

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
NÚCLEO DE DOENÇAS INFECTO-CONTAGIOSAS
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

MARCUS ALEXANDRE VAILLANT BELTRAME

**LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO E ISOLAMENTO
DO *Toxoplasma gondii* EM GALINHAS CAIPIRAS (*Gallus gallus
domesticus*) NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

VITÓRIA

2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

MARCUS ALEXANDRE VAILLANT BELTRAME

**LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO E ISOLAMENTO
DO *Toxoplasma gondii* EM GALINHAS CAIPIRAS (*Gallus gallus
domesticus*) NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para obtenção de título de Mestre em Doenças Infecciosas

Orientador: Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira

VITÓRIA

2010

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)
(Biblioteca Central da Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)

B453I Beltrame, Marcus Alexandre Vaillant, 1981-
Levantamento soroepidemiológico e isolamento do
toxoplasma gondii em galinhas caipiras (*Gallus gallus
domesticus*) no Estado do Espírito Santo, Brasil / Marcus
Alexandre Vaillant Beltrame. – 2010.
126 f. : il.

Orientador: Fausto Edmundo Lima Pereira.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Espírito
Santo, Centro de Ciências da Saúde.

1. Toxoplasmose em animais. 2. *Toxoplasma gondii*. 3.
Galinha. 4. Sorologia. I. Pereira, Fausto Edmundo Lima. II.
Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências da
Saúde. III. Título.

CDU: 61



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS INFECCIOSAS
MESTRADO EM DOENÇAS INFECCIOSAS

PARECER ÚNICO DA COMISSÃO JULGADORA DE
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

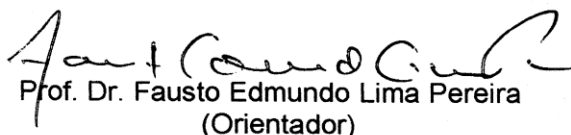
O mestrando MARCUS ALEXANDRE VAILLANT BELTRAME, apresentou dissertação intitulada: "LEVANTAMENTO SOROEPIDEMIOLÓGICO E ISOLAMENTO DO *TOXOPLASMA GONDII* EM GALINHAS CAIPIRAS (*GALLUS GALUS DOMESTICUS*) NO ESTADO DO ESPÍRITO SANTO, BRASIL" em sessão pública, como requisito final para obtenção do título de **Mestre em Doenças Infecciosas**, do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo.

Considerando a apresentação oral dos resultados, a qualidade e relevância dos mesmos, a Comissão Examinadora da Dissertação decidiu, **aprovar sem restrições**, a dissertação e habilitar o médico veterinário MARCUS ALEXANDRE VAILLANT BELTRAME, a obter o Grau de MESTRE EM DOENÇAS INFECCIOSAS.

Vitória-ES, 24 de maio de 2010


Prof. Dra. Hilda Fátima de Jesus Pena


Prof. Dra. Elenice Moreira Lemos


Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira
(Orientador)

À minha esposa, meus pais e irmãos que
sempre estiveram ao meu lado, apoiando-me e
incentivando-me a tentar, mesmo que corresse
o risco de errar.

AGRADECIMENTOS

Espero lembrar-me de todos aqueles que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho bem como, para a minha formação profissional e pessoal.

A Deus, que me permitiu chegar até aqui.

A minha esposa, Trycia Ferrari Beltrame, pelo companheirismo, amizade, compreensão e ilimitado amor, dedicados todos estes anos. Sempre terei uma eterna gratidão por isso.

Aos meus pais, Derval Antônio Beltrame e Ormenzinda Vaillant Beltrame, pelo incondicional incentivo na escolha e exercício da profissão, e que, sempre foram figuras em quem me espelhei por sua ética e dedicação profissional.

Aos meus irmãos, Vanessa Vaillant Beltrame e Derval Antônio Beltrame Júnior, pelo apoio, companheirismo e amizade, cujas qualidades espero que nunca se acabem.

Aos meus tios, Lúcia e Rogério, Luiz e Zélia, e respectivas filhas Manu, Lorena e Bruna por todo o carinho.

Aos meus queridos sogros, Raulino Machado Filho e Rúbia Ferrari Machado, e avós, Capitão Jovelino Ferrari e Vera Lyra Ferrari pelo fundamental apoio e amizade.

A todos os familiares e amigos pelo incentivo sempre dispendido. Em especial aos tios, Adinalte João Beltrame (Tio Valtinho) e Carmen Travassos Beltrame (Tia Carminha), Sandra Beltrame e Gildo Pestana, pelo olhar carinhoso com que sempre me envolveram.

A Oliens Wanzeler e Eloi, meus amigos, que sempre me apoiaram no desenvolvimento de minha profissão.

Ao Dr. Pedro Luiz pelo apoio dispensado.

Aos amigos conquistados Gilton Luiz Almada, Carlos Alexandre de Mello Libardi, Gilberto Marcos Junior, Graziela Barioni, Fernando Luiz Tobias, Fábio Porto Sena e Silvia Maria Machado e demais colegas de trabalho que me apoiaram e souberam compreender minhas ausências.

Ao amigo Nielton César Ton pela colaboração especial no trabalho.

Ao meu orientador, Professor Fausto Edmundo Lima Pereira que, antes mesmo de conhecer sua história profissional, já havia me tornado seu grande admirador. Hoje, conhecendo um pouco mais suas proezas, tenho ainda mais certeza dessa admiração. A experiência profissional não está, somente, na execução de inúmeras pesquisas e apresentação dos resultados para a sociedade acadêmica, mas também na capacidade de perceber nos outros suas dificuldades e, mesmo assim, procurar meios para incentivá-los a desenvolver suas atividades impondo, como única regra, dedicação ao trabalho. Sua disponibilidade e acessibilidade como orientador me impressionaram, principalmente ao perceber o quanto já trilhou e, ainda assim, o alto astral e pensamento positivo permanecem vivos como se fosse a primeira vez.

A Fátima, secretaria do curso de Pós-graduação, por sua presteza e puxões de orelha quando necessário.

Aos amigos da turma do mestrado 2008, com quem pude conviver, embora fosse o penetra da turma.

Aos professores das disciplinas do mestrado pelos ensinamentos e acessibilidade para o esclarecimento das dúvidas.

As professoras, Dra. Solange Maria Gennari e Dra. Hilda Fátima de Jesus Pena, pela especial colaboração na continuidade do trabalho, possibilitando que ficasse ainda melhor.

Aos proprietários que permitiram a realização desta pesquisa, e aos animais, instrumentos desta pesquisa.

Ao Instituto Biológico do Espírito Santo-IBEES, Dr. Raphael Reinaldo Pagotto, Dr. Luiz Carlos Barbosa Tavares, Dra. Paola Gisela Carvalho Santos, Dra. Karina Miranda Marinho, Dra. Adriana Pereira Rampinelli e demais técnicos pela fundamental colaboração, atendendo prontamente às minhas solicitações, para o bom desempenho desta tarefa.

Ao Centro Universitário Vila Velha-UVV pela fundamental contribuição na realização deste trabalho.

*“A adversidade desperta em nós capacidades
que, em circunstâncias favoráveis, teriam
ficado adormecidas.” (Horácio)*

*“Quem nunca errou nunca tentou.”
(Albert Einstein)*

RESUMO

Introdução. A prevalência de infecção por *Toxoplasma gondii* em galinhas caipiras varia nas diferentes regiões e não se conhece a prevalência em galinhas caipiras no Estado do Espírito Santo. **Objetivo.** Estudar a prevalência da infecção por *T. gondii* em galinhas caipiras de municípios do E. Santo, tentar o isolamento do parasito nos tecidos de aves positivas e aplicar um questionário entre as pessoas que vivem nas propriedades nas quais as amostras foram tomadas, para verificar o conhecimento sobre o parasita e a doença que ele pode causar. **Métodos.** Pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* no soro de 510 galinhas de oito municípios do E. Santo, utilizando testes de hemaglutinação indireta (HAI) e aglutinação modificado (MAT). Em 64 aves soropositivas foi realizado o bioensaio em camundongos a partir de macerados do músculo da coxa, coração e encéfalo. Questionários foram aplicados para avaliar variáveis relacionadas a doença. **Resultados.** De 510 aves, foram soropositivas 40,4% (IC 95%: 36,1-44,7) no HAI e 38,8% (IC 95%: 34,6-43) no MAT. Das 64 galinhas submetidas ao bioensaio, isolou-se em 48 (75%; IC 95%: 85,6-64,4), com mortalidade ocorrendo entre 10 e 31 dias após a infecção, e em duas houve soroconversão. **Conclusões.** (a) Detectou-se alta prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas caipiras no E. Santo, com grande frequência de isolamento do protozoário; (b) A alta mortalidade dos camundongos utilizados no bioensaio pode estar relacionada com a virulência das cepas isoladas; (c) HAI teve concordância de 82% com o MAT, podendo ser indicado como teste de triagem para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas; (d) A presença de gatos soltos e em promiscuidade com as aves e demais espécies ocorreu em 73% das propriedades avaliadas; (e) O questionário aplicado revelou desconhecimento dos entrevistados sobre o protozoário, a doença que ele pode causar e seus meios de transmissão.

Palavras-chave: Toxoplasmose, *Toxoplasma gondii*, galinhas caipiras, sorologia, isolamento, bioensaio.

ABSTRACT

Introduction. The prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in free-range chickens varies in different regions and we do not know the prevalence of this infection in free-range chickens in the state of Espírito Santo. **Objective.** To study the prevalence of infection by *T. gondii* in free-range chickens from different municipalities of the E. Santo, to try the isolation of the parasite from tissues of positive chickens and to search the knowledge on the parasite and the disease it produces among people living in the rural properties from which the samples were collected. **Methods.** Detection of anti-*T. gondii* in the serum of 510 chickens from rural areas of eight municipalities of E. Santo, using indirect hemagglutination (IHA) and modified agglutination test (MAT). Bioassay was conducted in mice by intraperitoneal injection of macerated of thigh muscle, brain and heart from 64 positive chickens. Questionnaires were used to assess environmental conditions related to the protozoan in each farm and the knowledge of people on the parasite. **Results.** Anti-*T. gondii* antibodies were detected in 40.4% (95% CI: 36.1 to 44.7) by IHA and 38.8% (95% CI: 34.6 to 43) by MAT. Among the 64 chickens submitted to bioassay, the parasite was isolated from 48 (75%, 95% CI: 85.6 to 64.4), with mortality occurring from 10 through 31 days after infection, and in two chickens presented seroconversion. **Conclusions.** (a) A high prevalence of anti-*T. gondii* antibodies with high frequency of parasite isolation from positive chickens, was observed in free range chickens in E. Santo; (b) The high mortality observed in mice used in the bioassay may be in relationship with the virulence of isolated strains; (c) There was good concordance (82%) between IHA and MAT, therefore IHA may indicated as a screening test for anti-*T. gondii* antibodies in chickens; (d) presence of cats in promiscuity with birds and other species occurred in 73% of the properties and (e) The questionnaire revealed ignorance of the people living in the visited farms about the protozoan, the disease it produces and its transmission mechanisms.

Keywords: Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, free-range chickens, sorology, isolation, bioassay.

