

Correlação entre a vulnerabilidade de aquíferos e a prevalência da toxoplasmose humana e animal em Campos dos Goytacazes - região norte do estado do Rio de Janeiro.

**Flávia Pereira Vieira**

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**Campos dos Goytacazes, RJ**

**Fevereiro 2010**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

Correlação entre a vulnerabilidade de aquíferos e a prevalência da toxoplasmose humana e animal em Campos dos Goytacazes - região norte do estado do Rio de Janeiro.

**Flávia Pereira Vieira**

Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Biociências em Biotecnologia.

**Orientadora:** Dr<sup>a</sup>. Lílian Maria Garcia Bahia de Oliveira

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**

**Campos dos Goytacazes, RJ**

**Fevereiro 2010**

Correlação entre a vulnerabilidade de aquíferos e a prevalência da toxoplasmose humana e animal em Campos dos Goytacazes - região norte do estado do Rio de Janeiro.

**Flávia Pereira Vieira**

Dissertação apresentada ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Biociências em Biotecnologia.

Aprovada em 22 de Fevereiro de 2010

Comissão Examinadora:

---

Annelise Maria de Oliveira Wilken de Abreu (Doutor em Biociências e Biotecnologia)

---

Elena Lassounskaia (Doutora em Imunologia) - UENF

---

Milton Masahiko Kanashiro (Doutor em Biociências e Biotecnologia) – UENF

---

Lílian Maria Garcia Bahia de Oliveira (Doutora em Bioquímica e Imunologia) –  
Orientadora - UENF

*Aos meus pais Osiel Arantes Vieira e Dilma Pereira Vieira pelo carinho e incentivo. Por serem a minha força nos momentos de incerteza.*

*À minha orientadora Lillian Maria Garcia Bahia de Oliveira a quem tenho grande admiração e carinho. Obrigada pelos preciosos ensinamentos e, sobretudo por investir na concretização de todo processo com tanta dedicação e sabedoria, mostrando-me com suas atitudes o verdadeiro significado de um orientador.*

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço a Deus por tudo de bom que tem acontecido na minha vida, por ter uma família tão especial que está sempre ao meu lado, e por ter colocado no meu caminho, durante esses anos na UENF, pessoas tão especiais que permanecerão em minhas lembranças para sempre, enfim, por Sua presença constante em minha vida.*

*Os meus sinceros agradecimentos aos meus pais, sempre tão presentes. Obrigada pelos exemplos que me ensinaram a ser responsável e perseverante. Hoje celebro mais esta vitória e a divido com vocês!*

*Agradeço também aos demais da minha família: irmãos, tios, avós e primos, que não se cansavam de perguntar quando eu iria terminar os estudos e quando eu iria ter férias. Obrigada pelo carinho!*

*A minha orientadora Lílian Maria Garcia Bahia de Oliveira por sua atenciosa e dedicada orientação. Essa sua paixão pela ciência e sua dedicação nos motiva a fazer e querer sempre dar o nosso melhor. Muito obrigada.*

*Os meus sinceros agradecimentos aos sujeitos da pesquisa que aceitaram participar deste estudo, abrindo suas casas e nos recebendo tão carinhosamente. Muito obrigada.*

*A toda equipe da ASTRAN, especialmente Ailton, Edwirges, Fernanda, Luís Carlos bem como, todos os motoristas que fizeram saídas de campo comigo. Obrigada por terem entendido as minhas urgências e necessidades e sempre terem feito o possível para me atender. E saibam que parte importante do sucesso na coleta de amostras se deve ao empenho de vocês e eu, sou muito grata a vocês por isso.*

*A professora Maria da Glória do LECIV e seus alunos Aline e Adilson, por ter me recebido tão bem no seu laboratório e por toda ajuda dispensada. Muito obrigada.*

*A todo pessoal do LBR, especialmente aos técnicos, Fernando Lopes, Juliana Azevedo, Jorge Gamboa, Núbia e Cláudia Letícia por toda ajuda dispensada neste trabalho e por sempre estarem dispostos a me ajudar. Muito obrigada por tudo.*

*Agradeço aos amigos do laboratório, Alba, Bianca, Fabrício, Keyssine, Liliani, Lívia, Marcela e Ricardo. Quantas horas tivemos lado a lado, alegrias e tristezas compartilhadas! Obrigada pelo agradável ambiente de trabalho.*

*Um agradecimento especial a Lili e a Marcela por terem sido verdadeiras companheiras nesse trabalho, não importando o quanto pesado eram os litros d'água e nem quão fedido o galinheiro. E especialmente por serem tão presentes na minha vida. Amigas, amo vocês.*

*A Manuella médica veterinária que me ajudou neste trabalho, pelo agradável convívio e pela amizade firmada ao longo deste trabalho. Manu muito obrigada!*

*À Michelle Muzitano Frazão por ter revisado esta dissertação, pela atenção, dicas e sugestões dispensadas na revisão da mesma. Obrigada por tudo.*

*Ao Dr. Renato Damatta pelo apoio e colaboração na reta final deste trabalho, sem a qual seria impossível a conclusão do mesmo. Muito Obrigada!*

*Agradeço ao Prof Milton Kanashiro, Prof<sup>a</sup> Elena e Prof Annelise Wilken que aceitaram compor a banca examinadora desta dissertação. Muito obrigada a vocês que foram de grande importância para o enriquecimento deste trabalho.*

*Enfim, gostaria de agradecer a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.*

## ÍNDICE

RESUMO.....	viii
ABSTRACT.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE TABELAS.....	xi
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>01</b>
1.1. Histórico.....	01
1.2. O protozoário <i>Toxoplasma gondii</i> .....	03
1.3. Ciclo biológico do <i>Toxoplasma gondii</i> .....	05
1.4. Vias de transmissão da toxoplasmose.....	06
1.5. Contaminação ambiental por oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i> .....	08
1.6. Detecção de oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i> em água.....	10
1.7. Prevalência da toxoplasmose em seres humanos.....	11
1.8. Prevalência da toxoplasmose em animais domésticos.....	12
1.9. Grau de vulnerabilidade de aquíferos e a sua relação com a presença oocistos de <i>T. gondii</i> em amostras de água.....	14
<b>2. JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>16</b>
<b>3. OBJETIVO.....</b>	<b>18</b>
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>19</b>
4.1. Área de estudo.....	19
4.2. Seleção da Área de estudo.....	21
4.3. População estudada.....	23
4.4. Coleta de amostras de sangue e determinação do perfil sorológico para toxoplasmose por meio do Kit Vidas.....	23
4.5. Seleção dos animais domésticos.....	24
4.6. Análise Sorológica dos animais domésticos.....	24
4.7. Coleta de amostras de água.....	25

4.8. Filtração por vácuo em Membrana de teflon.....	25
4.9. Experimentação com aves ( <i>Gallus gallus</i> ).....	26
4.10. Sorologia das aves specific pathogen free (SPF) e das galinhas vivendo livremente em peridomicílio.....	27
4.11. Análise de dados.....	28
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>29</b>
5.1. Análise de amostras de água de poços por meio de bioensaio em aves specific pathogen free (SPF).....	29
5.2. Prevalência da toxoplasmose humana na área estudada.....	31
5.3. Prevalência anticorpos anti- <i>T. gondii</i> no soro de galinhas ( <i>Gallus domesticus</i> ) vivendo livremente em peridomicílios por meio dos ensaios de ELISA e MAT.....	32
5.4. Prevalência anticorpos anti- <i>T. gondii</i> no soro de cães através do teste de aglutinação modificado (MAT).....	34
5.5. Prevalência anticorpos anti- <i>T. gondii</i> no soro de gatos vivendo livremente em peridomicílio através do teste de aglutinação modificado (MAT) e a sua relação com a prevalência anti- <i>T. gondii</i> no soro de indivíduos vivendo nas mesmas áreas.....	37
5.6. Prevalência da toxoplasmose humana e animal em função do grau de vulnerabilidade de aquíferos.....	38
<b>6.DISSCUSSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>7.CONCLUSÕES.....</b>	<b>48</b>
<b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>50</b>
<b>9. APÊNDICE</b>	

## RESUMO

A toxoplasmose é uma das zoonoses parasitárias mais comuns no planeta. Cerca de um terço da população humana e animal se encontra parasitada em todo mundo. A ingestão de água contaminada por oocistos de *Toxoplasma gondii* é uma importante via de transmissão da toxoplasmose humana e animal, visto que os oocistos de *T. gondii* podem permanecer viáveis por longos períodos de tempo no meio ambiente. Neste estudo apresentamos uma abordagem inédita de investigação sobre a contaminação ambiental por oocistos do parasita, que relaciona a vulnerabilidade de aquíferos do município de Campos dos Goytacazes com a prevalência da toxoplasmose humana e animal. Para tanto, o município foi dividido em sete áreas de amostragem (A1, A2, A3, A4, A5, A6-a e b e A7a e b, e a partir dessa divisão amostras de água de poços assentados nessas áreas foram analisadas para verificar a presença de oocistos do *T. gondii*, através de bioensaio em aves Specific Pathogen Free (SPF). A prevalência geral da toxoplasmose humana foi de 83,8%. As áreas onde os indivíduos apresentaram maior positividade foram área A4 (alta vulnerabilidade), A7a e A7b (alta vulnerabilidade). As aves SPF que foram alimentadas com as membranas provenientes do processo de filtração da área A6b (moderada vulnerabilidade com piores condições de higiene), A7a e b (alta vulnerabilidade respectivamente subdividida em subáreas com melhor e pior condições de higiene) e A2 (extrema vulnerabilidade) passaram a apresentar sorologia positiva para a toxoplasmose. A prevalência da toxoplasmose em galinhas vivendo livremente em peridomicílios foi estimada em 63,2% pelo Teste de Aglutinação Modificado (MAT). A prevalência da toxoplasmose humana e animal foi maior nas áreas em que os aquíferos apresentavam-se com o grau de alta vulnerabilidade. Esses resultados indicam que a relação entre a vulnerabilidade de aquíferos e a prevalência da toxoplasmose humana e animal parece ser uma boa estratégia para estudo de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* e o seu estudo deve ser ampliado.

**Palavras chaves:** *Toxoplasma gondii*, vulnerabilidade, aquífero, oocisto.

## **ABSTRACT**

Toxoplasmosis is one of the most common parasitic infections in the planet. About one third of the population, including human beings and animals, are known to be infected worldwide. The ingestion of water contaminated with *Toxoplasma gondii* oocysts is an important via of toxoplasmosis transmission for human beings and animals, and the oocysts of this parasite may remain viable for long periods of time in the environment. In this study we present a novel approach to estimate the environmental contamination, by *T. gondii* oocysts, in which it is considered the vulnerability of aquifers (from Campos dos Goytacazes city) in association to the prevalence of toxoplasmosis in human beings and animals. The city was divided in seven areas (A1, A2, A3, A4, A5, A6a, A6b, A7a and A7b). Water samples from wells located on those areas were analyzed in order to verify the presence of *T. gondii* oocysts using bioassay in Specific Pathogen Free (SPF) chickens. The prevalence of human toxoplasmosis was 83,8%. The areas where the individuals presented higher prevalence were: A4 (high vulnerability) and A7a and A7b (high vulnerability). SPF Chickens that were fed with the membranes obtained from filtration of water from the areas A6b (moderate vulnerability with poor sanitation), A7a and b (high vulnerability, respectively subdivided into sub-areas of good and poor sanitation) and A2 (extreme vulnerability) presented positive serum conversion for toxoplasmosis. The prevalence of toxoplasmosis in chickens living freely in peridomestic areas was 63,2% by the Modified Agglutination Test (MAT). The prevalence of toxoplasmosis in human beings and animals were higher in the areas where the aquifers presented high degree of vulnerability. These results indicate that the relation between the vulnerability of aquifers and the prevalence of toxoplasmosis in human beings and animals seems to be a good strategy for the study of environmental contamination by *T. gondii* oocysts and this study should be continued.

**Key words:** *Toxoplasma gondii*, vulnerability, aquifers, oocysts.

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Ciclo completo do <i>Toxoplasma gondii</i> .....	6
<b>Figura 2:</b> Localização do Município de Campos dos Goytacazes.....	19
<b>Figura 3:</b> Vista aérea da cidade de Campos dos Goytacazes.....	20
<b>Figura 4:</b> Poço cacimba localizado no Distrito de Serrinha / Poço tubular localizado no Distrito de Mussurepe.....	21
<b>Figura 5:</b> Mapa de Vulnerabilidade de aquíferos do Município de Campos dos Goytacazes.....	22
<b>Figura 6:</b> Mapa de vulnerabilidade de aquíferos subdividido em áreas de estudo.....	30
<b>Figura 7:</b> Porcentagem de indivíduos com sorologia positiva para toxoplasmose nas 7 áreas de estudo.....	31
<b>Figura 8:</b> Porcentagem de galinhas com sorologia positiva para toxoplasmose no teste de MAT nas 7 áreas de estudo.....	34
<b>Figura 9:</b> Prevalência da toxoplasmose em cães vivendo livremente em peridomicílios nas 7 áreas de estudo.....	36
<b>Figura 10:</b> Prevalência da toxoplasmose em cães vivendo livremente em peridomicílios.....	36
<b>Figura 11:</b> Prevalência da toxoplasmose em gatos vivendo livremente em peridomicílios.....	38
<b>Figura 12:</b> Porcentagem de indivíduos soronegativos para a toxoplasmose de acordo com o grau de vulnerabilidade de aquíferos.....	39
<b>Figura 13:</b> Prevalência da infecção por <i>T. gondii</i> em indivíduos e animais por área de estudo e por grau de vulnerabilidade de aquíferos.....	41
<b>Figura 14:</b> Prevalência da infecção por <i>T. gondii</i> em animais e humanos por grau de vulnerabilidade de aquíferos.....	41
<b>Figura 15:</b> Prevalência da infecção por <i>T. gondii</i> em animais e humanos por grau de vulnerabilidade de aquíferos.....	42

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Valores de absorvância a 405 nm para o teste de ELISA para detecção de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> em soros de galinhas no município de Campos dos Goytacazes.....	32
<b>Tabela 2:</b> Comparação qualitativa dos resultados de ELISA e MAT em soros de galinhas.....	33
<b>Tabela 3:</b> Porcentagem de cães positivos para <i>T. gondii</i> através do teste de aglutinação modificado (MAT).....	35
<b>Tabela 4:</b> Porcentagem de indivíduos e animais positivos por área de estudo e por grau de vulnerabilidade de aquífero.....	40

## 1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma infecção causada pelo parasito *Toxoplasma gondii*, um coccídio intracelular obrigatório, pertencente ao reino Protista, subreino Protozoa, filo Apicomplexa, classe Sporozoea, subclasse Coccidia, ordem Eucoccidiida, subordem Eimeriina, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae, gênero *Toxoplasma* e espécie (única) *gondii* (Alexander e Hunter, 1998).

O *T. gondii* é amplamente distribuído, podendo ser encontrado em grande variedade de hospedeiros vertebrados, nos mais diversos climas em diferentes continentes. Acredita-se, que um terço da população humana mundial apresenta-se infectada por este parasita (Kim Weiss, 2008). A infecção causada pelo *T. gondii* é normalmente benigna e assintomática na maioria dos casos, com menos de 40% dos indivíduos manifestando algum sintoma (Sawadogo *et al.*, 2005). Entretanto, este parasita é capaz de causar infecção congênita disseminada nos fetos em desenvolvimento (Desmonts e Couvreur, 1974), severas complicações neurológicas em indivíduos imunocomprometidos (Luft *et al.*, 1993), e patologias oculares em indivíduos saudáveis (Roberts e McLeod, 1999).

### 1.1. Histórico

O *Toxoplasma gondii* foi descoberto simultaneamente e independentemente em 1908 por Alfonso Splendore, no Brasil, ao observar um parasita sob formas livres e intracelulares, em diversos tecidos de coelho (Splendore, 2009 a e b) e, por Nicolle e Manceaux, no Instituto Pasteur na Tunísia, ao isolarem um parasita de células mononucleares do fígado e do baço de um roedor norte africano, o *Ctenodactylus gundi*. Esses autores, inicialmente chamaram essa espécie de *Leishmania gondii*, por pensarem que o parasita isolado pertencia ao gênero *Leishmania* (Nicolle e Manceaux, 2009). Após análise mais detalhada da morfologia do parasita, Nicolle sugeriu o nome *Toxoplasma* (do grego *toxon* - arco e *plasma* - vida) para o novo gênero e *gondii* devido a um erro de ortografia do hospedeiro original, *Ctenodactylus gundi*. (Nicolle e Manceaux, 2009; Ferguson, 2009).

O primeiro caso de toxoplasmose reconhecido em seres humanos foi descrito em 1923 por Josef Janku na Tchecoslováquia. Ele descreveu a presença de cistos

teciduais de *T. gondii* na retina de uma criança falecida aos 11 meses de idade com hidrocefalia e cegueira, cuja necropsia, em cortes do globo ocular direito, evidenciou presença do parasita na retina (Janku, 1923; Janku, 1959). Pouco depois, em 1927, Torres no Rio de Janeiro descrevia a presença do microrganismo em cortes histológicos de musculatura cardíaca e esquelética, e do cérebro de um recém nascido, falecido com 29 dias de vida, iniciando especulações acerca da possibilidade da ocorrência da doença congênita (Torres, 1927). Mas, o papel deste parasita como um patógeno humano só foi definitivamente elucidado em 1937 com a publicação do estudo conduzido por Wolf e Cowen ao descreverem um caso fatal de encefalite (Wolf e Cowen, 1937). A publicação deste trabalho estimulou novas pesquisas em torno da caracterização da toxoplasmose humana e, após cinco anos Sabin descreveu os aspectos clínicos e parasitológicos da toxoplasmose congênita (Sabin, 1942).

Em 1948, Sabin e Feldman desenvolveram o teste sorológico específico, o Teste do Corante de Sabin e Feldman ou dye test, possibilitando numerosas pesquisas a respeito dos aspectos epidemiológicos e clínicos da toxoplasmose (Sabin e Feldman, 1948). O dye test é considerado o teste padrão ouro para a toxoplasmose. No final dos anos 40 e início dos anos 50 a infecção com *T. gondii* foi relacionada a doenças inflamatórias no olho (Wilder, 1952; Frenkel e Jacobs, 1958). Essa descoberta levou à proposta de que muitos casos de retinocoroidite em adultos era devido à infecção com *T. gondii* (Feldman, 1953).

Apesar da caracterização da doença no homem e nos animais, as principais vias de contaminação por *T. gondii* permaneciam desconhecidas, já que a transmissão congênita ocorria muito raramente para explicar a disseminação da doença. Então em 1954, Weiman e Chandler sugeriram que a transmissão poderia ocorrer por ingestão de carne crua ou mal cozida (Weiman e Chandler, 1954). Entretanto, esta hipótese não era suficientemente abrangente para explicar a infecção e sua transmissão em indivíduos estritamente vegetarianos e animais herbívoros (Jacobs, 1963). Esse fato pôde ser esclarecido quando formas resistentes (oocistos) de *T. gondii* foram encontradas em fezes de gato. Em 1970 o conhecimento do ciclo de vida de *T. gondii* foi elucidado com a descoberta da fase sexual do parasita no epitélio do intestino delgado do gato (Dubey e Frenkel *et al.*,

1970). Esta descoberta foi fundamental para que se pudesse avançar em pesquisas epidemiológicas sobre o modo de transmissão da infecção ao homem.

O reconhecimento do *T. gondii* como um patógeno humano oportunista ficou evidente durante a década de 70, com o aparecimento da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), com a utilização de drogas imunossupressoras por indivíduos transplantados e no tratamento de certas doenças neoplásicas (Cohen, 1970; Ruskin e Remington, 1976).

