



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE  
CENTRO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Ocorrência de Toxoplasmose e determinação de anticorpos de avidéz IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soro de ovinos e de humanos em unidades produtoras do Município de Lajes, Rio Grande do Norte**

**MILENA DE MEDEIROS CLEMENTINO**

**NATAL / RN**

**2007**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**MILENA DE MEDEIROS CLEMENTINO**

**Ocorrência de Toxoplasmose e determinação de anticorpos de  
avidez IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soro de ovinos e de  
humanos em unidades produtoras do Município de Lajes, Rio  
Grande do Norte**

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Valter Ferreira de Andrade Neto  
DMP/ CB / UFRN**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas do Centro de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

NATAL / RN  
**Abril de 2007**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE**  
**CENTRO DE BIOCÊNCIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**Ocorrência de Toxoplasmose e determinação de anticorpos de  
avidez IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soro de ovinos e de  
humanos em unidades produtoras do Município de Lajes, Rio  
Grande do Norte**

**MILENA DE MEDEIROS CLEMENTINO**

Dissertação apresentada pela aluna **Milena de Medeiros Clementino** ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, do Centro de Biociências, da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, julgada adequada e aprovada, pelos Membros da Banca Examinadora, na sua redação final, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

**MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Valter Ferreira de Andrade Neto

DMP / CB / UFRN

---

Profa. Dra. Maria de Fátima Freire de M. Ximenes

DMP / CB / UFRN

---

Dr. Antônio César Rocha Cavalcante

EMBRAPA/CE

Natal/RN, 17 de abril de 2007.

Aos meus amados pais (Francisco e Ivaneide),  
pela educação, dedicação, amor e por me  
transmitirem a força e a confiança necessários  
para vencer os obstáculos da vida.

Dedico!

Ao meu namorado (Essinho), por todo seu  
amor e incentivo acadêmico.

Amo você!

A Valter Ferreira de Andrade neto, mais que orientador, um professor que me ajudou a trilhar o caminho por entre as pedras.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, que me fortaleceu em todos os eixos para a conclusão deste trabalho. Sem Ele, com certeza, nada poderia fazer.

Aos meus pais, Francisco e Ivaneide, por tudo o que eles fazem e representam para mim. Todo seu apoio, amor, dedicação e companheirismo.

Ao professor Dr. Valter Ferreira de Andrade Neto por aceitar me orientar, pela amizade, paciência em todos os momentos, pelo incentivo e dedicação com que transmitiu seus conhecimentos. A ele meu "muito obrigada".

A professora MSc. Maria de Fátima de Souza pelo co-orientação neste estudo, carinho, amizade e por ter me aberto às portas para o mundo da pesquisa. A ela meu "muito obrigada"!

A Universidade Federal do Rio Grande do Norte, pela qualidade de professores e pela estrutura de apoio aos estudantes.

À Coordenação do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PPGCB) na pessoa do Professor Dr. Maurício Pereira de Sales, pela oportunidade.

A Professora Dra. Sathyabama Chellappa, Vice-coordenadora do PPGCB, pelas palavras de entusiasmo e confiança.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas da UFRN pela colaboração em meu aperfeiçoamento profissional.

A secretária do PPGCB, Elaine Potter, pelas informações e assistência prestada.

Aos proprietários das fazendas estudadas por terem acreditado na importância deste projeto e disponibilizarem alguns animais para estudo.

Aos administradores das fazendas, especialmente a Dedé, pela ajuda durante as coletas.

Aos companheiros de mestrado, especialmente a Bianca, por estar ao meu lado nos momentos difíceis.

Ao Dr. Antônio César Rocha Cavalcante pelo material didático cedido, indispensável para os experimentos e confecção da dissertação.

Ao Professor Dr. Ricardo Wagner de Almeida Vitor pelo suporte material, essencial para o desenvolvimento deste projeto.

Ao Professor Dr. Gilberto corso por mostrar-se bastante prestativo desde a apresentação deste projeto e pelas significativas análises estatísticas.

A professora Dra. Cecília Maria Carvalho Xavier Holanda pelas sugestões e críticas feitas na banca de apresentação do projeto.

A professora Dra. Maria de Fátima Freire de Melo Ximenes, chefe do Departamento de Parasitologia e Microbiologia, pela contribuição neste trabalho, críticas, sugestões fornecidas e pela confiança. A ela meu “muito obrigada”.

A Professora Dra. Janeusa Trindade de Souto pelo apoio neste projeto.

A Edson pelo apoio técnico imprescindível a realização desse trabalho, disponibilidade durante as coletas e amizade. A ele, meu “muito obrigada”.

A Olívia, Técnica do Departamento de Parasitologia e Microbiologia, pela colaboração com a leitura do ELISA.

A Professora MSc. Antônia Cláudia Jácome da Câmara pelas sugestões ao longo dos experimentos.

A Professora Dra. Selma Maria Bezerra Jerônimo, pela gentileza de nos ceder o leitor de ELISA.

Aos professores Drs. Regina de Fátima dos Santos Braz, Magnólia Fernandes F. de Araújo e Magdi Ahmed Ibrahim Aloufa, pelo empréstimo de equipamentos utilizados neste trabalho.

As minhas amigas do laboratório de helmintologia, Albeísa e Rízia, pela ajuda nas coletas realizadas e pelos bons momentos que passamos.

As amigas do LABMAT, Andréa e Isabele, pela ajuda nos experimentos e convivência agradável.

Ao meu namorado, Everson Queiroz de Andrade, companheiro em todos os momentos da minha vida, pelo seu amor e carinho.

Ao meu precioso sobrinho e afilhado, Pedro Henrique, que trouxe mais alegria a minha vida.

Aos meus irmãos pelo amor.

A minha avó, Inácia (*in memoriam*) pelo carinho, exemplo de força e coragem.

As minhas amigas Patrícia, Silvinha, Fernanda, Paula, Janaina e Simone, um agradecimento especial por todo companheirismo, carinho e amizade compartilhados desde a graduação.

A Capes pelo apoio fundamental.

A todos que contribuíram para realização deste sonho, o meu “muito obrigada”!

*"Sem desejos não há felicidade possível.  
Convém satisfazê-los sempre,  
mas de forma que nunca fiquemos  
saciados".*

*Paulo de Mantegazza*

## RESUMO

A toxoplasmose é uma doença zoonótica causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. Este parasita assume papel importante no rebanho ovino, face aos casos de aborto, mau formação fetal, seguidos de natimortalidade. Esta infecção não só resulta em significantes perdas econômicas, mas também tem implicações para saúde pública já que a presença do parasita nos produtos de origem ovina, destinados à alimentação humana (carne e leite), quando inadequadamente preparados, constituem-se em uma das principais fontes de infecção para o homem.

As amostras de soro de ovinos foram provenientes de três fazendas situadas no município de Lajes, Estado do Rio Grande do Norte, região Nordeste do Brasil foram testadas através do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) com o objetivo de determinar a prevalência de infecção por *Toxoplasma gondii*. Dos 102 soros testados, 29,41% foram positivos para a detecção de anticorpos séricos anti- *T. gondii*. Foi observada uma tendência de aumento da prevalência de anticorpos para *T. gondii* nos grupos de animais com idade mais avançada e do sexo feminino, mostrando haver diferença significativa para estas variáveis. Foi realizado o ensaio IgG de Aidez nas 30 amostras positivas com o intuito de melhorar a eficiência da detecção da incidência, e discriminar a infecção aguda e crônica. Seis amostras (20%) apresentaram anticorpos de baixa aidez enquanto 24 (80%) anticorpos de alta aidez. Uma indicação que a maior parte dos animais foi exposto ao parasita precocemente.

Avaliamos também a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de 10 humanos, moradores e trabalhadores dessas fazendas, através do teste de Hemaglutinação Indireta (HAI). A cada indivíduo foi aplicado um questionário para investigar os fatores de riscos associados com a infecção de *T. gondii*, sendo as variáveis: sexo, idade, consumo de carne e vísceras de ovinos crua ou mal cozida, ingestão de leite cru, convivência com gatos, consumir frutas e verduras não lavadas, higiene na cozinha, lavagem das mãos antes das refeições e ocorrência de abortos (somente para mulheres). Foram encontrados anticorpos IgG anti-

*T.gondii* em 7 humanos (70%), sendo mais freqüente o título de 1:32 (42,86%) e o maior título encontrado 1:256(14,28%). O teste para IgM foi negativo. Nenhuma diferença estatística significativa foi verificada para os fatores de riscos avaliados. Porém, há uma tendência para aumento da soroprevalência associada à faixa etária. Este é o primeiro estudo sobre soroprevalência da toxoplasmose ovina e sua associação com fatores de riscos para a infecção humana em fazendas de Lajes.

## ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonotic disease caused by the *Toxoplasma gondii* protozoan. This parasite plays important role to ovine flock, had to the abortion cases, abnormal fetal formation, followed of neonatal death. The infection not only results in significant reproductive and economic losses, but also has implications for public health since the presence of the parasite in the products of ovine origin, destined to the feeding human being (meat and milk), when inadequately prepared consist in one of the main sources to human infection.

The ovine serum samples from three farms situated in Lajes, Rio Grande do Norte, Northeast region of Brazil, and tested by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) with aim to determine the *Toxoplasma gondii* infection prevalence. Of the 102 tested sera, 29.41% had positive for anti-*T. gondii* seric antibodies. A tendency of antibodies prevalence increase in animal groups with advanced age and feminine sex was observed, displaying significant difference for these variables. The IgG avidity assay in 30 positive samples was carried to improve the efficiency of the incidence detention, and to discriminate acute and chronic infection. Six samples (20%) had presented low avidity antibodies while 24 (80%) antibodies of high avidity. An indication that most of the animals had exposure to parasite previously.

We also evaluate the seroprevalence to antibodies anti-*T. gondii* in 10 human sera, residents and workers these farms, by haemagglutination test (IHA). Was applied a questionnaire for each participant to investigate the risk factors associated with *T. gondii* infection, including the variables: sex, age, consummation of raw or undercooked meat, ingestion of raw milk, handled cats, eating unwashed raw vegetable or fruits, kitchen hygiene status, washed hands before eating and abortion occurrences (just for women). IgG antibodies was found in 7 human examined (70%), being more frequent titer 1:32(42,86%), and high titer find 1:256(14,28%). The test for IgM was negative. No significant difference was verified for factor risks evaluated. However, it has a tendency to seroprevalence increase associated with age. This is the first study about ovine toxoplasmosis prevalence and risk factors to human infection in Lajes farms.

## SUMÁRIO

	Página	
<b>CAPÍTULO 1</b>		
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	18
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b>	22
2.1	Histórico	22
2.2	O Agente etiológico	23
2.2.1	Taxonomia	23
2.2.2	Características biológicas	23
2.2.2.1	Taquizoítos	25
2.2.2.2	Bradizoítos	25
2.2.2.3	Oocistos	26
2.2.3	Biologia do <i>Toxoplasma gondii</i>	26
2.3	Mecanismos de Transmissão	28
2.4	Toxoplasmose Humana	29
2.5	Toxoplasmose em Ovinos	30
2.6	Soroprevalência da toxoplasmose Ovina	33
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	37
3.1	Objetivo geral	37
3.2	Objetivos específicos	37
<b>4</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	38
<b>5</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	40

## CAPÍTULO 2

### ARTIGO 1

Seroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from 49  
Lajes city, Brazil

**ARTIGO 2**

Toxoplasmosis in Sheep: A potential risk of infection among residents and farm workers in Lajes, Brazil	55
---	----

**CAPÍTULO 3**

<b>1</b>	<b>DISCUSSÃO GERAL</b>	68
1.1	Seroprevalência e avidéz de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em soro de ovinos	68
1.2	Transmissão de toxoplasmose nos moradores e trabalhadores das fazendas	71
<b>2</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	73
<b>3</b>	<b>PERSPECTIVAS DECORRENTES DESSE ESTUDO</b>	74
<b>4</b>	<b>REFERÊNCIAS</b>	75

**CAPÍTULO 4**

Anexo I – Anamnese	82
Anexo II	84

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

$\geq$	Maior ou igual
<	Menor
$\leq$	Menor ou igual
$\mu\text{g}$	Microgramas
$\mu\text{l}$	Microlitros
ml	Mililitros
$\mu\text{m}$	Micrômetros
$\text{m}^2$	Metro quadrado
nm	Nanômetro
AIDS/SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ELISA	Ensaio imunoenzimático (do original em inglês: Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
IHA	Teste de Hemaglutinação Indireta
RI	Índice de Reatividade
N	Normal
M	Molar
$\text{H}_2\text{SO}_4$	Ácido Sulfúrico
$\text{H}_2\text{O}_2$	Água Oxigenada
OPD	Orto-fenilenodiamina
PBS	Solução salina tamponada com fosfatos
Tween 20	Polyoxyethylene sorbitan mono-laurate
pH	Potencial hidrogeniônico
$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
<i>g</i>	Aceleração da gravidade
AET	Extrato antigênico de <i>T. gondii</i>

# Capítulo 1

## 1. INTRODUÇÃO

A ovinocultura é uma atividade econômica explorada em todos os continentes, estando presente em áreas sob as mais diversas características climáticas, edáficas e botânicas.

O rebanho ovino brasileiro é de aproximadamente 16 milhões de cabeças. Destas, 58,4% encontram-se na Região Nordeste e 41,6% nas outras regiões. A Região Nordeste é detentora do maior rebanho brasileiro de ovinos com 9,1 milhões de cabeças (IBGE, 2005), abrangendo uma área total de 166,2 milhões de hectares, dos quais 95,2 milhões (57%) estão inseridos na zona semi-árida em face da característica de adaptação a ecossistemas adversos o que é fortemente influenciado pelos seus hábitos alimentares (VASCONCELOS & VIEIRA, 2005).

A convivência do homem do campo frente aos problemas trazidos pela seca na Região Nordeste do Brasil, geralmente, caracteriza-se como uma luta contínua pela manutenção do seu padrão de vida e, até mesmo, pela sobrevivência da própria família uma vez que as opções de produção, em épocas secas, tornam-se quase nulas, quer no âmbito da agricultura, quer na criação de ruminantes. Isto ocorre na medida em que se agrava a escassez de água com a redução, acentuada, na qualidade e na quantidade de forragem nas pastagens (ALVES, 2005).

Desta forma, a criação de ovinos torna-se uma atividade de grande importância sócio-econômica, representando 40% de toda proteína animal consumida pela produção rural (ALVES, 2005). Além do aspecto alimentar, a produção de peles, com elevada aceitação nacional e internacional, corresponde a cerca de 30% do valor atribuído ao animal abatido, o que constitui importante receita para o criador e gera divisas para os estados e para o país, contribuindo de forma significativa para a fixação do homem no campo (LEITE, 2005). No entanto, a produção e a produtividade desses animais ainda apresentam limitações decorrentes de problemas sanitários e nutricionais, manejo inadequado no sistema de criação, o que contribui para o aumento da incidência e da gravidade das doenças. Nesse contexto, as doenças parasitárias ocupam lugar de destaque,

causando sérios problemas para a saúde animal e repercutindo em elevadas perdas econômicas, em decorrência do déficit no crescimento do animal, perda de peso, redução no consumo de alimentos e abortos. GUIMARÃES (2006) estudou a caprinovinocultura em Minas Gerais encontrando 6,8% e 1,7% das propriedades que possuíam caprinos e ovinos respectivamente, com alto nível tecnológico. Entre as variáveis estudadas, foi observada alta frequência de abortamento, em 49,7% das propriedades que possuíam caprinos e em 23,9% daquelas onde a criação eram de ovinos.

