afim de evitar que os gatos defequem na água.

A doença acomete homens e mulheres, porém as mulheres devem tomar alguns cuidados adicionais:

- ◆ Aquelas que estejam pensando em engravidar devem fazer pré-natal na unidade de saúde mais próxima, visando averiguar se está com infecção recente e nesse caso, deve-se adiar os planos de gravidez porque a infecção pode passar para o bebê e existe a possibilidade do bebê nascer com graves problemas de saúde;
- ◆ Portanto, é necessário que toda mulher grávida faça o monitoramento sorológico mensal (exame de sangue) para que seja avaliada a presença da infecção e caso seja necessário, o iniciar o tratamento;
- ◆ Faça o pré-natal e siga as orientações médicas.

A DOENÇA DO GATO

"DO GATO"?  
CALMA, GENTE,  
NÃO É BEM ASSIM!



**TOXOPLASMOSE**

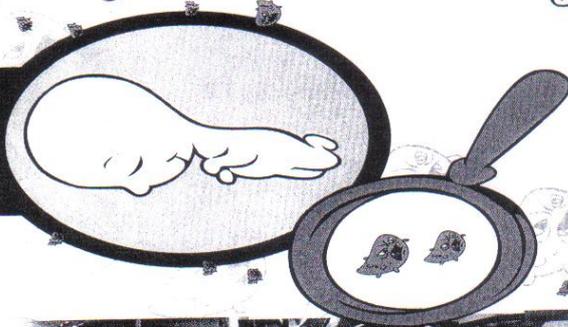
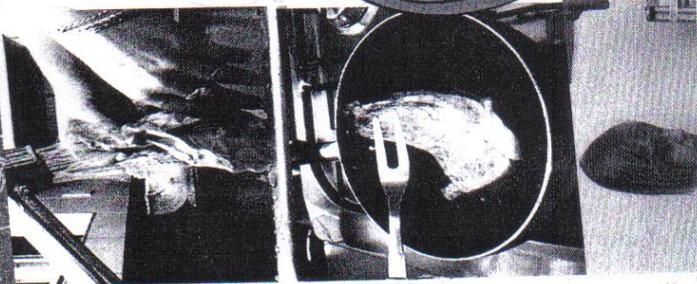
É fácil prevenir!

É MUITO IMPORTANTE  
FAZER O PRÉ-NATAL  
CERTINHO, PARA EVITAR A  
TOXOPLASMOSE E OUTRAS  
DOENÇAS TAMBÉM.



**TOXOPLASMOSE**

É fácil prevenir!



# TOXOPLASMOSE

É fácil prevenir!

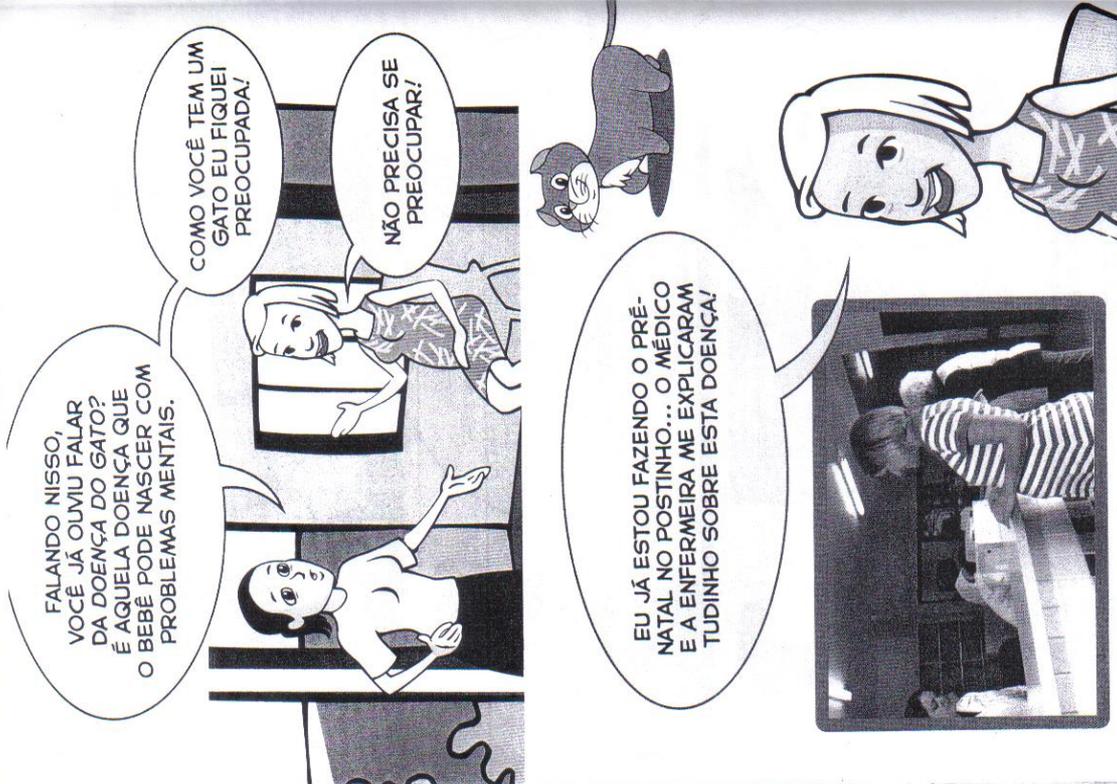
BOM DIA SARA,  
TÁ BOA?