LISTAS

LISTA DE QUADROS

Quadro 1.	Prevalência de sorologia positiva para <i>Toxoplasma gondii</i> em galinhas e demais espécies em diferentes países com, ou sem, isolamento do protozoário.	42
Quadro 2.	Prevalência de sorologia positiva para <i>Toxoplasma gondii</i> em galinhas e demais espécies no Brasil com, ou sem, isolamento do protozoário.	43
Quadro 3.	Características biológicas e epidemiológicas dos principais genótipos de <i>Toxoplasma gondii</i> (MAUBON et al., 2008).	47
Quadro 4.	Características geográficas dos municípios amostrados para pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> , segundo IBGE, Espírito Santo, 2007.	54

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Desenhos esquemáticos da forma taquizoíta (esquerda) e bradizoíta (direita) e suas estruturas celulares (DUBEY & BEATTIE, 1988).	26
Figura 2.	Figura 2. A- Oocisto não esporulado; B- Oocisto esporulado contendo dois esporocistos onde, em um deles, 4 esporozoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> podem ser vistos (DUBEY & BEATTIE, 1988).	27
Figura 3.	Ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i> : o desenvolvimento no hospedeiro intermediário é ilustrado abaixo da barra horizontal e o desenvolvimento no hospedeiro definitivo é ilustrado acima da barra horizontal. Os estágios infectantes, isto é, os taquizoítos, cistos contendo bradizoítos e oocisto esporulado, contendo esporozoítos também estão evidentes (TENTER et al., 2000)	31
Figura 4.	Ciclo biológico do <i>Toxoplasma gondii</i> (modificado de DUBEY & BEATTIE, 1998).	34
Figura 5.	Importância relativa de animais de produção de carne e animais	

	de caça na transmissão do <i>Toxoplasma gondii</i> para humanos (adaptado por TENTER et al., 2000).	39
Figura 6.	Mapa do Estado do Espírito Santo – Divisão Político-Administrativa, mostrando os oito municípios usados (circulados) para pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> , Brasil, 2007. http://www.es.gov.br/site/espírito_santo/mapas.aspx (acesso em 15 de ago. 2009)	53

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Número de galinhas usadas na pesquisa de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> , segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.	54
Tabela 2.	Distribuição da freqüência de galinhas soronegativas e soropositivas para anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> através dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) e aglutinação modificado (MAT), segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.	66
Tabela 3.	Resultados dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) e aglutinação modificado (MAT), para pesquisa de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> , segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.	66
Tabela 4.	Comparação dos resultados da sorologia para identificação de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em galinhas caipiras, obtidos por meio dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) com títulos $\geq 1:16$ e aglutinação modificado (MAT) com títulos $\geq 1:25$, para base de cálculo de coeficientes, ES, 2007.	67
Tabela 5.	Comparação dos resultados da sorologia para identificação de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em galinhas caipiras, obtidos por meio dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) com	

	títulos $\geq 1:32$ e aglutinação modificado (MAT) com títulos $\geq 1:25$, para base de cálculo de coeficiente, ES, 2007.	67
Tabela 6.	Distribuição dos títulos de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> obtidos pelos testes de hemaglutinação indireta (HAI) em galinhas, naturalmente infectadas, no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.	68
Tabela 7.	Número de bioensaios positivos de <i>Toxoplasma gondii</i> de galinhas, naturalmente infectadas, segundo o título de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> no teste de hemaglutinação indireta (HAI) e o número respectivo de bioensaios realizados em camundongos, Espírito Santo, 2007.	69
Tabela 8.	Número de bioensaios de tecidos de galinhas realizados em camundongos e número de isolados de <i>Toxoplasma gondii</i> obtidos, segundo o município de procedência das galinhas no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.	70
Tabela 9.	Bioensaio em camundongos para o isolamento de <i>Toxoplasma gondii</i> de galinhas, naturalmente infectadas, através de bioensaio em camundongos, segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo e título de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> no teste de hemaglutinação indireta (HAI) e resultado do teste de aglutinação modificado (MAT) das galinhas, Espírito Santo, 2007.	71
Tabela 10.	Distribuição da frequência de galinhas com isolamento do <i>Toxoplasma gondii</i> , soronegativas e soropositivas para anticorpos anti- <i>T. gondii</i> através do teste de aglutinação modificado (MAT).	73

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µl	Microlitros
µm	Micrômetro
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i> ; SIDA = Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
BrI	Linhagem clonal brasileira de <i>Toxoplasma gondii</i>
BrII	Linhagem clonal brasileira de <i>Toxoplasma gondii</i>
BrIII	Linhagem clonal brasileira de <i>Toxoplasma gondii</i>
BrIV	Linhagem clonal brasileira de <i>Toxoplasma gondii</i>
Caip.	Caipiras
COBEA	Conselho Brasileiro de Experimentação Animal
ELFA	<i>Enzyme Linked Fluorescent Assay</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
g	Força G (gravitacional)
HAI	Hemaglutinação indireta
I	Isolamento
IBEES	Instituto Biológico do Estado do Espírito Santo
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IC	Intervalo de confiança
IDAF	Instituto de Defesa Agroflorestal do Estado do Espírito Santo
IFAT	<i>indirect immunofluorescent antibody test</i>
IgG	Imunoglobulina G
Isol.	Isolamento
LAT	<i>Latex agglutination test</i> ; Teste de aglutinação em látex
loci	Conjunto de locus = local fixo num cromossomo onde está

	localizado determinado gene ou marcador genético
MAD	Método de aglutinação direta
MAT	<i>Modified agglutination test</i> ; Teste de aglutinação modificado
mL	Mililitros
mm	Milímetros
n	Número
°C	Graus Celsius
PBS	<i>Phosphate buffered saline</i>
PCR	<i>Polimerase chain reaction</i> ; Reação em cadeia pela polimerase
PCR-RFLP	<i>Polimerase chain reaction- restriction length fragment polymorphism</i>
pH	Potencial hidrogeniônico
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
ROP	Antígeno da roptria de <i>Toxoplasma gondii</i>
rpm	Rotações por minuto
S	Sorologia
SAG	Antígeno de superfície de <i>Toxoplasma gondii</i> ligado a âncoras de glicosil-fosfatidil-inositol
UFES	Universidade Federal do Espírito Santo
UI	Unidade Internacionais
USP	Universidade de São Paulo
UVV	Centro Universitário Vila Velha
VPS	Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA	24
1.1 Generalidades sobre <i>Toxoplasma gondii</i>	24
1.2 Ciclo evolutivo do <i>Toxoplasma gondii</i>	27
1.3 Aspectos clínicos da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> nas diferentes espécies	32
1.4 Aspectos epidemiológicos da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> no homem	35
1.5 Aspectos epidemiológicos da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em animais domésticos	37
1.6 Estudos epidemiológicos da infecção por <i>Toxoplasma gondii</i> em animais domésticos	40
1.7 Características genéticas de <i>Toxoplasma gondii</i>	44
2. OBJETIVOS	50
2.1 Objetivo geral	50
2.2 Objetivos específicos	50
3. MATERIAL E MÉTODOS	52
3.1 Amostras	52
3.2 Colheita de sangue	55
3.3 Exame sorológico para pesquisa de anticorpos IgG anti-<i>T. gondii</i>	55
3.3.1 Teste de Hemaglutinação Indireta (HAI)	55

3.3.2	Teste de Aglutinação Modificado (MAT)	57
3.4	Isolamento do <i>Toxoplasma gondii</i>	58
3.4.1	Esfregaços para detecção imediata do parasita	59
3.4.2	Bioensaio em camundongos para isolamento do parasita	59
3.4.2.1	Digestão péptica dos tecidos	60
3.4.2.2	Inoculação em camundongos	60
3.4.3	Seguimento dos animais após a inoculação	61
3.4.4	Armazenamento de amostras de tecido para estudos posteriores	61
3.5	Avaliação epidemiológica da propriedade	62
3.6	Análise estatística	62
4.	RESULTADOS	65
4.1	Resultados da pesquisa de anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> ..	65
4.2	Resultados do isolamento do <i>Toxoplasma gondii</i>	68
4.3	Resultados dos questionários aplicados nas diferentes propriedades	73
5.	DISCUSSÃO	76
5.1	Análise crítica da amostra estudada	76
5.2	Prevalência da sorologia positiva por <i>Toxoplasma gondii</i> observada na amostra em relação a outras regiões do Brasil	76
5.3	Frequência do isolamento do <i>Toxoplasma gondii</i>	79
5.4	Comparação dos resultados da sorologia feita com o HAI e MAT	82
5.5	Informações obtidas com os questionários aplicados nas	

propriedades onde as amostras foram colhidas	83
5.6 A possibilidade de infecção com <i>Neospora caninum</i> na amostra estudada	84
5.7 Potencial das galinhas caipiras como possíveis transmissoras do <i>Toxoplasma gondii</i> para o homem	85
6. CONCLUSÕES	88
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
APÊNDICE A – DADOS DA PROPRIEDADE	106
APÊNDICE B – DADOS DOS ENTREVISTADOS	107
APÊNDICE C – LISTAGEM DOS ANIMAIS AMOSTRADOS	108
APÊNDICE D – RESULTADO DO INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DA PROPRIEDADE	118
APÊNDICE E – RESULTADO DO INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DOS ENTREVISTADOS	122
APÊNDICE F – RESULTADOS DA FREQUENCIA SOROLÓGICA PELO TESTE DE HEMAGLUTINAÇÃO INDIRETA	125
APÊNDICE G – RESULTADOS DA FREQUENCIA SOROLÓGICA PELO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADO	126

INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Generalidades sobre *Toxoplasma gondii*

A infecção por *Toxoplasma gondii* é uma das mais comuns protozoonoses de distribuição mundial e tem como hospedeiros definitivos os felídeos (incluindo o gato) e como hospedeiros intermediários, numerosas outras espécies de mamíferos e aves, inclusive o homem. *Toxoplasma gondii* (gr. *Toxo*, arco; *plasma*, forma), foi descoberto, casualmente, em 1908, quase ao mesmo tempo e, independentemente, pelo pesquisador italiano Alfonso Splendore, trabalhando no Brasil, em um coelho que faleceu de paralisia em São Paulo e, logo em seguida, por Charles Nicolle e Luis Herbert Manceaux, no gundi (*Ctenodactylus gundi*), um roedor do norte da África, quando pesquisavam leishmaniose e febre tifóide (REY, 2008). Em 1948, Sabin & Feldman desenvolveram um método diagnóstico sorológico que permitiu associar as diferentes formas clínicas da doença ao *T. gondii* (REY, 2008).

Toxoplasma gondii é um parasita intracelular obrigatório que pertence ao filo *Apicomplexa* e à classe *Sporozoea* (= Sporozoa), sendo, portanto, um esporozoário muito próximo, morfológicamente, dos coccídios e dos plasmódios. Na classificação moderna está alocado na família *Sarcocystidae* (REY, 2008).

T. gondii apresenta polimorfismo durante o seu ciclo evolutivo, sendo caracterizadas as seguintes formas do parasita: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos (ocistos).

O taquizoíta, forma ativa do parasita, tem formato crescente, mede de 04 a 08µm de comprimento, por 02 a 04µm de largura com um pólo anterior pontiagudo e um posterior arredondado, e possui uma ultraestrutura complexa contendo várias organelas e corpos de inclusão (Figura 1).

Os bradizoítos possuem uma morfologia idêntica aos taquizoítos, mas expressam moléculas estágio específicas, têm um metabolismo distinto e é a única forma capaz de diferenciar os indivíduos para a fase sexual do ciclo (denominados gamontes). São encontrados nos cistos teciduais que podem medir de 05 a 100µm e conter de quatro a centenas de bradizoítos (DUBEY & BEATTIE, 1988). Os bradizoítos se multiplicam lentamente nos cistos, razão pela qual o número das formas encontradas em cada cisto varia de acordo com o tempo da infecção.