Dentre os vários protozoários do filo Apicomplexa que apresentam impacto para a pecuária ovina destacamos o *Toxoplasma gondii*, face aos casos de aborto, mortalidade neonatal, nascimento de fetos mal formados, seguidos de natimortalidade (ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1997; FREYRE et al., 1997; BUXTON, 1998; MASALA, 2003; PEREIRA-BUENO et al., 2004).

No Brasil, a literatura sobre toxoplasmose em ovinos é limitada, restringindo-se aos inquéritos sorológicos nos estados da Bahia (PITA GONDIM et al., 1999), Minas Gerais (CARNEIRO, 2006), Pernambuco (SILVA et al., 2003), Rio Grande do Sul (LARSSON et al., 1980) e São Paulo (MEIRELES, 2001; SILVA et al., 2002; FIGLIUOLO et al., 2004).

A presença do *Toxoplasma gondii* nos produtos de origem ovina, destinados à alimentação humana, é de especial interesse em saúde pública, considerando-se que estes alimentos, quando inadequadamente preparados, constituem-se em uma das principais fontes de infecção para o homem (LUNDÉN & UGGLA, 1992; TENTER et al., 2000; JITTAPALAPONG, 2005).

Em humanos, a toxoplasmose é amplamente distribuída afetando mais de um bilhão de pessoas, mundialmente (EL-ON & PEISER, 2003). Em adultos saudáveis é normalmente assintomática em 60% dos casos (SAWADOGO et al., 2005); porém, a doença grave pode acontecer nos recém-nascidos infectados congenitalmente e nos indivíduos imunocomprometidos (DUBEY, 1996; PASSOS et al., 2000; SELL et al., 2005; SORRENTINO, 2005; SUKTHANA, 2006).

As diferentes taxas de infecções humanas e animais obtidos nos diversos países do mundo devem-se não somente a diferentes hábitos culturais dos povos

no tocante à alimentação, como já foi citado, mas também a fatores como condições ambientais, localização geográfica (LARSSON et al., 1980), infraestrutura hídrica e a própria metodologia utilizada nos levantamentos epidemiológicos.

Esta doença seria facilmente controlável se as fontes de infecção, tanto animais de produção como o ambiente, fossem adequadamente monitoradas. Apenas um oocisto é suficiente para infectar um pequeno animal ou mesmo uma criança. E este mesmo oocisto pode estar suspenso na água utilizada para consumo ou até mesmo em uma área de 10 m<sup>2</sup> de pastagem. Contudo, devido ao caráter discreto da doença, os estudos de monitoração contínua da transmissão da toxoplasmose são escassos. As novas técnicas de biologia molecular, utilizando a PCR podem ajudar no aumento da sensibilidade, contudo o custo da monitoração é bastante elevado (MEIRELES, 2001).

O ELISA de avidéz utilizado para a detecção de anticorpos de alta e baixa avidéz pode ser indicado para monitorar as infecções no rebanho classificando-as em crônicas ou agudas. A utilização desta técnica permite identificar fêmeas em idade reprodutiva em fase aguda da toxoplasmose. Esta ocorrência permite casos de transmissão congênita do parasito com possibilidades de perdas reprodutivas decorrentes de aborto e mal formação fetal. Além disso, a presença de anticorpos de baixa avidéz em rebanhos é indicativo de que os animais encontram-se permanentemente expostos a fontes de infecção, podendo serem continuamente infectados.

A taxa média dos índices de Toxoplasmose Congênita é de 1% das gestações. O diagnóstico da toxoplasmose Congênita é realizado através de exames sorológicos que detectam IgM e IgG específicos, porém na presença de exames sugerindo doença aguda durante a gravidez é necessário um exame específico denominado Avidéz de IgG específico para toxoplasmose, que irá sugerir a época de contaminação e conseqüentemente à conduta, evitando falsos diagnósticos e tratamentos desnecessários desta doença durante a gravidez.

A despeito da importância da ovinocultura para o Estado do Rio Grande do Norte e, em particular, para o município de Lajes-RN e do impacto negativo das

parasitoses sobre os rebanhos, inexistem dados epidemiológicos sistematizados a respeito de suas ocorrências na região e também programas oficiais de assistência aos pecuaristas.

Essa situação tem contribuído para consideráveis perdas na produção, como o que se deu na fazenda (LJ1) no ano de 2004, onde se observou perda de cerca de dez por cento de animais adultos e trinta por cento de animais jovens com sintomatologia típica de parasitoses (Souza, com. pess.).

O conjunto dessas observações torna urgente à necessidade de estudos que visem identificar os agentes parasitários que comprometem a produtividade dos rebanhos, através de levantamentos epidemiológicos que permitam subsidiar programas de controle de doenças parasitárias e contribuir para otimização da produtividade desses animais, seu bem-estar e conseqüentemente a saúde humana.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Histórico

Em 1908, Charles Nicolle e Louis Manceaux, comunicaram a Academia de Ciências Francesa a descoberta de um parasito intracelular no baço e no fígado de um roedor proveniente do norte da África, e empregado em pesquisas de laboratório no Instituto Pasteur, o *Ctenodactylus gundi* (Pallas 1778). Estes pesquisadores acreditaram que o organismo encontrado tratava-se de uma forma particular de *Leishmania*, denominando-o *Leishmania gondii*. No mesmo ano, Afonso Splendore observou o mesmo parasito em um coelho de laboratório em São Paulo, Brasil. Algumas amostras então, foram enviadas a Mesnil (1909) o qual relatou ao pesquisador que o protozoário era similar ao recém descoberto por Nicolle & Manceaux. Em 1909, estes autores retificaram sua posição e o denominou *Toxoplasma gondii*. Sua denominação se refere à primeira forma descrita com aspecto morfológico em forma de arco (toxon=arco), com a circunstância do seu achado no “gundi” (HIRT et al, 1974).

A primeira descrição de toxoplasmose humana corresponde a JUNKU (1923) que relacionou o parasito à ocorrência de cistos oculares e hidrocefalia em uma criança com menos de um ano (GARRIDO, 1978). Pouco depois, TORRES (1927), no Rio de Janeiro descrevia a presença deste protozoário em cortes histológicos de músculo cardíaco e esquelético e tecido nervoso de um recém-nascido falecido com quase um mês de vida, iniciando as especulações acerca da possibilidade de doença congênita (AMATO NETO et al, 1995). Dez anos depois, WOLF & COWER (1937) descreveram a doença congênita causada pelo *T. gondii* e, na década de 40, PINKERTON & WEINMAN relataram a toxoplasmose aguda em adultos. Entretanto a frequência da infecção humana só foi conhecida a partir de 1948 com a introdução do clássico teste do corante de SABIN & FELDAM, que contribuiu tanto para realização de inquéritos epidemiológicos quanto para o diagnóstico sorológico de toxoplasmose. Desde então, foi calculado que até um terço da população mundial foi exposta ao parasito (GARRIDO, 1978).

Em ovelhas, a toxoplasmose, tem sido reconhecida como uma causa significativa de abortos desde os anos cinquenta (BEVERLEY & WATSON, 1959) e que continua sendo uma das principais causas de morbidade em ovinos na atualidade (PEREIRA-BUENO et al., 2004).

## 2.2. O Agente etiológico

### 2.2.1. Taxonomia (CURRENT et al., 1990).

REINO	Protista
SUBREINO	Protozoa
FILO	Apicomplexa
CLASSE	Sporozoazida
SUBCLASSE	Coccidiasina
ORDEM	Eucoccidiorida
FAMÍLIA	Sarcocystidae
SUB-FAMÍLIA	Toxoplasmatinae
GÊNERO	<i>Toxoplasma</i>
ESPÉCIE	<i>Toxoplasma gondii</i>

### 2.2.2. Características biológicas

O *T. gondii* é um protozoário intracelular obrigatório de baixa especificidade, pois infecta provavelmente quaisquer animais homeotérmicos (DUBEY et al., 1970; DUBEY & BEATTIE, 1988; HASHEMI-FESHARKI, 1996; ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1997; INNES, 1997), invadindo vários tecidos, células nucleadas e líquidos orgânicos. É prevalente na maioria das áreas do mundo e tem uma significativa importância médica e veterinária, por causar aborto ou doença congênita em seus hospedeiros intermediários (TENTER, 2000).

Há três formas infectivas para o *T. gondii*: os taquizoítos, os bradizoítos, e os esporozoítos (DUBEY, 2004; MONTOYA & LIESENFELD, 2004). Estas formas, dentre outras, fazem parte de um ciclo de vida bastante complexo (Figura 1).

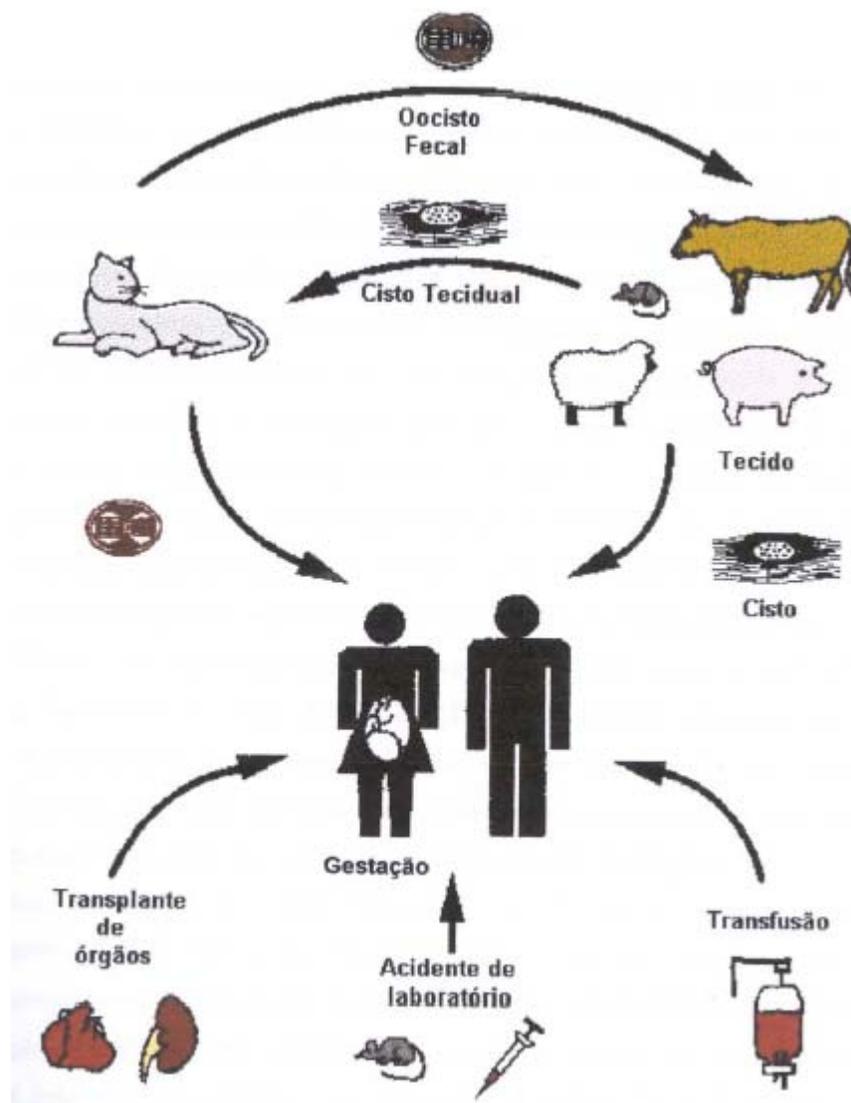


FIGURA 1: Ciclo de vida do *T. gondii* com as várias fontes de infecção humana e animal (Fonte: MEIRELES, 2001).

### **2.2.2.1 Taquizoítos**

O taquizoíto é a forma de multiplicação rápida (GROSS et al., 1996; MONTOYA & LIESENFELD, 2004) produzida pelo ciclo assexuado do parasito em hospedeiros intermediários. Apresenta forma de arco com uma extremidade afilada e outra arredondada, medindo aproximadamente, 4 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento por 2 a 4  $\mu\text{m}$  de diâmetro (GARRIDO, 1978; MONTOYA & LIESENFELD, 2004). Constitui a forma menos resistente do parasito, sendo facilmente destruída pelas condições ambientais adversas, pela desidratação, variáveis osmóticas e são menos resistentes a tripsina ou pepsina (JACOBS et al., 1996). Representam um papel principal na transmissão vertical da toxoplasmose (TENTER et al., 2000).

### **2.2.2.2 Bradizoítos**

Os bradizoítos são formas assexuadas, com metabolismo lento, medindo cerca de 7 a 9  $\mu\text{m}$  por 1,5 a 2  $\mu\text{m}$ . Estão presentes nos cistos teciduais, os quais variam em tamanho de 5 a 70  $\mu\text{m}$  (GROSS et al., 1996; DUBEY et al. 1998) podendo chegar em alguns casos a 300  $\mu\text{m}$  de diâmetros com centenas a milhares de bradizoítos (MONTOYA & LIESENFELD, 2004). Possuem membrana dupla sendo resistente às enzimas proteolíticas (JACOBS et al.; 1996) e ao esfriamento à 4°C por 30 dias. Esta forma de apresentação do parasito é segundo alguns autores a principal responsável pela transmissão desta zoonose através do carnivorismo e ingestão de carne crua ou mal cozida (DUBEY, 1998; BONAMETTI et al., 1997; SKJERVE et al., 1998; TENTER et al., 2000; EL-ON & PEISER, 2003).

### **2.2.2.3 Oocistos**

O oocisto é a forma infectante proveniente da reprodução sexuada do parasito (gametogonia) no interior das células do epitélio intestinal dos felídeos. São esféricos com aproximadamente 12 µm de diâmetro (DUBEY et al. 1998), Sobrevivem por longos períodos em condições ambientais adversas, podendo sobreviver por meses a anos em solo úmido (DUBEY & BEATTIE, 1988) e ser transportado mecanicamente por moscas, baratas, besouros e outros artrópodes. Sendo, portanto uma forma de resistência e de disseminação ambiental dessa parasitose.

### **2.2.3 Biologia do *Toxoplasma gondii***

O ciclo de vida é heteroxeno facultativo, tendo como hospedeiros definitivos representantes da família Felidae, entre eles o gato doméstico; os ovinos e outros animais, bem como os homens são os hospedeiros intermediários (ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1997; DUNCANSON, 2001).

A fase assexuada pode ocorrer em todos os mamíferos e aves do mundo, nos quais os taquizoítos se multiplicam rapidamente por meio de endodiogenia ou endopoligenia. Por esses processos o parasito se reproduz dentro dele mesmo gerando duas ou várias células filhas, que rompem a célula mãe e se disseminam através do sangue ou linfa pelo organismo do hospedeiro, caracterizando a fase aguda da doença, onde é observada a sintomatologia. Após esse período de intensa multiplicação, o sistema imune atua nesse protozoário e o mesmo se refugia dentro do tecido, diferenciando-se em bradizoítos (ou cistozoítos). Estes se multiplicam por endodiogenia permanecendo em um estado de latência. Os cistos têm uma alta afinidade por tecidos neurais e musculares. Eles são localizados predominantemente no sistema nervoso central (SNC), no olho, como também em músculos esqueléticos e cardíacos, sendo encontrado com menor intensidade em

órgãos viscerais como pulmões, fígado, e rins, geralmente na fase crônica da infecção (DUBEY, 1994; DUBEY et al., 1998).