ESTOU  
ÓTIMA!

AINDA MAIS  
AGORA, COM O  
BEBÊ!

ENTÃO,  
SEU MARIDO  
ME FALOU,  
PARABÊNS!

POIS É,  
ESPERO QUE SEJA  
UM MENINO!

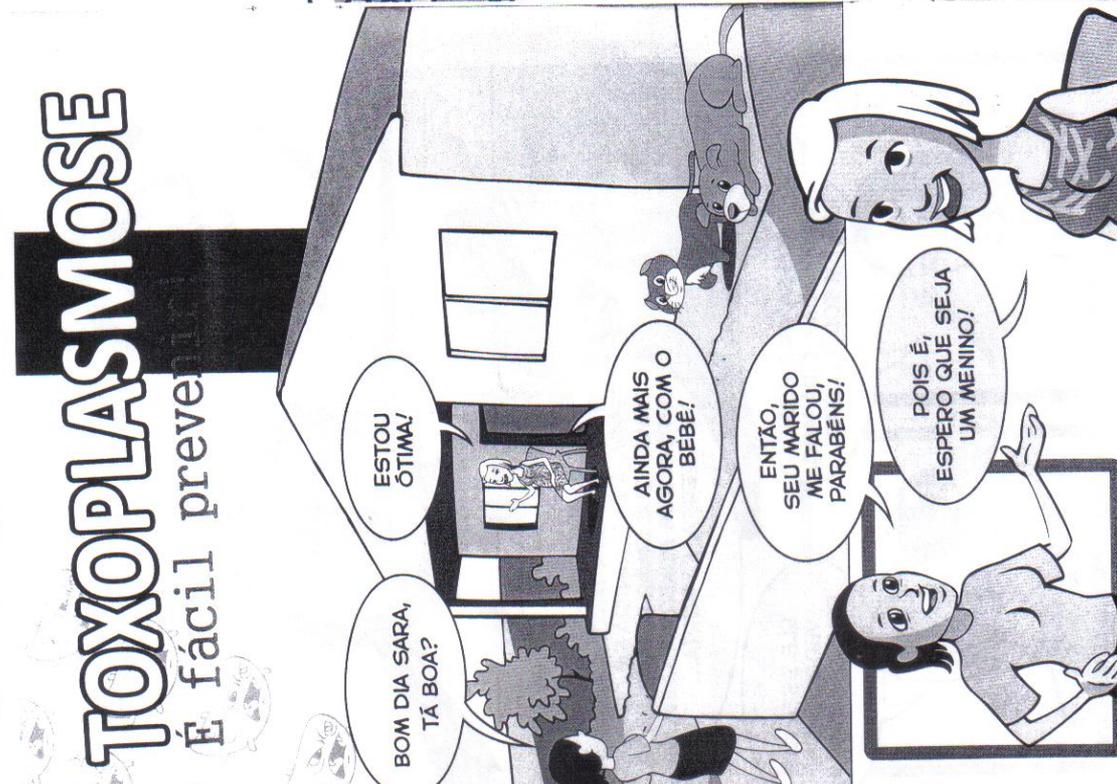


FALANDO NISSO,  
VOCÊ JÁ OUVIU FALAR  
DA DOENÇA DO GATO?  
É AQUELA DOENÇA QUE  
O BEBÊ PODE NASCER COM  
PROBLEMAS MENTAIS.