Os bradi e taquizoítos de *T. gondii* se assemelham aos de um coccídio, possuindo um corpo alongado, encurvado em arco ou crescente, e com uma das extremidades mais atenuada que a outra, lembrando a forma de uma banana. Coram-se com alguma dificuldade. A extremidade é mais delgada, denominada complexo apical, possui motilidade e participa das ações necessárias à penetração nas células do hospedeiro (REY, 2008).

Os oocistos são as formas do parasita que são eliminadas nas fezes dos felídeos, os hospedeiros definitivos. São células que medem de 10 a 12 µm, com parede celular bem evidente (Figura 2) que se originaram da fusão dos gamontes masculino e feminino no epitélio intestinal (REY, 2008).

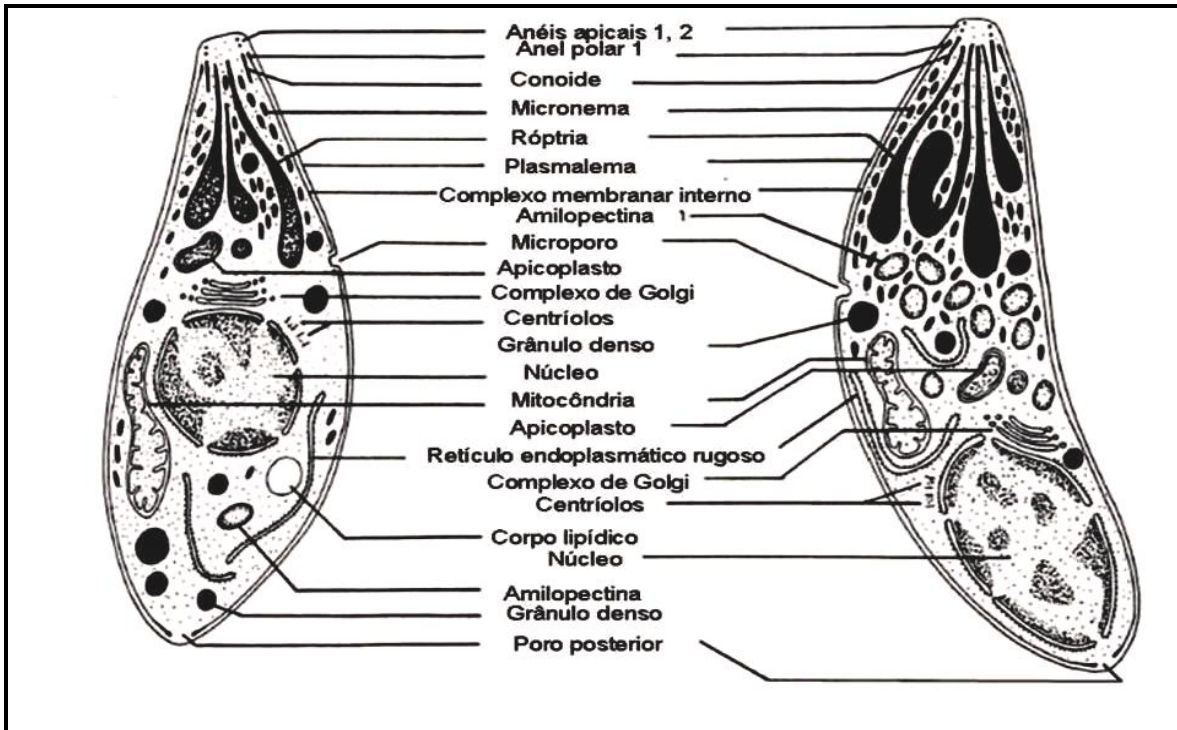


Figura 1. Desenhos esquemáticos da forma taquizoíta (esquerda) e bradizoíta (direita) e suas estruturas celulares (DUBEY & BEATTIE, 1988).

O hospedeiro pode se contaminar pela transmissão horizontal, por três tipos diferentes de estágios infectantes do parasita: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos (ocistos). Embora esses três estágios estejam presentes nos felídeos, apenas dois apresentam-se no hospedeiro intermediário: os taquizoítos presentes na fase aguda da infecção e os cistos contendo bradizoítos, que aparecem nos tecidos na fase tardia ou crônica da infecção (DUBEY & BEATTIE, 1988; TENTER et al., 2000).

A infecção por *T. gondii* geralmente é controlada e o parasita persiste no hospedeiro por longo tempo, sem manifestações de sua presença (toxoplasmose infecção), mas algumas vezes produz lesões com manifestações importantes

(toxoplasmose doença), especialmente nas infecções congênitas e em hospedeiros imunossuprimidos (REY, 2008).

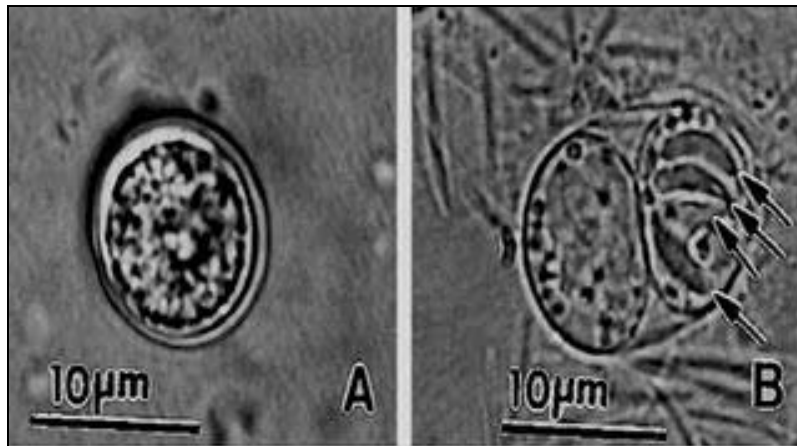


Figura 2. A- Oocisto não esporulado; B- Oocisto esporulado contendo dois esporocistos onde, em um deles, 4 esporozoítos (setas) de *Toxoplasma gondii* podem ser vistos (DUBEY & BEATTIE, 1988).

1.2 Ciclo evolutivo do *Toxoplasma gondii*

Os felinos domésticos e silvestres são os hospedeiros definitivos, e o homem, outros mamíferos e aves são os hospedeiros intermediários do protozoário. O gato (*Felis catus domesticus*) é o principal hospedeiro definitivo do protozoário no ciclo urbano e rural do parasita (FORTES, 1997; GARCIA et al., 2000).

No hospedeiro definitivo o parasita apresenta, no seu ciclo evolutivo, uma fase no epitélio intestinal (fase enteroepitelial) e outra extraintestinal, parasitando

outros tecidos. Nos hospedeiros intermediários há uma fase, exclusivamente, extraintestinal (FORTES, 1997; GARCIA et al., 2000).

Nos felídeos, a infecção se dá geralmente pela ingestão das vísceras de hospedeiros intermediários (roedores, aves) que contêm cistos do protozoário (que contêm bradizoítos) e, também, ingerindo oocistos esporulados, com esporozoítos, contaminando alimentos ou água (TENTER et al., 2000).

Se a infecção ocorreu pela ingestão de oocistos, os esporozoítos saem e penetram no epitélio intestinal por endocitose. Nessas células, arredondam-se e começam a se multiplicar assexuadamente (reprodução esquizogônica), podendo repetir esse ciclo muitas vezes, originando numerosos esquizontes que esgotam e destroem as células hospedeiras para disseminarem a infecção para novas células (MARKELL et al., 2003). Alguns desses esquizontes diferenciam-se em gamontes, produzindo macro e microgametas que vão copular, formar um zigoto e, assim, realizar seu ciclo sexuado (ciclo gametogônico). Essa diferenciação só ocorre nos felídeos. Os zigotos, agora denominados oocistos, abandonam as células epiteliais antes de completarem seu desenvolvimento, e saem para o exterior com as fezes. Esses oocistos, que medem em torno de 10 x 12µm, quando não esporulados e 12,5 x 11µm, quando esporulados, amadurecem no meio externo em poucos dias (01 a 05 dias), para o que requerem oxigênio. O processo de amadurecimento, denominado esporulação, leva inicialmente à formação de dois esporocistos (com 08,5 x 06 µm). Cada esporocisto se divide, originando quatro esporozoítos (medindo 08 x 02 µm) e uma massa de citoplasma residual (Figura 2). Desde que maduros, eles passam a ser infectantes, se

ingeridos por gatos ou quaisquer outros animais suscetíveis como aves, mamíferos e o próprio homem (REY, 2008; MORAES et al., 2008). No meio ambiente, resistem meses ou anos, conforme as condições climáticas de temperatura e umidade a que são expostos (REY, 2008).

Quando a infecção do felídeo se dá pela ingestão de vísceras de hospedeiros intermediários, os cistos teciduais sofrem ação do suco gástrico, rompem-se e liberam os bradizoítos que estão contidos em seu interior. No intestino delgado, os bradizoítos se diferenciam em taquizoítos, penetram no epitélio intestinal, e realizam os ciclos assexuado ou sexuado, semelhante ao que ocorre na ingestão do oocisto. Eles serão responsáveis pela disseminação e formação dos cistos teciduais no novo hospedeiro (REY, 2008; MORAES et al., 2008).

A reprodução esquizogônica ocorre dentro de uma célula-mãe que dará origem a duas células-filhas. Inicialmente, originam-se dois conóides e o núcleo assume a forma de ferradura com as pontas dirigindo-se àqueles. Na medida em que o núcleo vai se separando em dois núcleos filhos, membranas vão crescendo para trás, englobando os núcleos e demais organelas celulares, dando origem a duas células filhas que se separam e abandonam os restos da célula-mãe que vai degenerar-se. Esse processo de reprodução assexuada denomina-se endogenia ou endodiogenia (REY, 2008).

O homem e outros hospedeiros intermediários infectam-se ingerindo oocistos do solo, água e alimentos, ou cistos teciduais contidos em vísceras de animais contaminados. A evolução dos toxoplasmas nos tecidos compreende a

invasão das células do hospedeiro e multiplicação do parasito por processo assexuado. Após a ingestão dos oocistos esporulados ocorre a liberação dos oito esporozoítos que, no intestino invadem a mucosa e se localizam nos enterócitos, e os que caem na corrente linfática se localizam nos linfonodos. Nesses locais se multiplicam por endogenia, originando taquizoítos (do grego *tachys*, rápido) que são as formas de multiplicação rápida do *T. gondii*. Os taquizoítos disseminam-se por via sanguínea e linfática para todo o organismo e encistam em diversos órgãos, como cérebro, fígado, musculatura cardíaca e esquelética. Nos cistos teciduais (20 a 200µm), que podem ser arredondados ou alongados, o parasita prolifera de modo lento e forma centenas até milhares de bradizoítos (do grego *bradys*, lento) (FORTES, 1997).

A figura 3 representa o ciclo de vida do desenvolvimento do *T. gondii* no hospedeiro intermediário e definitivo, e identifica os estágios infectantes (taquizoítos, cistos que contêm bradizoítos e oocisto esporulado) (TENTER et al., 2000).

Na infecção aguda, em hospedeiros não-imunes, a multiplicação do *T. gondii* ocorre no interior de células parasitadas, dentro de um espaço delimitado por membrana, denominado vacúolo parasitóforo, onde são formados agrupamentos parasitários (pseudocistos) que, ao atingirem certas dimensões, rompem a membrana e liberam os parasitos para invadirem outras células. Os elementos filhos podem aglomerar-se em forma de cachos de banana ou de rosáceas. Em função desse processo ocorrer rapidamente, permitindo o

desenvolvimento de novos pseudocistos logo em seguida, os parasitos aí formados são chamados taquizoítos (REY, 2008).