Nos últimos 40 anos foram produzidos trabalhos cada vez mais detalhados, sobre todos os aspectos da biologia do parasita e sua inter-relação com a célula hospedeira. Houve avanços na compreensão da resposta imune do hospedeiro ao *T. gondii* e na biologia molecular do parasita.

## **1.2. O protozoário *Toxoplasma gondii***

O *Toxoplasma gondii* é um coccídio intracelular obrigatório que infecta, tanto aves, quanto mamíferos invadindo os mais diversos tipos celulares no organismo de seus hospedeiros. Este parasita já foi isolado de vários tecidos vivos e células nucleadas e, em líquidos orgânicos, como sangue, linfa, saliva, leite (colostro), exsudatos, espermatozoides e líquido peritoneal (Neves, 1985; Diniz *et al*, 1991). O parasita é capaz de invadir e se multiplicar até mesmo em eritrócitos imaturos de mamíferos e culturas de células (Kasper e Mineo, 1994) podendo ser facilmente mantido em diversas culturas celulares e em animais de laboratório.

Estruturalmente, o *T. gondii* apresenta um anel polar, conoide, microtúbulos, micronemas, microporo, grânulos densos, róptrias e uma membrana tripla (uma externa contínua e duas internas descontínuas) características próprias que o difere de outros protozoários. Cada uma destas estruturas é formada por proteínas relacionadas com a invasão, formação do vacúolo parasitóforo e manutenção do parasita no interior da célula hospedeira (Dubey, 1993). O *T. gondii* apresenta três formas infectantes reconhecidas:

**1. Taquizoítos** (do grego, *tachos* - rápido) é a forma de proliferação rápida, produzida pelo ciclo assexuado do parasita nos hospedeiros. Estão presentes em grande número nas infecções agudas no interior das células infectadas, sendo responsáveis pela sintomatologia. Apresenta-se em forma de meia lua ou arco, com uma

extremidade afilada e outra arredondada, medindo, aproximadamente, 2 a 4  $\mu\text{m}$  de largura e 2 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento (Sheffield e Melton, 1970). O taquizoíta é a forma menos resistente do parasita, sendo facilmente destruída pelas condições ambientais adversas, pelo suco gástrico, pela desidratação ou variações osmóticas (Dubey *et al.*, 1998).

**2. Bradizoíta** (do grego, *brady* - lento) é a forma de proliferação lenta do *T. gondii*, encontrada nas infecções congênitas e crônicas. Os bradizoítos medem, aproximadamente, 7 a 1,5  $\mu\text{m}$  (Mehlhorn e Frenkel, 1980). Acredita-se que sua formação se dá no curso da resposta imune do hospedeiro ao taquizoíta (Barragan e Sibley, 2003). Os bradizoítos são contidos dentro de cistos teciduais. Esses cistos medem de 10 a 100  $\mu\text{m}$ , podendo chegar a 300  $\mu\text{m}$  com centenas de bradizoítos no seu interior (Dubey *et al.*, 1998). Os cistos apresentam uma membrana dupla, que os tornam resistentes a mudanças de temperatura, permanecendo viáveis por semanas, mesmo quando refrigerados a temperaturas de 1 à 4°C e também sobrevivem ao congelamento a temperaturas de -1 a -8°C por um período de até uma semana (Dubey *et al.*, 1998). Entretanto, os cistos podem ser destruídos após congelamento a -20°C ou aquecimento acima de 65°C (Kotula, 1991).

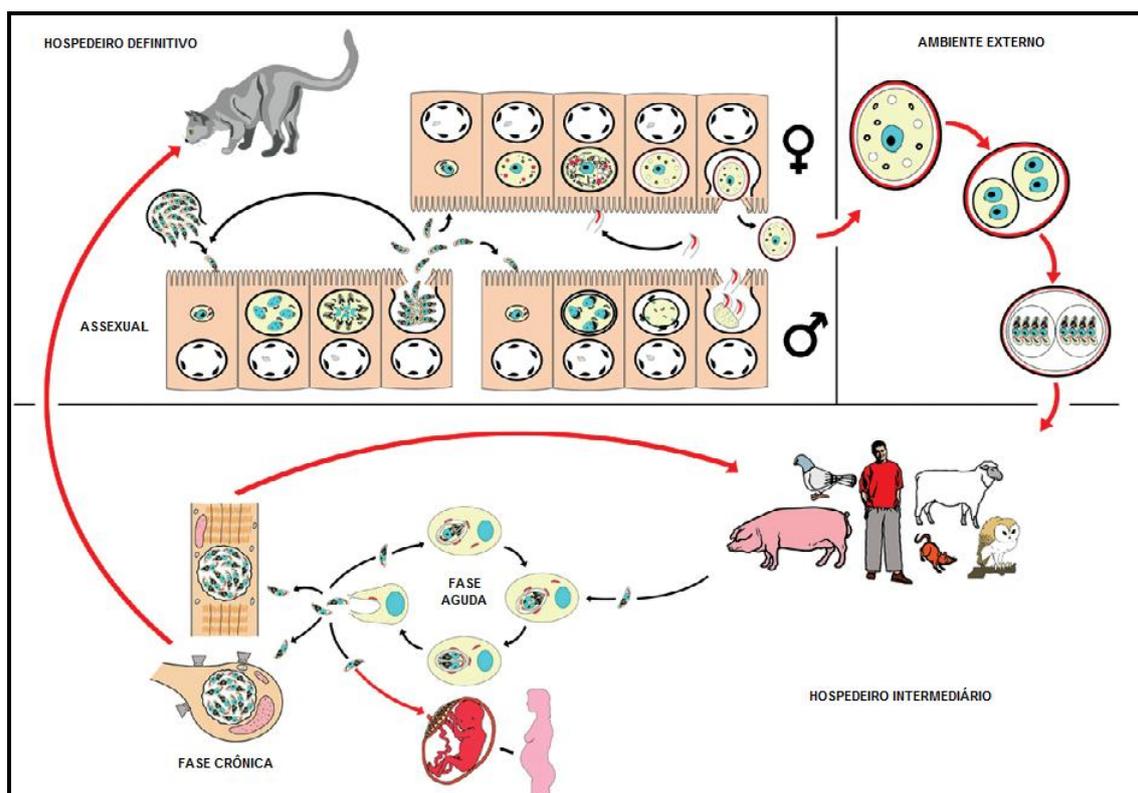
**3. Esporozoíta** (presentes nos oocistos) é a forma mais resistente deste parasita, podendo sobreviver por longos períodos no meio ambiente, atuando como o principal contaminante ambiental (Slifko *et al.*, 2000). Os oocistos não esporulados apresentam-se na forma sub-esférica para esférica e medem 10 a 12  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Os oocistos esporulados apresentam formas entre esféricas e elípticas com diâmetro de 11 a 13  $\mu\text{m}$  (Dubey *et al.*, 1998). Cada oocisto esporulado possui dois esporocistos elipsóides. Os esporocistos medem de 9 a 6  $\mu\text{m}$  de diâmetro. Cada esporocisto possui quatro esporozoíta (Christie *et al.*, 1978; Ferguson *et al.*, 1979), que medem de 6 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento por 2  $\mu\text{m}$  de largura. Os oocistos não esporulados perdem sua capacidade de esporular após congelamento por 24 horas a -21°C ou sete dias a -6°C e também quando aquecidos a 50°C por 10 min (Dubey *et al.*, 1970; Frenkel e Dubey, 1973). Condições de refrigeração de 4°C por 6 a 11 semanas não são suficientes para prevenir o desenvolvimento de oocistos infectivos (Dubey e Jones, 2010).

### 1.3. Ciclo biológico do *Toxoplasma gondii*

O ciclo de vida do *T. gondii* é heteroxeno apresentando como hospedeiros intermediários animais homeotérmicos nos quais apenas a fase de reprodução assexuada se completa e, como hospedeiros definitivos gatos e outros felídeos, onde o parasita completa seu ciclo de vida por meio da reprodução sexuada (Dubey *et al*, 1997).

A fase sexuada se inicia com a ingestão por felídeos, de bradizoítos, taquizoítos ou esporozoítos. Após a ingestão de cistos teciduais por felídeos, a parede do cisto é digerida por enzimas proteolíticas presentes no estômago e no intestino delgado e, os bradizoítos são liberados. Alguns bradizoítos penetram na lâmina própria do intestino e se multiplicam como taquizoítos. Os bradizoítos que permanecem nas células epiteliais do intestino delgado iniciam o desenvolvimento de numerosas gerações de *T. gondii*, dando origem aos merozoítos (Figura 1). Cinco tipos assexuados (A-E) morfologicamente distintos de *T. gondii* se desenvolvem em células intestinais, antes do início do ciclo sexual (Dubey e Frenkel, 1972; Speer e Dubey, 2005).

A fase sexual se inicia dois dias após a ingestão de cistos teciduais por felídeos. A origem dos gamontes (células sexuais) não é conhecida, acredita-se que merozoítos liberados dos esquizontes tipos D e E iniciam a formação dos gametas, com alguns destes merozoítos se diferenciando em gametas femininos (macrogametas) ou masculinos (microgametas). A fusão dos gametas femininos com os gametas masculinos dá origem ao zigoto, que é envolto em uma rígida membrana cística e eliminado como um oocisto não esporulado, junto com as fezes dos felídeos. Estes oocistos liberados não são diretamente infectivos aos animais ou ao homem (Speer *et al.*, 1998). O desenvolvimento da infectividade ocorre entre 1-21 dias sob temperatura adequada (11-25 °C) e condições favoráveis de aerobiose e de umidade (Dubey *et al.*, 1970).



**Figura 1:** Ciclo completo do *Toxoplasma gondii*. Extraído e modificado de Ferguson, 2002.

#### 1.4. Vias de transmissão da toxoplasmose

No curso da sua evolução, o *T. gondii* desenvolveu ampla variedade de vias potenciais de transmissão da infecção para seres humanos e outros hospedeiros intermediários. A maioria das infecções humanas com este parasita é adquirida após o nascimento. A infecção causada pelo *T. gondii* pode ser adquirida basicamente por três vias de importância epidemiológica: por meio da ingestão de cistos teciduais presentes em carnes mal cozidas (Weiman e Chandler, 1954; Tenter, 2009), consumo de alimentos (Kniel *et al.*, 2002) ou água contaminados com oocistos (Benenson *et al.*, 1982; Bowie *et al.*, 1997; De Moura, *et al.*, 2006) e; ou por ingestão ou inalação acidental de oocistos do meio ambiente (Teutsch, *et al.*, 1979); e infecção transplacentária (Desmots e Couvreur, 1974).

Os taquizoítos desempenham papel principal na transmissão vertical ou congênita da toxoplasmose e podem ser encontrados em saliva, lágrima e leite de vários hospedeiros intermediários (Tenter, *et al.*, 2000) e até em ovos de aves experimentalmente infectadas (Jacobs e Melton, 1966). No entanto, a infecção da

toxoplasmose por meio da ingestão de taquizoítos é rara, pois esta forma do parasita é sensível a enzimas proteolíticas e normalmente é destruída por digestão gástrica. Embora rara, a infecção por meio de ingestão de taquizoítos pode ocorrer, especialmente em crianças que são mais suscetíveis à toxoplasmose do que adultos, pois têm uma menor concentração de enzimas proteolíticas no seu trato gastrointestinal (Tenter, 2009). Além disso, taquizoítos podem ocasionalmente, sobreviver por um curto período de tempo (até 2 h) em solução ácida de pepsina (Dubey, 1998). Também foi sugerido que, em raras ocasiões, taquizoítos podem penetrar o tecido da mucosa e assim, obter acesso a circulação sanguínea ou linfática do hospedeiro antes de chegar ao estômago (Riemann *et al.*, 1975; Sacks *et al.* 1982; Johnson, 1997).

A ingestão de cistos teciduais, contidos em carne crua ou mal cozida é uma importante via de transmissão da toxoplasmose. A ruptura dos cistos libera bradizoítos, os quais se transformam rapidamente em taquizoítos que se proliferam exacerbadamente, causando danos teciduais (Ambroise-Thomas e Pelloux, 1993). Os bradizoítos são mais resistentes à digestão enzimática (pepsina e tripsina) no trato-gastrointestinal do que os taquizoítos (Jacobs *et al.*, 1960; Dubey, 1998) e são relativamente resistentes a mudanças de temperatura. Assim, a ingestão de cistos teciduais viáveis por um hospedeiro não-imune ao parasita, normalmente irá resultar em infecção.

A ingestão de oocistos esporulados presentes em água e ou alimentos contaminados, constitui outra via de transmissão importante da toxoplasmose em seres humanos e animais domésticos ou utilizados para consumo humano. Os oocistos esporulados de *T. gondii* são muito resistentes às condições ambientais e a ação dos desinfetantes (Frenkel, 2000). Uma vez liberados no ambiente, os oocistos são difundidos através da água, vento, adubo e por vermes terrestres e artrópodes (Dumètre e Dardé, 2003), contaminando a superfície da água, solo, frutas e vegetais (Dubey e Beattie, 1988; Dubey *et al.*, 1970; Lindsay *et al.*, 2002). A ingestão de oocistos do ambiente consistiu no principal fator de risco à infecção pelo *T. gondii* em Campos dos Goytacazes em estudo realizado entre 1999 e 2001 (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003).

Há ainda outras formas de transmissão menos comum, tais como a infecção por meio de acidentes de laboratório, manipulação de animais infectados ou de

material contaminado, além de transfusão de sangue e transplante de órgãos e tecidos (Oréfica & Bahia-Oliveira, 2005).

### **1.5. Contaminação ambiental por oocistos de *Toxoplasma gondii***

Os oocistos eliminados juntamente com as fezes dos felídeos, especialmente gatos, são disseminados através da água, vento, adubo e por vermes terrestres e artrópodes, contaminando águas e solos (Dumètre e Dardé, 2003). Esses oocistos inicialmente não infectivos (não esporulados) sob condições de temperatura e aerobiose adequadas tornam-se esporulados. Os oocistos esporulados são a forma mais resistente do *Toxoplasma gondii*, tolerando diversas variações ambientais. Eles se mantêm infectivos em água por pelo menos 54 meses a 4°C (Dubey, 1998) e, em solos experimentalmente infectados por 18 meses sob várias temperaturas (Frenkel, *et al.*, 1975). O congelamento pode não ser suficiente para destruir oocistos esporulados, e estes podem sobreviver por 28 dias após congelamento constante a – 21°C (Frenkel e Dubey, 1973). Os oocistos são resistentes também a agentes químicos, como ácido sulfúrico a 2% e dicromato de potássio 2,5% por vários anos a 4°C (Dumètre e Dardé, 2003).

As altas prevalências decorrem principalmente dos efeitos tênues do ambiente sobre os oocistos, os quais ficam bem preservados em ambientes de maior umidade relativa, por exemplo. Assim, a prevalência é maior em áreas tropicais e de menor altitude e menor em locais áridos, em regiões frias e de maior altitude (Tenter *et al.*, 2000). A baixíssima ou quase nula prevalência da toxoplasmose em locais não habitados por felinos demonstra o papel fundamental dos oocistos na epidemiologia da toxoplasmose (Dubey *et al.*, 1997).

A prevalência dos oocistos de *T. gondii* no ambiente é difícil de ser avaliada. Um trabalho recente utilizando microesferas que mimetizam as propriedades, física e química dos oocistos de *T. gondii*, mostrou que a natureza hidrofílica e a carga negativa desses oocistos em água doce permitem que os mesmos, uma vez eliminados no meio ambiente, percolem através do solo, sendo carreados naturalmente pela água da chuva, alcançando assim, os mananciais (Shapiro *et al.*, 2009).

O primeiro relato de surto de toxoplasmose relacionado com a ingestão de água, provavelmente contaminada com oocistos, ocorreu no Panamá em 1979, onde

39 soldados britânicos foram infectados com *T. gondii*. Evidências epidemiológicas indicaram a ingestão de água de um riacho contaminado com oocistos excretados por gatos selvagens como a mais provável causa da transmissão (Benenson *et al.*, 1982).

Em 1995, outro surto ocorreu na Columbia Britânica no Canadá (Vitória), onde 110 casos de toxoplasmose aguda foram identificados. A hipótese mais aceita para explicar o surto foi a da contaminação por oocistos do sistema municipal de abastecimento de água da cidade, que utilizava água não filtrada e clorada (Bowie *et al.*, 1997). Um ano após o relato do surto, extensa investigação na bacia hidrográfica de Vitória identificou a presença de um ciclo endêmico de *T. gondii* envolvendo os animais que habitavam a área. Gatos e pumas foram observados em toda a bacia hidrográfica e, foi possível observar pumas eliminando oocistos o que sugeriu que estes estavam sendo disseminados por toda a bacia (Aramini *et al.*, 1999).

O mais recente surto ocorreu no Brasil (Santa Izabel do Ivaí) em 2001, onde foram confirmados cerca de 300 casos de toxoplasmose aguda. A análise direta de amostras de água provenientes dos reservatórios que abasteciam, a cidade implicada no surto confirmou que este surto de toxoplasmose estava associado com a ingestão de água contaminada ou ingestão de sorvete preparado com água contaminada por oocistos e foi possível demonstrar pela primeira vez no mundo a presença do parasita na água suspeita de ser o veículo de contaminação em um surto (De Moura *et al.*, 2006)

Outro estudo realizado na imediação do município de Campos dos Goytacazes, norte do estado do Rio de Janeiro, estimou a contaminação do solo através da investigação da presença de *T. gondii* em frangos (*Gallus domesticus*), vivendo livremente em peridomicílios na cidade (Seipel, *et al.*, 2003). Este estudo mostrou que 129 das 198 aves, ou seja, 65% das aves testadas por meio do Teste de Aglutinação Modificado (MAT) apresentaram anticorpos anti- *T. gondii*. Este estudo indicou que o nível de contaminação do solo desta região, é de fato, bastante elevado.

## 1.6. Detecção de oocistos de *Toxoplasma gondii* em água

A detecção de protozoários em água requer concentração de grande volume de água para filtração ou centrifugação, isolamento de partículas concentradas por separação imunomagnética (IMS), detecção por microscopia de imunofluorescência, bioensaios e ou técnicas moleculares (Jones e Dubey, 2010). Esses métodos não foram tão bem estabelecidos para *T. gondii* como os descritos para a recuperação e detecção de outros protozoários, como *Cryptosporidium* e *Giardia*, em água.

A detecção de oocistos de *T. gondii* em amostras ambientais (solo, água e alimentos) é tecnicamente difícil, pois não há nenhum método rápido para a detecção dos mesmos em amostras ambientais. A maioria dos estudos, que obtiveram sucesso em isolar oocistos de *T. gondii* em água foi realizada em condições laboratoriais (água contaminada com elevado número de oocistos), que estão longe de serem aquelas encontradas em amostras ambientais (Dumètre e Dardé, 2007; Kourenti *et al.*, 2003; Villena *et al.*, 2004 ).

Os métodos atualmente disponíveis para a detecção de oocistos de *T. gondii* na água incluem a concentração de grandes volumes, filtração em cápsulas, membranas e ou filtros, eluição, purificação em gradientes de densidade ou pela IMS e, finalmente, a detecção por imunofluorescência indireta utilizando anticorpos monoclonais ou em bioensaios em aves e camundongos (Isaac-Renton *et al.*, 1998; Villena *et al.*, 2004; De Moura, *et al.*, 2006; Aubert e Villena, 2009).