Os cistos teciduais, considerados como o estágio final do ciclo de vida nos hospedeiros intermediários, são altamente infecciosos e persistem por longo tempo, talvez por toda a vida do hospedeiro. Foi hipotetizado, que os bradizoítos liberados por ocasional ruptura de alguns cistos teciduais em hospedeiros imunossuprimidos, tais como pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA / AIDS), podem multiplicar-se localmente como taquizoíto. Estes reinvadem células hospedeiras e novamente transformam-se em bradizoítos formando novo cisto tecidual. O mecanismo da persistência de cistos nos tecidos é desconhecido (DUBEY, 1998; DUBEY et al., 1998; DUBEY, 2004).

A fase sexuada ocorre apenas no intestino de membros da família Felidae, onde após uma série de esquizogonias acontece a diferenciação de gametas, fecundação e formação de oocistos. Os felídeos eliminam em suas fezes oocistos imaturos (não esporulados), que encontrando condições ambientais favoráveis ao seu desenvolvimento se tornam infectantes. Oocistos esporulados contém dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos. Os oocistos como são formas ambientais resistentes, podem permanecer por meses ou anos no ambiente e ao se aderirem ao pasto, contaminam a água ou vegetais, infectando novos hospedeiros definitivos ou intermediários. Os felídeos excretam oocistos de *T. gondii* em fezes 3 a 10 dias depois de ingerir bradizoítos, 13 dias depois de ingerir taquizoítos, e 18 dias depois de ingerir oocistos esporulados. Desta forma, ao contrário de muitos outros coccídios, oocistos de *T. gondii* são menos infectantes e menos patogênicos para gatos adultos (hospedeiro definitivo), quando comparados a camundongos, porcos, ovelhas e humanos (hospedeiros intermediários) (DUBEY, 1998).

### 2.3. Mecanismos de transmissão

Todos os três estágios (taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos) são infectantes, tanto para os hospedeiros intermediários como para os hospedeiros definitivos, os quais podem adquirir a infecção por *T. gondii* principalmente através de uma das seguintes rotas: (a) horizontalmente por ingestão de oocistos presentes no ambiente ou por ingestão de cistos encontrados em carne e vísceras crua ou mal cozida ou (b) verticalmente por transmissão transplacentária de taquizoítos (DUBEY, 1994; DUBEY, 1996; ALLAIN et al., 1998; DUNCANSON, 2001; MOZZATTO & PROCIANOY, 2003; MONTOYA & LIESENFELD, 2004; SAWADOGO, 2005; SUKTHANA, 2006) ou através do leite Materno (DUBEY et al., 1998). Pode ser transmitida com menos frequência através de transfusão sanguínea e transplante de órgãos (DUBEY, 1994). Além destas rotas, foram descobertos taquizoítos em outros fluidos do corpo, inclusive saliva, perdigotos, urina, lágrimas e sêmen (DUBEY & BEATTIE, 1988), mas não há atualmente evidências de transmissão horizontal de *T. gondii* para humanos por quaisquer destes mecanismos (TENTER et al., 2000).

A prevalência da infecção de *T. gondii* não é limitada à presença de certa espécie de hospedeiro. Seu ciclo pode continuar indefinidamente por transmissão de hospedeiros intermediários para definitivo, de hospedeiro definitivo para intermediário, entre hospedeiros intermediários (até mesmo na ausência de hospedeiros definitivos) e entre hospedeiros definitivos (até mesmo na ausência de hospedeiros intermediários). Vários autores têm atribuído a ingestão de carne infectada crua ou mal cozida como um dos principais fatores responsáveis pela ocorrência de toxoplasmose humana dentro do contexto epidemiológico da doença (DUBEY, 1998; BONAMETTI et al., 1997; SKJERVE et al., 1998; TENTER et al., 2000; EL-ON & PEISER, 2003).

## 2.4. Toxoplasmose Humana

Em humanos, a doença é difundida igualmente em todas as classes sociais, afetando um terço da população mundial (DUBEY E BEATTIE, 1988; TENTER et al., 2000). A toxoplasmose em adultos saudáveis é normalmente assintomática em 60% dos casos (SAWADOGO et al., 2005); porém, manifestações graves podem ocorrer nos recém-nascidos e/ou indivíduos imunocomprometidos.

A infecção congênita pode acontecer, e a gravidade da doença depende do tempo de infecção materna durante a gravidez, da competência imunológica da mãe durante a parasitemia ou parasitismo, o número e virulência dos parasitos transmitidos ao feto e da idade que o feto se encontra no momento da infecção, podendo causar aborto, mortalidade neonatal ou anormalidades (TENTER et al., 2000), sendo o feto gravemente afetado quando a mãe é infetada durante a primeira metade da gestação (DUBEY, 2004).

Vários aspectos clínicos podem acontecer em crianças infetadas congenitamente. Quando a doença é moderada ocorre uma ligeira diminuição da acuidade visual, porém crianças gravemente doentes podem ter sintomas variados, como microcefalia, coriorretinite, epilepsia, retardamento mental e psicomotor (MONTROYA & LIESENFELD, 2004), comumente enquadrados dentro da “Síndrome ou tétrede de Sabin”, assim caracterizada: coriorretinite, hidrocefalia, convulsões e calcificação cerebral. Estes sintomas caracterizam a toxoplasmose congênita adquirida em humanos e até o presente momento não foram encontrados em outros animais (DUBEY, 2004). Os sinais descritos nos nascidos com doença congênita nem sempre são diagnosticados como toxoplasmose e pode ser confundido com infecção congênita causada por outros patógenos, incluindo citomegalovírus, herpes, rubéola e sífilis (MONTROYA & LIESENFELD, 2004).

Por ser uma infecção oportunista (ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1997; CANTOS et al. 2000), manifestações clínicas mais graves podem acontecer nos indivíduos imunocomprometidos sendo a meningoencefalite, um dos principais acometimentos clínicos causados pela toxoplasmose em pacientes HIV positivos

(DUBEY, 1996; SELL et al., 2005; SORRENTINO, 2005). PASSOS et al (2000) fizeram uma análise retrospectiva em pacientes com encefalite por *Toxoplasma* do Instituto de Infectologia Emílio Ribas, o principal hospital de SIDA / AIDS em São Paulo, durante 1988 e 1991, em diferentes níveis da epidemia de HIV encontrando uma taxa de mortalidade aguda conjunta nos dois períodos de 25,4%. Aproximadamente 10% dos pacientes com SIDA / AIDS nos E.U.A. e até 30% na Europa morreram de toxoplasmose (HILL & DUBEY, 2002).

Epidemiologicamente, dentre as vias de transmissão da toxoplasmose ao homem, como já foi citada, aquela que tem sido incriminada com maior frequência é a veiculada através de carnes, principalmente quando estas são ingeridas sem tratamento térmico adequado. Entre os animais de produção, o *T. gondii* foi achado encistado em tecidos de porco, ovelha e cabras mais freqüentemente que em tecidos de outros animais domésticos (DUBEY, 1996). Vários trabalhos apresentam evidências de que a toxoplasmose humana pode estar relacionada a costumes alimentares de uma determinada população.

Tais fatos podem ser extrapolados para algumas regiões brasileiras, bem como para determinados grupos étnicos de nosso país, em que o manuseio e o consumo de carne ou vísceras de ovinos crus ou mal cozidos são, provavelmente, os responsáveis pela ocorrência da zoonose (LARSSON et al., 1980).

## **2.5. Toxoplasmose em Ovinos**

A toxoplasmose em ovinos tem merecido a atenção dos pesquisadores que se dedicam à Medicina Veterinária e a Saúde Pública desde os anos cinquenta (BEVERLEY & WATSON, 1959), e passou a ser objeto de estudo em vários países, sob diversos aspectos: estudos sorológicos (SAVIO & NIETO, 1995; HASHEMI-FESHARKI, 1996; MARCA et al., 1996; GORMAN et al., 1999; VAN DER PUIJE, 2000; MASALA, 2003; SAWADOGO et al. 2005), isolamento de protozoário (PEREIRA-BUENO, 2004) e infecções experimentais (MARQUES & COSTA, 1985; ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1998).

A importância atribuída a esta protozoose em termos veterinários consiste nas verdadeiras epizootias de aborto e natimortalidade em cordeiros (DUBEY, 1994). Se a infecção ocorrer em até dois meses de gestação, há morte e expulsão do pequeno feto, algo que só raramente pode ser observado (URQUHART et al., 1998). Nas fases mais adiantadas da gestação tanto pode haver aborto como pode haver sobrevivência do feto, mas neste caso, o cordeiro poderá apresentar patologias de ordem geral (ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1997; FREYRE et al., 1997; BUXTON, 1998; DUNCANSON, 2001; MASALA, 2003; DUBEY, 2004; PEREIRA-BUENO et al., 2004).

O fato de a doença ocorrer de forma esporádica e das matrizes geralmente não apresentarem sintomatologia clínica característica da toxoplasmose até o momento do aborto, permite que a preocupação dos fazendeiros seja maior com as infecções de etiologia bacteriana ou viral (CAVALCANTE, 2004). Desta forma, a perda econômica devido à toxoplasmose ainda permanece desconhecida e são atribuídos abortos em ruminantes a outras doenças como bruceloses (HURTADO et al., 2001; SAWADOGO et al., 2005), clamidioses e salmoneloses (HURTADO et al., 2001).

FREYRE et al. (1997), acompanhando rebanhos de ovinos no Uruguai, registraram uma taxa inicial de 28,7% de soropositivos para toxoplasmose entre as 1613 ovelhas estudadas que se elevou para 38,5% após 2,5 anos, indicando uma taxa de incidência de 9,8% no período, com perdas reprodutivas variando de 1,4 a 3,9%, o que representaria um prejuízo anual para o rebanho uruguaio de US\$ 1,4 a 4,7 milhões.

Como o aborto é um evento fisiológico de grande importância do ponto de vista de crescimento do rebanho, a toxoplasmose deve ser considerada relevante para que este atinja níveis ótimos de produtividade (CAVALCANTE, 2004).

Esta infecção não só resulta em significantes perdas econômicas, mas também tem implicações para saúde pública já que a presença do parasito na carne e no leite de ovelha quando inadequadamente preparados, constituem-se em uma fonte de infecção para o homem (LUNDÈN & UGGLA, 1992; TENTER et al., 2000; JITTAPALAPONG et al., 2005).

A prevalência de anticorpos entre ovinos é geralmente maior que em outros herbívoros domésticos, a despeito de muitas vezes, as outras espécies estarem submetidas às mesmas taxas de infecção. Esta diferença deve estar relacionada à susceptibilidade das diferentes espécies à infecção. Os ovinos são altamente susceptíveis à infecção pelo *T. gondii* e como tendem a manter títulos de anticorpos por período prolongado, a detecção destes no soro dos animais são indicadores válidos das taxas de infecção (BLEWETT, 1983).

Embora infecção por *T. gondii* em ovelha seja extensamente prevalente (MARCA et al., 1996), a importância em saúde pública de toxoplasmoses em ovelhas adultas é desconhecida; nos Estados Unidos, a maior parte da carne de ovelha adulta não é usada para consumo humano. Numa pesquisa realizada por DUBEY em 1990, 65% das ovelhas em 33 fazendas tiveram anticorpos contra *T. gondii* no soro a uma diluição de 1:64, como determinou através do uso do teste de aglutinação modificado, e até 95% das ovelhas eram soropositivas. Pouco é conhecido sobre a prevalência de infecção de *T. gondii* em cordeiros. Em um surto de toxoplasmoses em uma fazenda ao Sul de Dakota, (DUBEY & KIRKBRIDE, 1989) 80 ovelhas pariram 144 cordeiros, mas 30 dos cordeiros nasceram mortos. *Toxoplasma gondii* foi descoberto em 11 dos 30 cordeiros natimortos. Os 114 cordeiros cresceram normalmente, mas 68 (59.6%) eram soropositivos para *T. gondii*; 66 dos 68 cordeiros tiveram anticorpo para *T. gondii* com títulos  $\geq$  1:256. Oito cordeiros sacrificados com 7 meses de idade tiveram cisto de *T. gondii* em seus tecidos comestíveis.

A toxoplasmose em ovinos passou a ser objeto de estudo em vários países, sob diversos aspectos: estudos sorológicos (SAVIO & NIETO, 1995; HASHEMI-FESHARKI, 1996; MARCA et al., 1996; GORMAN et al., 1999; VAN DER PUIJE, 2000; MASALA, 2003; SAWADOGO et al. 2005), isolamento de protozoário (PEREIRA-BUENO, 2004) e infecções experimentais (MARQUES & COSTA, 1985; ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1998).

No Brasil, a literatura sobre toxoplasmose em Ovinos é limitada, restringindo-se aos inquéritos sorológicos (LARSSON et al., 1980; PITA GONDIM et al., 1999; MEIRELES, 2001; SILVA et al., 2003; FIGLIUOLO et al., 2004). Além

destes levantamentos sorológicos foi realizado um estudo por BONAMETTI et al. (1997) visando determinar a transmissão de toxoplasmose através da ingestão de carne de ovinos crua ou mal cozida, nesse estudo 17 casos de toxoplasmose aguda sintomática foi atribuída a ingestão de carne crua de carneiro, servida em uma festa à qual todos os pacientes compareceram. Os sintomas observados foram febre, cefaléia, mialgia e artralgia. Todos apresentavam títulos séricos de anticorpos específicos (IgG e IgM) que evidenciavam fase aguda de toxoplasmose, pela Reação de Imunofluorescência Indireta.

## **2.6. Soroprevalência da toxoplasmose Ovina**

A toxoplasmose é uma das zoonoses mais difundida no mundo. Em ovinos tem sido detectada em vários países, demonstrando o seu caráter cosmopolita e susceptibilidade destes animais, como espécie hospedeira do parasito. A soroprevalência da toxoplasmose ovina revista em 2000 por TENTER et al., mostra freqüências de reações positivas bastante variáveis, oscilando de 0% em Benin a 92% na França (Tabela 1). Este é um dado importante para saúde pública, visto que foram achados cistos no tecido de muitas partes comestíveis de ovelhas em diferentes países (DUBEY & KIRKBRIDE, 1989; LUDÉN & UGGLA, 1992).

A prevalência da toxoplasmose entre os ovinos é avaliada principalmente, por inquéritos soroepidemiológicos, e as taxas de infecção variam principalmente de acordo com o teste sorológico utilizado, a região e a idade dos animais estudados (DUBEY, 1990).

No Brasil, os inquéritos sorológicos realizados em diferentes estados no período de 1980 a 2004, mostram uma freqüência variando entre 18,75% na Bahia a 39% no Rio Grande do Sul (Tabela 2).

Tabela 1. Soroprevalência da infecção em ovinos por *T. gondii* de 1984 a 1999.

País	Ano da Amostragem <sup>a</sup>	Amostra testada (n)	Soro-prevalência (%)	Método <sup>b</sup>	Autores
<b>Ovelhas de abatedouros</b>					
Noruega	1993	2070	18	ELISA	Skjerve et al.
Noruega	1993	1940	16	ELISA	Skjerve et al.
EUA	<1990	654	59	ELISA	Malik et al.
<b>Ovelhas de fazenda</b>					
Brasil	<1999	228	52	RIFI	Garcia et al.
Canadá	1988	3872	58	ELISA	Waltner et al.
Geórgia	1993-95	1122	33	ELISA	Seineke
Grécia	<1995	8700	23	ELISA	Stefanakis
Israel	1985-90	372	25	RIFI	Shkap et al.
França	<1997	642	92	RIFI	Cabannes et. al.
Uruguai	1992-4	1613	39	AD	Freyre et al.
<b>Não classificados</b>					
Bangladesh	<1993	17	18	TAL	Samad et al.
Benin	<1996	21	0	HAI	Deconinck et al.
Brasil	<1995	370	48	RIFI	Freire et al.
Brasil	1996	240	19	RIFI	Pita Gondim et al.
Senegal	<1993	190	55	ELISA	Pangui et al.