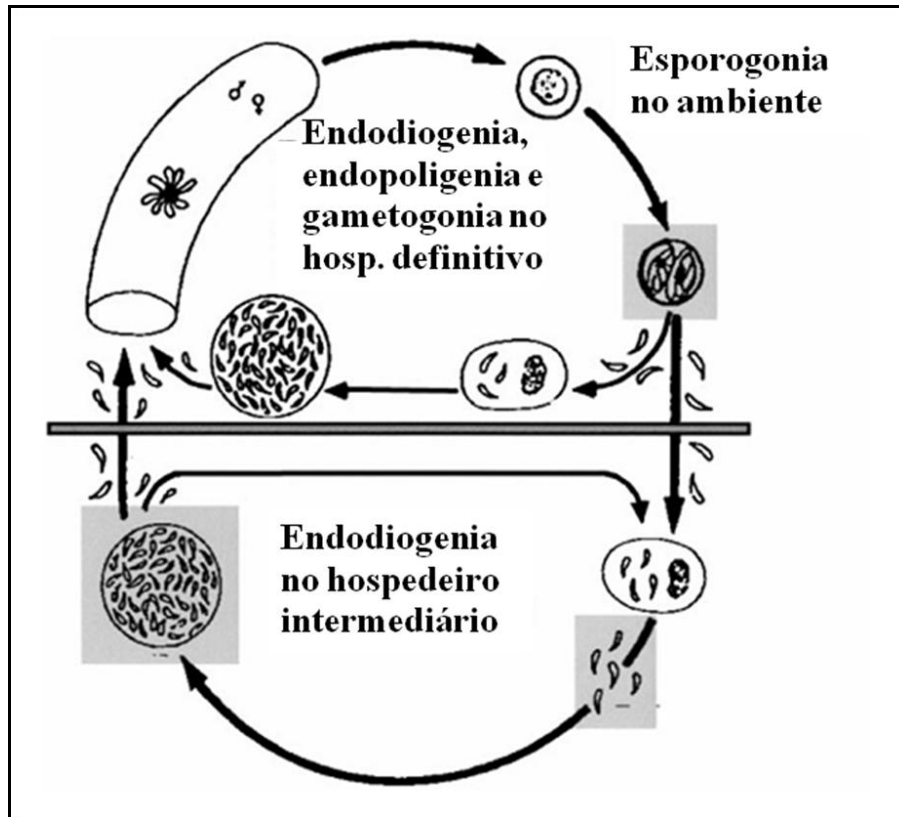


Figura 3. Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*: o desenvolvimento no hospedeiro intermediário é ilustrado abaixo da barra horizontal e o desenvolvimento no hospedeiro definitivo é ilustrado acima da barra horizontal. Os estágios infectantes, isto é, os taquizoítos, cistos contendo bradizoítos e oocisto esporulado contendo esporozoítos também estão evidentes (TENTER et al., 2000).

Na infecção crônica da doença, quando os hospedeiros já apresentam alguma imunidade, o parasita reproduz-se lentamente por endodiogenia, dentro de um envoltório cístico com grande resistência às condições e medicamentos,

podendo durar anos ou toda a vida do paciente. Devido à multiplicação lenta, os parasitos são denominados bradizoítos (REY, 2008).

As formas infectantes contidas nos cistos teciduais (cistozoítas ou bradizoítos) suportam temperaturas de 4°C durante três semanas, mas morrem se congelados a -15°C, durante mais de três dias; ou a -20°C, durante mais de dois dias; se submetidos à temperatura de 65°C por 4 a 5 minutos e produtos salgados ou preparados com nitratos também destroem esses cistos (REY, 2008).

Outras formas de infecção ocorrem por taquizoítos de origem materna, através da placenta (infecção transplacentária ou congênita), ou através de transfusão de leucócitos, transplante de órgãos, ingestão de leite caprino não pasteurizado ou, ainda, em acidentes laboratoriais (DUBEY & BEATTIE, 1988).

1.3 Aspectos clínicos da infecção por *Toxoplasma gondii* nas diferentes espécies

A infecção em humanos se divide, basicamente, em primária ou pós-natal e congênita. Na infecção primária, os fatores de risco são a ingestão de vísceras com cistos, a ingestão de oocistos em alimentos e água ou, mesmo, através de mãos ou objetos contaminados levados à boca. Geralmente as manifestações clínicas são raras em pessoas imunocompetentes (MENDONÇA, 2003), nas quais a infecção crônica é assintomática e de longa duração (REY, 2008). No entanto, na fase aguda, ela é capaz de determinar nos indivíduos adultos um quadro agudo

febril, com linfadenopatia e, nas crianças, uma forma subaguda de encefalomielite e coriorretinite. Em pacientes imunossuprimidos pode aparecer como uma infecção oportunista de gravidade variável. Pesquisas realizadas na América do Norte constataram que pelo menos 30% dos pacientes com AIDS, soropositivos para *T. gondii*, desenvolverão encefalite toxoplásmica (REY, 2008).

A Figura 4 apresenta o ciclo biológico do *T. gondii* com suas respectivas possibilidades de transmissão para o hospedeiro definitivo (cistos teciduais e oocistos esporulados) e os hospedeiros intermediários (cistos teciduais, oocistos esporulados e transmissão congênita). Na figura ainda é demonstrada a transmissão vertical que ocorre quando a mãe, em fase aguda da doença, transmite para o feto os taquizoítos circulantes no sangue.

Apesar de os gatos infectarem-se com frequência, a doença clínica é rara. No entanto, foram registrados enterite, linfadenomegalia mesentérica, pneumonia, alterações degenerativas no sistema nervoso central e encefalite em infecções experimentais. A transmissão congênita, embora rara, ocorre após a ativação de cistos de bradizoítos durante a prenhez. Em cães ocorre febre, com lassidão (prostração), anorexia e diarreia. São comuns, pneumonia e manifestações neurológicas. Pode ocorrer infecção junto com cinomose. A necropsia pode-se demonstrar cistos de bradizoítos em células no cérebro e no trato respiratório, associados à linfadenomegalia regional (URQUHART, 1998).

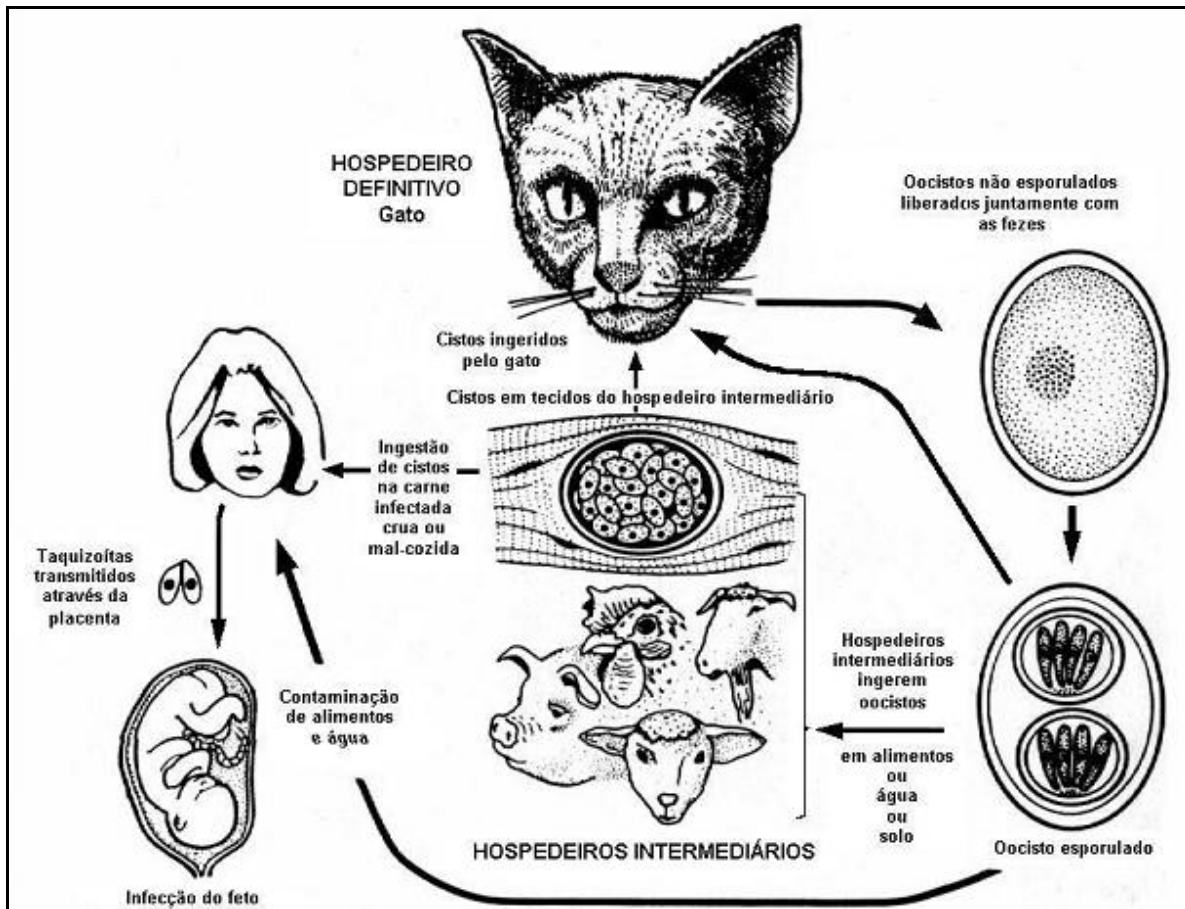


Figura 4. Ciclo biológico do *Toxoplasma gondii* (modificado de DUBEY & BEATTIE, 1988).

Em ruminantes, apenas alguns relatos de toxoplasmose clínica associada à febre, dispnéia, sintomatologia nervosa e aborto são relatados. A toxoplasmose em ruminantes está associada ao aborto em ovelhas e morte perinatal em cordeiros, dependendo do período de gestação em que ocorre a infecção (URQUHART, 1998).

Infecção experimental realizada por Silva et al. (1994) em suínos, observados por 45 dias pós-infecção, não revelou qualquer manifestação clínica que pudesse ser atribuída à toxoplasmose, a não ser ligeira hipertermia retal.

Tsutsui et al. (2003), trabalhando com infecção experimental de *T. gondii* em suínos, identificaram alterações clínicas como hipertermia, anorexia, prostração e corrimento nasal, apesar de o principal problema ser de ordem reprodutiva. A toxoplasmose pode causar abortamento, natimortalidade e mumificação fetal em fêmeas que se infectam pela primeira vez durante a gestação.

Assim, como ocorre em outras espécies, a toxoplasmose em galinhas, cursa predominantemente na forma subclínica, apresentando pouca importância clínica para essa espécie. Entretanto, Dubey et al. (2007c) relataram um surto de toxoplasmose clínica em galinhas de postura, e gansos numa fazenda de Illinois (USA). Os sinais clínicos relatados nesse episódio foram de alterações neurológicas manifestando-se por torcicolo, incapacidade de se manter em estação e decúbito lateral.

1.4 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo *Toxoplasma gondii* no homem

Estudos epidemiológicos baseados em detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* demonstram que a infecção é de distribuição mundial e a prevalência é geralmente alta nas populações adultas em todos os países do mundo (REY, 2008).

No Brasil existem poucos relatos de estudos epidemiológicos e, em geral, são restritos a certas localidades e subpopulações. Prevalência variável de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma* tem sido relatada, variando de 22% em crianças,

até 80% em adultos (REY, 2008; COELHO, 2003; SPALDING et al., 2003; AMENDOEIRA et al., 2003)

No Espírito Santo, Barros et al. (1979) relataram 47,5% de positividade em 40 estudantes de medicina. E, enquanto estudava 1.153 gestantes atendidas em unidades de saúde do município de Vitória (ES), Areal (2007) encontrou 73,5% de soropositividade para o *T. gondii*.