A reação de polimerase em cadeia (PCR) é uma técnica que tem se mostrado bastante eficiente e rápida na detecção da presença de oocistos de *T. gondii* em água (Kourenti e Karanis, 2004, 2006; Schwab e McDevitt, 2003; Sroka *et al.*, 2007; Villena *et al.*, 2004), reduzindo de semanas para 1-2 dias o tempo de detecção. No entanto, a alta concentração de inibidores da PCR e baixa concentração de oocistos em amostras ambientais têm impossibilitado o uso da desta técnica. Além disso, a técnica de PCR isoladamente não permite que seja avaliada a infectividade dos oocistos nas amostras investigadas.

O bioensaio em galinhas descrito por Bahia-Oliveira em 2003 é considerado teste de referência para isolamento do *T.gondii*, pois é positivo na presença de parasitas viáveis e pode ser usado para a genotipagem (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003). No entanto, o bioensaio é uma técnica demorada o que impossibilita seu uso em grande escala e, esforços continuados são necessários para desenvolver testes

rápidos capazes de diferenciar entre oocistos viáveis e não viáveis presentes em amostras ambientais.

### **1.7. Prevalência da toxoplasmose em seres humanos**

A prevalência da toxoplasmose varia grandemente de uma região para outra, de país para país e até mesmo dentro de um mesmo país (Tenter *et al.*, 2000). Estas diferenças na prevalência da toxoplasmose decorrem principalmente, da localização geográfica, das condições ambientais, dos hábitos culturais (especialmente em relação à alimentação), do grau de desenvolvimento do país e infra-estrutura hídrica e sanitária (Remington *et al.*, 1995).

No mundo, estima-se que meio milhão de pessoas tenha anticorpos anti-*T. gondii* (Tenter, *et al.*, 2000). Estudos epidemiológicos demonstram que a infecção pelo *T. gondii* está amplamente difundida nos seres humanos, nas diversas regiões do mundo. Nos Estados Unidos e no Reino Unido a prevalência da infecção varia de 16 a 40%. Já na América Latina esta prevalência varia de 50% a 80% (Hill e Dubey, 2002). No Brasil, cerca de 60% da população adulta apresenta-se infectada por este parasita (Guimarães *et al.*, 1993). Em algumas áreas, a prevalência da infecção varia de 50% a 80% na população; sendo que os valores mais elevados são encontrados em algumas áreas do norte e estados do sul do país (Oréfice e Bonfioli, 2000). Em estudo realizado em uma microregião do estado do Mato Grosso, 97,4% dos indivíduos analisados apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose (Santos *et al.*, 2009). Em levantamento epidemiológico realizado para toxoplasmose em Campos dos Goytacazes, a prevalência variou entre grupos de baixo, médio-baixo e médio-alto poder aquisitivo em 83%, 62% e 23%, respectivamente (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003). Estudos mostram que a prevalência da infecção humana por toxoplasmose no Brasil varia grandemente e, em cada região esta prevalência está relacionada a distintos fatores de risco. No Brasil, os fatores que pré-dispõem para a infecção com o *T. gondii* não são completamente conhecidos, e relativamente pouco se conhece sobre a epidemiologia da toxoplasmose (Heukelbach *et al.*, 2007).

## 1.8. Prevalência da toxoplasmose em animais domésticos

Estudos sorológicos evidenciam alta taxa de infecção pelo *T. gondii* em animais utilizados para consumo humano e ou animais domésticos. Essa alta prevalência da toxoplasmose animal é importante não só pelo que representa em perdas reprodutivas e econômicas, mas também por sua implicação e importância em saúde pública, visto que a ingestão de cistos teciduais presentes em carnes, constitui uma importante via de transmissão da toxoplasmose humana (Tenter, 2009).

A proporção da população humana que adquire infecção pela ingestão de oocistos no ambiente ou por ingestão de carne contaminada não é conhecida e não há testes atualmente disponíveis, que possam determinar a fonte de infecção. No entanto, dados epidemiológicos sugerem que a ingestão de carne mal cozida, principalmente carne de porco, contendo *T. gondii* é uma importante fonte de infecção para os seres humanos nos Estados Unidos (Dubey e Jones, 2008; Dubey, 2009). No Brasil, vários trabalhos têm demonstrado que a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em porcos varia grandemente de área para área, com prevalências que variam de 1,3% a 90,4% (Cavalcante *et al.*, 2006; Guimarães *et al.*, 1992; Azevedo *et al.*, 2009; De Moura *et al.*, 2007; Garcia *et al.*, 1999; Grünspan *et al.*, 1995; Suare'z-Aranda *et al.*, 2000; Dos Santos *et al.*, 2005; Caporali *et al.*, 2005).

Animais que vivem livres como gatos, cachorros e frangos podem ser considerados bons indicadores de contaminação por toxoplasmose em áreas urbanas densamente povoadas, já que eles são expostos sem qualquer proteção a todas as formas infectivas do parasita. A determinação da prevalência da infecção por *T. gondii* em frangos é muito importante, visto que esta prevalência está diretamente relacionada com o nível de contaminação ambiental do local, uma vez que frangos são considerados excelentes indicadores de contaminação do solo por oocistos de *T. gondii*, devido a seus hábitos alimentares. Além disso, a ingestão de carne de frango infectado pode ser uma fonte de infecção por *T. gondii* em humanos e outros animais. No Brasil, a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em frangos é alta, variando de 38,0% a 65,1% (Dubey *et al.*, 2006; Dubey *et al.*, 2007; Dubey *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2003; Dubey *et al.*, 2002; De Oliveira *et al.*, 2009; Da Silva *et al.*, 2008).

Os cães desempenham papel secundário na transmissão do *T. gondii* no Brasil, uma vez que não é uma fonte convencional de alimento para o homem. No entanto, há relatos de risco de contaminação humana através do contato direto com cães (Lindsay *et al.*, 1997). A prevalência elevada da toxoplasmose em cães pode demonstrar um ambiente altamente contaminado, visto que a infecção é facilitada pelos seus hábitos alimentares e estreito contato com o solo. Pouco se conhece sobre a prevalência da toxoplasmose canina no Brasil. Em estudo realizado em uma microregião do Mato Grosso mostrou que a prevalência da toxoplasmose canina é alta na região, com prevalência em torno de 85% (Santos *et al.*, 2009). Em outro estudo realizado em Minas Gerais a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* foi de 40,9% (Brandão *et al.*, 2006). Um inquérito sorológico realizado em duas cidades de Santa Catarina mostrou que a prevalência da toxoplasmose canina é menor que a encontrada em Minas Gerais e Goiás com prevalências entre 18,5 e 26%. É importante considerar, o fato de que diferentes testes sorológicos empregados nos diversos estudos citados podem ter influência sobre a grande variação da prevalência observada.

Os gatos têm importante papel na transmissão da toxoplasmose e no ciclo de vida do *T. gondii*, pois são responsáveis pela disseminação dos oocistos no meio ambiente. Dados epidemiológicos indicam que em um dado momento qualquer, aproximadamente 1% dos gatos são susceptíveis a eliminarem oocistos em suas fezes (Dubey e Beattie, 1988). Em estudo realizado em São Paulo, Brasil, foi possível encontrar 3 gatos eliminando oocistos em suas fezes dos 237 gatos analisados (Pena *et al.*, 2006). Estudos epidemiológicos indicam que a maioria dos gatos se torna infectados após a ingestão de tecidos de pássaros infectados com *T. gondii* (Dubey e Beattie, 1988). A soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em gatos é uma boa estimativa da contaminação ambiental com oocistos. Com base em alguns trabalhos publicados é possível afirmar que a prevalência da toxoplasmose em gatos no Brasil é bem variável. Um trabalho publicado em 2006 mostrou que 87,3 % dos gatos analisados em uma comunidade rural do oeste da Amazônia apresentavam anticorpos anti-*T. gondii* (Cavalcante *et al.*, 2006). Resultado semelhante (84,4%) foi encontrado no Paraná (Dubey *et al.*, 2004). Já um trabalho realizado em São Paulo, mostrou que 24% dos gatos apresentavam sorologia positiva para toxoplasmose (da Silva *et al.*, 2002). Da mesma maneira, diferentes

testes sorológicos foram empregados nesses estudos e podem ter influenciado a grande variação da prevalência observada.

### **1.9. Grau de vulnerabilidade de aquíferos e a sua relação com a presença de oocistos de *T. gondii* em amostras de água**

Aquífero é toda formação geológica em que a água pode ser armazenada e que possua permeabilidade suficiente para permitir que esta se movimente. Para se constituir em aquífero, uma rocha ou sedimento tem que ter porosidade suficiente para armazenar água, e que os poros ou espaços vazios têm que ter dimensões suficientes para permitir que a água possa passar de um lugar a outro, sob a ação de um diferencial de pressão hidrostática (Hirata, 2000).

O município de Campos dos Goytacazes é caracterizado por duas categorias de aquíferos: o aquífero fraturado e o poroso. Os aquíferos fraturados dispõem-se o armazenamento e a circulação da água subterrânea relacionados às fraturas abertas que se intercomunicam. E já os aquíferos porosos a água dispõe-se através dos poros intergranulares (SEMADS/GTZ, 2001).

O termo vulnerabilidade de aquíferos foi inicialmente utilizado por Le Grand (Le Grand, 1964), nos EUA, e Albinet e Margat, na França, (Albinet e Margat, 1970) e, mais amplamente na década de 80 por vários outros autores (Aller *et al.*, 1985; Bachmat e Collin, 1987; Foster, 1987; Foster e Hirata, 1988). Em função das condições hidrogeológicas descreve-se o grau de vulnerabilidade e, através de mapas informam-se os perigos de contaminação de água subterrânea (Hirata, 2000). De acordo com as conclusões e recomendações da Conferência Internacional sobre Vulnerabilidade dos solos e Águas Subterrâneas aos Poluentes, realizada nos Países Baixos em 1987, o termo vulnerabilidade foi definido como “(...) a sensibilidade da qualidade das águas subterrâneas a uma carga poluente, função apenas das características intrínsecas do aquífero”.

Existem diversos métodos de categorização de vulnerabilidade, e estes se baseiam na caracterização de diferentes parâmetros. Dentre as metodologias de caracterização de vulnerabilidade destaca-se a metodologia DRASTIC que foi utilizada na confecção do mapa de vulnerabilidade usado neste estudo. O método DRASTIC (Aller *et al.*, 1985) corresponde à soma ponderada de valores atribuídos aos seguintes parâmetros ou indicadores hidrogeológicos: (1) D - Profundidade do

Topo do Aquífero; (2) R - Recarga do Aquífero; (3) A - Material do Aquífero; (4) S - Tipo de Solo; (5) T – Topografia; (6) I - Influência da Zona não saturada; (7) C - Condutividade Hidráulica do Aquífero. A cada parâmetro é atribuído um índice (entre 1 e 10), que depois é multiplicado por um peso (entre 1 e 5). O índice final obtém-se somando o resultado dos produtos de cada índice pelo respectivo peso. O índice final varia entre 23 e 230. Quanto mais elevado o índice, maior é a vulnerabilidade.

O estudo de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* associado ao grau de vulnerabilidade de aquíferos pode ser uma estratégia interessante na detecção dos mesmos em amostras de águas. Especula-se, que a probabilidade de se isolar o parasita seja maior em áreas de maior grau de vulnerabilidade, pois estas são as áreas onde os aquíferos estão mais expostos à contaminação.

## 2. JUSTIFICATIVA

A água é considerada importante veículo na transmissão da toxoplasmose humana e animal, visto que oocistos de *T. gondii* podem persistir por longos períodos de tempo no ambiente (Dubey, 1998) e são altamente resistentes a vários procedimentos de inativação (Dubey *et al.*, 1970; 1998).

Estudos prévios demonstram que a endemicidade da toxoplasmose em Campos dos Goytacazes é alta atingindo 57,2% de uma amostragem populacional de 1436 indivíduos, e na população de baixo poder aquisitivo o nível de prevalência desta infecção atinge 84,8% (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003). Outros estudos mostram que o ambiente desta região, principalmente solo (Seipel *et al.*, 2003) e água (Nascimento, 2004), contém oocistos do parasita em níveis significativos. Em levantamento epidemiológico realizado para toxoplasmose em Campos dos Goytacazes, a ingestão de água consistiu no principal fator de risco associado à baixa condição sócio-econômica. A ingestão de água de poço e de água não filtrada se constituiu em fator de risco para as populações de maior prevalência, sendo que 100% dos indivíduos que relataram ingerir água de rios, lagos e lagoas apresentaram-se como soropositivos para a toxoplasmose (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003). Em estudo realizado nas imediações do município de Campos dos Goytacazes, foi possível estimar a contaminação do solo através da investigação da presença de *T. gondii* em frangos (*Gallus domesticus*), vivendo livremente em peridomicílios na cidade (Seipel *et al.*, 2003). Este estudo mostrou que 65% das aves testadas por meio do Teste de Aglutinação Modificado (MAT) apresentaram anticorpos anti- *T. gondii* (Dubey *et al.*, 2003).

Esses estudos sobre a contaminação ambiental e alta endemicidade da toxoplasmose humana em Campos dos Goytacazes abriram novas perspectivas sobre o impacto da contaminação ambiental na transmissão hídrica da toxoplasmose para seres humanos. Este fato levou-nos a investigar a prevalência da toxoplasmose em Campos dos Goytacazes considerando a vulnerabilidade do aquífero na região, uma abordagem inédita na literatura. A determinação dos índices de vulnerabilidade fornece subsídios para o reconhecimento de áreas mais sensíveis à contaminação, e conseqüentemente a sua prevenção, possibilitando a manutenção da qualidade dessas águas subterrâneas para gerações atuais e

futuras. Utilizando-se mapas de vulnerabilidade pode-se delimitar quais áreas devem ser focadas de maneira mais intensiva em um estudo de monitoramento, podendo também definir quais áreas devem ser protegidas para garantir a integridade do aquífero em termos de contaminação.

### **3. OBJETIVO GERAL**

Relacionar a prevalência da infecção pelo *T. gondii* em seres humanos e animais com a vulnerabilidade de aquíferos em Campos dos Goytacazes, região norte do estado do Rio de Janeiro.

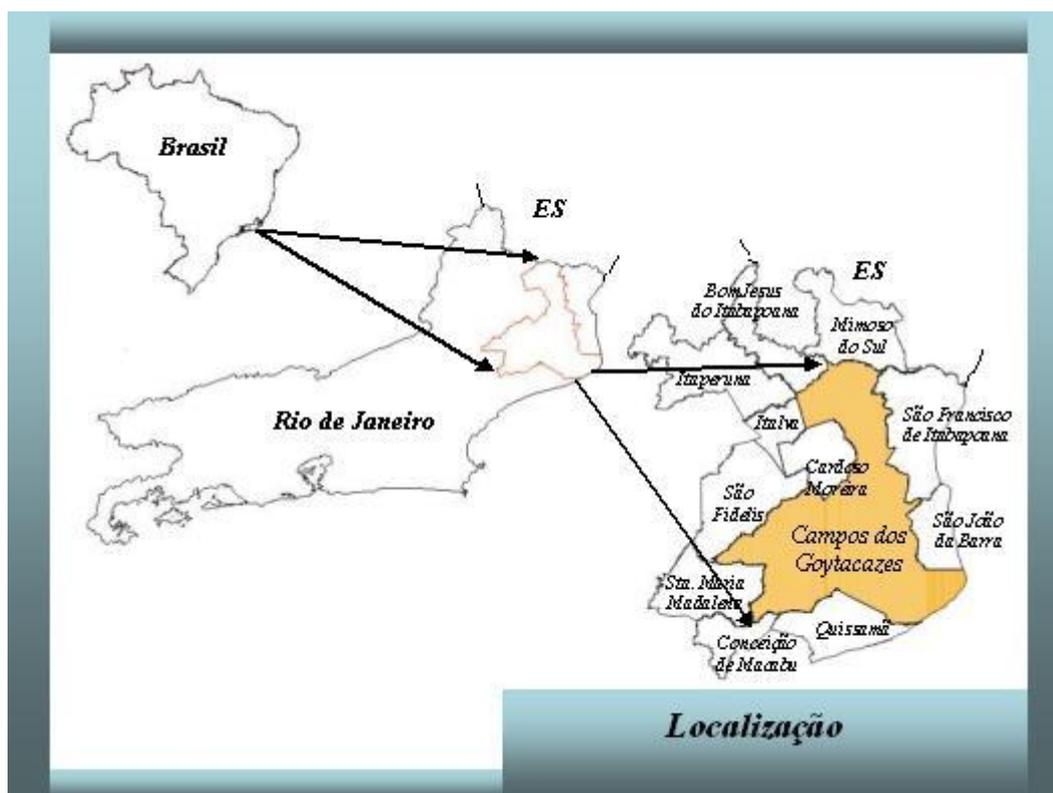
#### **3.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- I. Dividir o mapa de vulnerabilidades de aquíferos em áreas apropriadas para o estudo;
- II. Investigar a presença do parasita *T. gondii* em amostras de águas para uso e consumo humano e animal nas áreas de estudo, por meio de bioensaio em aves;
- III. Estimar a prevalência da toxoplasmose humana, por ELISA e, a prevalência animal por Teste de Aglutinação Modificada (MAT) e relacionar esta prevalência com a presença ou ausência do *T. gondii* em amostras de água;
- IV. Relacionar a presença ou ausência do *T. gondii* em amostras de água com a vulnerabilidade dos aquíferos da região.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1. Área de Estudo

O estudo foi realizado no município de Campos dos Goytacazes, localizado a 21°45'15"N e 41°19'28"W, na região norte do estado do Rio de Janeiro, à aproximadamente 287 km da capital. A cidade tem clima quente e úmido com temperatura média anual de 22,7 °C e altitude de 13 metros. Campos dos Goytacazes é o maior município do interior do Estado, com uma área de 4.032 Km<sup>2</sup> e uma população de 434.008 habitantes (IBGE, 2009). O município compreende 14 distritos: Campos de Goytacazes, Dolores de Macabu, Ibitioca, Morangaba, Morro do Coco, Mussurepe, Santa Maria, Santo Amaro de Campos, Santo Eduardo, São Sebastião de Campos, Serrinha, Tocos, Travessão e Vila Nova de Campos.