COMO VOCÊ TEM UM  
GATO EU FIQUEI  
PREOCUPADA!

NÃO PRECISA SE  
PREOCUPAR!

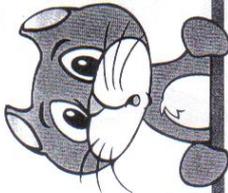
EU JÁ ESTOU FAZENDO O PRÉ-  
NATAL NO POSTINHO... O MÉDICO  
E A ENFERMEIRA ME EXPLICARAM  
TUDINHO SOBRE ESTA DOENÇA!



ENTÃO COMADRE,  
VOCÊ PRECISA  
SE LIVRAR DO  
BICHANO...



"EPA, EU NÃO TENHO  
NADA A VER COM  
ISSO!!!"



MAS NÃO É BEM ASSIM,  
DEIXA EU TE EXPLICAR: ESSA  
DOENÇA DO GATO QUE VOCÊ FALOU  
É A TOXOPLASMOSE E A GENTE  
PEGA COMENDO CARNE MAL  
PASSADA OU CRUA, SABE O QUIBE  
CRU QUE NÓS GOSTAMOS OU O  
CHURRASCO MAL PASSADO QUE  
O COMPADRE ADORA?



SEI SIM  
É UMA  
DELÍCIA!

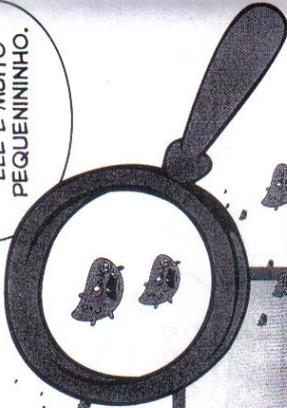


ENTÃO,  
O TOXOPLASMA FICA  
NA CARNE E SE A GENTE  
COMER, ELE VAI SE  
MULTIPLICAR E PASSAR  
PARA O BEBÊ.

AH, MAS EU NUNCA  
VI ESSE TAL DE  
TOXOPLASMA NA  
CARNE?



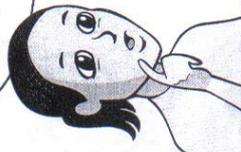
E NÃO DÁ PRA  
VER MESMO,  
ELE É MUITO  
PEQUENININHO.



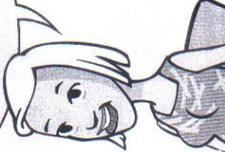
SABE DO QUE MAIS,  
O TOXOPLASMA TAMBÉM FICA NA  
TERRA, A ENFERMEIRA FALOU QUE  
TEMOS QUE LAVAR BEM AS MÃOS  
DEPOIS QUE MEXER NA AREIA, NA  
TERRA, NA HORTA...



NOSSA, MAS ESSE  
TOXOPLASMA É DANADO,  
TÁ EM TODO LUGAR.



ELE ESTÁ NAS  
VERDURAS E  
FRUTAS TAMBÉM.

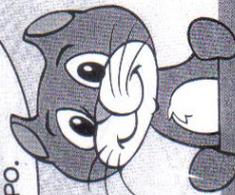
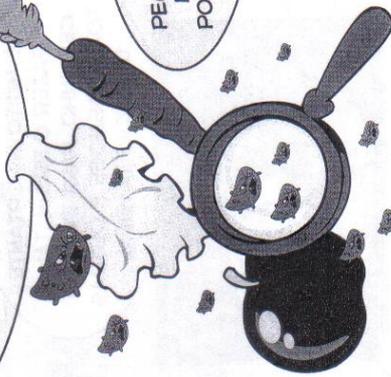


E SÓ LAVANDO  
MUITO BEM, ESFREGANDO  
COM BASTANTE ÁGUA, QUE  
ELE SAI.