<sup>a</sup> O Ano de amostragem está listado como publicado nas referências. Nos casos onde esta informação não estava disponível, o ano listado aqui é o ano quando o estudo foi publicado, como indicado por "<". Dados da década de 80 estão incluídos, se o estudo foi publicado na década de 90, e se não existia nenhum dado recente disponível para a área.

<sup>b</sup> ELISA, ensaio imunoenzimático; RIFI, reação de imunofluorescência indireta; HAI, teste de hemaglutinação indireta; TAL, teste de aglutinação do látex.

**Fonte:** TENTER et al., 2000 (modificada).

Tabela 2. Soroprevalência da Infecção em ovinos por *Toxoplasma gondii* em diferentes estados do Brasil.

Fonte	Ano	Estado	Nº de amostras examinadas	Método <sup>a</sup>	Reagente(%)
Larsson et al.	1980	Rio Grande do Sul	100	RSF	39
Pita gondim et al.	1999	Bahia	240	TAL	18,75
Meireles	2001	São Paulo	200	ELISA	31
Silva, Cutolo & Langoni	2002	São Paulo	100	RIFI e MAD	23 e 27
Silva et al.	2003	Pernambuco	173	RIFI	35,3
Figliuolo et al.	2004	São Paulo	597	RIFI	34.7

<sup>a</sup> ; RSF, reação de Sabin-Feldman; TAL, teste de aglutinação do látex; ELISA, ensaio imunoenzimático; RIFI, reação de imunofluorescência indireta; MAD, teste de aglutinação direta.

Ao estudarem a soroprevalência de toxoplasmose ovina em soros de 100 animais, provenientes de Uruguaiana, RS e abatidos em Bragança Paulista, SP, através de Reação de Sabin-Feldman (RSF), os autores obtiveram 39 soros reagentes. Este resultado pode ser considerado elevado, em relação a outros realizados no Brasil e em outros países americanos. Sendo observado um percentual de soropositivos maior em ovelhas adultas (LARSSON et al., 1980).

Na Bahia, os autores avaliaram pelo teste de aglutinação do látex (TAL) amostras de soro de 240 ovinos, provenientes de duas regiões com características climáticas distintas: A Região A “recôncavo” situada perto da Costa Atlântica e a outra a Região B “caatinga”, no interior do Estado. Os valores percentuais observados nesse estudo foram 26,92% para a Região A e 12,5% para a Região B. A diferença de soropositividade entre as duas regiões indica que as ovelhas criadas na Região A era mais exposta a um ambiente contaminado com mais oocisto de *T. gondii*, quando comparados às criadas na Região B (PITA GONDIM et al., 1999).

Em São Manuel, São Paulo, Meireles (2001) obteve uma frequência de 31% reagentes ao *T. gondii* em 200 amostras de ovinos testadas através do ensaio imunoenzimático (ELISA). A autora cita que a alta prevalência de ovinos deve-se ao manejo extensivo onde estariam mais expostos à pastagem e a água contaminada.

No mesmo estado, 100 amostras de soro foram analisadas utilizando as técnicas de reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e teste de aglutinação direta (MAD). A frequência de anticorpos anti- *T. gondii* no rebanho foi de 23% e 27% respectivamente. Este resultado, como o de outros autores, aponta pequenas diferenças entre a reação de imunofluorescência indireta e o método de aglutinação direta. Com isto os autores sugerem a utilização do MAD para triagem e titulação de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de animais, com resultados semelhantes aos obtidos na reação de imunofluorescência indireta, prescindindo de reagente espécie-específico e equipamentos sofisticados. Eles também relatam que o ELISA é tido por muitos autores como opção mais prática, devido à facilidade de automação e ser muito sensível, porém, necessita ainda de melhores estudos quanto aos procedimentos e padronização dos antígenos utilizados (SILVA et al., 2002).

Em Pernambuco, foram examinadas 173 amostras de soro de animais localizados em duas regiões através da reação de imunofluorescência indireta, onde os pesquisadores obtiveram um percentual de positividade de 35,3%. Foram encontradas associações significativas para sexo e raça, mas não para a região, tipo de manejo ou falha reprodutiva (SILVA et al., 2003).

Em São Paulo, FIGLIOULO et al. (2004) testaram 597 ovinos para determinar a prevalência de anticorpos contra *T. gondii* usando também o RIFI, onde a frequência de reagentes foi de 34,7%. Foram encontradas associações entre soropositividade e idade indicando transmissão horizontal através de ingestão de oocistos esporulados no ambiente, porém não foi encontrada associação para a outra variável analisada, soropositividade e presença de felídeos.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. Objetivo geral:

Fornecer dados epidemiológicos no que se refere à soroprevalência de toxoplasmose no rebanho ovino de três fazendas do Município de Lajes, Estado do Rio Grande do Norte, utilizando o Ensaio Imunoenzimático (ELISA).

#### 3.2. Objetivos específicos:

- Determinar o período de infecção das ovelhas, discriminando entre fase aguda e crônica através da avidéz de anticorpos da classe IgG anti- *T. gondii*.
- Determinar a taxa de anticorpos da classe IgG anti- *T. gondii*, através do teste de Hemaglutinação Indireta, nos indivíduos que trabalham e residem nas fazendas.
- Determinar o período de infecção desses indivíduos discriminando entre fase aguda e crônica através da avidéz de anticorpos da classe IgG anti- *T. gondii*.
- Analisar os fatores de risco para humanos.

#### 4. JUSTIFICATIVA

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, onde pequenos ruminantes assumem um importante papel na cadeia epidemiológica desta doença. Em ovinos tem sido assinalada em diversos países, com prevalência entre 0 a 92%. No Brasil, os inquéritos sorológicos mostram prevalência entre 18,75 a 39%. A infecção por *Toxoplasma gondii* em ovinos implica em problemas na saúde pública uma vez que o consumo de carne e leite contaminados pode facilitar a transmissão zoonótica deste protozoário.

Estima-se que a prevalência da toxoplasmose humana na maioria dos países esteja 40% e 50%. No Brasil, a soroprevalência tem sido determinada entre 50% e 80% (CANTOS et al., 2000). Em Recife essa taxa é de 64% e 79% (COELHO et al., 2003); no Rio de Janeiro se observou uma soroprevalência de 79%; em Manaus, de 71%; em São Paulo, de 68%; e entre indígenas brasileiros, variou de 52 a 65% (AMENDOEIRA et al., 1999; CANTOS et al., 2000; TENTER et al., 2000).

Em ovinos, a toxoplasmose resulta ainda, em perdas reprodutivas e econômicas dos rebanhos. A principal repercussão clínica e econômica da toxoplasmose para este pequeno ruminante é o aborto, que pode ocorrer em matrizes de todas as idades, podendo repetir na gestação subsequente. Estudo de caracterização sanitária e dos sistemas de produção de caprinos e ovinos, realizado em Minas Gerais, apontam para ocorrência de abortos de etiologia desconhecida num percentual de 23,9%. Embora seja grande o número de perdas nos rebanhos mineiros por abortos e natimortos, as causas não estão bem esclarecidas.

Um estudo epidemiológico sobre a toxoplasmose ovina em áreas produtoras do estado do Rio Grande do Norte é bastante relevante considerando a carência de dados referentes no Estado e a importância econômica destes pequenos ruminantes pela alta adaptação às condições físicas e climáticas locais. O conhecimento do perfil epidemiológico da infecção pelo *T. gondii* nestes animais poderá contribuir para o entendimento da alta taxa de mortalidade e baixa

produtividade nos rebanhos, além da quantificação da prevalência dessa enfermidade nas áreas produtoras. Importante também é a possibilidade de correlacionar estes dados com os diferentes níveis tecnológicos dos criatórios para determinar os fatores de riscos para humanos.

## 5. REFERÊNCIAS

ALLAIN, J.P.; PALMER, C. R.; PEARSON, G. Epidemiological Study of Latent and Recent Infection by *Toxoplasma gondii* in Pregnant Women from a Regional Population in the U.K. **Journal of Infection**, v.36, p.189-196, 1998.

ALVES, U. A. **A tecnologia na convivência com a seca**. Disponível:< [www.cnpq.embrapa.br/artigo-8.htm](http://www.cnpq.embrapa.br/artigo-8.htm) > Acesso em: 09 set 2005.

AMATO NETO, V.; MEDEIROS, E. A. S.; LEVI, G. C.; DUARTE, M. I. S. **Toxoplasmose**. 4<sup>a</sup> ed. São Paulo, Sarvier, 1995. 154 p.

AMENDOEIRA, M. R. R.; DA COSTA, T.; SPALDING, S. M. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa:Sarcocystidae) e a toxoplasmose. **Revista Souza Marques**, v.1, n.1, p.15-35, 1999.

BEVERLEY, J. K.; WATSON, W. A. Ovine abortion due to toxoplasmosis. **Nature**, v. 184, p. 2041, 1959.

BLEWETT, D. A.; WATSON, W. A.; The epidemiology of ovine toxoplasmosis. II. Possible sources of infection in outbreaks of clinical disease. **Br. Vet. J.**, v.139, p. 546-55, 1983.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A.L. Surto de Toxoplasmose Aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 30, p. 21-25, 1997.

BUXTON, D. Protozoan infections(*Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Sarcocystis spp.*) in sheep and goats: recent advances. **Veterinary Research**, v.29, p.289-310, 1998.

CANTOS, G. A.; PRANDO, M.D.; SIQUEIRA, M.V.; TEIXEIRA, R.M. Toxoplasmose: Ocorrência de anticorpos *antitoxoplasma gondii* e diagnóstico. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.46, p. 335-341, 2000.

CARNEIRO, A. C. A. V. Soroepidemiologia da toxoplasmose caprina e ovina no Estado de Minas Gerais. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2006, 116p. Tese (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2006.

CAVALCANTE, A. C. R. **Epidemiologia e caracterização do *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em caprinos no Ceará.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2004, 145 f. Dissertação (Dissertação em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2004.

COELHO, R. A. I.; KOBAYASHI, M.; CARVALHO, L. B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 45, p.229-31, 2003.

CURRENTE, W. L.; UPTON, S. J.; LONG, P. L. Taxonomy and Life Cycle. In: LONG, P. L. **Coccidiosis of man and domestic animals**. Boston: CRC Press, 1990. p. 7-8.

DUBEY, J. P. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. **Journal American Veterinary Medical association**, v. 196, p.259 -262, 1990.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal American Veterinary Medical association**, v. 205, p.1593-1598, 1994.

DUBEY, J. P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v.64, p. 65-70, 1996.

DUBEY, J.P. Advances in the cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal**

**Parasitology**, v. 28, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p.57-72, 2004.

DUBEY, J.P.; MILLER, N.L.; FRENKEL, J.K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **J. Exp. Med.**, v. 132, p. 636–662, 1970.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. **Toxoplasmosis of animal and man**. Boca Raton: CRC Press, 1988. 220 p.

DUBEY, J. P.; KIRKBRIDE, C. A. Economic and public health considerations of congenital toxoplasmosis in lambs. **Journal American Veterinary Medical association**, v. 195, p.1715-6, 1989.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradizoytes, and sporozoytes and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Research**, v. 11, p. 267-99, 1998.

DUNCANSON, P.; TERRY, R. S.; SMITH, J. E.; HIDE, G. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. **International Journal for Parasitology**, v. 31, p. 1699-1703, 2001

EL-ON, J; PEISER, J. Toxoplasma and toxoplasmosis. **Harefuah**, v.142, p.48-55, 2003.

ESTEBAN-REDONDO, I.; INNES, E. A. *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle. **Comp. Immunology Microbiology Infect Disease**, v.20, p. 191-6, 1997.

ESTEBAN-REDONDO, I.; INNES, E. A. Detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p. 1459-66, 1998.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A.M.A.; DE PAULA, V.S.O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, p. 161-6, 2004.

FREYRE, A.; BONINO, J.; CASTELLS, D.; CORREA, O.; CASSARETTO, A. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. **Veterinary Parasitology**, v.73, p.13-15, 1997.

GARRIDO, J. A. **Toxoplasmosis**. 1ª ed. Espanha, Editorial Marban, 1978, p. 15-8.

GORMAN, T.; ARANCIBIA, J. P.; LORCA, M.; HIRD, D.; ALCAÍNO, H. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (Llama pacas) in Chile. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 40, p. 143-149, 1999.

GROSS, U.; BOHNE, W.; SOËTE, M.; DUBREMETZ, J. F. Developmental Differentiation between Tachyzoites and Bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Today**, v. 12, p. 30-3, 1996.

GUIMARÃES, A. S. **Caracterização da Caprinovinocultura em Minas Gerais**. Belo Horizonte: UFMG, 2006, 72p. Tese (Mestrado em Medicina Veterinária Preventiva)- Escola de Veterinária. Universidade Federal de Minas Gerais, BH.

HASHEMI-FESHARKI, R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. **Veterinary Parasitology**, v. 61, p. 1-3, 1996.

HILL, D.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 8, p. 634-640, 2002.

HIRT, J. et al. **Toxoplasmosis**. 1ª ed. Buenos Aires, Editorial "El Ateneo", 1974. p.3-4.

HURTADO, A.; ADUREZ, G.; MORENO, B.; BARANDIKA, J.; GARCIA-PEREZ, A. L. Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 17-27, 2001.

IBGE. **Censo Agropecuário**. Disponível:< [www.sidra.ibge.gov.br](http://www.sidra.ibge.gov.br). Acesso em: 20 abril 2007.

INNES, E. A. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. **Comp. Immunology Microbiology Infect Disease**, v.20, p. 131-8, 1997.

JACOBS, L.; REMINGTON, J. S.; MILTON, M. L. The resistance of the encysted form. **Journal Parasitology**, v. 46, p. 11-21, 1996.

JITTAPALAPONG, S.; SANGVARANOND, A.; PINYOPANUNAT, N.; CHIMNOI, I.; KOIZUMI, S.; MARUYAMA, S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. **Veterinary Parasitology**, v.127, p. 17-22, 2005.

LARSSON, C. E.; JAMRA, L. M. F.; GUIMARÃES, E. C.; PATTOLI, D. B. G.; SILVA, H. L. L. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais Uruguaias, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.14, p. 582-588, 1980.

LEITE, E. R. **Ovinocaprinocultura no Nordeste – organização e crescimento**

Disponível:< [www.cnpq.embrapa.br/artigo-14.htm](http://www.cnpq.embrapa.br/artigo-14.htm) > Acesso em: 09 set 2005.

LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. **Int. J. Food Microbiol.**, v.15, p. 357–363, 1992.

MARCA, M. C.; RAMOS, J. J.; LOSTE, A.; SFIEZ, T.; SANZ, M. C. Comparison of indirect immunofluorescent antibody test and modified direct agglutination test methods for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in adult sheep in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 67, p. 99-103, 1996.

MARQUES, L. C.; COSTA, A. J. Experimental sheep toxoplasmosis. I. Clinical, haematological and immunological observations. **Ars. Vet**, v. 1, p. 57-67, 1985.