**Figura 2:** Localização do Município de Campos dos Goytacazes



**Figura 3:** Vista aérea da cidade de Campos dos Goytacazes

A maior parte do abastecimento de água de Campos dos Goytacazes é realizada por captação no Rio Paraíba do Sul. Os distritos que não são abastecidos pelas águas provenientes do Rio Paraíba do Sul recebem água captada através de poços profundos pela Empresa Águas do Paraíba, e ainda, na área de estudo existe um grande consumo de água por poços particulares, sendo rasos e do tipo cacimba, onde em certos locais são utilizados como única fonte disponível de abastecimento. Estes poços, do tipo cacimba, que as pessoas perfuram maciçamente na cidade de Campos dos Goytacazes, são vulneráveis a diversos tipos de poluição e/ou contaminação, como: por fossas sépticas, por tubulações de esgoto com fissuras, por disposição inadequada de resíduos sólidos e por contaminação biológica



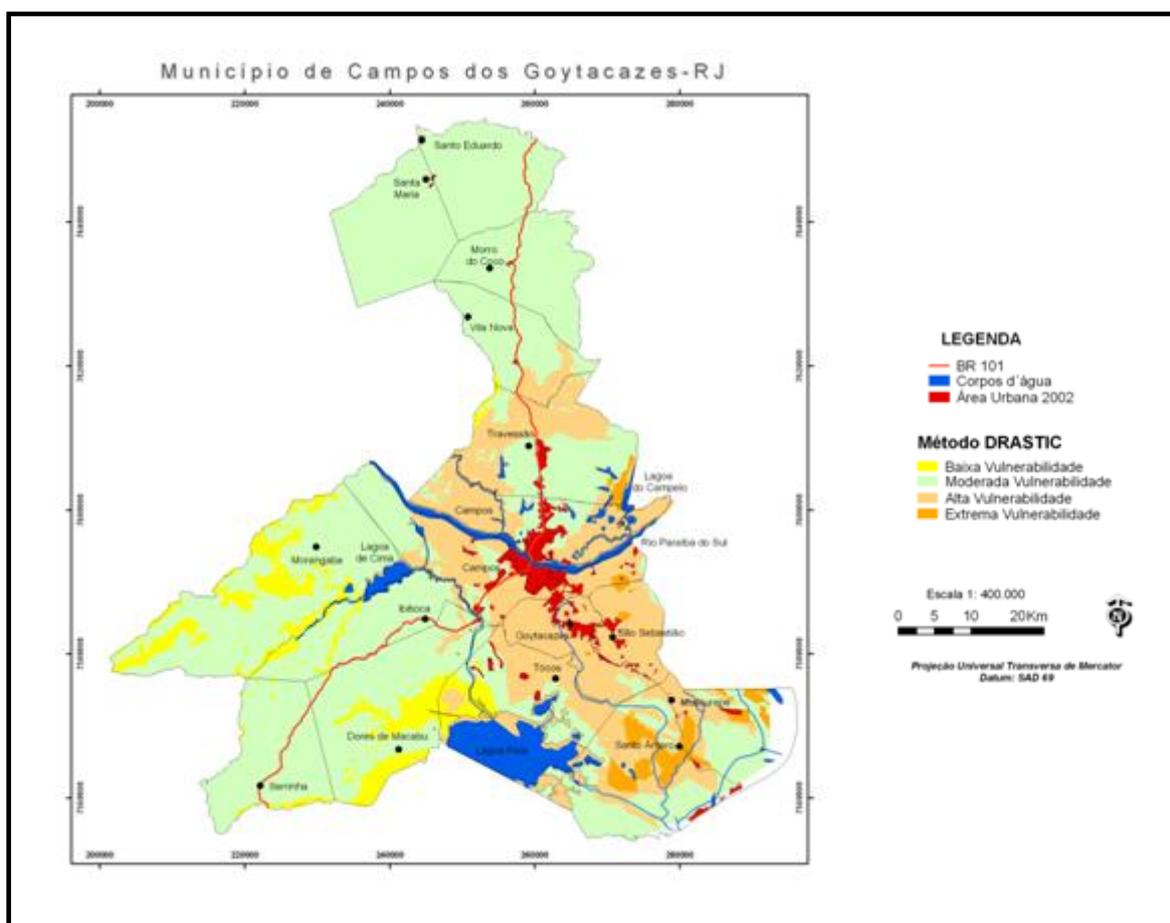
**Figura 4:** Poço cacimba localizado no Distrito de Serrinha (à esquerda)  
Poço tubular localizado no Distrito de Mussurepe (à direita)

#### **4.2. Seleção da Área de estudo**

O mapa de vulnerabilidade de aquíferos utilizado neste estudo foi confeccionado pela Dr<sup>a</sup>. Maria da Glória Alves do Laboratório de Engenharia Civil (LECIV) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) anteriormente ao início deste trabalho. Segundo este mapa, a cidade de Campos dos Goytacazes exibe as quatro categorias de aquíferos, isto é, aquíferos de baixa vulnerabilidade, moderada vulnerabilidade, alta vulnerabilidade e extrema vulnerabilidade. Para este estudo o mapa foi dividido em sete áreas de interesse: área denominada 1 (A1) assentada em uma área de moderada vulnerabilidade que compreende as localidades de: Santo Eduardo, Santa Maria Madalena, Morro do Coco, Vila Nova, Murundu, Conselheiro Josino e Guandu; área denominada 2 (A2) assentada em uma área de extrema vulnerabilidade e compreende as localidades de Mundeus e Zumbi; área denominada 3 (A3) assentada em uma área de moderada vulnerabilidade e compreende a localidade de Travessão. As áreas 4 e 5 (A4 e A5) áreas de alta vulnerabilidade e representa a área central da cidade, sendo a área 4 representada pela margem direita do Rio Paraíba do Sul (Guarus) e 5 pela margem esquerda (Centro); área 6 (A6) com aquíferos de moderada vulnerabilidade e, compreende as localidades de Ibitioca, Caxeta, Lagoa de Cima, Serrinha e Rio Preto; e a área 7 (A7) que tem aquíferos de baixa, moderada e extrema vulnerabilidade e, compreende as localidades de Farol, Baixa Grande, Santo Amaro, Mussurepe e Poço Gordo.

A partir deste mapa de vulnerabilidade de aquíferos as coletas de amostras de água e sangue humano e animal foram realizadas (Figura 5). As áreas urbanas e

rurais do município analisadas neste estudo estão assentadas em aquíferos que variam de acordo com esta categorização. Essa classificação direcionou a coleta de amostras de água e sangue humano e animal, para análise do perfil sorológico para a toxoplasmose. Todas as casas foram georeferenciadas utilizando o Sistema de Posicionamento Global (GPS). É importante destacar que o GPS utilizado tem uma imprecisão aproximada de 15 metros de distância entre dois pontos demarcados, podendo comprometer a visualização de domicílios justapostos no mapa. Os dados referentes a cada ponto são particulares e intransferíveis.



**Figura 5:** Mapa de Vulnerabilidade de aquíferos do Município de Campos dos Goytacazes (Laboratório de Engenharia Civil - UENF).

### **4.3. População Estudada**

Foram convidados a participar deste estudo, indivíduos residentes nos 14 distritos do município de Campos dos Goytacazes. As amostras de sangue humano para determinação do perfil sorológico foram coletadas de cada uma das setes áreas de interesse. Após a seleção dos locais de coleta, foram realizadas visitas as residências dos indivíduos. As visitas foram realizadas como intuito de explicar sobre o projeto e obter autorização por escrito dos sujeitos da pesquisa, por consentimento livre e esclarecido. Após a explanação do projeto, os indivíduos que aceitaram participar do estudo realizaram coleta de sangue e responderam ao questionário de fatores de risco para a toxoplasmose (em anexo). O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – (TCLE) foi assinado por todos os participantes (em anexo). Quanto às crianças, os pais ou responsáveis assinaram o termo concordando com a participação das mesmas. Todos foram esclarecidos quanto ao objetivo do estudo e a garantia ao anonimato, sendo respeitado o direito da não participação no trabalho e de recusa em participar sem que houvesse ônus para o mesmo. Este projeto foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Oswaldo Cruz, Parecer 013/2007. A partir das visitas e da análise das questões 108-114 do questionário de fator de risco para a toxoplasmose as áreas A6 e A7 foram subdivididas em: A6a (moderada vulnerabilidade com melhor condição de higiene) 6b (moderada vulnerabilidade com pior condição de higiene), A7a (alta vulnerabilidade com melhor condição de higiene) e A7b (alta vulnerabilidade com pior condição de higiene).

### **4.4. Coleta de amostras de sangue e determinação do perfil sorológico para toxoplasmose por meio do Kit Vidas**

Foram coletados dos indivíduos participantes deste estudo, 10 mililitros de sangue venoso em tubos identificados. Em seguida, os tubos foram levados ao Laboratório de Biologia do Reconhecer da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, onde foram centrifugados por 15 minutos a 453g a 23°C (centrífuga Sorvall RT7). Após a centrifugação, o soro foi aliquoteado em tubos de 1ml e armazenado em freezer (-20°C) para posterior análise do perfil sorológico destes indivíduos para toxoplasmose.

A análise do perfil sorológico foi realizada por meio do Kit Vidas Bimèriux, segundo recomendação do fabricante.

#### **4.5. Seleção dos animais domésticos**

Para dimensionar a prevalência da toxoplasmose animal no município de Campos dos Goytacazes foram analisadas amostras de sangue de animais domésticos que convivem com os indivíduos participantes deste estudo. Os animais incluídos neste estudo foram àqueles encontrados no peridomicílio, tais como cachorro (n=45), galinhas (n=38), gatos (n=5), porcos (n=4), patos (n=3), cavalo (n=1) e ganso (n=1).

Os animais foram submetidos à coleta de sangue venoso com auxílio de seringas e agulhas descartáveis. E, em seguida transferido para tubos de ensaio previamente identificados.

#### **4.6. Análise Sorológica dos animais domésticos**

Após coagulação sanguínea e centrifugação deste material a 700rpm por 10 minutos os soros foram recolhidos com auxílio de pipeta Pasteur, aliquotados, identificados e armazenados a -20°C para posterior utilização. A análise sorológica destes animais foi feita por meio do Teste de Aglutinação Modificado, (MAT).

O teste de aglutinação utilizado neste trabalho foi modificado por Desmonts e Remington, em 1980. A modificação constituiu na adição de 2-mercaptoetanol ao tampão de diluição de antígeno – ADB, com o objetivo de aumentar a sensibilidade e especificidade do teste, por eliminação de reações do parasita com IgM não específicas para *T. gondii*.

Os soros foram previamente diluídos em tampão de diluição (PBS pH 7,2 filtrado no momento do uso em filtros de 0,22 µm) obtendo-se de cada amostra um volume total de 200 µl. Os taquizoítos de *T. gondii* foram diluídos em tampão de diluição de antígenos (Antigen Dilution Buffer – ADB – NaCl 0,1 M, Ácido Bórico 0,05 M, Azida Sódica 0,2%). Em seguida, foi adicionado 24 mM de NaOH ao ADB. Esta solução estoque pode ser armazenada à temperatura ambiente, porém a solução de uso constitui-se de ADB acrescida de BSA 0,4% e deve ser preparada no momento do uso. Após preparar as soluções, misturou-se 0,15 ml de taquizoítos fixados em 10% de Aldeído Fórmico, Fosfato Monossódico 0.03 M, Fosfato Dissódico 0.03 M

com 2,5 ml do tampão ADB, 35 µl de 2-mercaptaetanol, 50 µl de solução corante Azul de Evans (2 mg/ml de água destilada). E, adicionou-se 25 µl desta mistura contendo taquizoítos em cada um dos 96 poços da placa de ELISA e 25 µl das amostras de soro previamente diluídas que foram gentilmente misturadas, evitando-se a formação de bolhas.

A incubação foi feita à 37°C em estufa de CO<sub>2</sub> por um período de 18 a 24 horas. Em seguida, foi realizada a leitura do resultado, por meio da observação do fundo das placas. Os anticorpos anti *T. gondii* presentes nas amostras positivas ligam-se ao antígeno através de uma reação de aglutinação, formando uma rede que impede a precipitação dos taquizoítos e os poços apresentam-se azuis, porém límpidos. Nas amostras negativas, como não há reação de aglutinação, os taquizoítos sedimentam-se formando um precipitado azul no fundo do poço.

#### **4.7. Coleta de amostras de água**

Foram coletadas amostras de água de poços para posterior análise em laboratório de cada uma das setes áreas de interesse (A1, A2, A3, A4, A5, A6a e A6b e A7a e A7b). Para este estudo foram coletados aproximadamente 250 litros de água de cada uma das sete áreas. De cada área foram coletadas amostras de água de seis poços aproximadamente, sendo coletados em torno de 40 litros de água de cada poço. Em seguida, a água coletada foi armazenada em bombonas de plástico até o momento da filtração.

#### **4.8. Filtração por vácuo em Membrana de teflon**

O material coletado foi armazenado em bombonas de 20 litros, por aproximadamente sete dias, tempo necessário para a filtração. Membranas de teflon: PTFE (politetrafluoretileno, poro 3 µm, Milipore®) foram utilizadas como filtros. A membrana é hidrofóbica e para torná-la hidrofílica é necessário umidecê-la em metanol (Álcool Metílico P. A. CH<sub>3</sub>OH – VETEC), e em seguida lavar em água destilada para retirar o metanol. Posteriormente a membrana com 14 cm de diâmetro era colocada em um funil de Buckner acoplado a um Kitasato que se encontrava ligado a uma bomba de vácuo através de uma mangueira de látex. A água coletada

de cada uma das sete áreas foi filtrada juntamente, ou seja, a água coletada de todos os poços de uma determinada área foi filtrada juntamente.

#### **4.9. Experimentação com aves (*Gallus gallus*)**

Aves da espécie *Gallus gallus*, fêmeas specific pathogen free (SPF), pesando em média 1,5 Kg, provenientes do Laboratório, Biovet foram mantidas em local fechado e sob refrigeração branda, isolado de insetos e outros animais, dentro de gaiolas separadas umas das outras, na Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Essas aves receberam ração autoclavada e água filtrada e fervida *ad libidum*.

Quando chegaram à universidade, uma alíquota de sangue de todas as aves foi coletada, para investigação sorológica específica para o *Toxoplasma gondii*. O soro obtido após coagulação foi analisado quanto à sorologia para a toxoplasmose pelos testes de ELISA e MAT. Amostras de sangue foram coletadas da veia principal da asa, com auxílio de agulhas de insulina (13 x 0,45 G) e seringas descartáveis de 3 ml. Cada ave recebeu uma anilha de identificação, que foi presa a um de seus pés, a fim de que todas pudessem ser identificadas por meio de um código individual.

Para os bioensaios em aves, membranas de teflon-PTFE (politetrafluoretileno) que foram utilizadas para filtrar amostras de água provenientes de poços, sob a suspeita de contaminação por oocistos de *Toxoplasma gondii* foram administradas via oral em aves SPF. Para este estudo 10 aves foram utilizadas. Após a filtração, todas as membranas utilizadas para filtrar todas as amostras de água de uma região foram cortadas em pequenas tiras, de aproximadamente 1 cm, enroladas em miolo de pão umedecido e administrada via oral a uma destas aves. No total 9 aves foram inoculadas com as membranas e 1 ave não foi inoculada com as membranas recebendo apenas água (filtrada e fervida) e ração autoclavada. Este ave foi utilizada como controle negativo neste experimento. Após a alimentação com as membranas, as aves foram observadas diariamente para avaliação de seu estado e eminência desenvolvimento da infecção. Vinte dias após a ingestão das membranas, o sangue destas aves foi coletado e o soro obtido foi investigado quanto à presença de anticorpos específicos para *T. gondii* por meio de ELISA e MAT.

#### **4.10. Sorologia das aves specific pathogen free (SPF) e das galinhas vivendo livremente em peridomicílio**

A sorologia das aves SPF utilizadas nos experimentos para infecção com *T. gondii* foi realizada também por meio de ELISA convencional. Esta técnica se constitui na sensibilização de placas de ELISA com antígeno de *T. gondii* (taquizoítos de *T. gondii* da cepa RH) na concentração de 5 µg/ml diluído em tampão de carbonato-bicarbonato (0,1 M) pH 9,5. A placa foi sensibilizada com este preparado antigênico, no volume de 100 µl/poço, e incubada durante 18-20 horas a 4°C (geladeira). Terminado este período, as placas foram lavadas três vezes com solução de lavagem [PBS/Tween 20 0,05% (PBS-T)] e secas por inversão em papel toalha absorvente. Posteriormente, 100 µl/poço da solução de bloqueio (PBS-T BSA1%) foram adicionados e incubados por 2 h a 37°C (estufa). Posteriormente as placas foram novamente lavadas com a solução de lavagem por três vezes e secas por inversão em papel toalha. Em seguida, os soros dos animais experimentais, previamente diluídos (1:100) em solução diluente (PBS-T BSA 0,5%), foram adicionados no volume de 100 µl/poço e incubados por 1 hora a 37°C (estufa). Após este período, as placas foram lavadas novamente, como descrito anteriormente. Uma solução do anticorpo conjugado a peroxidase específico para anticorpos de galinha conforme especificação do fabricante (1:2000) em solução diluente (PBS-T BSA 0,5%) foi adicionada, na proporção de 100 µl/poço, e incubadas novamente durante 60 minutos a 37°C.

Terminado o tempo de incubação, as placas foram lavadas, secas e reveladas através da adição de 100 µl da solução substrato {Ácido Cítrico 2,1%, Fosfato de Sódio desidratado 2,84%, ABTS [2,2-azino-bis (3-ethylbenz-thiazoline-G-sulfonic acid)] 1 mg/ml e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 0,003%} que deve reagir com a peroxidase resultando numa solução de coloração verde, onde a reação for positiva. A reação foi interrompida com a adição da solução que interrompe a reação [42 g de Ácido Cítrico em 1 litro de água destilada (0,2 M)]. A leitura das placas foi feita no leitor de ELISA (DYNATECH MR500), utilizando-se filtro de 405 nm.

#### **4.11. Análise dos dados**

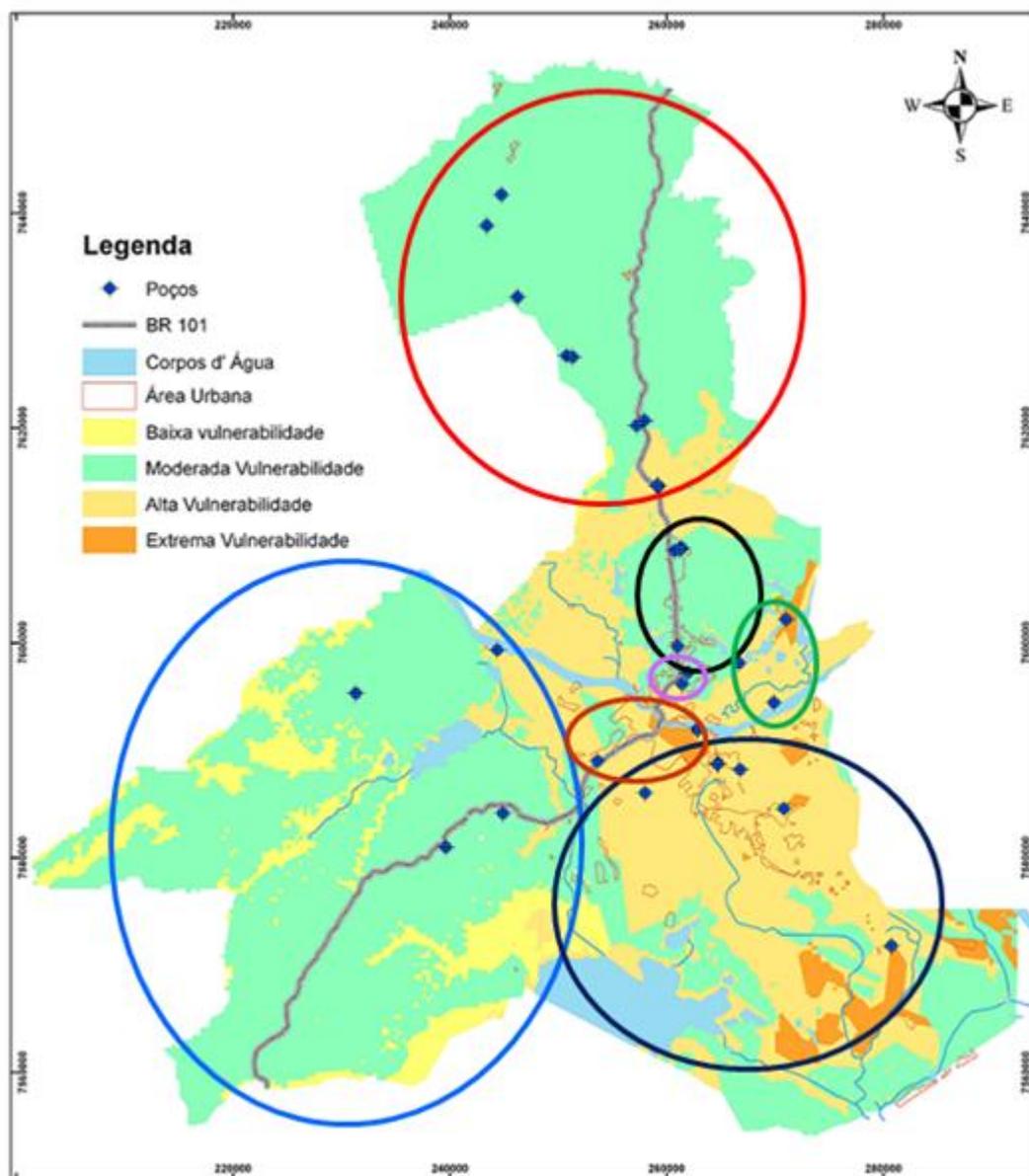
O pacote estatístico graph prisma 4.0 foi utilizado para a análise de dados.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Análise de amostras de água de poços por meio de bioensaio em aves specific pathogen free (SPF).