Na infecção humana, especialmente em gestantes, um estudo europeu mostrou que fatores de risco importantes foram, o consumo de carnes cruas (30%) ou mal cozidas (60%) e o contato com o solo (6% a 17%) (COOK, 2000).

Literak & Hejlícek (1993), ao isolarem o *T. gondii* de diferentes tecidos de galinha, consideram essas como potenciais transmissoras do parasita para humanos por meio da manipulação inadequada da carne crua, seu consumo cru ou mal cozido. Garcia et al. (2000) discutem que não é hábito da população o consumo de aves cruas ou mal cozidas, reduzindo-se o risco desse tipo de transmissão. Entretanto, Chavez e Diniz (2004) reforçam que, além de transmissoras para os felinos, as galinhas apresentam um risco potencial da toxoplasmose humana veiculada por alimentos, uma vez que diversos trabalhos isolaram o parasita a partir da musculatura esquelética e cardíaca de aves.

1.5 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em animais domésticos

Vários animais domésticos podem ser infectados pelo *T. gondii*: galinhas, porcos, bovinos, ovinos, caprinos, equinos, coelhos, codornas, avestruzes, emas, dentre outros, inclusive os animais silvestres (capivaras, macacos, etc).

A prevalência de infecção pelo *T. gondii* em animais domésticos tem sido investigada no mundo inteiro, através de sorologia, ou por meio de sorologia associada ao isolamento do parasito ou, mesmo, somente através do isolamento do agente, quer por método biológico convencional, quer por detecção utilizando técnicas de biologia molecular.

Bonna et al. (2006) descrevem que pesquisas de monitoramento da soroprevalência da infecção pelo *T. gondii* em animais, tem sido utilizadas como um bom parâmetro para sinalização do problema em regiões rurais e, uma vez que estão em contato direto e permanente com o ambiente, podem ser utilizados como “sentinelas” para indicar a contaminação ambiental. Dubey et al. (2004c) justificaram essa expressão, descrevendo que a detecção direta de oocistos no solo é, tecnicamente difícil, pois apenas 1% dos gatos é encontrado eliminando os oocistos do *T. gondii* em algum momento. A doença, portanto, desperta interesse clínico, epidemiológico e econômico, e o conhecimento das características ambientais, da população humana e animal também é importante.

Asgari et al. (2006) em Shiraz, no Irã, relataram uma prevalência geral de 36,1% entretanto, quando analisado por região, essa prevalência apresentou

diferentes valores (Oeste 53,3%; Norte 51,6%; Leste 22,6%; Sul 16,7%) conforme os aspectos geográficos, como umidade e temperatura. Assim, justifica-se a menor prevalência na região sul pelo seu clima seco e quente, o que favorece a destruição do oocisto no ambiente.

Estudo de soroprevalência em galinhas de criação doméstica realizado por Garcia et al. (2000), no norte do Paraná, não demonstrou correlação significativa entre sexo, finalidade da criação e presença de felinos ou humanos soropositivos. Quando compararam a outros trabalhos, os autores justificaram que as diferenças encontradas podem ser devidas a diferenças na infectividade dos ecossistemas estudados ou níveis de sensibilidade nas técnicas utilizadas.

Trabalho recentemente publicado por Dubey et al. (2009) analisou a prevalência mundial da infecção por *T. gondii* em galinhas e avaliou sua importância epidemiológica na cadeia de transmissão do parasita para seres humanos. A Alta prevalência do parasita encontrada em galinhas criadas em quintais (até 100%), e no sistema orgânico (de 30-50%), as torna muito importantes na epidemiologia da infecção por *T. gondii* por serem eficiente fonte de infecção para os gatos que excretam os oocistos e, também, por meio da ingestão pelos humanos de carne de frango mal cozida infectada.

Tenter et al. (2000), numa revisão sobre o *T. gondii*, discorreram sobre as diferenças de número e localização dos cistos teciduais conforme a espécie do hospedeiro. Esse estudo relata que os cistos são mais frequentes em suínos, ovinos e caprinos, e menos frequentes em aves industriais, coelhos, cães e equinos (Figura 5). Entretanto, eles contestam sobre a real importância

epidemiológica desses animais na disseminação da toxoplasmose para o homem, na atualidade, em função de serem criados de forma intensiva, quando são usadas medidas adequadas de manejo higiênico, de confinamento e prevenção. Essas medidas incluem: (A) produção confinada durante toda a vida do animal; (B) controle de roedores; (C) esterilização da ração dos animais; e (D) controle do acesso de cães e gatos nas instalações de criação. Contudo, concordam com o fato da existência de criações extensivas, onde a soroprevalência indica altos índices de infecção com *T. gondii* nos animais criados nesse sistema.

Weigel et al. (1995) relataram que, mais importante que o percentual de gatos infectados numa propriedade é a quantidade, pelo fato de eles eliminarem milhões de oocistos nas fezes, que se acumulam no meio ambiente e ali permanecem viáveis por longo período.

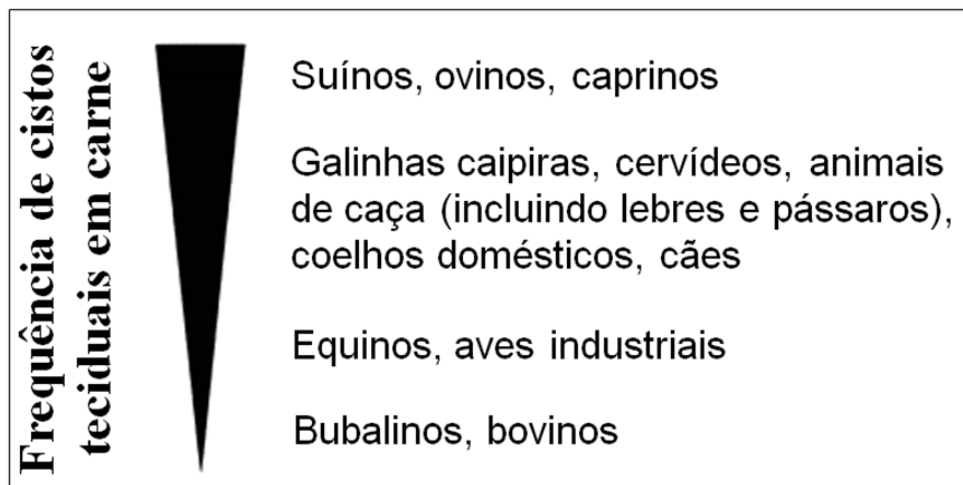


Figura 5. Importância relativa de animais de produção de carne e animais de caça na transmissão do *Toxoplasma gondii* para humanos (adaptado por TENTER et al., 2000).

1.6 Estudos epidemiológicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em animais domésticos

A Tabela 1 resume estudos de prevalência da infecção por *T. gondii* em galinhas e suínos e, em menor frequência, outros animais de produção, em diferentes países. Os dados resumidos na Tabela 1 foram baseados numa pesquisa feita no *medline* utilizando as palavras-chave *Toxoplasma chicken*, ou *Toxoplasma swine*, ou *Toxoplasma pork*, ou *Toxoplasmosis chicken*, ou *Toxoplasmosis swine* e *Toxoplasmosis*. Foram recuperadas 423 referências, das quais foram obtidas as informações das publicações; o acesso foi feito pelo texto integral ou pelo resumo da obra e, selecionados, aqueles que continham resultados de investigação por sorologia e/ou por isolamento do *Toxoplasma gondii*.

Interpretando o Quadro 1 identifica-se que na análise sorológica de amostras colhidas de galinhas criadas livremente (criação artesanal), as prevalências de animais soropositivos variaram entre 2,98% e 85,7%. No entanto, na maioria dos trabalhos a soroprevalência oscilou entre 27,1% e 65,5%. Já o isolamento em camundongos, a partir dos animais soropositivos, que foi realizado conjuntamente na quase totalidade dos trabalhos pesquisados, variou de 0% a 100% (a maioria entre 42,1% e 81,8%) de isolados positivos.

Resultados de sorologia para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* nas demais espécies também demonstraram variações: suínos, de 5,2 a 45%;

bovinos, de 9% a 25%; ovinos, de 2,5% a 65%; caprinos, de 0% a 15% e equinos 9%.

O Quadro 2 resume os achados da prevalência da infecção por *T. gondii* em galinhas e porcos em diferentes localidades brasileiras. No levantamento feito pelo PUBMED aparecem, apenas, 26 publicações. No entanto, através de outras fontes foi possível levantar 43 publicações de relatórios, teses e revistas não indexadas no PUBMED, totalizando 69 publicações. Interpretando a Tabela 2, identifica-se que na análise sorológica de amostras colhidas de galinhas criadas livremente, as prevalências variaram entre 10,3% e 66% de animais soropositivos. Já o isolamento em camundongos, a partir dos animais soropositivos, que também foi realizado conjuntamente na quase totalidade dos trabalhos pesquisados, foi de 69,8% a 88,9% de isolados positivos.

Resultados de sorologia para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* nas demais espécies também demonstraram variações: suínos, de 4,0% a 33,9%; bovinos, de 11% a 25,8%; ovinos, de 7,0% a 51,8%; caprinos, de 8% a 30,71%; eqüinos, de 4,42% a 12%; caninos, de 17,31% a 63,55%; felinos, de 18,0% a 73% e humanos, de 36,8% a 70,7%.

Quadro 1. Prevalência de sorologia positiva para *Toxoplasma gondii* em galinhas e demais espécies em diferentes países com, ou sem, isolamento do protozoário.