MASALA, G.; PORCU, R.; MADAU, L.; TANDA, A.; IBBA, B.; SATTÀ, G.; TOLA, S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by RIFI and PCR assays in Sardinia, Italy. **Veterinary Parasitology**, v.117, p. 15-21, 2003.

MEIRELES, L.R. **Estudo das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do estado de São Paulo**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2001, 141 f. Dissertação (Dissertação em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2001.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v.363, p. 1965-76, 2004.

MOZZATTO, L.; PROCIANOY, R. S. Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil: a prospective study. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 45, p. 147-151, 2003.

PASSOS, L. N.; ARAÚJO FILHO, O. F.; ANDRADE JUNIOR, H. F. Toxoplasma Encephalitis in AIDS patients in São Paulo during 1988 and 1991. A comparative

retrospective analysis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 42, p. 141-145, 2000.

PEREIRA-BUENO, J.; QUINTANILLA-GOZALO, A.; PÉREZ-PÉREZ, V.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L. M. Evaluation of ovine abortion associated with *Toxoplasma gondii* in Spain by different diagnostic techniques. **Veterinary Parasitology**, v.121, p.33-43, 2004.

PITA GONDIM, L. F.; BARBOSA Jr.; H. V.; RIBEIRO FILHO, C. H. A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 273-6, 1999.

SAVIO, E.; NIETO, A. Ovine toxoplasmosis: seroconversion during pregnancy and lamb birth rate in Uruguayan sheep flocks. **Veterinary Parasitology**, v.60, p. 241-7, 1995.

SAWADOGO, P.; MAFIO, J.; BELLETE, B.; SUNG, R. T. M.; CHAKDI, M.; FLORI, P.; RABERIN, H.; MAMOUNI, J. B.; CHAIT, A.; DALAL, A. Seroprevalence of *T. gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. **Veterinary Parasitology**, v. 130, p. 89-92, 2005.

SELL, M.; SANDER, B.; KLINGEREBIEL, R. Ventriculitis and hydrocephalus as the primary manifestation of cerebral toxoplasmosis associated with AIDS. **Journal of Neurology**, v. 252, p.234-236, 2005.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI H. Comparação da reação de Imunofluorescência indireta e do método de aglutinação anti-toxoplasma em soros de ovinos, caprinos e felinos. **Arq. Inst. Biol.**, v. 69, p. 7-11, 2002.

SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R. A.; LANGONI, H. Sheep and goat toxoplasmosis: seroepidemiological study in two regions in the state of Pernambuco, Brazil. **Ciências Rural**, v. 33, 115-9, 2003.

SKJERVE, E.; WALDELAND, H.; NESBAKKEN, T.; KAPPERUD, G. Risk factors for the presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in Norwegian slaughter lambs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 35, p. 219-227, 1998.

SORRENTINO, A. H. HLA class II involvement in HIV- associated Toxoplasmic encephalitis development. **Clinical Immunology**, v.115, p. 133-137, 2005.

SUKTHANA, Yaowalark. Toxoplasmosis: beyond animals to humans. Trends in Parasitology, v.22, p. 137-142, 2006.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

URQUHART, G. M. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2ªed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1998. 183-220.

VAN DER PUIJE, W. N. A.; BOSOMPEM, K. M.; CANACOO, E. A.; WASTLING, J. M.; AKANMORI B. D. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. **Acta Tropica**, v. 76, p. 21-26, 2000.

VASCONCELOS, V. R.; VIEIRA, L. S. **A evolução da caprino-ovinocultura brasileira**. Disponível:< <http://www.cnpc.embrapa.br/artigo-10.htm>> Acesso em: 09 set 2005.

# Capítulo 2

(Artigos)



## Seroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from Lajes, Brazil

M.M. Clementino, M.F. Souza, V.F. Andrade Neto\*

Laboratory of Malaria Biology and Toxoplasmosis, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFRN,  
Av. Sen. Salgado Filho sn, CEP 59072-970, Campus Universitário, Natal, RN, Brazil

Received 26 February 2007; accepted 28 February 2007

### Abstract

Sheep are important domestic animals in the Northeast region of Brazil due to their minimal rearing and maintenance costs, and to their production of both meat and milk. In animals, *Toxoplasma gondii* infection results in significant reproductive and economic losses. The epidemiology of toxoplasmosis in sheep in the Northeast of Brazil has been little studied; particularly in Rio Grande do Norte State. Sera from 102 sheep intended for consumption in Lajes were subjected to the *Toxoplasma*-ELISA test to detect anti-*T. gondii* specific IgG confirming a past infection. Of the total tested, 30 (29.41%) sera were positive for IgG with an increasing number of positive animals with advancing age. We used IgG avidity ELISA in 30 positive samples and observed that 6 (20%) had low avidity antibodies and 24 (80%) had high avidity antibodies. Epidemiological studies are required in order to identify sources of infection for these hosts as well as their impact on animal breeding in the region and risk of transmission to humans.

© 2007 Elsevier B.V. All rights reserved.

**Keywords:** Toxoplasmosis; Sheep; ELISA; IgG avidity; Epidemiology

### 1. Introduction

Toxoplasmosis is a cosmopolitan zoonotic disease caused by the coccidian protozoan *Toxoplasma gondii*, an obligatory intracellular parasite capable of infecting all warm-blooded animals, including mammals, birds and humans (Fayer, 1981). The parasite has a worldwide distribution and it is mainly transmitted by food contaminated with oocysts dispersed by cats and other felines, definitive hosts, uncooked meat containing tissue cysts or unpasteurized milk containing tachyzoite stages, and transplacentally (Riemann et al., 1975; Sacks et al., 1982; Dubey, 1996; Jittapalapong et al., 2005; Sukthana, 2006). *T. gondii* infection sometimes causes disease and

severe symptoms, particularly in immunodeficient humans (Tenter et al., 2000). It affects one-third of the world's population (Sawadogo et al., 2005). In animals, the infection not only results in significant reproductive and economic losses, but also has implications for public health, since consumption of infected meat or milk can facilitate zoonotic transmission (Jittapalapong et al., 2005). Since the 1950s, *T. gondii* has been recognized as a significant and common cause of endemic and epidemic abortions on sheep farms (Beverley and Watson, 1959). Studies carried out in Uruguay considered toxoplasmosis an important problem in sheep with annual costs of US\$ 1.4–4.7 million (Freyre et al., 1997).

In view of the importance of ovine toxoplasmosis worldwide, there is a lack of data on its prevalence in the Brazilian state of Rio Grande do Norte, despite the large number of milk and meat producing sheep farms. Given that meat from persistently infected animals is one of

\* Corresponding author. Tel.: +55 31 3215 3437;

fax: +55 31 3211 9210.

E-mail address: [aneto@cb.ufrn.br](mailto:aneto@cb.ufrn.br) (V.F.A. Neto).

the most important potential sources of human toxoplasmosis, the purpose of this study was to estimate *T. gondii* seroprevalence in sheep herds by specific antibody using the ELISA technique and to determine when infection was acquired by investigating IgG avidity.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Study area

The study was carried out between August 2005 and July 2006. The area selected for sample collection was Lajes, a city located in the semi-arid region of Rio Grande do Norte State in Northeast Brazil (Fig. 1), because it contains most of the sheep farms.

### 2.2. Animals and serum

A total of 102 animals were tested from three farms. Females predominated (75.5%), since the farms produced both milk and meat. Age was estimated and animals were divided into three age groups:  $\leq 12$  months (49.02%), 13–35 months (24.51%), and  $> 35$  months (26.47%). The use of the animals was approved by the Ethical Committee (CEUA-P0094-1).

Blood was collected from the jugular vein and the serum was separated after blood cell sedimentation (centrifuged at  $200 \times g$  for 05 min) and stored at  $-20^\circ\text{C}$  until use.

### 2.3. Antigen

The antigen was prepared by resuspending tachyzoites (RH strain) in a phosphate saline solution, pH 7.2 (PBS) and sonicated in an ice water bath according to Elsaid et al.'s protocol (1995). Only the supernatant ( $200 \times g$  for 10 min) was considered as antigenic extract of *T. gondii* (AET). The protein concentration was determined by the Lowry method (1951).

### 2.4. ELISA

The ELISA method was essayed according to Voller et al.'s protocol (1976) with some modifications. The polystyrene wells of the ELISA plate (Nunc, Merck) were sensitized by  $100 \mu\text{l}$  of AET at  $1 \mu\text{g}/\text{ml}$  diluted in coating buffer (pH 9.6), incubated at  $4^\circ\text{C}$  overnight and washed four times with phosphate buffered saline (PBS)-Tween 20 (0.05%). The sera, diluted with the same solution, were deposited at  $240 \mu\text{l}/\text{well}$  (dilution of 1:400) and incubated for 45 min at  $37^\circ\text{C}$ . After the



Fig. 1. Northeast region of Brazil with a close-up of Lajes, Rio Grande do Norte, where sheep serum samples were collected.

Table 1  
Factors associated with seroprevalence of *T. gondii* infection in sheep in Lajes, Brazil

Factor	Category	No of examined	No of positive (%)	$\chi^2$	GL	<i>p</i>
Sex	Male	25	3 (12)	4.82	1	0.028
	Female	77	27 (35.1)			
Age	≤12 months	50	6 (12)	15.21	2	0.0005
	13–35 months	25	10 (41.67)			
	≥36 months	27	14 (51.85)			
Farms	LJ1	54	16 (29.63)	6.42	2	0.04
	LJ2	24	11 (45.83)			
	LJ3	24	3 (12.5)			
Total		102	30 (100)			

wells were washed, 100  $\mu$ l of anti-sheep IgG immunoglobulin, along with peroxidase (Sigma, no. A-3415) previously diluted at 1:7500 in PBS-Tween 20 (PBS-T), was added to the wells and incubated for 45 min at 37 °C. The reaction was revealed by adding 100  $\mu$ l of substrate [3  $\mu$ g of  $\sigma$ -phenylenediamine dihydrochloride (Sigma) in 15 ml of citric acid solution plus 3  $\mu$ l of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>]. The reaction was stopped after 20 min by adding 30  $\mu$ l/well of H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (4N). The optical density (OD) was read with a spectrophotometer (MULTISKAN MCC/340 P VERSION 2.33) at 492 nm. The absorbance average of each serum tested in duplicate was divided by the cut off (mean absorbance of negative serum samples plus three standard deviations) to determine the reactivity index (RI). Serum with RI  $\geq$  1 was considered positive.

### 2.5. IgG avidity ELISA

For the IgG avidity ELISA, polystyrene plates were sensitized and washed as described above. The detailed avidity ELISA procedure followed that described by Suárez-Aranda et al. (2000), with modifications. Previously, the positive serum samples in the conventional ELISA had been diluted in PBS-T (dilution of 1:400), and assayed in two duplicate series in the same plate, and incubated for 45 min at 37 °C. Washing was done with PBS-T (columns 1–6) and with PBS-T containing 6 M urea (columns 7–12) under agitation for 5 min (and twice without urea). One hundred microliters of conjugated anti-sheep IgG immunoglobulin was added to the wells as described in the conventional ELISA. The IgG avidity (expressed in percentage) was measured by average absorbance for each serum treated with urea (AU) in relation to average absorbance of each serum without urea (A):  $AU/A \times 100$  (Cozon et al., 1998). Avidity values  $\geq$  50% indicate chronic

toxoplasmosis, whereas values <50% indicate acute toxoplasmosis (Suárez-Aranda et al., 2000).

### 2.6. Statistical analysis

Differences between age, sex and place of origin of sheep samples were analyzed using the Chi-square test. Alpha was 0.05 for all the tests and 95% confidence intervals were calculated for the seroprevalences.

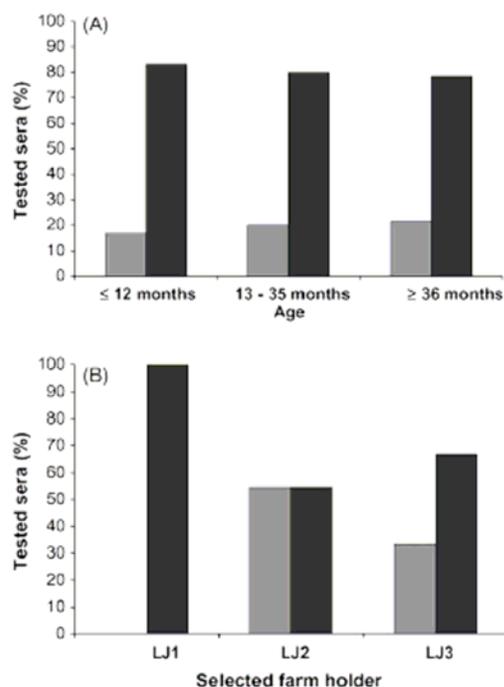


Fig. 2. Avidity frequency obtained from 30 sera, previously seropositive by age group (A) and selected farms in Lajes (B). Low avidity (gray bars), high avidity (black bars).

### 3. Results

Antibodies against *T. gondii* were detected in 30 animals (29.41%). The risk factors associated with *T. gondii* prevalence are shown in Table 1. The number of positive female sheep (35%) was higher than that of males (12%) and was considered significantly different ( $p < 0.05$ ).

The percentage of positive sheep was 12% in the  $\leq 12$  month group, 41.67% in the 13–35 month group and 51.85% in the  $> 35$  month group. These results show a positive association between the presence of anti-*T. gondii* antibodies and sheep age ( $p < 0.05$ ). Seropositivity frequency in sheep sera varied significantly ( $p < 0.05$ ) on the farms (LJ1, LJ2 and LJ3).

The IgG avidity ELISA study in 30 positive sera showed that 6 (20%) had low-avidity antibodies and 24 (80%) high-avidity antibodies. No differences in avidity were observed between females and males. The avidity rates available by age showed no significant differences (Fig. 2A). Sheep from the LJ1 farm had high avidity as compared to LJ2 and LJ3 farms (Fig. 2B).

### 4. Discussion

This study is the first report showing the seroprevalence of *T. gondii* infection in sheep flocks in Rio Grande do Norte State (RN), Brazil. The percentage of seropositivity for *T. gondii* on sheep farms in the city of Lajes was 29.41%. Recent studies in different parts of the world have reported similar seropositivity rates in Italy and Marocco (Masala et al., 2003; Sawadogo et al., 2005). Our results are also similar to the world average, which is estimated at 31% (Fayer, 1981). However, in Brazil, our results are higher than those found by Pita Gondim et al. (1999) in Bahia (18.75%) and lower than the 34.7% found in São Paulo (Figliuolo et al., 2004) and the 39% in Rio Grande do Sul (Larsson et al., 1980). The differences observed could be due to the diagnostic technique used in the different regions, frequency of felines on the farms, age of the animals and the climatic variations from one region to another (Dubey, 1990; Sawadogo et al., 2005). In our study, significant differences in prevalence were found among the three farms screened. This was unexpected because climatic conditions are similar throughout the region. Thus, these differences in seroprevalence between farms indicate that the sheep were exposed to an environment contaminated with variable levels of *T. gondii* oocysts (Jittapalpong et al., 2005).

Our results show a positive association between age and seropositivity, indicating that horizontal transmission

by sporulated oocyst ingestion takes place, results that are comparable to those obtained by Gorman et al. (1999) in Chile. This confirms previous reports indicating a higher exposure risk as age increases (Dubey et al., 1992). In addition, differences were found in seroprevalence by sex, with female sheep showing a significantly higher percentage of seropositivity than that of male sheep. In a previous study, it was suggested that female animals are more susceptible than males to *T. gondii* infections (van der Puije et al., 2000). Thus, our data suggests that sex is a significant factor in determining previous exposure to *T. gondii* infection in sheep.