Foram analisadas amostras de água de 40 poços assentados nas sete áreas de estudo (A1, A2, A3, A4, A5, A6a e A6b e A7a e A7b) do município de Campos dos Goytacazes por bioensaio em aves SPF. Cada poço foi georreferenciado e plotado no mapa de vulnerabilidade de aquíferos (Figura 6). As áreas A6 e A7 foram subdivididas em a e b (A6a, A6b, A7a e A7b). Essa subdivisão foi realizada, em função do fato de que as condições de higiene de algumas residências daquelas localidades se mostraram bastante diferentes, sendo que A6a e A7a apresentavam melhores condições de higiene que A6b e A7b.

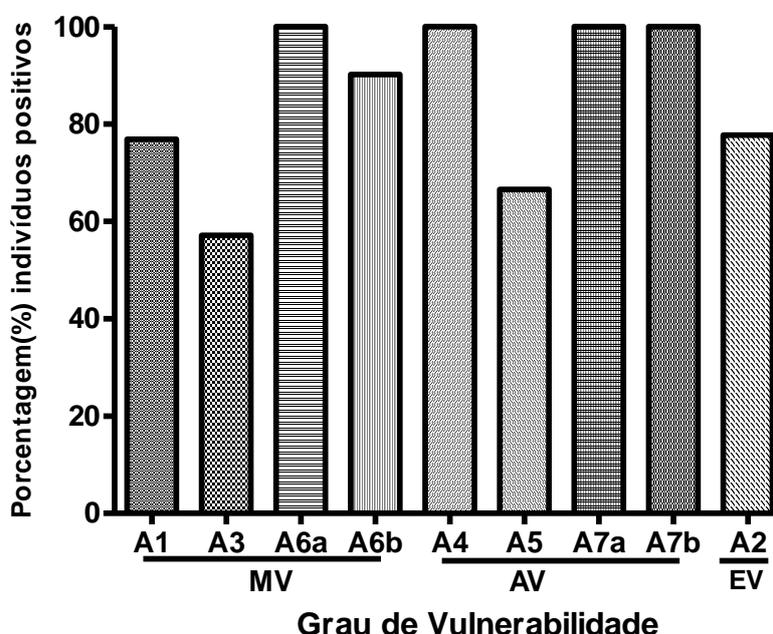
Das dez aves inoculadas com membranas que foram utilizadas para filtrar água dos poços sob suspeita de contaminação por oocistos de *T. gondii* quatro soroconverteram e passaram a apresentar sorologia positiva para a toxoplasmose nos testes de ELISA e MAT. As aves que soroconverteram e passaram a apresentar sorologia positiva para o *T. gondii* foram inoculadas com membranas utilizadas para filtrar amostras de água, de poços provenientes das seguintes áreas: A2 (extrema vulnerabilidade), A6b (moderada vulnerabilidade com baixos graus de higienização), A7a e A7b (alta vulnerabilidade).



**Figura 6:** Mapa de vulnerabilidade de aquíferos subdividido em áreas de estudo. -.-.- (área 1), -.-.- (área 3), -.-.- (área 2), -.-.- (área 4), -.-.- (área 5), -.-.- (área 6) e -.-.- (área 7). Os losangos denotam os poços que foram georreferenciados no estudo.

## 5.2. Prevalência da toxoplasmose humana na área estudada.

A prevalência da toxoplasmose humana foi avaliada por ELISA. De um total de 68 indivíduos analisados, 57 (83,8%) apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose. As áreas onde os indivíduos apresentaram maior positividade foram área A4 (alta vulnerabilidade), 100% (n=10) dos indivíduos apresentaram anticorpos anti-*T. gondii*, área A7a e A7b (alta vulnerabilidade) 100% (n= 9), área A6b (moderada vulnerabilidade melhor condição higiênica) 100% (n=7), e A2 (extrema vulnerabilidade 77,7 % (n=9). A diferença de idade entre os grupos não foi estatisticamente significativa pelo teste de Wilcoxon,  $p=0,7$ .



**Figura 7:** Porcentagem (%) de indivíduos com sorologia positiva para toxoplasmose nas 7 áreas de estudo. MV (moderada vulnerabilidade), AV (alta vulnerabilidade) e EV (extrema vulnerabilidade).

### 5.3. Prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* no soro de galinhas (*Gallus domesticus*) vivendo livremente em peridomicílios por meio dos ensaios de ELISA e MAT.

A detecção de anticorpos específicos para *T. gondii* por meio de ELISA, tem sido utilizado para diferentes espécies animais, através de protocolos já estabelecidos, de alta sensibilidade, especificidade e confiabilidade. Nesse estudo, a técnica de ELISA foi utilizada para investigação epidemiológica, em soro de galinhas, na região de Campos dos Goytacazes. Os resultados encontrados estão apresentados na tabela 1. Anticorpos anti-*T. gondii* foram detectados nos soros de 36 (94,7%) das 38 galinhas testadas.

**Tabela 1:** Valores de absorbância a 405 nm para o teste de ELISA para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de galinhas no município de Campos dos Goytacazes.

Absorbância	Número de galinhas	Porcentagem (%)
<0,70*	2	5,26
0,70 - 1,00	5	13,16
1,00 - 2,00	29	76,32
>2,00	2	5,26
TOTAL	38	100

\*Valores <0,70 foram considerados negativos

Além do teste de ELISA, o teste de aglutinação modificado também foi utilizado neste estudo, realizado de acordo com Desmonts e Remington, em 1980, os quais fizeram uma modificação a partir do original, com a finalidade de aumentar a sensibilidade e especificidade do teste, para diagnóstico sorológico de toxoplasmose em espécies animais distintas. No MAT o tampão de diluição de antígeno, foi acrescido de 2- mercaptoetanol, com objetivo de suprimir a aglutinação não específica de IgM normais, impedindo que elas sejam aderidas à superfície do

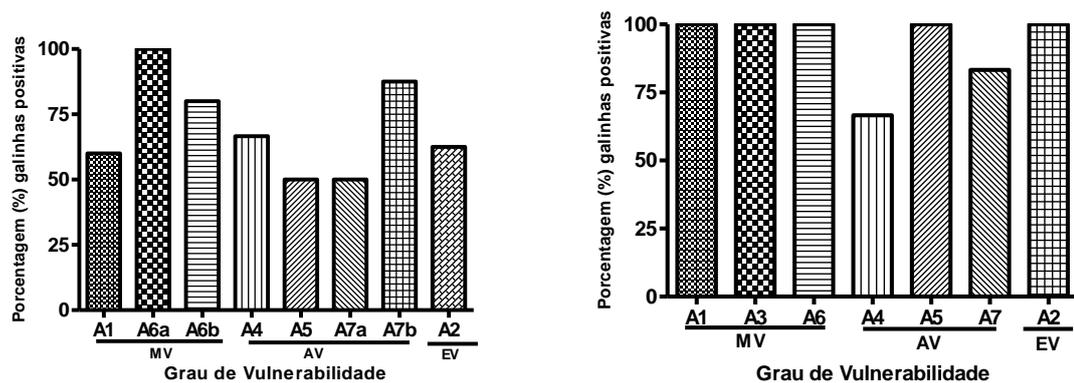
parasita. De acordo com este teste, anticorpos anti- *T. gondii* foram encontrados nos soros de 24 (63,2%) das 38 galinhas testadas.

A prevalência da toxoplasmose em galinhas foi maior pelo teste de ELISA, onde apenas duas galinhas apresentaram sorologia negativa para toxoplasmose, enquanto que no teste de MAT 14 galinhas apresentaram sorologia negativa para a toxoplasmose (tabela 2).

**Tabela 2:** Comparação qualitativa dos resultados de ELISA e MAT em soros de galinhas.

	MAT +	MAT -	TOTAL
ELISA +	24	12	36
ELISA -	0	2	2
TOTAL	24	14	38

As áreas onde as galinhas apresentaram maior positividade foram A6a (moderada vulnerabilidade com melhor condição de higiene) onde 100% (n=2) das aves apresentaram anticorpos anti- *T. gondii*, A6b(moderada vulnerabilidade com pior condição de higiene) 80% (n=3), área A4 (alta vulnerabilidade) 66,6% (n=3) e A2 (extrema vulnerabilidade) 62,5% (n=8) (Figura 8).



**Figura 8:** Porcentagem (%) de galinhas com sorologia positiva para toxoplasmose no teste de MAT nas 7 áreas de estudo. MV (moderada vulnerabilidade), AV (alta vulnerabilidade) e EV (extrema vulnerabilidade). Painel à esquerda as porcentagens expressam as médias de animais positivos no teste MAT e painel à direita as médias de animais no teste de ELISA.

#### 5.4. Prevalência anticorpos anti-*T. gondii* no soro de cães através do teste de aglutinação modificado (MAT)

A prevalência da toxoplasmose canina foi avaliada neste estudo através do teste de aglutinação modificado. Dos 48 soros de cães analisados 31 (68,8%) apresentaram anticorpos anti- *T. gondii*.

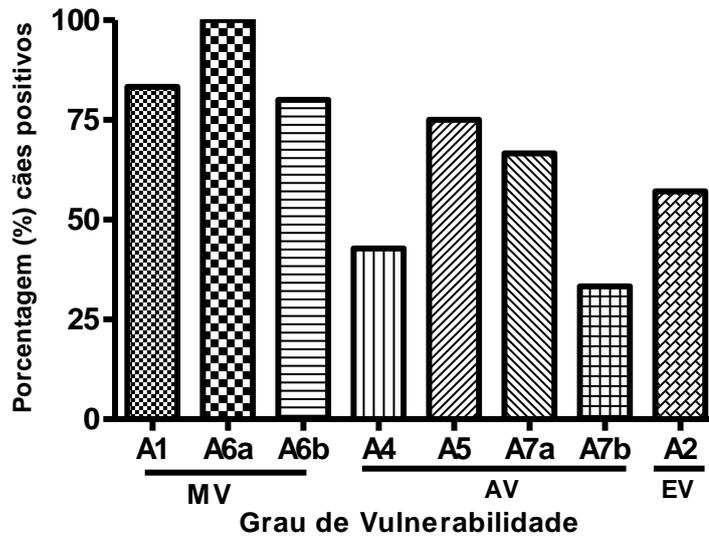
Os títulos mais frequentes foram de 1:320 (22,58 %), 1: 640 (19,35%) e 1:1280 ( 19,35%) e o maior título encontrado foi de 1:2560 (9,35%), conforme mostra a tabela 2.

**Tabela 3:** Porcentagem de cães positivos para *T. gondii* através do Teste de aglutinação modificado (MAT)

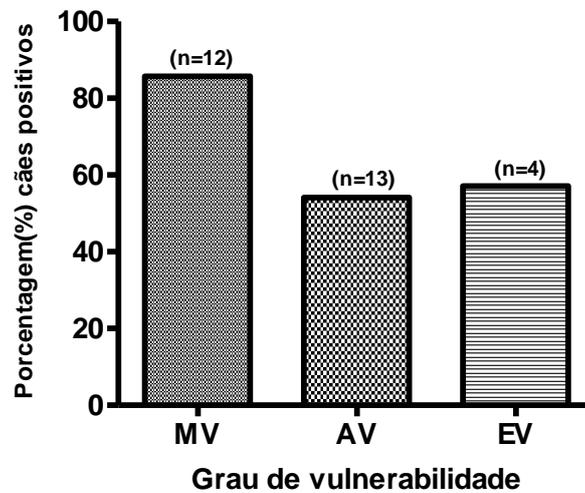
<b>MAT (Título)</b>	<b>Nº cachorros (45)</b>	<b>(%) de soropositivos (31)</b>
< 1:20*	14	-----
1:20	2	6,46
1:40	3	9,67
1:80	1	3,25
1:160	3	9,67
1:320	7	22,58
1: 640	6	19,35
1:1280	6	19,35
1: 2560	3	9,67

\* Valores <1:20 foram considerados negativos

As áreas que apresentaram a maior prevalência de anticorpos anti- *T. gondii* em cães foram as áreas A6a (moderada vulnerabilidade com melhores condições de higiene) 100%, A6b (moderada vulnerabilidade com pior condição) (80%), A1 (83,3%) e A5 (75%). Ao agrupá-los de acordo com o grau de vulnerabilidade de aquíferos a prevalência é maior em áreas de moderada vulnerabilidade com 85,7% (n=12) dos cães apresentando sorologia positiva (Figura 9 e 10).



**Figura 9:** Prevalência da toxoplasmose em cães vivendo livremente em peridomicílios nas 7 áreas de estudo. MV (moderada vulnerabilidade), AV (alta vulnerabilidade) e EV (extrema vulnerabilidade).

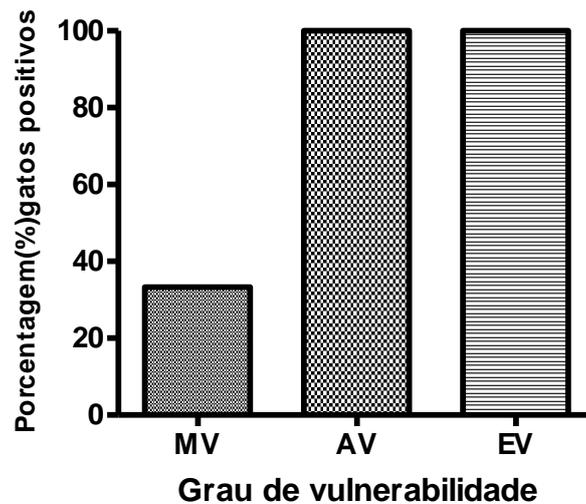


**Figura 10:** Prevalência da toxoplasmose em cães vivendo livremente em peridomicílios. MV (moderada vulnerabilidade A1, A3, A6), AV (alta vulnerabilidade A4, A5, A7) e EV (extrema vulnerabilidade A2).

### **5.5. Prevalência anticorpos anti-*T. gondii* no soro de gatos vivendo livremente em peridomicílio através do teste de aglutinação modificado (MAT) e a sua relação com a prevalência anti-*T. gondii* no soro de indivíduos vivendo nas mesmas áreas.**

Os gatos têm importante papel na transmissão da toxoplasmose e no ciclo de vida do *T. gondii*, pois são responsáveis pela disseminação dos oocistos no meio ambiente.

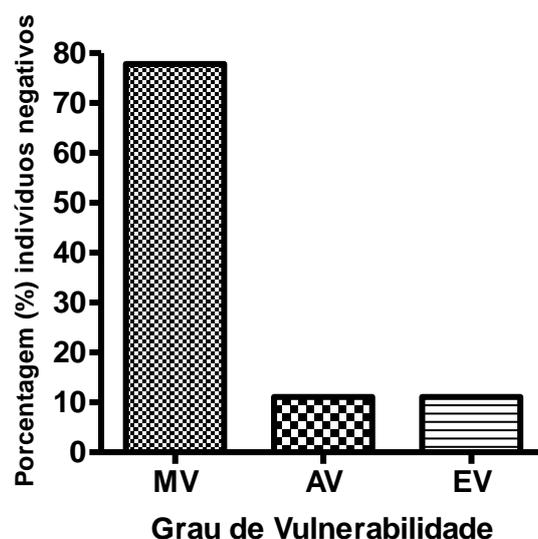
Neste estudo, três gatos (53%) de um total de cinco gatos apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose. Os gatos que apresentaram sorologia positiva são das áreas A2, A4 e A6b e apresentaram títulos de anticorpos de 1:40, 1:2560 e 1:160, respectivamente. A prevalência da toxoplasmose em gatos foi maior nas áreas de alta e extrema vulnerabilidade, onde 100% dos gatos apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose (Figura 11). Dos 68 indivíduos entrevistados 30,8% (n=21) relataram ter gatos em casa. Destes, 85,7% (n=18) apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose. Alguns indivíduos, 57,3% (n=39), relataram que embora não tenham gatos em casa, gatos de vizinhos costumam frequentar seu peridomicílio, destes 84,6% (n=33) apresentou sorologia positiva para toxoplasmose. Ou seja, dos 68 indivíduos avaliados neste trabalho 88,2% (n=60) relataram ter algum contato com gatos. Destes, 85% apresentaram anticorpos anti- *T. gondii*. Nesse estudo, apenas 9 indivíduos relataram não ter nenhum contato com gatos, destes 8 apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose.



**Figura 11:** Prevalência da toxoplasmose em gatos vivendo livremente em peridomicílios. MV (moderada vulnerabilidade), AV (alta vulnerabilidade) e EV (extrema vulnerabilidade), sendo que, MV agrupa as áreas A1, A3 e A4; AV agrupa as áreas A4, A5 e A7 e EV a área A2.

### 5.6. Prevalência da toxoplasmose humana e animal em função do grau de vulnerabilidade de aquíferos

A contaminação ambiental, especialmente de águas utilizadas para consumo humano, por oocistos de *T. gondii* é importante veículo na transmissão da toxoplasmose humana. Nesse estudo, apenas 5,88% (n=4) dos indivíduos relataram não utilizar água de poço para consumo. A prevalência da infecção por *T. gondii* em humanos foi de 83,8% e apenas 11 indivíduos (16,2%) apresentaram sorologia negativa para toxoplasmose. Ao agrupar os indivíduos soronegativos de acordo com o grau de vulnerabilidade de aquíferos, 77,78% (n= 7) se encontram em áreas de baixa ou moderada vulnerabilidade (Figura 12). Dois indivíduos soronegativos vivendo em áreas de alta e extrema vulnerabilidade relataram não utilizar água de poço para consumo.



**Figura 12:** Porcentagem (%) de indivíduos soronegativos para a toxoplasmose de acordo com o grau de vulnerabilidade de aquíferos. MV (moderada vulnerabilidade A1, A3, A6), AV (alta vulnerabilidade A4, A5, e A7) e EV (extrema vulnerabilidade A2).