SARA,  
EU SÓ NÃO ENTENDI  
COMO O GATO ENTRA  
NESTA HISTÓRIA.

O DOUTOR FALOU QUE O GATO  
ELIMINA O TOXOPLASMA NAS  
FEZES, ENTÃO ELE CONTAMINA A  
TERRA, QUE PASSA PARA AS  
VERDURAS E FRUTAS E TAMBÉM  
PARA OS OUTROS ANIMAIS.

MAS SE VOCÊ  
PEGAR O GATO NO COLO,  
NÃO PEGA A DOENÇA  
PORQUE O GATO É MUITO  
LIMPO.



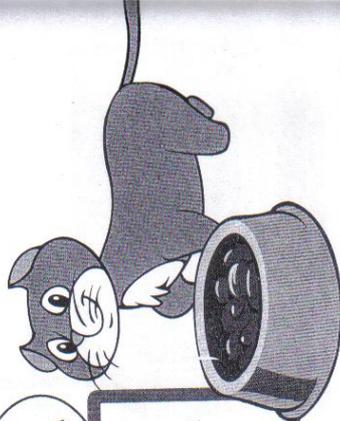
MAS SARA, SE O  
GATO ELIMINA NAS  
FEZES, ENTÃO A SUA  
CASA ESTÁ  
CHEIA DE  
TOXOPLASMA?

NÃO LÚCIA, SABE POR  
QUÊ? TEM QUE RECOLHER  
O COCÔ DO GATO TODOS  
OS DIAS E JOGAR NO LIXO.

ANTES ERA EU QUE FAZIA  
ISSO, MAS AGORA QUE  
ESTOU GRÁVIDA É O  
MAURO QUE LIMPA.

TAMBÉM NÃO  
PODEMOS DAR  
CARNE CRUA PRA  
ELE COMER.

TOMANDO ESTES  
CUIDADOS A  
ENFERMEIRA DISSE QUE  
PODEMOS CONTINUAR  
COM O GATO.



COMADRE, VOCÊ FALOU O QUE PODE E O QUE NÃO PODE FAZER, MAS ESTA DOENÇA TEM TRATAMENTO?

É VERDADE QUE O BEBÊ PODE NASCER CEGO, SURDO E ATÉ COM PROBLEMAS MENTAIS?

É SIM, SÓ QUE EXISTE TRATAMENTO. NA PRIMEIRA VEZ QUE EU FUI AO POSTO, ELAS FIZERAM EXAME NO MEU SANGUE E DEU NEGATIVO.

VOU TER QUE REPETIR ESTE EXAME MAIS DUAS VEZES ATÉ O PARTO.

É SARA, JÁ VI QUE VOCÊ ESTÁ BEM INFORMADA, PARABÉNS.

E A SUA FILHA, LÚCIA? A JAQUELINE TAMBÉM ESTÁ GRAVIDA NÃO É?

TÁ SIM, E VOCÊS VÃO GANHAR O BEBE BEM PERTINHO, SÓ QUE ELA AINDA NÃO FOI AO POSTO.

ELA TEM QUE IR COMADRE!

É MUITO IMPORTANTE FAZER O PRÉ-NATAL CERTINHO, PARA EVITAR A TOXOPLASMOSE E OUTRAS DOENÇAS TAMBÉM.

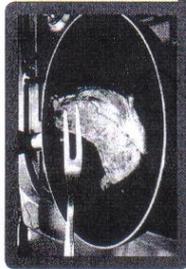
FIM

COMO VOCÊS VIRAM,  
A TOXOPLASMOSE É UMA  
DOENÇA MUITO IMPORTANTE E  
PODE CAUSAR SÉRIOS DANOS  
PARA O BEBÊ.



MAS A PREVENÇÃO É  
MUITO FÁCIL BASTA  
SEGUIR ALGUMAS  
ORIENTAÇÕES COMO:

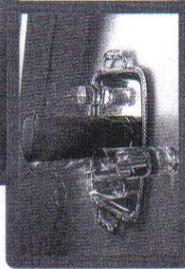
SÓ COMER CARNES  
BEM PASSADAS OU  
BEM COZIDAS.