IgG avidity ELISA can be used to discriminate between acute and chronic *T. gondii* infection in sheep (Sager et al., 2003). This led us to choose this test to determine the proportional time of animal infection. Our results showed high avidities in 80% of the cases. High IgG avidity prevalence was significantly higher on LJ1 than on LJ2 and LJ3. We suspected that sheep from LJ1 were exposed to the parasite very early in life. In relation to age no significant differences in IgG avidity distribution were observed. This is indicative of a primary exposure of the flock to the parasite at similar levels. However, the occurrence of *T. gondii*-seropositive ewes with low avidity was found, suggesting that transmission must be preferentially vertical, with risk of abortion and fetal malformation.

In conclusion, our results show that *T. gondii* infection is present in sheep flocks in Lajes, Brazil, and epidemiological studies are required in order to identify sources of infection as well as the impact on animal breeding in the region and risk of transmission to humans.

### Acknowledgments

We would like to thank O.B. Almeida, V.M. Neto and I.P. Figueiredo for giving us access to the farms and facilitating the collection of blood samples; Prof. Dr. S. Jerônimo from the Immunobiochemical lab, DBQ-UFRN for help with the ELISA test; Dr. J.S. Trindade from Immunology Lab., DMP-UFRN for technical assistance and the Brazilian agency CAPES (Coordination for Higher Level Graduates Improvement) for M.M. Clementino's fellowship. We would also like to thank Prof. Dr. R.W. Vitor from the Toxoplasmosis lab, Department of Parasitology, ICB-UFMG, for their skillful scientific and technical assistance.

### References

- Beverley, J.K., Watson, W.A., 1959. Ovine abortion due to toxoplasmosis. *Nature* 184, 2041.

- Cozon, G.J.N., Ferrandiz, J., Nebhi, H., Wallon, M., Peyron, F., 1998. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 17, 32–36.
- Dubey, J.P., 1990. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 196, 259–262.
- Dubey, J.P., 1996. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. *Vet. Parasitol.* 64, 65–70.
- Dubey, J.P., Rickard, L.G., Zimmerman, G.L., Mulrooney, D.M., 1992. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in llamas (Lama glama) in the northwest USA. *Vet. Parasitol.* 44, 295–298.
- Elsaid, M.M.A., Bahia, M.T., Machado-Coelho, G.L., Vitor, R.W.A., 1995. Diagnosis of human toxoplasmosis by a dot enzyme-linked immunosorbent assay. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 37, 117–122.
- Fayer, R., 1981. Toxoplasmosis update and public health implications. *Can. Vet. J.* 22, 344–352.
- Figliuolo, L.P.C., Kasai, N., Ragozo, A.M.A., de Paula, V.S.O., Dias, R.A., Souza, S.L.P., Gennari, S.M., 2004. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 123, 161–166.
- Freyre, A., Bonino, J., Falcon, J., Castells, D., Correa, O., Cassaretto, A., 1997. The incidence and economic significance of ovine toxoplasmosis in Uruguay. *Vet. Parasitol.* 73, 13–15.
- Gorman, T., Arancibia, J.P., Lorca, M., Hird, D., Alcaïno, H., 1999. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and alpacas (*Llama pacas*) in Chile. *Prev. Vet. Med.* 40, 143–149.
- Jittapalpong, S., Sangvaranond, A., Pinyapanuwat, N., Chimnoi, W., Khachaeram, W., Koizumi, S., Maruyama, S., 2005. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic goats in Satun Province, Thailand. *Vet. Parasitol.* 127, 17–22.
- Larsson, C.E., Jamma, L.M.F., Guimarães, E.C., Patoli, D.B.G., Silva, H.L.L., 1980. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais Uruguaias, RS, Brasil. *Rev. Saúde Pública* 14, 582–588.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randal, R.J., 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275.
- Masala, G., Porcu, R., Madau, L., Tanda, A., Ibba, B., Satta, G., Tola, S., 2003. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. *Vet. Parasitol.* 117, 15–21.
- Pita Gondim, L.F., Barbosa Jr., H.V., Ribeiro Filho, C.H.A., Saeki, H., 1999. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State Brazil. *Vet. Parasitol.* 82, 273–276.
- Riemann, H.P., Meyer, M.G., Theis, J.H., Kelso, G., Behymer, D.E., 1975. Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. *J. Pediatr.* 87, 1728–1732.
- Sacks, J.J., Roberts, R.R., Brooks, N.F., 1982. Toxoplasmosis infection associated with raw goat milk. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 148, 1728–1732.
- Sager, H., Gloor, M., Tenter, A., Maley, S., Hässig, M., Gottstein, B., 2003. Immunodiagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in sheep by the use of a P30 IgG avidity ELISA. *Parasitol. Res.* 91, 171–174.
- Sawadogo, P., Hafid, J., Bellele, B., Sung, R.T.M., Chakdi, M., Flori, P., Raberin, H., Hamouni, I.B., Chait, A., Dalal, A., 2005. Seroprevalence of *T. gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. *Vet. Parasitol.* 130, 89–92.
- Suaréz-Aranda, F., Galisteo Jr., A.J., Hiramoto, R.M., Cardoso, R.P.A., Meireles, L.R., Miguel, O., Andrade Jr., H.F., 2000. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Vet. Parasitol.* 91, 23–32.
- Sukthana, Y., 2006. Toxoplasmosis: beyond animals to humans. *Trends Parasitol.* 22, 137–142.
- Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M., 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30, 1217–1258.
- van der Puije, W.N.A., Bosompem, K.M., Canacoo, E.A., Wastling, J.M., Akanmori, B.D., 2000. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. *Acta Trop.* 76, 21–26.
- Voller, A., Bidwell, D.E., 1976. Barlett, Enzyme immunoassay in diagnostic medicine. Theory and practice. *Bull. W.H.O.* 53, 55–65.

## ARTIGO 2

1. **TÍTULO:** TOXOPLASMOSIS IN SHEEP: A POTENTIAL RISK OF INFECTION AMONG RESIDENTS AND FARM WORKERS IN LAJES, BRAZIL
2. **AUTORES:** M. M. Clementino, I.R. Barbosa, V. F. Andrade Neto
3. **REVISTA:** Research in Veterinary Science
4. **SITUAÇÃO:** Submetido

## SHORT COMMUNICATION

**TOXOPLASMOSIS IN SHEEP: A POTENTIAL RISK OF INFECTION AMONG RESIDENTS AND FARM WORKERS IN LAJES, BRAZIL.****Milena M. Clementino, Isabelle R. Barbosa and Valter F. Andrade-Neto\***

*Laboratory of Malaria Biology and Toxoplasmosis, Depto. de Microbiologia e Parasitologia-CB, Universidade Federal do Rio Grande do Norte-UFRN, Av. Senador Salgado Filho, Campus Universitário, CEP 59072-970, Natal, RN, Brazil*

**Abstract**

The *Toxoplasma gondii* protozoan is prevalent in most areas of the world, causing veterinary and medical impact. The aim this study was to make a seroepidemiological report and identify risk factors for human toxoplasmosis in residents and sheep farm workers in Lajes, Brazil. An indirect haemagglutination test was used in the diagnosis, yielding a seroprevalence of 70%. An interview was conducted with each participant, and information was obtained on cultural and hygiene habits, age and environmental variables suspected of affecting the risk of *T. gondii*. Association analysis of the risk factors showed no significant differences. However, our data suggest a tendency for an association between seropositivity and age.

*Keywords: Toxoplasma gondii; Sheep; Risk Factors; Occupational Disease; human toxoplasmosis*

\*Corresponding author: V.F Andrade-Neto, *Laboratory of Malaria Biology and Toxoplasmosis, Departamento de Microbiologia e Parasitologia-CB, Universidade Federal*

do Rio Grande do Norte-UFRN, Av. Senador Salgado Filho, Campus Universitário, CEP 59072-970, Natal, RN, Brazil. Tel.: +55 84 3215-3437 Fax: +55 84 3211-9210. E-mail address: [aneto@cb.ufrn.br](mailto:aneto@cb.ufrn.br)

## 1. Introduction

*Toxoplasma gondii* is an obligate intracellular protozoan that belongs to the phylum Apicomplexa, subclass coccidian, and can probably infect all warm-blooded animals (mammals and birds) and humans (Dubey and Beattie, 1988; Innes, 1997). Human beings can be infected with *T. gondii* by ingestion or handling of undercooked or raw meat containing tissue cysts (mainly sheep, goats and pigs) or water or food containing oocysts excreted in the faeces of infected cats (Dubey et al., 1970). Most individuals are infected inadvertently, thus the specific route of transmission cannot usually be established (Montoya and Liesenfeld, 2004). The seroprevalence estimates for humans vary greatly between different geographical areas within one country, in accordance with cultural and hygiene habits, age and environmental factors, or other factors with epidemiologic impact (Dubey et al., 1998; Weigel et al., 1999). Thus, *T. gondii* may be transmitted from definitive to intermediate hosts, from intermediate to definitive hosts, as well as between definitive and between intermediate hosts (Dubey, 1994; Tenter et al., 2000; Sukthana, 2006). Most cases of toxoplasmosis in immunocompetent humans are asymptomatic (Tenter et al., 2000). However, severe manifestations may occur in immunocompromised individuals (Sell et al., 2005). It may also result in neonatal death or foetal abnormalities during pregnancy (Jacquemard, 2000; Jones et al., 2001; Kravetz and Federman, 2005). Moreover, few studies have been aimed at identifying risk factors that may be associated with an infection transmitted from animals to humans. Our group, in a recent study using an ELISA test, found that 29.41% of sheep flocks in the city of Lajes were seropositive

(Clementino et al., 2007). The aim of the present study was to investigate seroprevalence in residents and workers on sheep farms in Lajes and to identify risk factors associated with *T. gondii* seropositivity. It is the continuation of an epidemiologic study of a possible animal source of infection for humans.

## **2. Material and Methods**

### *2.1. Area description and Study population*

The area selected for sample collection was Lajes, a city located in the semi-arid region of the State of Rio Grande do Norte in Northeast Brazil, because most of the sheep farms are found there. Farms owners were contacted and invited to take part in a study of human exposure to *T. gondii* on sheep farms. Consent was obtained from 3 of the farms (LJ1, LJ2 and LJ3). Each farm was visited once in October, 2006 to obtain human data. The sample consisted of all adults ( $\geq 23$  years of age) working or residing on the farm. A private interview was conducted with each participant, in which information on the following was obtained: resident status, sex and age, raw meat handling, cat handling, consumption of raw or undercooked meat products (sheep), consumption of raw milk, ingestion of unwashed raw vegetable or fruits, kitchen hygiene, hand washing before eating and miscarriage occurrence. The procedure was approved by the Ethics Committee of the Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN (approval number 013/07). Blood samples were collected from ten workers or residents. Approximately 5 ml of blood from a large forearm vein was collected. The blood samples were taken to the Laboratory of Malaria Biology and Toxoplasmosis (UFRN), centrifuged (200 x g, 5 min) and the serum collected and stored at  $-20^{\circ}$  C until analyzed.

## 2.2. Serology

The *T. gondii*-specific IgG and IgM antibodies were detected by indirect haemagglutination test (IHA) (Toxotest kit®, Wiener Lab). Sera were serially two-fold diluted starting at 1:2 and up to 1:2048, according to the protocol. Parallely, all sera were treated with 2-mercaptoethanol to reduce IgM antibodies, then tested. All sera reactive at  $\geq$  1:16 were considered positive.

## 2.3. Statistical analysis

Risk factors were measured at the category level, associations were examined in 2 x 2 contingency tables, 95% confidence intervals were established, and *P* values were calculated using Fisher's exact test.

## 3. Results and Discussion

The presence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies of the IgG class was found in 7 of the 10 individuals examined (70%) with titers ranging from 1:16 to 1:256. High specific antibody levels were most frequent at 1:32 (42.86%), whereas 14.28% were positive at 1:256 (Table 1). No specific IgM antibodies were detected. The results of the analysis for the association of environmental and cultural habit risk factors with *T. gondii* seropositivity showed no significant differences. In relation to sex, no significant differences could be observed. Only one risk factor had a tendency for association, however no statistical differences were found. The seroprevalence associated with age categories showed that it was lower in the 23 to 32 year group than in the 53-63 age group (Table 2).

The present paper investigates the prevalence of toxoplasmosis in humans and the degree of its possible correlation to contact with sources of infection in an endemic area of ovine toxoplasmosis. This study of residents and workers on sheep farms in Lajes is the first report showing an epidemiologic investigation of risk factors associated to human toxoplasmosis. The percentage of seropositivity for *T. gondii* was 70%, with moderate IgG antibody levels suggestive of chronic infection. The fact that most subjects resided on the farm where they worked suggests the existence of some stability in the environmental exposure to parasites over extended periods of time. Thus, our results are comparable to the Brazilian average, which is estimated at between 50-83% (Borges et al., 1997; Garcia et al., 1999; Coêlho et al., 2003; Cavalcante et al., 2006). Seroprevalence estimates for human populations vary greatly from one region to another, between different countries, and between different ethnic groups living in the same area (Tenter et al., 2000; Sobral et al., 2005; Zapata et al., 2005). For example, seroprevalence in Mexico has been estimated to be between 6.1 and 7.72% (Alvarado-Esquivel et al., 2006). Higher prevalences have been observed in countries such as Madagascar (83.5%) (Lelong et al., 1995). In addition, prevalence rates vary over time, with age, cultural habits and environmental factors (Dubey et al., 1998). Some authors have verified a positive association between age and seropositivity (Al-Quarashi, 2004; Ertug et al., 2005; Studenicová et al., 2006). In our study, no significant differences could be observed for age, despite the tendency observed; the higher prevalence in the older age group indicates a higher risk of exposure as age increases (Rai et al., 1999). No differences were found in seroprevalence according to sex, a result comparable to that obtained in other studies (Joshi et al., 1998; Cavalcante et al., 2006; Studenicová et al., 2006). One unexpected result was the absence of cats inside the farmhouses, although some people reported the presence of cats around the farms. This

finding is very important, since cats are reservoirs for animal and human toxoplasmosis (Dubey and Beattie, 1988). In fact, many cats in this region are feral and do not interact directly with humans.

Despite toxoplasmosis being considered an occupational and cultural disease, the other variables analyzed in this study were not associated with the risk of *T. gondii* seropositivity. However, the true association may have been masked by the number of people evaluated.

This paper presents the first study on the prevalence and risk factors of toxoplasmosis in a rural population. A limitation of this preliminary study is the small number of individuals examined, which does not allow the drawing of any firm conclusions. Nevertheless, the results obtained suggest that age should be considered an important epidemiological factor among farm residents and/or workers. Further investigations to determine the risk factors associated with infection may serve to identify preventive measures for reducing human infection.

### **Aknowledgements**

We would like to thank O. B. Almeida, V. M. Neto and I. P. Figueiredo for giving us access to the farms and facilitating the collection of blood samples and the conducting of interviews; Dr. J. S. Trindade from the Immunology Lab., DMP-UFRN for technical support; A. D. Medeiros for help during the experimental work; Prof. Dr. G. Corso from the Dept. of Biophysic, UFRN, for statistical assistance and the Brazilian agency CAPES (Coordination for Higher Level Graduates Improvement) for M. M. Clementino's fellowship. We would also like to thank Prof. Dr. R. W. Vitor of the Toxoplasmosis lab, Dept. of Parasitology, ICB-UFMG, for his skillful scientific and technical assistance.