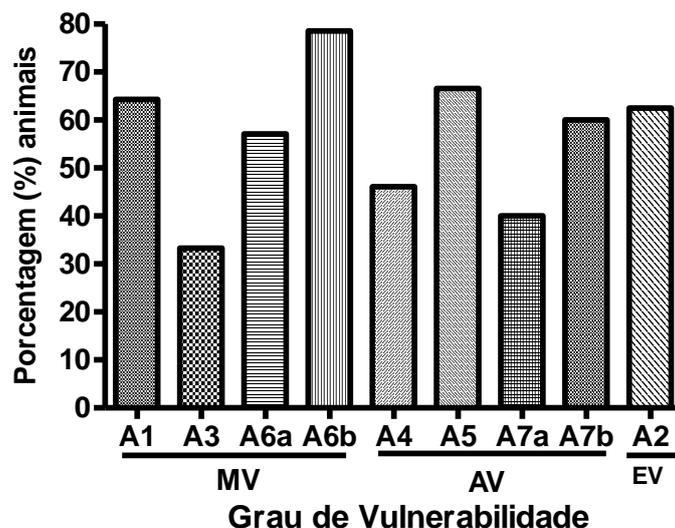
A prevalência da toxoplasmose em cada área em função do respectivo grau de vulnerabilidade de aquífero pode ser observada na tabela 4. A prevalência para toxoplasmose humana foi maior na área A4 (alta vulnerabilidade), 100% (n=10) dos indivíduos apresentaram anticorpos anti-*T. gondii*, área A7a e A7b (alta vulnerabilidade) 100% (n= 9), área A6b (moderada vulnerabilidade melhor condição higiênica) 100% (n=7), e A2 (extrema vulnerabilidade 77,7 % (n=9). Enquanto que a maior prevalência de animais positivos foi nas áreas A6b (moderado grau de vulnerabilidade com pior condição de higiene) 78,6% (n=11), A1(moderada vulnerabilidade) 64,3%, A5 (alta vulnerabilidade) 66,6% (n=10) (Figura 13).

**Tabela 4: Porcentagem de indivíduos e animais positivos por área de estudo e por grau de vulnerabilidade de aquífero.**

<b>Número da Região</b>	<b>Característica Predominante da área</b>	<b>Nº Indivíduos (68)</b>	<b>N e (%) de soropositivos</b>	<b>Nº animais (97)</b>	<b>Nºe (%) de soropositivos</b>
1	Moderada Vulnerabilidade	13	10 ( 76,9%)	14	9 (64,3%)
2	Extrema Vulnerabilidade	9	7 (77.7%)	16	10 (62,5%)
3	Moderada Vulnerabilidade	7	4 (57,1%)	3	1 (33,6%)
4	Alta Vulnerabilidade	10	10 (100%)	13	6 (46,1%)
5	Alta Vulnerabilidade	7	5 (66,6%)	15	10 (66,6%)
6a*	Moderada Vulnerabilidade	2	2 (100%)	7	4 (57,1%)
6b#	Moderada Vulnerabilidade	11	10 (90,9%)	14	11 (78,6%)
7a*	Alta Vulnerabilidade	7	7(100%)	10	4 (40%)
7b#	Alta Vulnerabilidade	2	2 (100%)	5	3 (60%)

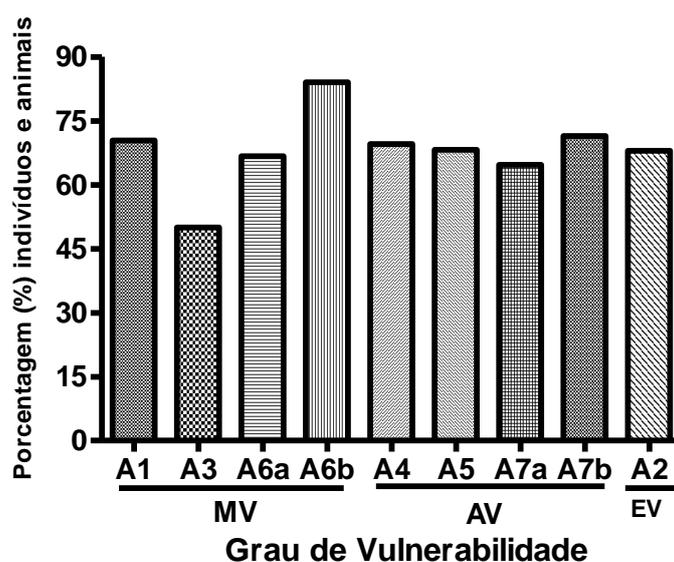
\* Melhores condições de higiene

# Pior condição de higiene



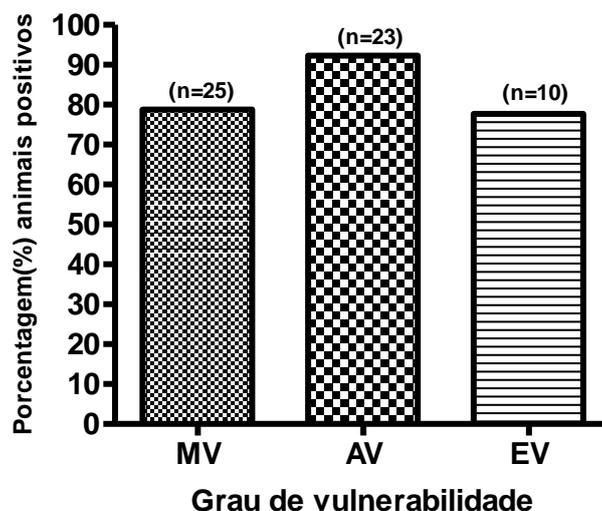
**Figura 13:** Porcentagem (%) de animais positivos para a toxoplasmose de acordo com o grau de vulnerabilidade de aquíferos. MV (moderada vulnerabilidade A1, A3, A6), AV (alta vulnerabilidade A4, A5, e A7) e EV (extrema vulnerabilidade A2).

A prevalência total (indivíduos e animais) da infecção por *T. gondii* foi maior na área A6 (79,4%), área com moderada vulnerabilidade de aquíferos e com condições precárias de higiene e, menor na área A3 (50%) área com moderada vulnerabilidade de aquíferos (Figura 14).



**Figura 14:** Prevalência da infecção por *T. gondii* em indivíduos e animais por área de estudo e por grau de vulnerabilidade de aquíferos.

Ao analisar de modo agrupado todos os indivíduos e animais com o respectivo grau de vulnerabilidade correlacionando-o com a prevalência da toxoplasmose, esta foi maior nas áreas com alta vulnerabilidade de aquífero (Figura 15).



**Figura 15:** Prevalência da infecção por *T. gondii* em animais e humanos por grau de vulnerabilidade de aquíferos, sendo que MV (moderada vulnerabilidade A1, A3, A6), AV (alta vulnerabilidade A4, A5, e A7) e EV (extrema vulnerabilidade A2).

## 6. DISCUSSÃO

A água é considerada importante veículo na disseminação da toxoplasmose humana e animal devido à alta resistência dos oocistos de *Toxoplasma gondii* nesse veículo. Os oocistos do *Toxoplasma gondii* podem resistir por longo período de tempo no ambiente e são altamente resistentes à inativação por reagentes químicos e processos utilizados no tratamento de águas.

Vários métodos têm sido descritos para recuperação e detecção de oocistos de *T. gondii* de amostras de água. No entanto, a grande maioria dos estudos, que obtiveram sucesso em isolar o parasita em água foi realizada em condições laboratoriais (água contaminada com elevado número de oocistos), que estão longe de serem aquelas encontradas em amostras ambientais. O bioensio é o teste de referência para isolamento de *T. gondii* em amostras de água, pois é positivo na presença de parasitas viáveis e pode ser utilizado para genotipagem (De Moura *et al.*, 2006). Os principais testes que obtiveram sucesso na detecção de oocistos de *T. gondii* de amostras ambientais utilizaram como um dos passos a reação de PCR. Entretanto, devido às condições ambientais (alto número de inibidores) a eficiência desta técnica tem sido baixa. O *T. gondii* foi detectado em apenas 10 amostras ambientais das 125 analisadas na França e nenhuma das amostras foi positiva por bioensaio em camundongos (Villena *et al.*, 2004, 2009). A amplificação do DNA nos dois trabalhos citados acima pode ter decorrido de oocistos não infectivos explicando o fato de não terem sido positivos no bioensaio.

Neste estudo apresentamos uma abordagem inédita de investigação que considera a vulnerabilidade de aquíferos do município de Campos dos Goytacazes com a prevalência da toxoplasmose humana e animal. Para tanto, o município foi dividido em sete áreas de amostragem (A1, A2, A3, A4, A5, A6(a e b) e A7(a e b) e a partir dessa divisão amostras de água de poços assentados nessas áreas foram analisadas para a presença de oocistos do *T. gondii*, por bioensaio em aves SPF (Specific Pathogen Free).

Para o processo de seleção das áreas investigadas neste estudo, foram consideradas as características grau de vulnerabilidade de aquíferos, com utilização de água de poço para consumo e a influência destas características na prevalência da infecção toxoplásmica em humanos e animais e na detecção de oocistos em

amostras de água utilizadas para consumo humano e animal. Das dez aves que foram testadas pelo bioensaio quatro soroconverteram e apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose pelo teste de ELISA e MAT. As aves que foram alimentadas com as membranas provenientes do processo de filtração da área A6b, A7a e b e A2 passaram a apresentar sorologia positiva para a toxoplasmose. Interessantemente, as áreas A2 e A7a e A7b estão localizadas em áreas de extrema e alta vulnerabilidade de aquíferos, respectivamente, indicando que esta possa ser uma boa estratégia para estudo de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*. Embora, a área A6 seja uma área que apresenta moderada vulnerabilidade de aquífero a mesma apresentava condições de higiene bem diferentes de outras áreas, por isso ela foi subdividida em “a” (melhores condições de higiene) e “b” (piores condições de higiene), porém não se observou diferença significativa entre a prevalência da toxoplasmose humana e animal entre essas duas subáreas, o que pode estar sendo influenciado pelo pequeno número de indivíduos (n=2) e animais (4) na subárea A6a. Porém, o aspecto da higiene deverá ser melhor investigado em outra oportunidade pois o número de indivíduos e animais foi reduzido para permitir inferências estatísticas. É importante ressaltar que este trabalho foi realizado após o período chuvoso (junho a setembro de 2009), e muitas localidades do município ficaram alagadas pelas águas da chuva. Segundo relato dos moradores as áreas A6a e A6b e A2 ficaram alagadas por um longo período do ano de 2009.

Em inquérito soroepidemiológico realizado em Campos dos Goytacazes a ingestão de água não filtrada e provenientes de poços constituiu-se nos principais fatores de risco para contaminação pelo *T. gondii* (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003) bem como a ingestão de água de riachos e lagoas da região. Os dados encontrados nesse estudo reforçam aqueles achados sobre a importância da água na veiculação de oocistos do parasita, pois aves alimentadas com membranas onde foram filtradas amostras de águas de poços para consumo humano e animal, soroconverteram e passaram a apresentaram sorologia positiva para a toxoplasmose.

Nesse estudo a prevalência da toxoplasmose humana foi de 83,8% (n=57), resultado similar foi encontrado em levantamento epidemiológico realizado no ano 2003 no município de Campos dos Goytacazes onde a prevalência desta infecção foi de 84,8% na população de baixo poder aquisitivo (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003) e os indivíduos que participaram desse estudo apresentam as mesmas condições

sociais daqueles do estudo de 2003. As áreas onde os indivíduos apresentaram maior positividade foram área A4 (alta vulnerabilidade), 100% (n=10), área A7 (alta vulnerabilidade) 100% (n= 9), área A6a (moderada vulnerabilidade) 100% (n=2, e A2 (extrema vulnerabilidade) 77,7 % (n=9). As áreas A2 e A7 foram as mesmas áreas em que aves SPF que foram alimentadas com membranas utilizadas para filtrar águas de poços soroconverteram e passaram a apresentar sorologia positiva para a toxoplasmose. Portanto, a maior prevalência da toxoplasmose humana naquelas áreas pode indicar que os indivíduos alí residentes estão mais expostos a infecção pela ingestão de água de poço contaminada por oocistos.

A detecção de oocistos de *T. gondii* do ambiente é tecnicamente difícil. As galinhas que vivem livremente em peridomicílio são consideradas boas indicadoras de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* devido aos seus hábitos alimentares. Vários testes sorológicos têm sido utilizados para determinar a prevalência da toxoplasmose em galinhas (Dubey, 2009). Os valores de soroprevalência em galinhas na região norte fluminense, são significativamente altos quando comparados com dados de outros estudos, realizados em outros países e até mesmo no Brasil, os quais utilizaram MAT para detecção de anticorpos anti- *T. gondii*, 38% de 50 galinhas do Rio Grande do Sul, (Dubey *et al.* 2007), 40,2% em São Paulo (Dubey *et al.* 2002), 53,3% em Pernambuco, Rio Grande do Norte, Maranhão, Bahia, Ceará, Sergipe e Alagoas (de Oliveira *et al.* 2009), 55,3% no Chile (Dubey *et al.* 2006b), 44,4% na Colômbia (Dubey, *et al.* (2005c). Nesse trabalho, anticorpos anti- *T. gondii* foram encontrados nos soros de 24 (63,2%) das 38 galinhas testadas pelo teste de MAT e (94,7%) pelo teste de ELISA. Consideramos os dados do MAT como aqueles que expressaram a prevalência em galinhas de vida livre, nesse estudo pois é o teste que vem sendo adotado na literatura como referência para descrever a prevalência desses animais, embora não tenhamos tido a intenção e nem tenhamos investigado qual dos testes (MAT ou ELISA) tem maior acurácia para a infecção de galinhas pelo *T. gondii*. Este resultado reforça aqueles encontrados em 2003, no município de Campos dos Goytacazes, e regiões vizinhas que estimou a contaminação do solo por meio da investigação da presença de *T. gondii* em frangos (*Gallus domesticus*), vivendo livremente em peridomicílios na cidade (Seipel *et al.*, 2003) onde foi observado que 65% das aves testadas pelo MAT apresentaram anticorpos anti *T. gondii*.

As áreas em que as galinhas apresentaram maior positividade foram A6a (moderada vulnerabilidade com melhores condições de higiene) onde 100% (n=2) das aves apresentaram anticorpos anti- *T. gondii*, A6b (moderada vulnerabilidade com piores condições de higiene) onde 75% (n=8), área A4 (alta vulnerabilidade) onde 66,6% (n=3) e A2 (extrema vulnerabilidade) 62,5% (n=8). As áreas A6 e A2 também foram aquelas em que as aves SPF alimentadas com as membranas utilizadas para filtrar água sob suspeita de contaminação por oocistos de *T. gondii* soroconverteram e passaram a apresentar sorologia positiva para toxoplasmose. A área A4 é uma área localizada na zona urbana de Campos. Esses resultados vão ao encontro daqueles descritos em 2003 por Seipel e colaboradores, onde a prevalência da toxoplasmose em galinhas foi maior em propriedades urbanas que rurais (Seipel *et al.*, 2003).

A prevalência da toxoplasmose canina foi avaliada neste estudo através do teste de aglutinação modificado. Dos 48 soros de cães analisados 31 (68,8%) apresentaram anticorpos anti- *T. gondii*. Os títulos mais frequentes foram de 1:320 (22,58 %), 1: 640 (19,35%) e 1:1280 ( 19,35%) e o maior título encontrado foi de 1:2560 (9,35%). As áreas que apresentaram a maior prevalência de anticorpos anti- *T. gondii* em cães foram as áreas A6a (100%), A6b (80%), A1 (83,3%) e A5 (75%). Ao agrupar os cães de acordo com o grau de vulnerabilidade de aquíferos a prevalência foi maior em áreas de moderada vulnerabilidade com 85,7% (n=12) dos cães apresentando sorologia positiva (figura 4 e 5). Pouco se conhece sobre a prevalência da toxoplasmose canina na América do Sul, especialmente no Brasil. Em estudo realizado na Colômbia 52 cachorros (16,8%) dos 309 apresentaram anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* no MAT com títulos de 1:20 (20), 1:40 (6), 1:80 (7), 1: 160 (3), 1:320 (3), 1:1280 ou títulos maiores (3) (Dubey *et. al.*, 2007). Em outro estudo realizado em Minas Gerais a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* foi de 40,9% (Brandão, *et. al.*, 2006). Um inquérito sorológico realizado em duas cidades de Santa Catarina mostrou que a prevalência da toxoplasmose canina é de 8,5 e 26% (De Moura, 2009).

Os gatos têm um importante papel na transmissão da toxoplasmose e no ciclo de vida do *T. gondii*, pois são responsáveis pela disseminação dos oocistos no meio ambiente inclusive em mananciais. Dados epidemiológicos indicam que aproximadamente 1% dos gatos são susceptíveis a eliminarem oocistos em suas

fezes durante o ciclo de suas vidas (Dubey e Beattie, 1988). A soroprevalência da infecção por *T. gondii* em gatos varia de acordo com o local onde o gato se encontra (acesso livre ao ambiente ou não), a idade dos gatos, dieta, o método de sorologia e localização geográfica. Nesse trabalho, três gatos (53%) de um total de cinco gatos apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose no MAT. Os gatos que apresentaram sorologia positiva são das áreas A2, A4 e A6b e apresentaram títulos de anticorpos de 1:40, 1:2560 e 1:160, respectivamente. Embora o número de gatos esteja abaixo do ideal para se estimar com segurança a prevalência do *T. gondii*, observamos que a prevalência da toxoplasmose em gatos foi maior nas áreas de alta e extrema vulnerabilidade, onde 100% dos gatos apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose (figura 6). Em um estudo realizado em São Paulo, Brasil, 35,4% dos gatos apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose dos 237 gatos analisados (Pena *et al.* 2006). Estudos epidemiológicos indicam que a maioria dos gatos se torna infectados após a ingestão de tecidos de pássaros infectados com *T. gondii* (Dubey e Beattie, 1988). A soroprevalência de anticorpos anti- *T. gondii* em gatos é uma boa estimativa da contaminação ambiental com oocistos, pois os felinos, especialmente os gatos são responsáveis pela liberação dos oocistos de *T. gondii* no meio ambiente.

Interessantemente, dois dos gatos com sorologia positiva para a toxoplasmose são das áreas A6b (moderada vulnerabilidade com pior condição de higiene) e A2(extrema vulnerabilidade) áreas em que as aves SPF passaram a apresentar sorologia positiva para a toxoplasmose após a ingestão de membranas onde foram filtradas águas de poço daquelas localidades. O outro gato com sorologia positiva é da área A4 (alta vulnerabilidade), área com alta prevalência da toxoplasmose em humanos e galinhas. Embora, a prevalência da toxoplasmose tenha sido alta (85%) em indivíduos que relataram ter contatos com gatos (n=51), 9 indivíduos (13%) relataram não ter nenhum contato com gatos, e destes 8 apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose.

Ao analisar de modo agrupado todos os indivíduos e animais com o respectivo grau de vulnerabilidade correlacionando-o a prevalência da toxoplasmose, esta foi maior nas áreas com alta vulnerabilidade de aquífero (figura 9). Esse resultado associado à soroconversão das aves SPF é um indicativo de que, considerar a vulnerabilidade de aquíferos de uma região pode ser uma estratégia

importante a ser considerada em estudos que investigam a contaminação ambiental por oocistos. Os dados apresentados neste trabalho reforçam a hipótese da infecção toxoplásmica em populações residentes em áreas não saneadas, que consomem água sem tratamento, e sem filtrar a qual pode vir a ser contaminada com oocistos provenientes de fezes de gatos, que contaminam o solo e são carregados para os reservatórios. Sobre este aspecto foi recentemente demonstrado que a natureza hidrofílica e a carga negativa desses oocistos em água doce permitem que os mesmos, uma vez eliminados no meio ambiente, percolem através do solo, sendo carregados naturalmente pela água da chuva, alcançando assim, os mananciais (Shapiro *et al.*, 2009).

Outra possibilidade também a se considerar é o fato da contaminação dos reservatórios se decorrentes de hábitos não higiênicos como, por exemplo, pela utilização de recipientes para coletar água de poços que estiverem em contato com o solo contaminado por oocistos. Esta possibilidade pode explicar, por exemplo, o fato de aves SPF alimentadas com membranas utilizadas para filtrar a água da área A6b ter apresentado sorologia positiva após o bioensaio.

## 7. CONCLUSÕES

A prevalência geral da toxoplasmose humana foi de 83,8% no presente estudo. As áreas onde os indivíduos apresentaram maior positividade foram área A4 (alta vulnerabilidade), A7a e A7b (alta vulnerabilidade).