País	Espécie	Método	Prevalência	Referência
Costa Rica	Galinhas	Isol.	I = 54% (27/50)	Ruiz et al., 1980
Nigéria, Zaria	Galinhas	HAI	S = 44,8% (112/250)	Aganga et al., 1984
Índia, Madras	Galinhas	MAT	S = 39,5% (73/185)	Devada et al., 1998
Croácia	Galinhas	Isol.	I = 0,4% (3/716)	Kuticic et al., 2000
Egito, Giza	Galinhas	MAT	S = 47,2% (51/108)	El-Massry et al., 2000
Argentina	Galinhas caip.*	MAT, isol.	S = 65,5% (19/29) / I = 47,4% (9/19)	Dubey et al., 2003e
EUA, Ohio	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 17,0% (20/118) / I = 55% (11/20)	Dubey et al., 2003c
Egito	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 40,4% (49/121) / I = 38,8% (19/49)	Dubey et al., 2003b
Índia	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 17,9% (133/741) / I = 0% (0/32)	Sreekumar et al., 2003
Peru	Galinhas	MAT, isol.	S = 26% (13/50) / I = 76,9% (10/13)	Dubey et al., 2004a
México	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 6,2% (13/208) / I = 46,2% (6/13)	Dubey et al., 2004b
Israel	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 46,9% (45/96) / I = 42,2% (19/45)	Dubey et al., 2004c
Sri Lanka	Galinhas	MAT, isol.	S = 39% (39/100) / I = 30,6% (11/36)	Dubey et al., 2005g
Argentina	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 41% (25/61) / I = 77,3% (17/22)	Dubey et al., 2005f
Venezuela	Galinhas	MAT, isol.	S = 32% (16/46) / I = 92,3% (12/13)	Dubey et al., 2005d
Índia, Grenada	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 52% (53/102) / I = 81,4% (35/43)	Dubey et al., 2005h
Colômbia	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 44,4% (32/77) / I = 74,2% (23/31)	Dubey et al., 2005b
Áustria	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 36,3% (302/830) / I = 25,7% (56/218)	Dubey et al., 2005a
Egito	Galinhas	MAT, histológico	S = 18,7% (28/150) / I = 78,6% (22/28)	Deyab et al., 2005
África	Galinhas	MAT, isol.	S = 50% (25/50) / I = 81,8% (9/11)	Dubey et al., 2005c
Guatemala	Galinhas caip.	MAT, Isol.	S = 74% (37/50) / I = 42,1% (8/19)	Dubey et al., 2005e
Irã, Chiraz	Galinhas caip.	IFAT	S = 36,1% (44/122)	Asgari et al., 2006
Nicarágua	Galinhas caip.	MAT, Isol.	S = 85,7% (84/98) / I = 71,2% (47/66)	Dubey et al., 2006d
Chile	Galinhas caip.	MAT, Isol.	S = 55,3% (47/85) / I = 46,8% (22/47)	Dubey et al., 2006b
Portugal	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 27,1% (61/225) / I = 84,2% (16/19)	Dubey et al., 2006e
Costa Rica	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 40,1% (60/144) / I = 100% (32/32)	Dubey et al., 2006c
Guiana	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 65,8% (50/76) / I = 70% (35/50)	Dubey et al., 2007a
Ghana	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 64% (41/64) / I = 2	Dubey et al., 2008a
Indonésia	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 24,4% (24/98) / I = 1	Dubey et al., 2008a
Itália	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 12,5% (10/80) / I = 3	Dubey et al., 2008a
Polônia	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 30% (6/20) / I = 2	Dubey et al., 2008a
Vietnã	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 24,2% (81/330) / I = 1	Dubey et al., 2008a
Uganda	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 50% (20/40) / I = 9	Lindström et al., 2008
China	Galinhas caip. e confinadas	ELISA	S = 34,7% (107/308); S = 2,8% (6/210)	Zhu et al., 2008
China	Galinhas caip. e confinadas	MAT	S = 11,4% (41/361) ; S = 4,1% (10/244)	Yan et al., 2009
Canadá,	Suínos	MAD	S = 9,4% (136/1447)	Smith, 1991
Suécia	Suínos	ELISA	S = 5,2% (42/807)	Lunden et al., 2002
Montana	Cabras leiteiras	Isol.	I = 100% (4/4)	Dubey, 1981
Paquistão	Galinhas	LAT	S = 0% (0/64)	Zaki, 1995
Irã, Ardabil	Galinhas	ELISA	S = 0% galinhas	Ghazaei, 2006

RIFI / IFAT – Reação de Imunofluorescência Indireta; MAT – Teste de Aglutinação Modificado; ELISA – Reação de Ensaio Imunoenzimático; PCR – Reação em Cadeia pela Polimerase; HAI – Hemaglutinaçãp Indireta; LAT – Teste de aglutinação em látex; MAD – Método de Aglutinação Direta; I – Isolamento; S – Sorologia; *Galinhas caip. – galinhas caipiras.

Quadro 2. Prevalência de sorologia positiva para *Toxoplasma gondii* em galinhas e demais espécies no Brasil com, ou sem, isolamento do protozoário.

Estado	Espécie	Método	Prevalência	Referência
PR, Jaguapitã	Galinhas caip.*	RIFI	S = 10,3% (16/155)	Garcia et al., 2000
SP	Galinhas caip.	MAT, isol	S = 39,0% (32/82) / I = 78,1% (25/32)	Dubey et al., 2002
RJ, Campos dos Goytacazes	Galinhas caip.	MAT,isol.	S = 65,2% (129/198) / I = 70,9% (61/86)	Silva et al., 2003
PR	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 40% (16/40) / I = 81% (13/16)	Dubey et al., 2003d
RJ	Galinhas caip.	isol.	I = 69,8% (67/96)	Dubey et al., 2003a
GO, Goiânia	Galinhas caip.	isol.	I = 9,8% (6/61)	Alves et al., 2005
AM	Galinhas caip.	MAT,isol.	S = 66% (33/50) / I = 72,7% (24/33)	Dubey et al., 2006a
MG, Uberlândia	Galinhas caip.	MAT	S = 71% (77/108)	Lopes, 2006
RS e PA	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 46,4% (39/84) / I = 84,6% (33/39)	Dubey et al., 2007b
RJ	Frangos e suínos	RIFI	S = 47,8% (151/316); 65,8% (25/38)	Bonna et al., 2006
MG	Galinhas caip. e granja, suínos	Isol.	I = 30,0% (11/37) galinha caipira, 0% (0/50) frango de granja, 0% (0/72) suíno	Brandão et al., 2006
BA	Galinhas caip. e industrial	RIFI	S = 25% (50/200) galinhas caip. / S = 3% (6/200) galinha industrial	Costa et al., 2008
Nordeste	Galinhas caip.	MAT, isol.	S = 53,3% (81/152) / I = 28,4% (23/81)	de Oliveira et al., 2008
SP, Botucatu	Frango industrial	ELISA	S = 0% (0/185)	Meireles et al., 2003
RS	Emas	HAI	S = 8,10% (6/74)	Marobin et al., 2004
BA, Irecê (semi-árido)	Avestruz	HAI	S = 3,09% (5/162)	Almeida et al., 2005
RS, Grande Erechim	Suínos	RIFI/ ELISA	S = 7,9% / 9,4%	Araújo, 2001
PR	Suínos	RIFI	S = 24% (64/267)	Garcia et al., 1999
PR	Suínos	RIFI	S = 15,35% (80/521)	Tsutsui et al., 2003
PR	Suínos	RIFI	S = 4% (17/424)	Carletti et al., 2005
PR	Suínos	RIFI	S = 32% (86/265), 26% (62/236) e 0% (0/48)	Locatelli-Dittrich et al., 2005
RJ, Campos dos Goytacazes	Suínos	isol.	I = 50% (6/12)	Frazão-Teixeira et al., 2006
RS, Pelotas	Suínos	RIFI	S = 5,8% e 33,9%	Pereira, 2005
PR, Guarapuava	Suínos	RIFI	S = 8,55% (10/117)	Moura et al., 2007
MG	Suínos, galinhas	S, Isol.	S = 0% suíno, 53,6% (15/28) galinhas caip., 0% confinadas / I = 11 (73,33%) galinhas caip.	Brandão et al., 2006
SP	Ovinos	isol.	I = 34,5% (20/58)	Spósito Filha et al., 1992
PR	Caprinos	RIFI	S = 30,71% (47/153)	Sella et al., 1994
SP	Caprinos	RIFI	S = 14,47% (64/442)	Mainardi et al., 2000
RS, Porto Alegre	Caprinos	HAI / RIFI	S = 19,4% (70/360) / 30% (108/360)	Maciel et al., 2004
BA	Caprinos	RIFI	S = 16,4% (61/373)	Uzêda et al., 2004
SP, Botucatu	Ovinos, caprinos, caninos, felinos	RIFI, MAD	S = 23,0% ovino, 8,0% caprino (RIFI); 27,0% ovino, 11,0%caprino (MAD)	Silva et al., 2002
RJ, Fluminense	Bovinos	RIFI	S = 14,8%(38/589)	Albuquerque et al., 2005
BA, Ilhéus e Itabuna	Bovinos abatidos	RIFI	S =14,3% (58/406)	Spagnol et al., 2005
RJ	Equinos	RIFI	S = 4,42% (19/430)	Gazêta et al., 1997
SP, Botucatu	Linguiça frescal	suína Isol., PCR	47,14%(33/70) PCR I = 0% (70)	Mendonça, 2003
PR, Londrina	Linguiça frescal	suína Isol.	8,7% (13/149)	Dias, et al., 2005
SC, Concórdia	Salames	isol.	0% (18)	Klein et al., 2006

RIFI / IFAT – Reação de Imunofluorescência Indireta; MAT – Teste de Aglutinação Modificado; ELISA – Reação de Ensaio Imunoenzimático; PCR – Reação em Cadeia pela Polimerase; HAI – Hemaglutinação Indireta; LAT – Teste de aglutinação em látex; MAD – Método de Aglutinação Direta; Elfa – *Enzyme Linked Fluorescent Assay* (Elfa-Toxo-Vidas); I – Isolamento; S – Sorologia; *Galinhas caip. – galinhas caipiras.

1.7 Características genéticas de *Toxoplasma gondii*

Apesar de sua distribuição mundial, infectando diversas espécies de sangue quente, o *T. gondii* apresenta uma pequena diversidade genotípica com evolução de suas linhagens de forma, eminentemente, clonal (TENTER et al. 2000; GRIGG, SUZUKI, 2003).

A identificação de diferentes linhagens do *T. gondii*, primeiramente através da demonstração de diferentes perfis eletroforéticos de isoenzimas (DARDE et al., 1988; DARDE et al., 1992), foi corroborada por meio de estudos de marcadores moleculares baseados no polimorfismo do comprimento de fragmentos gerados por enzimas de restrição (RFLP - *Restriction Length Fragment Polymorphism*) de seis distintos *loci*. Desses *loci*, três têm função desconhecida (850, L328 e 62), dois são codificadores de antígenos de superfície (SAG1 e SAG 2) e um é codificador de proteína de rópria (ROP1). A utilização dessa metodologia permitiu definir três linhagens ou genótipos, designadas como tipo I, II e III (HOWE, SIBLEY, 1995)

Os isolados de *T. gondii* originados da Europa e América do Norte normalmente são classificados numa das linhagens clássicas (tipo I, II ou III). O Quadro 3 apresenta um resumo das características biológicas e epidemiológicas dos principais genótipos de *T. gondii* descritas por Maubon et al. (2008).

Entretanto, no Brasil, o impacto de recombinação genética do *T. gondii* parece ser maior que nas populações européias e norte-americanas, possivelmente em razão da maior taxa de transmissão da infecção que vigora

naquele país (FERREIRA et al., 2004). Recentes estudos, utilizando isolados humanos e animais provenientes de diferentes regiões do continente americano, têm revelado alta diversidade genética (AJZENBERG et al., 2004; LEHMANN et al., 2004). Diversos trabalhos realizados no Brasil têm comprovado essa diversidade genética (DUBEY et al., 2002; DUBEY et al., 2003a; AJZENBERG et al., 2004; DUBEY et al., 2006a; DUBEY et al., 2007b; PENA et al., 2008).

Pena et al. (2008) realizaram a genotipagem de 46 isolados de *T. gondii* de gatos provenientes de 11 cidades de São Paulo-Brasil, utilizando PCR-RFLP com base em 11 marcadores moleculares (SAG1, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico e CS3). Os resultados foram relacionados, filogeneticamente, com outras 125 amostras de trabalhos recentemente publicados, com galinhas (15 isolados no PA e 19 no RS), gatos (44 isolados em SP e 28 no PR) e cães (19 isolados em SP). Os 46 isolados dos gatos brasileiros apresentaram 20 genótipos diferentes sendo que 07 foram encontrados em dois ou mais isolados (de diferentes cidades) e os outros 13, em apenas um isolado cada. Infecção mista foi detectada em dois isolados de uma cidade. Não foi encontrada nenhuma linhagem clonal do tipo I, II ou III. Dos 125 isolados, 48 genótipos foram identificados (26 genótipos com um isolado cada, 10 genótipos com dois isolados e 12 genótipos com três ou mais isolados) a partir dos diferentes hospedeiros e localidades, o que permitiu considerar quatro linhagens clonais no Brasil (Tipos BrI, BrII, BrIII e BrIV). Assim, o trabalho demonstrou uma alta diversidade genética do parasita na região estudada, sendo reforçada pelos dados dos 125 isolados que também identificaram outros 48 genótipos em quatro

estados diferentes do Brasil. A análise filogenética mostrou um padrão altamente reticulado, sugerindo uma alta recombinação gênica nessa população do parasito.