LAVAR BEM AS FRUTAS  
E OS LEGUMES,  
ESFREGANDO EM  
ÁGUA CORRENTE.



SÓ BEBA  
ÁGUA TRATADA  
OU FERVIDA.



LAVAR AS MÃOS DEPOIS  
DE MEXER COM TERRA  
OU AREIA.



E SE VOCÊ TIVER GATO:

PEDIR PARA OUTRA  
PESSOA RETIRAR AS  
FEZES DOS GATOS  
TODOS OS DIAS.



NÃO ALIMENTÁ-LOS  
COM CARNES CRUAS  
OU MAL PASSADAS.



ALÉM DISSO, É MUITO  
IMPORTANTE FAZER O EXAME  
DE SANGUE DA TOXOPLASMOSE  
PELO MENOS TRÊS VEZES  
DURANTE A GESTAÇÃO.



TOMANDO ESSES CUIDADOS,  
VOCÊ NÃO CORRERÁ O RISCO  
DE PEGAR ESTA DOENÇA E  
PASSAR PARA O BEBÊ.



**TOXOPLASMOSE - É fácil prevenir!**

UEL - Universidade Estadual de Londrina  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/Uel  
Departamento de Ciências Patológicas/Uel  
Londrina, 2009

Roteiro: Profa. Ms. Regina Mitsuka Breganó  
Departamento de Ciências Patológicas  
(43) 3371-4539 e-mail: [rbregano@uel.br](mailto:rbregano@uel.br)

Contato:  
Prof. Dr. Ilaimar Teodorico Navarro  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/Uel  
(43) 3371-4485 e-mail: [ilaimar@uel.br](mailto:ilaimar@uel.br)

Ms. Fabiana Maria Ruiz Lopes  
Departamento de Medicina Veterinária Preventiva/Uel  
(43) 3371-4485 e-mail: [fabiu@yashoo.com.br](mailto:fabiu@yashoo.com.br)

Projeto gráfico:  
Oniria Produtora de Softwares  
(43) 3344-1112  
[www.oniria.com.br](http://www.oniria.com.br)

## **APÊNDICES**

## **APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Pesquisa Clínica Evandro Chagas  
Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas

## TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**Projeto:** Ocorrência de toxoplasmose em *Gallus gallus domesticus* criadas extensivamente para o consumo humano no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro, Brasil.

Tel. (21) 3865-9536 – Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses  
Dr. Rodrigo Caldas Menezes  
Dra. Tânia Maria Pacheco Valente  
Mestranda Luciana Casartelli Alves

Nº \_\_\_\_\_ Proprietário: \_\_\_\_\_  
Bairro: \_\_\_\_\_

A toxoplasmose é uma doença causada por um protozoário o *Toxoplasma gondii* e pode infectar muitos animais, inclusive o homem. As principais formas de transmissão são: materno-fetal (congenita), manipulação e ingestão de carne crua ou mal cozida infectada de mamíferos e aves, inclusive de galinhas, e o consumo de água, frutas e verduras contaminadas por oocistos esporulados.

A toxoplasmose no homem pode causar principalmente problemas oculares, inclusive cegueira, manifestações neurológicas, adenopatias, febre, dores musculares, aborto em gestantes e retardo mental em crianças recém-nascidas sobreviventes à infecção congênita. As galinhas geralmente não apresentam sinais clínicos, porém podem ser observadas manifestações neurológicas tais como torcicolo, dificuldade de se levantar e decúbito lateral.

Este projeto tem o objetivo de conhecer ocorrência de toxoplasmose em galinhas (*Gallus gallus domesticus*), a contaminação do ambiente no qual são criadas e as possíveis fontes de infecção humana e animal por essa doença no município de Rio Bonito, Rio de Janeiro. O estudo será realizado nos bairros de Praça Cruzeiro, Cachoeira dos Bagres, Nova Cidade, Prainha e Boa Esperança.