As aves Specific Pathogen Free que foram alimentadas com as membranas provenientes do processo de filtração da área A6b (moderada vulnerabilidade com piores condições de higiene), A7a e b (alta vulnerabilidade respectivamente subdividida em subáreas com melhor e pior condições de higiene) e A2 (extrema vulnerabilidade) passaram a apresentar sorologia positiva (soro-converteram) para a toxoplasmose.

A prevalência da toxoplasmose em galinhas vivendo livremente em peridomicílios foi de 63,2% pelo teste de MAT e 94,7% pelo teste de ELISA.

A prevalência da toxoplasmose humana e animal foi maior nas áreas em que os aquíferos apresentavam-se com o grau de alta vulnerabilidade.

A correlação entre a vulnerabilidade de aquíferos e a prevalência da toxoplasmose humana e animal parece ser uma boa estratégia para estudo de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii* e esse estudo deve ser ampliado.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBINET, M. AND MARGAT, J. Cartographie de la vulnerabilite a la pollution des nappes d'eau souterraine. *Bull BRGM 2me Series* 3(4):13-22, 1970.
- ALEXANDER, J., AND HUNTER, C. A. Immunoregulation during Toxoplasmosis. In: Immunology of intracellular Parasitism. *Chem. Immunol. Basel, Karger.* 70: 81-102, 1998.
- ALLER, L., BENNET, T., LEHER, J., PETTY, R. DRASTIC: a standardized system for evaluating groundwater pollution potential using hydrogeologic settings. US, 1985.
- AMBROISE-THOMAS, P. AND PELLOUX, H. Toxoplasmosis - congenital and in immunocompromised patients: a parallel. *Parasitol Today.* 9(2):61-3, 1993.
- ARAMINI, J.J., STEPHEN, C., DUBEY, J.P., ENGELSTOFT, C., SCHWANTJE, H., RIBBLE, C.S. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol Infect.* 122(2):305-15, 1999.
- AUBERT, D. AND VILLENA, I. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in water: proposition of a strategy and evaluation in Champagne-Ardenne Region, France. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(2): 290-5, 2009.
- AZEVEDO, S.S., PENA, H.F.J., ALVES, C.J., GUIMARÃES, A.A.M., MAKSIMOV, P., BAHIA-OLIVEIRA, L. M.G., JONES J. L, AZEVEDO-SILVA J, ORÉFICE F., CRESPO C. and ADDISS D. Highly Endemic Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. *Emerg. infect Dis*, 9:(1): 55-62, 2003.
- BARRAGAN, A. AND SIBLEY, L.D. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. *Trends Microbiol.* 11(9):426-30, 2003.
- BENENSON, M.W., TAKAFUJI, E.T., LEMON, S.M., GREENUP, R.L. AND SULZER, A.J. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N. Engl. J. Med.* 307: 666 – 669, 1982.

- BOWIE, W.R., KING, A.S., WERKER, D.H., ISAAC-RENTON, J.L., BELL, A., ENG, S.B. AND MARION, S.A. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet*. 350: 173 – 177, 1997.
- BRANDÃO, G.P., FERREIRA, A.M., MELO, M.N., VITOR, R.W. Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. *Parasite*. 13(2):143-9, 2006.
- CAPORALI, E.H.G., SILVA, A.V., MENDONÇA, A.O., LANGONI, H. Comparação de métodos para determinação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos dos Estados de São Paulo e Pernambuco- Brasil. *Arq. Ciên. Vet. Zool*. 8, 19–24, 2005.
- CAVALCANTE, G.T., AGUIAR, D.M., CHIEBAO, D., DUBEY, J.P., RUIZ, V.L.A., DIAS, R.A., CAMARGO, L.M.A., LABRUNA, M.B., GENNARI, S.M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural western Amazon, Brasil. *J. Parasitol*. 92, 863–864, 2006.
- CHRISTIE, E., PAPPAS, P. W., DUBEY, J. P. Ultrastructure of excystation of *Toxoplasma gondii* oocysts. *J. Parasitol*. 25: 438, 1978.
- COHEN, S.N. Toxoplasmosis in patients receiving immunosuppressive therapy. *JAMA*. 211: 657-660, 1970.
- DA SILVA, A.V., BOARETO, H., ISBARECHT, F.B., DA SILVA, R.C., LANGONI, H., DA SILVA, D.S., BAHIA-OLIVEIRA, L.M., SHEN, S.K., KWOK, O.C., LEHMAN, T., DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J. Parasitol*. 89, 394–396, 2003.
- DE MOURA, A.B., OSAKI, S.C., ZULPO, D.L., MARANA, E.R.M., Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet*. 16, 54–56, 2007.
- DE MOURA, L., BAHIA-OLIVEIRA, L.M., WADA, M.Y., JONES, J.L., TUBOI, S.H., CARMO, E.H., RAMALHO, W.M., CAMARGO, N.J., TREVISAN, R., GRAÇA, R.M., DA SILVA, A.J., MOURA, I., DUBEY, J.P. AND GARRETT, D.O. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis*. 12:326-9, 2006.
- DE OLIVEIRA, L.N., COSTA JUNIOR, L.M., DE MELO, C.F., RAMOS SILVA, J.C., BEVILAQUA, C.M., AZEVEDO, S.S., MURADIAN, V., ARAÚJO, D.A., DUBEY,

- J.P., GENNARI, S.M. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the northeast region of Brazil. *J. Parasitol.* 95: 235–37, 2009.
- DESMONTS, G. AND COUVREUR, J. Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 378 pregnancies. *N. Engl. J. Med.*, v. 290, p. 1110-1116, 1974.
- DINIZ, E. M. A., CAMARGO, M. E., COSTA VAZ, F. A. TOXOPLASMOSE CONGÊNITA. IN DINIZ, E. M. A., COSTA VAZ, F. A. Infecções Congênitas e perinatais, São Paulo, Atheneu, p. 31-72, 1991.
- DOS SANTOS, C.B.A., DE CARVALHO, A.C.F.B., RAGOZO, A.M.A., SOARES, R.M., AMAKU, M., YAI, L.E.O., DUBEY, J.P., GENNARI, S.M. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 131, 207–11, 2005.
- DUBEY, J. P. AND FRENKEL, J. K. Cysts-induced toxoplasmosis in cats. *J. Protozoo.* 19:155-77, 1972.
- DUBEY, J. P. *Toxoplasma, Neospora, Sarcocysts*, and other tissue cyst-forming coccidian oh humans and animals. In KREIER, J. P. Parasitic protozoa. 2 ed., v6, New York, Academic Press, p. 1-57, 1993.
- DUBEY, J. P., D. H. GRAHAM, C. R. BLACKSTON, T. LEHMANN, S. M. GENNARI, A. M. A. RAGOZO, S. M. NISHI, S. K. SHEN, O. C. H. KWOK, D. E. HILL, AND P. THULLIEZ. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int. J. Parasitol.* 32, 99–105, 2002.
- DUBEY, J. P., GENNARI, S. M., LABRUNA, M. B., CAMARGO, L. M. A., VIANNA, M. C. B., MARCET, P. L. AND LEHMANN, T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. *J. Parasitol.* 92: 36–40, 2006.
- DUBEY, J. P., I. T. NAVARRO, D. H. GRAHAM, E. DAHL, R. L. FREIRE, L. B. PRUDENCIO, C. SREEKUMAR, M. C. VIANNA, AND T. LEHMANN. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. *Vet. Parasitol.* 117, 229–234, 2003.
- DUBEY, J. P., MILLAR, N. L., AND FRENKEL, J. K. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*, *J. Parasitol.* 56: 447, 1970.

- DUBEY, J. P., SUNDAR, N., GENNARI, S. M., MINERVINO, A. H. H., FARIAS, N. A. R., RUAS, J. L. DOS SANTOS, T. R. B., CAVALCANTE, G. T., KWOK, O. C. H. AND SU, C. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. *Vet. Parasitol.* 143: 182–188, 2007.
- DUBEY, J. P., LINDSAY, D. S., SPEER, C. A. Structure of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites and sporozoites, and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev.* 11:267-99, 1998.
- DUBEY, J.P. AND BEATTIE, C.P. Toxoplasmosis of Animals and Man. *CRC Press, Boca Raton, FL.* 220pp, 1988.
- DUBEY, J.P. AND JONES, J.L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. *Int J Parasitol.* 38(11):1257-78, 2008.
- DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* Infections in Chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, Clinical Disease, Diagnosis and Public Health Significance. *Zoonoses Public Health.* 2009. [Epub ahead of print]
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in pigs--the last 20 years. *Vet Parasitol.* 14;164(2-4):89-103, 2009.
- DUBEY, J.P., GOMEZ-MARIN, J.E., BEDOYA, A., LORA, F., VIANNA, M.C., HILL, D., KWOK, O.C., SHEN, S.K., MARCET, P.L., LEHMANN, T. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Colombia, South America. *Vet Parasitol.* 25;134(1-2):67-72, 2005.
- DUBEY, J.P., LINDSAY, D. S. AND BLAGBURN, B. L. Feline Toxoplasmosis and the importance of the *Toxoplasma gondii* oocysts. *Parasitol.*19-4, 1997.
- DUBEY, J.P., NAVARRO, I.T., SREEKUMAR, C., DAHL, E., FREIRE, R.L., KAWABATA, H.H., VIANNA, M.C., KWOK, O.C., SHEN, S.K., THULLIEZ, P., LEHMANN, T. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brazil:

seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. *J Parasitol.* 90(4):721-6, 2004.

DUBEY, J.P., PATITUCCI, A.N., SU, C., SUNDAR, N., KWOK, O.C., SHEN, S.K. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Chile, South America. *Vet Parasitol.* 31;140 (1-2):76-82, 2006.

DUMÈTRE, A. AND DARDÉ, M.L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? *FEMS Microbiol Rev.* 27(5):651-61, 2003.

DUMÈTRE, A. AND DARDÉ, M-L. Detection of *Toxoplasma gondii* in water by an immunomagnetic separation method targeting the sporocysts. *Parasitol Res.* 101:989–996, 2007.

FELDMAN, H.A. The clinical manifestations and laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *Am J Trop Med Hyg.* 2: 420-428, 1953.

FERGURSON, D. J. P., BIRCH-ANDERSEN, A., SIIM, J. C. AND HUTCHISON, W.M. An ultrastructural study on the excystation of the sporozoites of *Toxoplasma gondii*, *Acta Pathol. Microbiol, Scand. Sect. B*, 87: 277, 1979.

FERGUSON, D. J. P. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(2): 133-148, 2009.

FERGUSON, D.J. *Toxoplasma gondii* and sex: essential or optional extra? *Trends Parasitol.* 18: 355-359, 2002.

FRENKEL, J.K. AND DUBEY, J.P. Effects of freezing on the viability of *Toxoplasma* oocysts. *J. Parasitol.* 59: 587-588, 1973.

FRENKEL, J.K. AND JACOBS, L. Ocular toxoplasmosis. *Arch Ophthal (Chicago)* 48: 260-279, 1958.

FRENKEL, J.K., RUIZ, A. AND CHINCHILLA, M. Soil survival of *Toxoplasma* oocysts in Kansas and Costa Rica. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 24: 439-443, 1975.

GARCIA, J.L., NAVARRO, I.T., OGAWA, L., DE OLIVEIRA, R.C., Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná -Brasil. *Ciência Rural.* 29, 91–97, 1999.

- GRÜNSPAN, E.D., MOREIRA, W.S., EDELWEISS, M.I.A., ULON, S.N., DAUDT, H.M.L. Imunoglobulinas antitoxoplásmicas e retinocoroidite em suínos. *Ciência Rural* 25, 261–264, 1995.
- GUIMARÃES AC, KAWARABAYASHI M, BORGES MM, TOLEZANO JE, ANDRADE JÚNIOR HF. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo metropolitan region. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 35(6):479-83, 1993.
- GUIMARÃES, A.M., RIBEIRO, M.F.B., LIMA, J.D., DE ALMEIDA, T.M.B. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 44, 69–71, 1992.
- HEUKELBACH, J., MEYER-CIRKEL, V., MOURA, R. C. S., GOMIDE, M., QUEIROZ, J. A. N., SAWELJEW, P. AND LIESENFELD, O. Waterborne Toxoplasmosis, Northeastern Brazil. *Emerg Infect Dis* 13(2): 287–289, 2007.
- HILL, D. AND DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect.* (10):634-40, 2002.
- HIRATA, R. C. A. Recursos Hídricos. In: TEIXEIRA, W., TOLEDO, M. C. M., FAIRCHILD, T. R., TAIOLI, F., *Decifrando a Terra*, 2000.
- IBGE INSTITUDO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, <http://www.ibge.gov.br/cidadesat/topwindow.htm?1>, em 2009. Acesso em 15/02/2010.
- ISAAC-RENTON, J., BOWIE, W.R., KING, A.; IRWIN, G.S., ONG, C.S., FUNG, C.P., SHOKEIR, M.O., DUBEY, J.P. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. *Appl Environ Microbiol.* 64(6):2278-80, 1998.
- JACOBS, L. AND MELTON, M.L. Toxoplasmosis in chickens. *J Parasitol.* 52: 1158-1162, 1966.
- JACOBS, L. *Toxoplasma* and toxoplasmosis. *Ann Rev Microbiol.* 17: 429-450, 1963.
- JACOBS, L., REMINGTON, J. S AND MELTON, M. L. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. *J Parasitol* ;46:11-21, 1960.

- JANKU, J. Die Pathogenese und pathologische Anatomie des sogenannten angeborenen Koloboms des gelben Fleckes n normal grossen sowie im mikropathalmischen Auge mit Parasitenbefund in der Netzhaut, *Cls Parasitol.* 6: 9-16, 1959.
- JANKU, J. Pathogenesis and pathologic anatomy of coloboma of macula lutea in eye of normal dimensions, and microphthalmic eye, with parasites in retine. *Cas. Léč.Cesk.* 62: 1021-7, 1054-9, 1081-5, 1111-5, 1138-44, 1923.
- JOHNSON, A.M. Speculation on possible life cycles for the clonal lineages in the genus *Toxoplasma*. *Parasitol Today.* 13: 393-397, 1997.
- JONES. J.L. AND DUBEY, J.P. Waterborne toxoplasmosis--recent developments. *Exp Parasitol.* 124(1):10-25, 2010.
- KASPER, L. H.; MINEO, J. R. Attachment and invasion oh host cells by *Toxopalsma gondii*. *Parasitol. Today.* 10(5):184-188, 1994.
- KIM, K. AND WEISS, L. M. *Toxoplasma*: the next 100 years. *Microbes and Infection* 10: 978-984, 2008.
- KNIEL, K. E., LINDSAY, D. S., SUMMER, S. S., HACKNEY, C.R., PIERSON, M.D., DUBEY, J.P. Examination of attachment and survival of *Toxoplasma gondii* oocysts on raspberries and blueberries. *J. Parasitol.* 88: 790-793, 2002.
- KOTULA, A. W, DUBEY, J. P, SHARAR, A. K, ANDREWS, C. D, SHEN, S.K, LINDSAY, D. S. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J Food Prot* 54:687-90, 1991.
- KOURENTI, C. AND KARANIS, P. Evaluation and applicability of a purification method coupled with nested PCR for the detection of *Toxoplasma* oocysts in water. *Lett Appl Microbiol.* 43(5):475-81, 2006.
- KOURENTI, C., HECKEROTH, A., TENTER, A. AND KARANIS, P. Development and application of different methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. *Appl Environ Microbiol.* 69:102–106, 2003.

- KOURENTI, C.; KARANIS, P. Development of a sensitive polymerase chain reaction method for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. *Water Sci Technol.* 50(1):287-91, 2004.
- LE GRAND, H. System for evaluating contamination potential for some waste sites. *American Water Work Association Journal.* V.56 (8):959-974, 1964.
- LINDSAY, D.S., BLAGBURN, B.L., DUBEY, J.P. Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. *Vet. Parasitol.* 103: 309-313, 2002.
- LINDSAY, D.S., DUBEY, J.P., BUTLER, J.M., BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. *Vet Parasitol.* 15;73(1-2):27-33, 1997.
- LUFT, B.J., HAFNER, R., KORZUN, A.H., LEPORT, C., ANTONISKIS, D., BOSLER, E.M., FUHRER, J., JACOBSON, J. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077p/ANRS 009 Study Team. *N Engl J Med.* 329(14):995-1000, 1993.
- MEHLHORN, H. AND FRENKEL, J. K. Ultrastructural comparison of cysts e zoites of *Toxoplasma gondii*, *Sarcocysts muris* and *Hammondia hammondi* in skeletal muscle of mice. *J. Parasitol.* 66(1): 59-67, 1980.
- NASCIMENTO, F. S. Desenvolvimento de novas metodologias para detecção de oocistos de *Toxoplasma gondii* em fontes de água doce. 2004. vi, 43 f., il. Trabalho Monográfico - Bacharelado em Ciências Biológicas, 2004.
- NEVES, D. P. Parasitologia Humana. 6ed. Rio de Janeiro, Atheneu, p. 141-153, 1985.
- NICOLLE, C. AND MANCEAUX, L. On a new protozoan in gundis (*Toxoplasma N. Gen*). *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(2), 2009.
- ORÉFICE, F AND BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. Toxoplasmose In: Oréfice F. editor. Uveíte clínica e cirúrgica – Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica. 619-680, 2005.

- ORÉFICE, F. AND BONFIOLI, A.A. Toxoplasmose IN: ORÉFICE F. editor. Uveíte clínica e cirúrgica- Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica;. p. 619–80, 2000.
- PENA, H.F., SOARES, R.M., AMAKU, M., DUBEY, J.P., GENNARI, S.M. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Res Vet Sci.* 81(1):58-67, 2006.
- RIEMANN, H.P., MEYER, M.E., THEIS, J.H., KELSO, G. AND BEHYMER, D.E. Toxoplasmosis in an infant fed unpasteurized goat milk. *J Pediatr.* 87:573-576, 1975.
- ROBERTS, F.; MCLEOD, R. Pathogenesis of toxoplasmic retinochoroiditis. *Parasitol. Today.* 15(2): 51-57, 1999.
- RUSKIN, J. AND REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis in the compromised host. *Ann Intern Med.* 84: 193-199, 1976.
- SABIN, A. B. Toxoplasmosis, a recently recognized disease of human beings. *Adv. Pediatr.* 1(1): 1942.
- SABIN, A.B. AND FELDMAN, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science* 108: 660-663, 1948.
- SACKS, J.J., ROBERTO, R.R., BROOKS, N.F. Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. *J Am Med Assoc.* 248: 1728-1732, 1982.
- SANTOS, T.R., COSTA, A.J., TONIOLLO, G.H., LUVIZOTTO, M.C., BENETTI, A.H., SANTOS, R.R., MATTA, D.H., LOPES, W.D., OLIVEIRA, J.A., OLIVEIRA, G.P. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dairy cattle, dogs, and humans from the Jauru micro-region, Mato Grosso state, Brazil. *Vet Parasitol.* 12;161(3-4):324-6, 2009.
- SAWADOGO, P., HAFID, J., BELLETE, B., SUNG, R.T., CHAKDI, M., FLORI, P., RABERIN, H., HAMOUNI, I.B., CHAIT, A., DALAL, A. Seroprevalence of *T.gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. *Vet Parasitol* 130: 89–92, 2005.