Dubey et al. (2008) também relataram em trabalho recente uma alta diversidade genética do *T. gondii* isolado de galinhas caipiras provenientes de diferentes regiões do Brasil. Dos 151 isolados, foram obtidos 58 genótipos diferentes sendo metade desses genótipos (29/58) encontrados em, apenas, um isolado cada, o que demonstrou grande variabilidade genética do parasito no Brasil.

Estudos de virulência do *T. gondii* em camundongos são realizados há tempos com o objetivo de correlacioná-los às linhagens existentes. Howe, Sibley (1995) relataram que a maioria das amostras virulentas para camundongos são do tipo I, enquanto que a maioria dos isolados não-virulentos, também denominados cistogênicos, estão classificados como tipos II e III. No trabalho de Pena et al. (2008), considerando-se as linhagens clonais brasileiras, classificaram da seguinte forma: BrI, altamente virulento para camundongos (>75-80% de mortalidade); BrII, com virulência intermediária (0-100% de mortalidade); BrIII, não-virulento para camundongos (0% de mortalidade); e BrIV, com virulência intermediária (mortalidade variável).

Em virtude do potencial zoonótico da toxoplasmose, a investigação de genótipos provenientes de infecções em animais e de produtos de origem animal pode ser de grande valor informativo, seja para a verificação de correlação entre a variante encontrada e as propriedades biológicas dessa, seja no rastreamento

epidemiológico do agente para a identificação de fontes de infecção ou vias de transmissão (OWEN & TREES, 1999).

Quadro 3. Características biológicas e epidemiológicas dos principais genótipos de *Toxoplasma gondii* (MAUBON et al., 2008).

Linhagens típicas pertencentes a três linhagens clonais

Tipo I

- Raramente isolado
- Altamente virulento para camundongos (mas não para ratos): letal para todos os camundongos inoculados com menos de 10 taquizoítos
- Cultivo celular: alta taxa de multiplicação, baixa taxa de interconversão taquizoíto-bradizoíto
- Alta taxa de penetração na lâmina própria e submucosa

Tipo II

- Linhagem mais comumente isolada na Europa e América do Norte
- Não-virulento para camundongos: infecção crônica com persistência de cistos teciduais
- Em cultivo celular: baixa taxa de multiplicação, alta taxa de interconversão taquizoíto-bradizoíto e formação de cistos

Tipo III

- Raramente isolados na Europa e América do Norte
- Não-virulento para camundongos, apesar de matá-los com sinais neurológicos severos poucas semanas ou meses após inoculação

Linhagens atípicas (recombinantes genéticos, linhagens atípicas ou exóticas)

- Mais frequentemente isolados fora da Europa e América do Norte (notadamente América do Sul e também na África e Ásia)
- Usualmente mais virulentos para camundongos do que os isolados Tipo II (óbito ocorre 2 a 3 semanas após inoculação), mas variações de virulência e outras propriedades biológicas refletem diferenças hereditárias

Pelo exposto verificou-se que é variável a infecção pelo *T. gondii* em galinhas no Brasil, com amplas variações regionais. Como a infecção desse animal de abate pode servir como fonte de infecção humana, é importante o conhecimento de sua prevalência em nosso Estado, o que pode contribuir para que possam ser tomadas medidas adequadas na prevenção da infecção humana a partir dessa fonte.

Por outro lado, em nosso Estado é grande a população rural que se alimenta de animais criados artesanalmente e, por isso, de acordo com a literatura apresentada, a infecção por *T. gondii* é mais frequente. A informação obtida desta pesquisa aqui proposta poderá nortear programas de educação sanitária que visem melhorar a qualidade dos animais de abate, especialmente, no que diz respeito às zoonoses que podem atingir o homem.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Estudar a prevalência de infecção por *Toxoplasma gondii* em galinhas de criação artesanal no Estado do Espírito Santo.

2.2 Objetivos específicos:

(a) Pesquisar anticorpos anti-*T. gondii* em amostras de soro de galinhas criadas em sistema de criação extensiva (ou artesanal), em diferentes municípios do Estado, utilizando o Teste de Hemaglutinação Indireta (HAI) e o Teste de Aglutinação Modificado (ou MAT – *modified agglutination test*).

(b) Tentar isolar *T. gondii* a partir de macerados de cérebro, coração e músculos da coxa de animais soropositivos, por meio de bioensaio em camundongo.

(c) Colher informações, por meio de questionário, sobre as condições de criação das aves e de seu uso, com a finalidade de verificar variáveis que estejam contribuindo para a maior ou menor prevalência de animais infectados nas propriedades.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Amostras

Pela Tabela 2 observou-se que a frequência de sorologia positiva de galinhas no Brasil variou de 10,3% a 69,8%. A prevalência média foi de 47,7% em galinhas caipiras e de 0% em galinhas industriais.

Como não há dados sobre a população de galinhas de criação artesanal no Estado do Espírito Santo tomou-se, como base, o número de aves existentes nos criadouros industriais, que segundo o Instituto de Defesa Agroflorestral do Estado do Espírito Santo – IDAF era de 6.609.610 aves em 2007. Com esse número, calculou-se que uma amostra de tamanho mínimo de 100 aves era capaz de fornecer dados de prevalência com erro alfa de 5% e erro beta de 20%, considerando-se que a prevalência média no Brasil foi de 47,7%. Essa estimativa é válida porque o número de galinhas de criação artesanal deve ser bem inferior ao de galinhas de criação industrial o que pode superestimar, e não subestimar, a amostragem necessária.

As amostras foram provenientes de 08 municípios do Estado do Espírito Santo (Figura 6), de propriedades rurais que autorizaram o uso desses animais para a pesquisa. Em Vila Velha, os animais foram provenientes de abatedouros particulares que abatem galinhas caipiras adquiridas de diversas regiões do Estado. As características geográficas de cada região foram resumidas no Quadro 4. A Tabela 1 mostra a distribuição dos animais

separados por sexo, nos diferentes municípios. No APÊNDICE C encontram-se os dados individuais de cada animal.

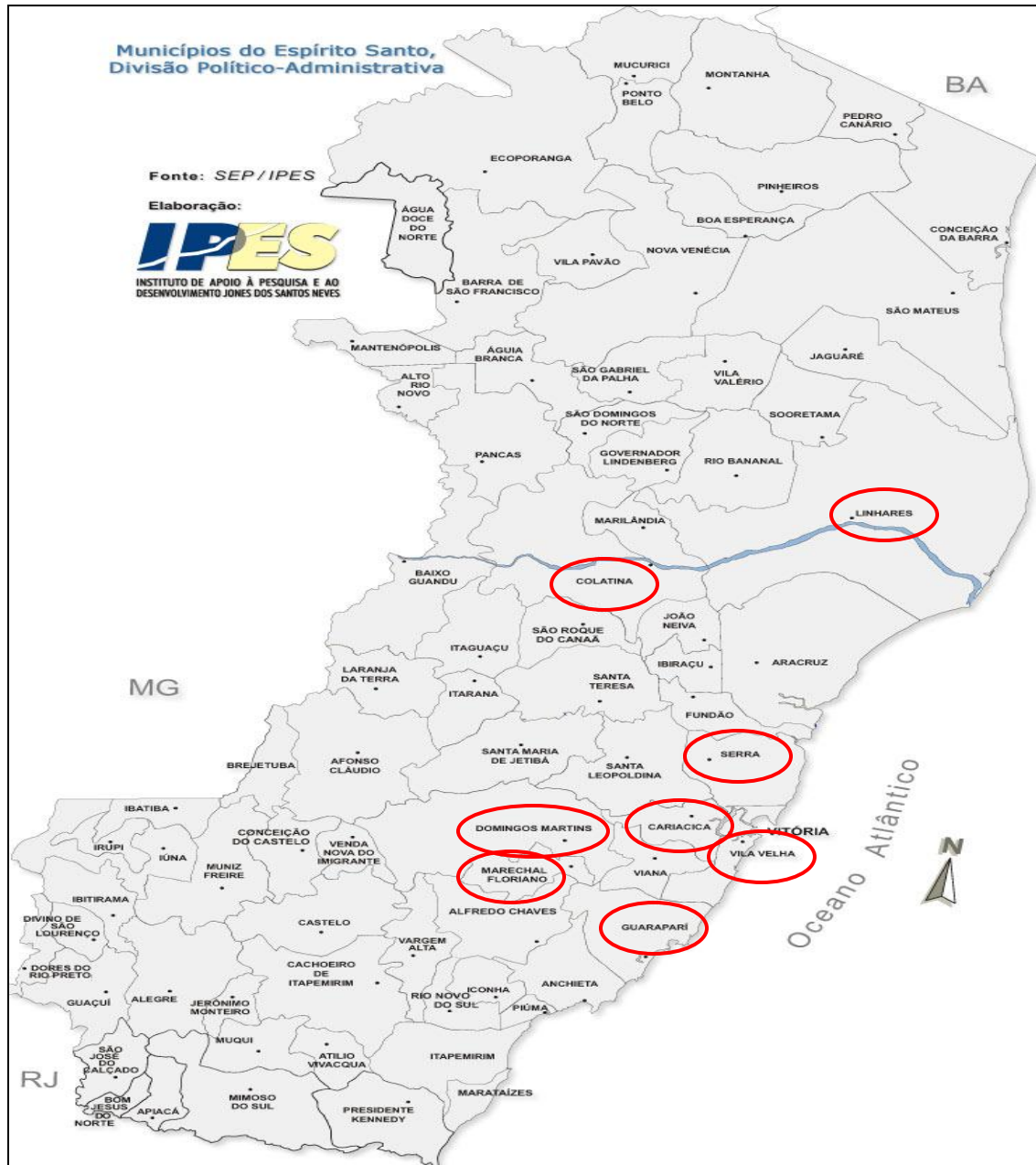


Figura 6. Mapa do Estado do Espírito Santo – Divisão Político-Administrativa, mostrando os oito municípios usados (circulados) para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, Brasil, 2007. <http://www.brasil-turismo.com/espírito-santo/mapas/mapa-politico.htm> (acesso em 15 de ago. 2009).

Quadro 4. Características geográficas dos municípios amostrados para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, segundo IBGE, Espírito Santo, 2007.

Município	População	Altitude	Latitude	Longitude	Clima	Extensão territorial
Cariacica	365.859	73m	-20°15'50"	40°25'12"	Quente/úmido	285,8km ²
Colatina	111.365	38m	-19°32'22"	40°37'50"	Tropical/seco	1789,3km ²
D. Martins	31.175	620m	-20°21'48"	40°39'33"	T. de altitude	1240,4km ²
Guarapari	104.534	2m	-20°40'00"	40°29'51"	T. atlântico	581,9km ²
Linhares	277.354	33m	-19°23'28"	40°04'20"	T. quente/seco	3460,3km ²
M. Floriano	13.302	560m	-20°24'46"	40°40'59"	T. de altitude	288,6km ²
Serra	404.688	70m	-20°07'43"	40°18'28"	Tropical	552,7km ²
Vila Velha	423.600	5m	-20°19'47"	40°17'33"	Tropical	218,8km ²

T= tropical.

Tabela 1. Número de galinhas usadas na pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.