A sua participação consiste na autorização para realização de exame laboratorial nas galinhas de sua propriedade e responder a um questionário contendo informações pessoais e a respeito do manejo dos animais e do ambiente.

Para a retirada de sangue dos animais, eles deverão ser contidos, seguindo um protocolo estabelecido e adequado para a espécie animal examinada.

Serão retirados 3 mL de sangue de cada animal, para a realização dos testes sorológicos, ELISA e RIFI que nos darão como resultados, se o animal está ou não infectado por toxoplasmose. O soro obtido será armazenado e fará parte de um banco de soros, que poderá ser utilizado para futuras pesquisas. Possíveis riscos e desconforto que podem ocorrer são flebite e hematoma que desaparecerão em poucos dias. Será feita a assepsia local prévia com álcool a 70% para evitar infecção secundária e serão utilizadas seringas, agulhas e gazes descartáveis. Após a coleta

de sangue, será realizada hemostasia por compressão com gaze estéril por 30 segundos. Em seguida, os animais serão identificados por meio de anilha.

Posteriormente, será feito um sorteio para selecionar propriedades onde serão compradas galinhas para a realização do diagnóstico de toxoplasmose no sangue e tecido desses animais, que também poderão ser usados para futuras pesquisas. Os benefícios trazidos à comunidade serão a realização do exame laboratorial que revelará se as galinhas estão positivas ou não para toxoplasmose e se, conseqüentemente, existe a contaminação no ambiente da propriedade. Os resultados dos exames serão entregues e explicados ao proprietário, que também receberá orientação sobre as medidas preventivas da doença. Os resultados desse estudo serão relatados a sua pessoa, sendo considerados confidenciais e podem ser divulgados sob a forma de comunicação científica, sem que seja feita sua identificação, garantindo assim o seu anonimato. Caso desista de participar do estudo, ainda sim, receberá os resultados dos exames e orientação quanto às medidas preventivas.

Afirmo que recebi uma cópia deste termo de consentimento e que li, entendi e concordo voluntariamente em participar da pesquisa e que os procedimentos descritos acima sejam realizados com os meus animais e em minha propriedade.

Assinatura do proprietário: \_\_\_\_\_ R.G. \_\_\_\_\_

Testemunha: \_\_\_\_\_ R.G. \_\_\_\_\_

Pesquisador: \_\_\_\_\_ Tel. \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

## **APÊNDICE B - Inquérito Epidemiológico**



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Pesquisa Clínica Evandro Chagas  
Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas

Rio Bonito

Bairro: \_\_\_\_\_

ID: \_\_\_\_\_

Data de preenchimento: \_\_\_\_/\_\_\_\_/2009

Aplicador: 1. ( ) Luciana      2. ( ) Luiz      3. ( ) \_\_\_\_\_

Codificador: 1. ( ) Luciana      2. ( ) Luiz      3. ( ) \_\_\_\_\_

Digitador: 1. ( ) Luciana      2. ( ) \_\_\_\_\_      3. ( ) \_\_\_\_\_

### INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

1. Quantas pessoas moram na propriedade? \_\_\_\_\_

2. Escolaridade:

1. ( ) 1º grau incompleto. Quantos: \_\_\_\_\_
2. ( ) 1º grau completo. Quantos: \_\_\_\_\_
3. ( ) 2º grau incompleto. Quantos: \_\_\_\_\_
4. ( ) 2º grau completo. Quantos: \_\_\_\_\_
5. ( ) 3º grau incompleto. Quantos: \_\_\_\_\_
6. ( ) 3º grau completo. Quantos: \_\_\_\_\_
7. ( ) analfabeto. Quantos: \_\_\_\_\_

3. Atividades pecuárias da propriedade:

A. Natureza das atividades:

1. ( ) somente avicultura
2. ( ) avicultura e outra(s)  
Quais: \_\_\_\_\_

B. As aves nasceram na propriedade?

1. ( ) sim, todos
2. ( ) sim, alguns
3. ( ) não

C. N° de aves: \_\_\_\_\_

D. Espécies de aves:

1. ( ) galinhas
2. ( ) gansos
3. ( ) patos
4. ( ) perus
5. ( ) Outros: \_\_\_\_\_