- SCHARES, G., GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from northeastern Brazil. *Vet. Parasitol.* 160(3-4):211-4, 2009.
- SCHWAB, K.J. AND MCDEVITT, J.J. Development of a PCR-enzyme immunoassay oligoprobe detection method for *Toxoplasma gondii* oocysts, incorporating PCR controls. *Appl Environ Microbiol.* 69(10):5819-25, 2003.
- SEIPEL, D.S., BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G., SHEN, S.K., KWOK, O.C.H., LEHMAN, T., DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from a highly endemic area in Southern Brazil. *J Parasitol.* 89(2):394-396, 2003.
- SEMADS – SECRETARIA DE ESTADO DE MEIO AMBIENTE E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL. Ambiente das Águas do Estado do Rio de Janeiro. (2001). Projeto PLANÁGUA –SEMADS/GTZ / Coordenador William Weber. Rio de Janeiro. 230p.
- SHAPIRO, K., LARGIER, J., MAZET, J.A., BERNT, W., ELL, J.R., MELLI, A.C., CONRAD, P.A. Surface properties of *Toxoplasma gondii* oocysts and surrogate microspheres. *Appl Environ Microbiol.* 75(4):1185-91, 2009.
- SHEFFIELD, H. G. AND MELTON, M. L., *Toxoplasma gondii*: the oocyst, sporozoite, and infection of cultura cells. *Science*, 167, 892, 1970.
- SILVA, D. S., L. M. G. BAHIA-OLIVEIRA, S. K. SHEN, O. C. H. KWOK, T. LEHMANN, AND J. P. DUBEY. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J. Parasitol.* 89, 394–396, 2003.
- SILVA, J.C., GENNARI, S.M., RAGOZO, A.M., AMAJONES, V.R., MAGNABOSCO, C., YAI, L.E.O, FERREIRA-NETO, J.S., DUBEY, J.P. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestic cats from Guarulhos and São Paulo, Brazil. *J Parasitol.* 88(2):419-20, 2002.
- SLIFKO, T.R.; SMITH, H. V.; ROSE, J. B. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. *Int. J. Parasitol.* 30, 1379-1393, 2000.

- SPEER, C. A. AND DUBEY, J. P. Ultrastructural differentiation of *Toxoplasma gondii* schizonts (types B to E) and gamonts in the intestines of cats fed bradyzoites. *Int J Parasitol.* 35:193-206, 2005.
- SPEER, C.A., CLARK, S. AND DUBEY, J.P. Ultrastructure of the oocysts, sporocysts, and sporozoites of *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitol.* 84, 505 – 512, 1998.
- SPLENDRE, A. A new protozoan parasite of rabbit found in histological lesions similar to human Kala-Azar. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Vol. 104(2), 2009b.
- SPLENDRE, A. On a new protozoan parasite of rabbits. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(2), 2009a.
- SROKA, J., WÓJCIK-FATLA, A., DUTKIEWICZ, J. Occurrence of *Toxoplasma gondii* in water from wells located on farms. *Ann Agric Environ Med.* 13(1):169-75, 2006.
- SUAREZ-ARANDA, F., GALISTEO, A.J., HIRAMOTO, R.M., CARDOSO, R.P.A., MEIRELES, L.R., MIGUEL, O., ANDRADE, H.F. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Vet. Parasitol.* 91, 23–32, 2000.
- TENTER, A. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 104(2): 364-369, 2009.
- TENTER, A.M.; HECKEROTH, A. R. AND WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int. J. Parasit.* 30: 1217-1258, 2000.
- TEUTSCH, S.M., JURANEK, D.D., SULZER, A., DUBEY, J.P., SIKES, R.K. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *N Engl J Med.* 29:300(13):695-9, 1979.
- TORRES, C.M. Affinité de l'Encephalitozoon chagasi agent étiologique d'une méningoencephalomyélite congénitale avec myocardite et myosite chez l'homme. *C. R. Soc. Biol.* 97: 1797-1799, 1927.
- VILLENA, I., AUBERT, D., GOMIS, P., FERTE, H., INGLARD, J.C., DENIS-BISAUX, H., DONDON, J.M., PISANO, E., ORTIS, N. AND PINON, J.M. Evaluation of

strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. *Appl Environ Microbio.* 70:4035–4039, 2004.

WEINMAN, D. AND CHANDLER, A.H. Toxoplasmosis in swine and rodents. Reciprocal oral infection and potential human hazard. *Proc Soc Exp Biol Med.* 87: 211-216, 1954.

WILDER, H.C. *Toxoplasma* chorioretinitis in adults. *Arch Opthal (Chicago)* 48: 127-137, 1952.

WOLF, A. AND COWEN, D. Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalitozoon (encephalitozic encephalomyelitis) a new protozoan disease of man. *Bull. Neurol. Inst. N. Y.* 6:306, 1937.

**PROGRAMA DE LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO  
PESQUISA EM POÇOS ARTESIANOS**

1-Entrevistador:

2- LOCAL DA ENTREVISTA \_\_\_\_\_

**INFORMAÇÕES DEMOGRÁFICAS**

3- PROPRIETÁRIO OU RESPONSÁVEL PELA PROPRIEDADE:

4- SEXO: M ( )<sup>1</sup> F ( )<sup>2</sup>

5- DATA DE NASCIMENTO: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

6-NATURALIDADE:(Cidade/ Estado/ País) \_\_\_\_\_

7- TELEFONE:

Próprio ( )<sup>1</sup> \_\_\_\_\_ Contato ( )<sup>2</sup> \_\_\_\_\_ Não possui ( )<sub>0</sub>

**ENDEREÇO ATUAL**

8- RUA: \_\_\_\_\_

9-TIPO DE RESIDÊNCIA:

Apart ( )<sup>1</sup> Casa ou Duplex ( )<sup>2</sup> Outros - Especificar ( )<sup>3</sup> (\_\_\_\_\_)

10-BAIRRO: \_\_\_\_\_

11- PROPRIEDADE:

Área urbana ( )<sup>1</sup> Periferia / Subúrbio ( )<sup>2</sup> Rural ( )<sup>3</sup>

12- CIDADE: \_\_\_\_\_

13- QUANTAS PESSOAS MORAM COM VOCÊ ( contando com você ) ? ( \_\_\_\_\_ )

14- SEMPRE MOROU NESTE ENDEREÇO OU LOCAL? Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup>

15- HÁ QUANTO TEMPO VOCÊ MORA NESTE ENDEREÇO? (\_\_\_\_) OU DE QUE ANO ATÉ QUE ANO? (\_\_\_\_/\_\_\_\_)

16 - NOS ÚLTIMOS 12 MESES VOCÊ MOROU EM OUTRO ENDEREÇO? Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup>

17- QUAL A SUA PROFISSÃO? \_\_\_\_\_

## EXPOSIÇÃO À ANIMAIS :

18- VOCÊ TEM OU TEVE GATO(S) EM CASA NOS ÚLTIMOS 12 MESES?

Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup>

19- QUANTOS? (\_\_\_\_\_)

20- AONDE ELE(S) VIVE(M)?

Somente dentro de casa ( )<sup>1</sup> Dentro e fora de casa ( )<sup>2</sup> Somente fora de casa ( )<sup>3</sup>

21- SEU GATO COME CARNE CRUA? Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>9</sup>

22- SEU GATO JÁ MATOU OU MATA PÁSSAROS? Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>9</sup>

23- SEU GATO JÁ MATOU OU MATA RATOS OU OUTROS ROEDORES?

Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>9</sup>

24- GATOS DE VIZINHOS FREQUENTAM OU FREQUENTARAM A SUA CASA/PROPRIEDADE NOS ÚLTIMOS 12 MESES?

Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup>

---

*Se Não, passe para a pergunta N.º 25*

---

### Frequência :

Nunca ( )<sup>1</sup> Raramente ( )<sup>2</sup> Às Vezes ( )<sup>3</sup> Frequentemente ( )<sup>4</sup> Sempre ( )<sup>5</sup>

25- VOCÊ SE LEMBRA DE TER VISTO FEZES DE GATOS PRÓXIMO Á SUA CASA OU EM ALGUM LUGAR ONDE ESTEVE NOS ÚLTIMOS 12 MESES?

Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>9</sup>

### OUTROS ANIMAIS:

26- NOS ÚLTIMOS 12 MESES VOCÊ TEVE ALGUM OUTRO TIPO DE ANIMAL DE ESTIMAÇÃO QUE NÃO SEJA GATOS?

Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup>

---

*Se Não, passe para a pergunta N.º 28*

---

27- QUAIS?	Cachorro ( ) <sup>1</sup>	Porco ( ) <sup>2</sup>	Roedores ( ) <sup>3</sup>	Galinha ( ) <sup>4</sup>
	Passarinho/Pássaros ( ) <sup>5</sup>	Coelho ( ) <sup>6</sup>	Réptil ( ) <sup>7</sup>	Pombo ( ) <sup>10</sup>
	Outros ( _____ ) <sup>11</sup>			

28- ALGUM VIZINHO POSSUI ANIMAIS? Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup>  
QUAIS? \_\_\_\_\_

29- EXISTEM POMBOS PRÓXIMOS A SUA CASA? Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>9</sup>

30- VOCÊ PARTICIPOU DO NASCIMENTO DE ALGUM ANIMAL NOS ÚLTIMOS 12 MESES (tocando, segurando)?

Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>8</sup>

*Se Não, passe para a pergunta N<sup>o</sup> 32*

31- QUAIS ?	Gato ( ) <sup>1</sup>	Porco ( ) <sup>2</sup>	Carneiro ( ) <sup>3</sup>	Galinha ( ) <sup>4</sup>
	Cachorro ( ) <sup>5</sup>	Coelho ( ) <sup>6</sup>	Bode/Cabra( ) <sup>7</sup>	Vaca ( ) <sup>10</sup>
	Outros ( _____ ) <sup>11</sup>	Cavalo ( ) <sup>12</sup>		

32- VOCÊ MEXEU COM TERRA OU EM JARDINS NOS ÚLTIMOS 12 MESES?

Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não sabe ( )<sup>9</sup>

33- EM ALGUMAS DESSAS ATIVIDADES PRATICADAS NOS ÚLTIMOS 12 MESES VOCÊ SE LEMBRA DE TER VISTO FEZES DE GATO ?

Não ( )<sup>0</sup> Algumas Vezes( )<sup>2</sup> Sempre( )<sup>3</sup> Não se lembra( )<sup>9</sup>

34- NOS ÚLTIMOS 12 MESES QUANDO VOCÊ MEXEU COM TERRA OU EM JARDINS (jardinagem), VOCÊ TINHA O COSTUME DE LAVAR AS MÃOS ?

Não ( )<sup>0</sup> Algumas Vezes( )<sup>2</sup> Sempre( )<sup>3</sup> Não se lembra( )<sup>9</sup>

**EXPOSIÇÃO POR ALIMENTAÇÃO:**

VOCÊ AGORA IRÁ ME RESPONDER SOBRE O QUE VOCÊ COMEU DURANTE OS ÚLTIMOS 12 MESES E COM QUE FREQUÊNCIA, OK?

Alimentos	Come			Frequência		
	sim	não	7 ou + vezes por semana	2 a 3 vezes por semana	1 vez por mês	menos de 1 vez no mês
35- galinha de granja (aviário)	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
36-miúdo de galinha (coração, moela)	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
37- galinha caipira da roça	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
38-pato	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
39-rolinha	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
40-pombo	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
41-carne de boi	( )	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>

(bife)	1					
42-carne de boi mal passada	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
43-bife de fígado(boi)	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
44-carne de porco (Carré)	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
45-carne de porco mal passada	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
46-lingüiça	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
47-chouriço	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
48-quibe cru	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
49-churrasquinho	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
50-cachorro quente	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
51-sanduíche	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
52-pizza	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
53-bacon	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
54-presunto	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
55-mortadela	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
56-salsicha	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
57-patê	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
58-maionese de lanchonete ou caseira	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
59-coelho	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
60-carneiro	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
61-cabra / bode	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
62-gato	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
63-cachorro	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$
64-tatu	$\binom{1}{1}$	$\binom{0}{1}$	$\binom{1}{1}$	$\binom{4}{1}$	$\binom{5}{1}$	$\binom{6}{1}$

	1					
65-gambá	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
66-preá	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
67-paca	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
68-leite de vaca da roça	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
69-leite de cabra da roça	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
70-queijo da roça	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
71-manteiga da roça	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
72-leite de saquinho ou caixinha	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
73-leite de soja	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
74-iogurte caseiro	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
75-iogurte comercial (mercado)	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
76-pacu-paco granja ( ) <sup>1</sup> roça ( ) <sup>2</sup>	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
<b>Alimentos</b>	<b>sim</b>	<b>não</b>	<b>7 ou + vezes por semana</b>	<b>2 a 3 vezes por semana</b>	<b>1 vez por mês</b>	<b>menos de 1 vez no mês</b>
77-ovo-quente granja ( ) <sup>1</sup> roça ( ) <sup>2</sup>	( ) <sub>1</sub>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
78-gemada granja ( ) <sup>1</sup> roça ( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
79-ovos de granja	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
80-ovos da roça	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
81-sorvete cas. ( ) <sup>1</sup> comer.( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
82-picolé cas. ( ) <sup>1</sup> comer.( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
83-sacolé cas. ( ) <sup>1</sup> comer.( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
84-legumes cas.( ) <sup>1</sup> rest. ( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
85-verduras (folhas) cas.( ) <sup>1</sup> rest. ( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>
86-frutas cas.( ) <sup>1</sup> rest. ( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>

**VOCÊ COMEU DURANTE OS ÚTIMOS 12 MESES ?**

Órgãos :	Animais							
	não come	Boi	Porco	Aves	Cabra/Bode	Carneiro	Outros	não sabe
87-fígado	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>	( ) <sup>9</sup>
88-língua	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>	( ) <sup>9</sup>
89-cérebro (miolo)	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>	( ) <sup>9</sup>
90-coração	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>	( ) <sup>9</sup>
91-pâncreas	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>6</sup>	( ) <sup>9</sup>

**EXPOSIÇÃO À BEBEBIDAS (EXCLUINDO LEITE)**

**NOS ÚTIMOS 12 MESES** qual foi o tipo de água utilizada na sua casa?

Tipos de água	sim	não	não sabe
92-água de poço	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>9</sup>
93-água da bica	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>9</sup>
94-água filtrada	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>9</sup>
95-água mineral	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>	( ) <sup>9</sup>

Caso a resposta para o N<sup>o</sup> 92 seja **SIM** responder o N<sup>o</sup> 96 e 97

96- QUANTAS FAMILÍAS/PROPRIEDADES UTILIZAM DESTA ÁGUA? (\_\_\_\_\_)

97- A QUE DISTÂNCIA ESTAS FAMILÍAS ESTÃO DO POÇO? (\_\_\_\_\_)

Você agora irá me responder sobre o que você tem bebido e qual a quantidade (**NOS ÚTIMOS 12 MESES**) o.k?

Tipos de bebidas	bebe		quantidade					não soube responder
	sim	não	+ de 10 copos / dia	7 a 9 copos / dia	4 a 6 copos / dia	1 a 3 copos / dia	menos de 1 copo/ dia	
98-água filtrada (filtro de barro ou de parede)	( ) <sub>1</sub>	( ) <sub>0</sub>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>9</sup>
99-água não filtrada	( ) <sub>1</sub>	( ) <sub>0</sub>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>9</sup>
100-alguma bebida feita c/ água não filtrada	( ) <sub>1</sub>	( ) <sub>0</sub>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>9</sup>
101-água de poço	( ) <sub>1</sub>	( ) <sub>0</sub>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>9</sup>
102-alguma bebida feita c/ água de poço	( ) <sub>1</sub>	( ) <sub>0</sub>	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>2</sup>	( ) <sup>3</sup>	( ) <sup>4</sup>	( ) <sup>5</sup>	( ) <sup>9</sup>

103- **NOS ÚTIMOS 12 MESES** você bebeu água diretamente de lago, rio, córrego?  
 Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>9</sup>

104- Aonde?

---

105- **NOS ÚTIMOS 12 MESES** você bebeu água diretamente da torneira (“bica”)?  
Sim ( )<sup>1</sup> Não ( )<sup>0</sup> Não Sabe ( )<sup>9</sup>

106-

Aonde?

---

107- Caso tenha filtro em casa qual a frequência que este é trocado ou lavado, **NOS ÚTIMOS 12 MESES?**

1 vez / semana	( ) <sup>1</sup>	+ de 1 vez por semana	( ) <sup>2</sup>	menos de 1 vezes / mês	( ) <sup>3</sup>
1 vez / mês	( ) <sup>4</sup>	2 a 3 vezes por mês	( ) <sup>5</sup>	não sabe	( ) <sup>9</sup>

OSERVAÇÕES:

	SIM	NÃO
108- Animais soltos no peridomicílio?	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>
109- Casa com muro?	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>
110- Poços cobertos	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>
111- Esgoto a Céu aberto?	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>
112- Possui rede de esgoto?	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>
113- Possui fossa?	( ) <sup>1</sup>	( ) <sup>0</sup>

114- Onde é a fossa?

---

## TERMO DE CONSENTIMENTO Livre e Esclarecido

Eu,.....  
respondendo por..... recebi informações sobre o projeto de pesquisa intitulado “Fatores genéticos e imunológicos associados a retinocoroidites toxoplásmicas em indivíduos de diferentes grupos etários em área hiper-endêmica”. Estou ciente de que as informações obtidas por este tipo de pesquisa podem auxiliar na compreensão dos mecanismos que contribuem para maior ou menor possibilidade de desenvolvimento da doença ocular causada pela toxoplasmose. Concordo em participar como voluntário no referido projeto de pesquisa desenvolvido na Universidade Estadual do Norte Fluminense. A minha participação é voluntária e será limitada à doação de amostras de sangue venoso, e aos exames oftalmológicos, sobre os quais recebi a orientação dos possíveis riscos e desconfortos. Tais desconfortos podem ser pequena dor no momento da picadura e a formação de hematomas, após a coleta do sangue e, visão turva durante um período de minutos ou alguma horas, após o exame oftalmológico.

Tenho consciência que a minha participação como voluntário(a) não me trará nenhum benefício financeiro. No entanto, conhecer a minha sorologia para toxoplasmose traz-me o benefício de poder planejar, caso eu seja imune, visitas regulares a oftalmologistas para acompanhamento. Bem como estou consciente de que conhecer a condição de imunidade ao *Toxoplasma gondii* previamente à gravidez traz o benefício da orientação de prevenção da infecção congênita (isto é, durante a gravidez) necessária em indivíduos não imunes.

Caso eu concorde em participar como voluntário(a) neste projeto de pesquisa, os meus dados não serão revelados a ninguém e a minha identidade será preservada. Sei também que para preservar minha identidade, serão utilizados códigos, ao invés de nomes, durante todas as etapas do estudo.

Fui informado(a) de que não devo esperar resultados imediatos ou pessoais a não ser o do diagnóstico sorológico e do exame ocular, e que poderei a qualquer momento me retirar do projeto de pesquisa, por qualquer motivo, sem que isso acarrete em prejuízo à continuidade do meu acompanhamento médico como também a nenhum outro indivíduo do meu convívio ou membro de minha família. Estou ciente que o sangue que forneci, para o referido projeto de pesquisa, será enviado ao exterior, onde parte das análises será feita e, posteriormente, armazenado ou eliminado, segundo minha autorização expressa no termo de consentimento para estocagem e uso futuro de espécimes coletadas.

Qualquer dúvida dirigir-se ao Laboratório de Biologia do Reconhecer (UENF) ou aos pesquisadores envolvidos referidos abaixo:

Profa. LÍlian Maria Garcia Bahia Oliveira

Telefone: (22)27261647 / 27625951

*Campos dos Goytacazes, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_*

\_\_\_\_\_  
*Assinatura do voluntário*

\_\_\_\_\_  
*Assinatura do pesquisador responsável*

# 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](#)