## References

Al-qurashi A.R., 2004. Seroepidemiological study of toxoplasmosis in rural areas in the eastern region of Saudi Arabia. *J. Egypt Soc. Parasitol.* 34, 23-34.

Alvarado-esquivel, C., Sifuentes-álvarez, A., Narro-duarte, S.G., Estrada-martínez, S., Díaz-garcía, J.H., Liesenfeld, O., Martínez-garcía, S., Canales-molina, A., 2006. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in a public hospital in northern Mexico. *BMC Infect. Diseases* 6,113-119.

Borges, A.S., Fosenca, A.M., Ferreira, M.S., Silvestre, M.T.A., Valente, S.R.G., 1997. Anticorpos anti *Toxoplasma gondii* nos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberlândia, MG. *Brazilian J. Infect. Dis.* 1, 88.

Cavalcante, G.T., Aguilar, D.M., Camargo, L.M., Labruna, M.B., de Andrade, H.F., Meireles, L.R., Dubey, J.P., Thulliez, P., Dias, R.A., Gennari, S.M., 2006. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in humans from rural western Amazon, Brazil. *J. Parasitol.* 92, 647-649.

Clementino, M.M., Souza, M.F., Andrade Neto, V.F., 2007. Seroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from Lajes, Brazil. *Vet. Parasitol.* 146, 199-203.

Coêlho, R.A.L, Kobayashi, M., Carvalho Jr., L.B., 2003. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 45, 229-231.

Dubey J.P., 1994. Toxoplasmosis. J. Am. Vet. Med. Assoc. 205, 1593-1598.

Dubey, J.P., Beattie, C.P., 1988. Toxoplasmosis of animal and man. Boca Raton: CRC Press.

Dubey, J.P., Lindsay, D.S., Speer, C.A., 1998. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradizoytes, and sporozoytes and biology and development of tissue cysts. Clin. Microbiol. Res. 11,267-299.

Dubey, J.P., Miller, N.L., Frenkel, J.K., 1970. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. J. Exp. Med. 132, 636–662.

Ertug, S., Okyay, P., Turkmen, M., Yuksel, H., 2005. Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. BMC Public Health 5, 66-71.

Garcia, J.L., Navarro, I.T., Ogawa, L., Oliveira, R.C., Garcia, S.M.F., Leite, J., 1999. Soroepidemiologia da toxoplasmose e avaliação ocular pela Tela de Amsler, em pacientes da zona rural, atendidos na unidade de saúde do município de Jaguapitã, PR, Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Tropical 32, 671-676.

Innes, E.A., 1997. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Disease* 20, 131-138.

Jacquemard, F., 2000. Clinical aspects of infection during pregnancy. In: Ambroise-Thomas P, Petersen E (Ed.), *Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control*. Springer-Verlag, Paris, pp. 111-120.

Jones, J.L., Lopez, A., Wilson, M., Schulkin, J., Gibbs, R., 2001. Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet Gynecol. Surv.* 56, 296-305.

Joshi, Y.R., Vyas, S., Joshi, K.R., 1998. Seroprevalence of Toxoplasmosis in Jodhpur, India. *J. Commun. Dis.* 30, 32-37.

Kravetz, J.D., Federman, D.G., 2005. Toxoplasmosis in pregnancy. *Am. J. Med.* 118, 212-216.

Lelong, B., Rahelimino, B., Candolfi, E., Ravelojaona, B.J., Villard, O., Rasamin, Drakotroka, A.J., Kien, T., 1995. Prevalence of toxoplasmosis in a population of pregnant woman in Antananarivo (Madagascar). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 88, 46-49.

Montoya, J.G., Liesenfeld, O., 2004. Toxoplasmosis. *The Lancet* 363, 1965–1976.

Rai, S.K., Matsumura, T, Ono, K, Abe, A., Hirai, K., Rai, G., Sumi, K., Kubota, K., Uga, S., Shrestha, H.G., 1999. High *Toxoplasma* seroprevalence associated with meat eating habits of locals in Nepal. *Asia Pac. J. Public Health* 11, 89-93.

Sell, M., Sander, B., Klingerebiel, R., 2005. Ventriculitis and hydrocephalus as the primary manifestation of cerebral toxoplasmosis associated with AIDS. *J. Neurology* 252, 234-236.

Sobral, C.A., Amendoeira, M.R., Teva, A., Patel, B.N., Klein, C.H., 2005. Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous Brazilian populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 72, 37-41.

Studenicová, C., Bencaiová, G., Holková, R., 2006. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in a healthy population from Slovakia. *Eur. J. Int. Med.* 17, 470–473.

Sukthana, Y., 2006. Toxoplasmosis: beyond animals to humans. *Trends Parasitol.* 22, 137-142.

Tenter, A.M., Heckeroth, A.R., Weiss, L.M. 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasitol.* 30, 1217-1258.

Weigel, R.M., Dubey, J.P., Dyer, D., Siegel, A.M., 1999. Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 60, 793-798.

Zapata, M., Reyes, L., Holst, I., 2005. Disminución en la prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en adultos del valle central de Costa Rica. Parasitol. Latinoam. 60, 32-37.

Table 1.

IgG anti-*Toxoplasma gondii* antibody titers in the sera of residents and sheep farm workers in Lajes, Brazil, by an indirect haemagglutination test (IHA).

Titers	Positivity	
	N <sup>o</sup> of Individuals	%
1:16	1	14.3
1:32	3	42.8
1:64	2	28.6
1:256	1	14.3
Total	7	100,0

Table 2.

Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in residents and sheep farm workers in Lajes, Brazil, by age groups.

Age (years)	IHA test		
	Reagent N (%)	Non-reagent N (%)	Total N (%)
23-32	3 (60)	2 (40)	5 (100)
33-42	2 (66.7)	1 (33.3)	3 (100)
43-52	1 (100)	0 (0)	1 (100)
53-63	1 (100)	0 (0)	1 (100)
Total	7 (70)	3 (30)	10 (100)

## Capítulo 3

## 1. DISCUSSÃO GERAL

### 1.1 Soroprevalência e avidéz de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soro de ovinos

A presença do protozoário *Toxoplasma gondii* nos produtos de origem ovina, destinados à alimentação humana, é de especial interesse em saúde pública, considerando-se que estes alimentos, quando inadequadamente preparados, constituem-se em uma das principais fontes de infecção para o homem (LUNDÉN & UGGLA, 1992; TENTER et al., 2000).

O diagnóstico da toxoplasmose é bastante complexo, podendo ser feito por métodos parasitológicos ou sorológicos. Contudo os métodos parasitológicos apresentam limitações como baixa sensibilidade, demanda de um maior período de tempo para a realização de infecções experimentais em camundongos, que os tornam bastante laboriosos; além da necessidade de um observador altamente experiente. Em contrapartida, a pesquisa de anticorpos séricos é extremamente eficiente se observar-mos sua praticidade e rapidez quando comparada aos ensaios biológicos (VENKATESAN & WAKELIN, 1993).

Apesar da importância da toxoplasmose em ovinos ser mundialmente reconhecida, há poucos estudos no nordeste do Brasil, onde está localizado o maior rebanho brasileiro. Até o momento foram realizados dois estudos: um na Bahia onde os autores encontram uma prevalência de 18,75% através do teste de aglutinação do látex (PITA GONDIM et al., 1999) e outro em Pernambuco, onde os autores encontraram, pela reação de imunofluorescência indireta, uma prevalência de 35,3% (SILVA et al., 2003). No presente trabalho realizamos o terceiro estudo no nordeste, no Estado do Rio Grande do Norte, utilizando o ELISA - Ensaio Imunoenzimático (SAGER et al., 2003; PEREIRA-BUENO et al., 2004) para a detecção de anticorpos IgG específicos de *Toxoplasma gondii* nos rebanhos ovinos do município de Lajes. A utilização do ELISA neste estudo de soroprevalência deve-se ao fato de que esta é considerada uma das técnicas mais sensíveis para o estudo da Toxoplasmose em ovinos (SAWADOGO et al., 2005).

A prevalência de 29,41% de anticorpos anti-*T. gondii* observada nos rebanhos ovino do município de Lajes, foi semelhante àqueles verificadas em diversas regiões do mundo (HASHEMI-FESHARKI, 1996; MASALA et al., 2003; SAWADOGO et al., 2005) e muito próximos à média mundial que é 31% (FAYER, 1981; TENTER et al., 2000). No Brasil, os inquéritos sorológicos realizados em diferentes Estados apresentam uma frequência variando de 18% a 39% (LARSSON et al., 1980; PITA GONDIM et al., 1999; MEIRELES, 2001; SILVA et al., 2002; SILVA et al., 2003; FIGLIUOLO et al., 2004). As diferenças observadas entre as regiões podem estar relacionadas às técnicas utilizadas, ao regime de exploração, presença de gatos e as variáveis climáticas.

Segundo Fayer (1981) a prevalência da toxoplasmose é elevada em regiões quentes e úmidas devido à alta viabilidade dos oocistos nestes ambientes. VAN DER PUIJE et al. (2000) em estudo em Gana, usando o método de ELISA, verificaram que a prevalência de toxoplasmose em ovinos varia de 20%, em uma zona seca, para 39% em litoral e zona de floresta. Este fato também foi evidenciado no Brasil por PITA GONDIM et al. (1999) na Bahia onde foi determinada uma prevalência de 12,5% numa região de “caatinga” e 26,92% em área limitrofe com a Costa Atlântica. Este fato sugere que as características climáticas de regiões secas provavelmente diminui a chance de sobrevivência do parasito o que resulta, geralmente, numa baixa prevalência.

Em relação à faixa etária dos ovinos, nossos resultados são similares aqueles encontrados por VAN DER PUIJE et al. (2000) em Gana, onde se verificou uma forte associação positiva entre presença de anticorpos anti-*T. gondii* e ovelhas adultas, sendo crescente o número de animais positivos com o aumento da idade. Isto se deve provavelmente a maior possibilidade de contato com o agente infeccioso.

Diversos estudos têm mostrado que as fêmeas são mais sensíveis do que os machos às infecções parasitárias por protozoários (ALEXANDER & STINSON, 1988). No estado de Pernambuco, SILVA et al.(2003) verificaram que a porcentagem de fêmeas soro-reagentes foi significativamente maior que a dos machos, com 43,88% contra 21,21%, respectivamente. Nossos dados também

mostraram que as fêmeas são mais susceptíveis; sendo portanto, o sexo um fator importante em estudos epidemiológicos. A variável sexo pode estar relacionada a fatores secundários, envolvendo diferentes eventos fisiológicos, relacionados ao processo reprodutivo desses animais (ovulação, prenhez e lactação), onde se encontram envolvidos aspectos hormonais (CAVALCANTE, 2004).

Na fase inicial das infecções pelo *T. gondii*, uma alta percentagem de anticorpos IgG apresenta baixa avidéz para os antígenos correspondentes. Decorrido esse período, que pode ser de semanas ou meses, esses anticorpos vão apresentando avidéz crescente, de modo que em infecções crônicas, são detectados anticorpos de alta avidéz (CAMARGO et al., 1991). Nos últimos anos, estudos mostram que a avidéz de anticorpos do tipo IgG permite estimar de maneira indireta o tempo de infecção, utilizando a mesma técnica imunológica usada para a determinação de anticorpos específicos (CAMARGO et al., 1991; BERTOZZI et al., 1999). Sendo o diagnóstico da fase aguda da infecção pelo *T. gondii* em caprinos (BAHIA et al., 1995; CAVALCANTE, 2004), em humanos (COZON et al., 1998) e em suínos (SUAREZ- ARANDA et al., 2000), muitas vezes determinado pela pesquisa de anticorpos IgG de baixa avidéz, usando como agente dissociante a uréia.

No presente estudo a avaliação da avidéz de anticorpos IgG, também foi realizada utilizando-se como agente dissociante a uréia a 6M (CAVALCANTE, 2004). Para determinação do ponto de corte para avidéz foram adotados os valores propostos por SUARÉZ - ARANDA et al. (1999), onde valores de avidéz maiores ou iguais a 50% indicam toxoplasmose crônica, enquanto que valores menores que 50% indicam infecção aguda. Por estes critérios verificamos que 80% das amostras previamente positivas para toxoplasmose apresentaram alta avidéz, o que sugere que os ovinos eram portadores de infecção crônica. Se levarmos em consideração o total de animais avaliados, veremos que 5,88% apresentam anticorpos de baixa avidéz, ou seja, um indicativo de infecção aguda ou recente.

A ocorrência de animais com anticorpos de baixa avidéz nas faixas etárias de 13 a 36 meses (40%) e maior ou igual a 36 meses (48,15%), fêmeas em idade

reprodutiva, aponta para ocorrência da fase aguda da toxoplasmose. Este evento provavelmente estará relacionado com a transmissão vertical do parasito (toxoplasmose congênita), com possibilidades de perdas por abortos e malformação fetal.

Em relação aos rebanhos examinados em Lajes, os anticorpos de alta avidéz foram significativamente mais alto nos animais da fazenda LJ1 que nos animais das fazendas LJ2 e LJ3. Esses resultados sugerem que os animais em LJ1 foram menos expostos a infecção, enquanto que nas demais propriedades, provavelmente, os animais eram continuamente expostos a infecção.

Com relação a variável sexo, tanto as fêmeas como os machos apresentaram percentuais similares para anticorpos de baixa avidéz, o que sugere que nas fazendas LJ2 e LJ3, tanto machos como fêmeas encontram-se expostos aos mesmos fatores de risco.

Quanto à idade dos animais no rebanho das fazendas LJ2 e LJ3, verificamos que todas as faixas etárias estudadas apresentavam anticorpos de baixa avidéz. Isto se deve provavelmente ao fato de que os animais estão continuamente expostos ao agente infeccioso da toxoplasmose, adquirindo infecção precoce em níveis semelhantes.

## **1.2 Transmissão de toxoplasmose para os moradores e trabalhadores das fazendas.**

Em nosso estudo nós também procuramos avaliar a prevalência de toxoplasmose entre os moradores e trabalhadores das fazendas LJ1, LJ2 e LJ3. Encontramos através do teste de Hemaglutinação Indireta uma soroprevalência para anticorpos IgG de 70%; o teste para IgM foi negativo. A soropositividade de anticorpos anti- *T. gondii* varia consideravelmente de um país a outro e até mesmo de uma região a outra em um mesmo país (ZAPATA et al., 2005). Foram encontradas soroprevalência muito baixas como os 6,1% verificadas no México (ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2006) e altas como os 83,5% em Madagascar (LELONG et al., 1995). Neste estudo a prevalência observada encontra-se dentro

da faixa detectada no Brasil, com valores que oscilam entre 50 a 83% (BORGES et al., 1997; GARCIA et al., 1999; COÊLHO et al., 2003; SEGUNDO et al., 2004; SOBRAL et al., 2005; CAVALCANTE et al., 2006). As prevalências discrepantes podem estar relacionadas aos fatores climáticos, alimentares, culturais, sócio econômico e geográfico que são elementos essenciais em estudos epidemiológicos (DUBEY et al., 1998; HUNG et al., 2007). Alguns autores consideram que nas zonas rurais os hábitos de higiene pessoal e os fatores ambientais podem ser mais desfavoráveis que a urbana, facilitando desta forma a propagação da infecção (EXCLER et al., 1988; SANCHEZ et al., 1994).

Não foram detectadas diferenças estatísticas significativas, em relação ao sexo, resultado este que já foram descritos por outros autores (JOSHI et al., 1998; CAVALCANTE et al., 2006; STUDENICOVÁ et al., 2006). Da mesma forma as faixas etárias não apresentaram diferenças significativas (GARCIA & NAVARRO, 1995; GARCIA et al., 1999). Porém, há uma tendência para aumento da soroprevalência associada ao aumento de idade. Não foram verificadas diferenças estatísticas para os fatores de riscos avaliados através do inquérito epidemiológico (em relação ao hábito de consumir leite, carne e vísceras crus, lavagem de faca e atividade desenvolvida) na distribuição dos soropositivos. Estes resultados sugerem que estes indivíduos estiveram expostos a fontes comuns de infecção independente de hábitos alimentares, higiênicos, comportamentais e atividades desenvolvidas, evento notadamente bastante comum que pode ser corroborado pelos trabalhos realizados por LELONG et al., (1995); GARCIA et al. (1999) e NISSAPATORN et al. (2003).

## 2. CONCLUSÕES

- Foi encontrada uma porcentagem alta de animais com toxoplasmoses no rebanho estudado. Como estes ovinos serão abatidos para consumo humano, evidenciamos a importância desses animais como possível fonte de infecção para o homem.
- Houve diferença significativa entre os fatores associados à soroprevalência da infecção de *T. gondii* nos rebanhos estudados.
- Dentre os animais positivos, foi encontrada uma porcentagem de 20% de anticorpos de baixa avides, sugerindo que a transmissão da infecção é constante durante sua vida.
- O elevado número de ovelhas com anticorpos de baixa avides, aponta para a possibilidade de transmissão vertical.
- Todos os trabalhadores e moradores das fazendas estudadas se mostravam crônicos para a toxoplasmose, sugerindo infecção precoce na vida desta população.
- No presente estudo os fatores de riscos avaliados pelo inquérito sócio cultural e epidemiológico, nos trabalhadores e moradores, não revelaram diferenças significativas.
- A elevada proporção de ovinos e humanos positivos, nas fazendas estudadas, indica que o *T. gondii* encontra-se amplamente difundido no município de Lajes e condiz com a prevalência média encontrada na literatura.

### **3. PERSPECTIVAS DECORRENTES DESSE ESTUDO**

#### **3.1 Do ponto de vista acadêmico**

- Continuidade aos estudos no Rio Grande do Norte, em parcerias com a Escola de Veterinária da UFERSA e outras instituições de ensino, pesquisa e extensão.
- Elaborar um projeto visando o cadastramento de produtores, a caracterização sanitária e dos sistemas de produção de Ovinos e Caprinos nos Estados do NE, esses sistemas são modelos para determinar linhas de pesquisa e extensão que atendam diretamente a demanda dos produtores, de acordo com a relevância encontrada nestes estados, como representativos da situação nacional.
- Gerar temas para produção de dissertações e teses.

#### **3.2 Do ponto de vista de aplicabilidade para ovinocaprinocultura**

- Firmar parcerias com outras instituições de pesquisa, ensino e extensão, de modo a ampliar o Grupo de Pesquisa em pequenos ruminantes no Estado do Rio Grande do Norte, em colaboração com as cooperativas e associações de ovinocaprinocultores visando o mapeamento zoosanitário, contribuindo assim para a melhoria do rebanho Potiguar.

#### 4. REFERÊNCIAS

ALEXANDER, J., STINSON, V. H. Sex hormone and the course of parasitic infection. **Parasitology Today**, v. 4, p. 189-193, 1988.

ALVARADO-ESQUIVEL, C., SIFUENTES-ÁLVAREZ, A., NARRO-DUARTE, S.G., ESTRADA-MARTÍNEZ, S., DÍAZ-GARCÍA, J.H., LIESENFELD, O., MARTÍNEZ-GARCÍA, S., CANALES-MOLINA, A. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in a public hospital in northern Mexico. **BMC Infect. Diseases**, v.6, p.113-119, 2006.

BAHIA, M. T.; VITOR, R. W. A.; CALDAS, R. P.; ANTUNES, C. M. F.; CHIARI, C. de A. Avidéz de anticorpos específicos anti-*Toxoplasma* da classe IgG e sua utilização na diferenciação entre toxoplasmose recente e crônica em caprinos. **Brasilian Journal Veterinary Animal Science**, v. 32, p. 11-16, 1995.

BERTOZZI, L. C.; SUZUKI, L. A.; ROSSI, C. L. Serological diagnosis of toxoplasmosis: usefulness of IgA detection and IgG avidity determination in a patient with a persistent IgM antibody response to *Toxoplasma gondii*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 41, p. 175-177, 1999.

BORGES, A. S.; FONSECA, A.M.; FERREIRA, M.S.; SILVESTRE, M. T. A. ; VALENTE, S. R. G. Anticorpos anti *Toxoplasma gondii* nos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberlândia, MG. **Brasilian J. Infect. Dis.**, v.1, p.88, 1997.

CAMARGO, M. E.; SILVA, S. M.; LESER, P. G.; GRANATO, C. H. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 33, p. 213-218, 1991.

CAVALCANTE, A. C. R. **Epidemiologia e caracterização do *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em caprinos no Ceará.** Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais, 2004, 145 f. Dissertação (Dissertação em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2004.

CAVALCANTE, G. T.; AGUILAR, D. M.; CAMARGO, L. M.; LABRUNA, M. B.; de ANDRADE, H. F.; MEIRELES, L. R.; DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in humans from rural western Amazon, Brazil. **J. Parasitol.**, v. 92, p. 647-9, 2006.

COÊLHO, R. A.L.; KOBAYASHI, M.; CARVALHO Jr., L. B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v.45, p. 229-231, 2003.

COZON, G. J. N.; FERRANDIZ, J.; NEBHI, H.; WALLON, M.; PEYRON, F. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. **European Journal Clinical Microbiology Infectology Disease**, v. 17, p. 32-36, 1998.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradizoytes, and sporozoytes and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Research**, v. 11, p. 267-99, 1998.

EXCLER, J. L.; PRETAL, E.; POZZETTO, B.; CARPIN, B.; GARIN, J. P. Seroepidemiological survey for toxoplasmosis in Burundi. **Trop. Med. Parasit.**, v. 39, p. 139-141, 1988.

FAYER, R. Toxoplasmosis update and public healt implications. **Can. Vet. J.**, v. 22, p. 344-352, 1981.

FIGLIUOLO, L. P. C.; KASAI, N.; RAGOZO, A.M.A.; DE PAULA, V.S.O.; DIAS, R. A.; SOUZA, S.L.P.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, p. 161-6, 2004.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. Levantamento soropidemiológico da toxoplasmose em moradores da zona rural do município de Guaraci-Paraná-Brasil. **Semina**, v.16, p. 63-67, 1995.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C.; GARCIA, S. M. F.; LEITE, J. Soropidemiologia da toxoplasmose e avaliação ocular pela Tela de Amsler, em pacientes da zona rural, atendidos na unidade de saúde do município de Jaguapitã, PR, Brasi. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 671-676, 1999.

HASHEMI-FESHARKI, R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. **Veterinary Parasitology**, v. 61, p. 1-3, 1996.

HUNG, Chien-Ching; FAN, Chia-Kwung; SU, Kua-Eyre; SUNG, Fung-Chang; CHIOU, Hung-Yi; GIL, V.; FERREIRA, M. C. R.; CARVALHO, J. M.; CRUZ, C.; LIN, Yu-Kuan; TSENG, Lian-Fen; SAO, Ke-Yun; CHANG, Wen-Cheun; LAN, Hung-Shue; CHOU, Shing-Hsien. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in the Democratic Republic of Sao Tome and Principe. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 101, p. 134—139, 2007.

JOSHI, Y. R.; VYAS, S.; JOSHI, K. R. Seroprevalence of Toxoplasmosis in Jodhpur, Índia. **J. Commun. Dis.**, v.30, p. 32-7, 1998.

LARSSON, C. E.; JAMRA, L. M. F.; GUIMARÃES, E. C.; PATTOLI, D. B. G.; SILVA, H. L. L. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de

Sabin-Feldman em animais Uruguaias, RS, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v.14, p. 582-588, 1980.

LELONG, B.; RAHELIMINO, B.; CANDOLFI, E.; RAVELOJAONA, B. J.; VILLARD, O.; RASAMINDRAKOTROKA, A. J.; KIEN, T. Prevalence of toxoplasmosis in a population of pregnant women in Antananorivo (Madagascar). **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v. 88, p. 46-9, 1995.

LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. **Int. J. Food Microbiol.**, v.15, p. 357-363, 1992.

MASALA, G.; PORCU, R.; MADAU, L.; TANDA, A.; IBBA, B.; SATTA, G.; TOLA, S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by RIFI and PCR assays in Sardinia, Italy. **Veterinary Parasitology**, v.117, p. 15-21, 2003.

MEIRELES, L.R. **Estudo das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do estado de São Paulo**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2001, 141 f. Dissertação (Dissertação em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2001.

NISSAPATORN, V.; NOOR AZMI, M. A.; CHO, S. M.; FONG, M. Y.; INIT, T.; ROHELA, M.; KHAIRUL ANUAR, A.; QUEK, K. F.; LATT, H. M. Toxoplasmosis: prevalence and risk factors. **J. Obstet. Gynaecol.**, v. 23, p. 618-24, 2003.

PEREIRA-BUENO, J.; QUINTANILLA-GOZALO, A.; PÉREZ-PÉREZ, V.; ÁLVAREZ-GARCÍA, G.; COLLANTES-FERNÁNDEZ, E.; ORTEGA-MORA, L. M. Evaluation of ovine abortion associated with *Toxoplasma gondii* in Spain by different diagnostic techniques. **Veterinary Parasitology**, v.121, p.33-43, 2004.

PITA GONDIM, L. F.; BARBOSA Jr.; H. V.; RIBEIRO FILHO, C. H. A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and

water buffaloes in Bahia State Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 82, p. 273-6, 1999.

SAGER, H., GLOOR, M., TENTER, A., MALEY, S., HÄSSIG, M., GOTTSTEIN, B. Immunodiagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in sheep by the use of a P30 IgG avidity ELISA. **Parasitol. Res.**, v. 91, p.171-174, 2003.

SANCHEZ, R. M.; GORDO, R. B.; ASMADOR, E. A.; BERRIO, L. A. Prevalência de infecção Toxoplásmica en gestantes de La Provincia La Habana. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 36, p.445-450, 1994.

SAWADOGO, P.; MAFIO, J.; BELLETE, B.; SUNG, R. T. M.; CHAKDI, M.; FLORI, P.; RABERIN, H.; MAMOUNI, J. B.; CHAIT, A.; DALAL, A. Seroprevalence of *T. gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. **Veterinary Parasitology**, v. 130, p. 89-92, 2005.

SEGUNDO, G. R. S.; SILVA, D. A. O.; MINEO, J. R.; FERREIRA, M. S. Congenital toxoplasmosis in Uberlândia, MG, Brazil. **J. Trop. Pediatr.**, v.50, p.50-3, 2004.

SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI H. Comparação da reação de Imunofluorescência indireta e do método de aglutinação anti-toxoplasma em soros de ovinos, caprinos e felinos. **Arq. Inst. Biol.**, v. 69, p. 7-11, 2002.

SILVA, A. V.; CUNHA, E. L. P.; MEIRELES, L. R.; GOTTSCHALK, S.; MOTA, R. A.; LANGONI, H. Sheep and goat toxoplasmosis: seroepidemiological study in two regions in the state of Pernambuco, Brazil. **Ciências Rural**, v. 33, 115-9, 2003.

SOBRAL, C. A.; AMENDOEIRA, M. R.; TEVA, A.; PATEL, B. N.; KLEIN, C. H. Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous Brazilian populations. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.72, p.37-41, 2005.

STUDENICOVÁ, C.; BENCAIOVÁ, G.; HOLKOVÁ, R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in a healthy population from Slovakia. **European Journal of Internal Medicine**, v. 17, p. 470–473, 2006.

SUARÉZ-ARANDA, F.; GALISTEO Jr. A. J.; HIRAMOTO, R. M.; CARDOSO, R. P. A.; MEIRELES, L. R.; MIGUEL, O.; ANDRADE Jr. H. F. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru, **Veterinary Parasitology**, v. 91, p. 23-32. 2000.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

VAN DER PUIJE, W. N. A.; BOSOMPEM, K. M.; CANACOO, E. A.; WASTLING, J. M.; AKANMORI B. D. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. **Acta Tropica**, v. 76, p. 21-26, 2000.

VENKATESAN, P., WAKELIN, D. Elisas for parasitologists: or lies, damned lies and ELISAS. **Parasitol. Today**, v.9, p. 228-232, 1993.

ZAPATA, M.; REYES, L.; HOLST, I. Disminución en la prevalencia de anticuerpos contra *Toxoplasma gondii* en adultos del valle central de Costa Rica. **Parasitol. Latinoam.**, v.60, p.32-7, 2005.

# Capítulo 4

(Anexos)

# Anexo I – Anamnese

Ficha N° \_\_\_\_\_

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

## Identificação:

Nome: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Local de trabalho (moradia): \_\_\_\_\_

## A) Alimentação:

- I. Consome leite de ovelha? ( ) sim ( ) não
- II. Caso afirmativo, ferve o leite antes de consumi-lo? ( ) sim ( ) não
- III. Alimenta-se da carne de ovinos? ( ) sim ( ) não
- IV. Como é preparada a carne antes do consumo? ( ) bem passada  
( ) mal passada
- V. Alimenta-se das vísceras de ovinos? ( ) sim ( ) não
- VI. Como são preparadas as vísceras? ( ) bem passada  
( ) mal passada
- VII. Após o corte da carne e vísceras de ovino para consumo, a faca é lavada antes de nova utilização? ( ) sim ( ) não
- VIII. As vísceras são consumidas por animais da fazenda? Caso afirmativo, quais animais? \_\_\_\_\_
- IX. Possui horta? ( ) sim ( ) não
- X. Lava bem frutas e verduras antes de consumi-las? ( ) sim ( ) não

**B) Trabalho:**

I. Trabalha com manejo de ovinos ? ( )sim ( ) não

II. Caso afirmativo, a quanto tempo? \_\_\_\_\_

**C) Moradia:**

I. Cria gatos no domicílio? ( )sim ( ) não

II. Os gatos tem acesso à horta? ( )sim ( ) não

**D) Família** (somente para mulheres):

I. Ocorrência de abortos? ( )sim ( ) não

## Anexo II

Tabela 1 - Fatores de riscos associados à soropositividade de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em trabalhadores e residentes de três fazendas no município de Lajes, Rio Grande do Norte, Brasil.

Fatores de Risco	Nº testado	Nº positivo (%)
<b>Ingestão de leite cru</b>		
Sim	0	0(0%)
Não	10	7(70%)
<b>Consumo de carne crua ou mal cozida</b>		
Sim	3	1(33,33%)
Não	7	6(85,71%)
<b>Consumo de vísceras crua ou mal cozida</b>		
Sim	0	0(0%)
Não	10	7(70%)
<b>Lavagem de facas</b>		
Sim	10	7(70%)
Não	0	0(0%)
<b>Consumo de frutas e vegetais lavados</b>		
Sim	10	7(70%)
Não	0	0(0%)
<b>Trabalho com manejo de ovinos</b>		
Sim	7	4(57,14%)
Não	3	3(100%)
<b>Presença de gatos no domicílio</b>		
Sim	3	3(100%)
Não	7	4(57,14%)
<b>Ocorrência de abortos*</b>		
Sim	0	0(0%)
Não	3	3(100%)
<b>Total</b>	<b>10</b>	<b>7(70%)</b>

\* somente para mulheres

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)