Município	N. propriedades	Sexo		Total de galinhas analisadas
		M	F	
Cariacica	01	04	06	10
Colatina	06	03	96	99
Domingos Martins	01	02	08	10
Guarapari	08	06	47	53
Linhares	05	02	58	60
Marechal Floriano	06	02	39	41
Serra	05	03	104	107
Vila Velha ¹	06	00	130	130
TOTAL	08	38	488	510

¹ abatedouros de galinha caipira
M= Macho; F= Fêmea

Todos os procedimentos executados com os animais seguiram os "Princípios Éticos na Experimentação Animal" de acordo com o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA (Lei nº 6.638 de 08 de maio de

1979, Decreto nº 24645 de 10 de junho de 1934).

3.2 Colheita de sangue

A colheita de sangue nos abatedouros particulares era realizada no momento da etapa de sangria das aves com o auxílio de tubos de ensaio sem anticoagulante, obtendo-se 4mL de sangue por animal. A colheita de sangue nas propriedades rurais era realizada por meio de contenção física adequada das aves, seguida da punção venosa na veia braquial ou jugular, obtendo-se 2mL por animal. A punção era realizada com seringa descartável de 3mL e agulha hipodérmica 13 x 4,5mm, e o sangue colocado em tubos de ensaio sem anticoagulante. As amostras, mantidas em temperatura ambiente, até chegar ao laboratório, eram centrifugadas a 2000g por 10 minutos, para obtenção do soro. Os soros obtidos eram armazenados a -20°C até a realização dos exames.

3.3 Exame sorológico para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii*

3.3.1 Teste de Hemaglutinação Indireta (HAI)

O procedimento experimental de sorodiagnóstico pelo teste de hemaglutinação indireta (HAI) foi realizado no Laboratório de Microbiologia e Imunologia Veterinária do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário Vila Velha-ES (UVV).

Foram utilizados kits comerciais Imuno-HAI TOXO (Wama Diagnóstica, São Paulo) seguindo os procedimentos recomendados pelo fabricante.

Embora o fabricante recomendasse uma diluição inicial de 1:32 (10µl de soro + 310µl de solução diluente), tomou-se uma alíquota de 10µl de soro de cada amostra, adicionou-se 150µl de solução diluente, formando a diluição inicial de 1:16, com o objetivo de aumentar a sensibilidade da pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* nas galinhas analisadas.

Para permitir o uso do título 1:16 como diluição inicial, realizou-se previamente um estudo comparativo entre as diluições 1:16 e 1:32, utilizando soro de 80 galinhas de criação industrial, cuja soroprevalência é sabidamente baixa. Todos os soros dessas galinhas foram negativos na diluição 1:16 e 1:32. Além disso, Marobin et al. (2004) pesquisando em emas, e Almeida et al. (2005) trabalhando com avestruzes, também utilizaram a diluição de 1:16 em pesquisa de prevalência sorológica.

Na placa de hemaglutinação indireta (fundo em V) foi adicionado no poço A1, 25µl de soro controle positivo, e no poço A2, 25µl de soro controle negativo. Os demais poços foram preenchidos com 25µl das amostras já diluídas (1:16). Em seguida, adicionou-se em todos os poços 25µl da solução de antígeno, hemácias de aves sensibilizadas com o agente *T. gondii* em tampão fosfato pH 7,2. A placa sofreu agitação manual durante 3 minutos, e depois foi colocada em repouso sobre um pano úmido, por um período de uma a duas horas para a leitura das reações. Seria considerada não reagente a formação de um botão de hemácias no

fundo do poço e, reagente, a formação de um “tapete de hemácias” em, pelo menos 50% do fundo do poço.

As amostras reagentes no teste qualitativo descrito acima foram analisadas no teste semi-quantitativo, mediante diluições a 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256 e 1:512. Caso necessário, eram realizadas mais diluições da amostra até o aparecimento de reação negativa.

Foram considerados positivos os soros reagentes a partir da diluição de 1:16.

3.3.2 Teste de Aglutinação Modificado (MAT)

Os soros dos animais também foram examinados para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* através do Teste de Aglutinação Modificado (MAT – *modified agglutination test*) segundo Dubey e Desmonts (1987).

A diluição dos soros foi feita em microplacas (96 poços) usando solução salina tamponada, pH 7,2 (NaCl 0,146M; NaH₂PO₄ 0,0026M; Na₂HPO₄ 0,008M), filtrada em membrana de 45µm de porosidade.

Em seguida, 135µl de antígeno-estoque (taquizoítos inteiros fixados em formalina) foram diluídos em 2,5ml de solução salina tamponada, pH 8,95 (NaCl 0,12M; H₃BO₃ 0,05M; NaN₃ 0,03M; albumina sérica bovina para uma solução de uso a 0,4%), 35µl de Mercaptoetanol 0,2M e 50µl de Azul de Evans 0,2%. Essa mistura era, então, homogeneizada e distribuída imediatamente em uma microplaca (96 poços) com fundo em “U”, resultando em 25µl de reagentes por

poço. Os soros diluídos a 1:25 foram transferidos para essa microplaca e misturados aos reagentes (v/v). A placa era selada com plástico adesivo para evitar evaporação, e incubada durante à noite em estufa a 37°C.

A formação de um botão, de contorno definido, na base do poço da placa foi considerada como resultado negativo; um carpete completo ou um véu de contorno pouco definido foi considerado como positivo.

Os animais com títulos maiores ou iguais a 1:25 foram considerados positivos. Em todas as reações foram utilizados controles positivos e negativos, previamente conhecidos, e controle do antígeno.

O teste de aglutinação modificado (MAT) foi realizado pelo Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal (VPS) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP).

3.4 Isolamento do *Toxoplasma gondii*

O procedimento experimental de bioensaio em camundongos para isolamento do *T. gondii* foi realizado no biotério do Complexo Biopráticas do Centro Universitário Vila Velha-ES (UVV).

Daqueles animais soropositivos na HAI, o encéfalo, o coração e músculos da coxa foram retirados durante o abate, para posterior inoculação nos camundongos. Os instrumentos utilizados foram esterilizados após cada

procedimento para evitar contaminação entre as amostras (FRAZÃO-TEIXEIRA, 2006).

3.4.1 Esfregaços para detecção imediata do parasita

Para a detecção do parasita foi feita a citologia realizando-se decalques (*imprints*) em lâminas do cérebro e coração, e esfregaços (*squashes*) em lâminas do cérebro de cada animal soropositivo, fixados ao ar, fixados em metanol por 3 minutos e corados pela coloração de Giemsa, na proporção de 1 ml de solução tampão (PBS) pH 7,2 para três gotas de corante, por 30 minutos (NETTO et al., 2003).

3.4.2 Bioensaio em camundongos para isolamento do parasita

Inicialmente realizou-se um levantamento sorológico (HAI) por amostragem dos camundongos utilizados no bioensaio para se certificar da ausência de sorologia positiva contra *T. gondii*. O sangue dos animais foi colhido pela punção do seio orbital, ou punção intracardíaca mediante contenção física e/ou química adequada. Os animais utilizados para o isolamento eram camundongos suíços albinos, jovens, machos, procedentes do Biotério do Instituto Biológico do Estado do Espírito Santo (IBEES/IDAF).

3.4.2.1 Digestão péptica dos tecidos

Quarenta gramas (40 g) de tecidos (do encéfalo, do coração e do músculo da coxa) foram triturados e homogeneizados com o mínimo de solução salina estéril formando um pool. Em seguida, adicionava-se solução de pepsina ácida (2,6g de pepsina – atividade biológica 1:10.000 + 5,0g NaCl +7,0 ml de HCl + 493ml de água deionizada) recém-preparada e aquecida, até completar 200 ml para digestão a 37°C por uma hora. Logo após, a amostra digerida era filtrada em gaze dupla estéril, centrifugada (1.200g/10min) e o sedimento, após neutralização da pepsina (adição gradual de solução de bicarbonato de sódio 1,2%, pH~8,3, recém-preparado, até mudança de cor do sedimento), era diluído em 10ml de solução salina contendo antibióticos para posterior inoculação nos camundongos (DUBEY, 1998). A solução antibiótica continha 1000UI de penicilina G potássica/ml e 100mg de estreptomicina/ml.

3.4.2.2 Inoculação em camundongos

Duas doses de 1 ml da suspensão contendo o produto da digestão péptica eram inoculadas com intervalo de 24 horas, via intra-peritoneal (*i.p.*) em camundongos. Foram utilizados cinco camundongos para cada amostra. Cinco camundongos receberam, apenas, solução salina e, serviram como controle negativo em cada experimento (DUBEY, 1998). No Centro Universitário Vila

Velha-UVV os camundongos foram acomodados em caixas plásticas com água e ração *ad libitum*.

3.4.3 Seguimento dos animais após a inoculação

Realizava-se a observação diária dos camundongos e, daqueles que vinham a óbito, colhia-se o exsudato peritoneal, e uma gota era colocada entre lâmina e lamínula e levada ao microscópio para observação direta. Em seguida, durante a necropsia, eram realizadas impressões (decalque) do cérebro, fígado, pulmões e baço para exame citológico direto, após fixação com metanol e corados pelo Giemsa. (FRAZÃO-TEIXEIRA, 2006).

Dos animais que não vieram a óbito 45 dias após a inoculação, colheram-se amostras de sangue, por punção cardíaca após anestesia, em câmara saturada de éter para realização de sorologia (HAI e MAT) para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*. Em seguida eram eutanasiados em câmara de CO₂, quando eram feitos esfregaços do encéfalo, seguidos da fixação em metanol e coloração pelo Giemsa, para a pesquisa de cistos do protozoário (DUBEY, 1998).

3.4.4 Armazenamento de amostras de tecido para estudos posteriores

Com o objetivo de um posterior estudo de análise genotípica dos isolados de *T. gondii*, imediatamente após maceração dos órgãos (cérebro, coração e músculos da coxa), colhiam-se 05 microtubos de 1,5ml para o caso de não se

obter o isolamento. Quando o isolamento foi possível, colheu-se 1 microtubo de 1,5ml do líquido peritoneal de todos os camundongos que vieram a óbito.

3.5 Avaliação epidemiológica da propriedade

Foi realizado um inquérito de cada propriedade através de um questionário pré-definido (APÊNDICE A) para levantamento das possíveis variáveis pertinentes ao sistema de criação. Em conjunto, realizou-se um inquérito direcionado à pesquisa das variáveis relacionadas aos residentes das propriedades, utilizando outro questionário pré-definido (APÊNDICE B). Os questionários contemplaram os aspectos epidemiológicos relativos ao agente e a população em estudo, tomando como base, trabalho desenvolvido por Garcia et al. (1999).

3.6 Análise estatística

As análises estatísticas, quando necessárias, foram realizadas com a utilização do programa SSPS para Windows. Todas as estatísticas estão acompanhadas dos respectivos intervalos de confiança a 95%. Foram considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

Cálculos do coeficiente de concordância $[(a+d)/n \text{ total}]$ foram realizados para avaliar os resultados obtidos com HAI e MAT.

Cálculos de sensibilidade $[a/(a+c)]$ e especificidade $[d/(b+d)]$ para os testes MAT e HAI foram realizados tomando como padrão ouro os resultados do bioensaio.

A correlação entre títulos da sorologia e o número de isolados no bioensaio foi obtida através do cálculo do coeficiente de correlação $R\hat{o}$ de Spearman.

Todas as freqüências foram calculadas com os intervalos de confiança a 95%, utilizando a fórmula: $[IC \text{ a } 95\% = 1,96 \cdot \sqrt{P \cdot (1-P)/n}]$, onde P= percentual e n= total de amostras].

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Resultados da pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*

Todas as propriedades visitadas e amostradas criavam as aves no quintal do entorno das casas, geralmente para a produção de ovos e para o abate para consumo próprio. Num exame clínico dos animais no momento da visita não foi constatado nenhum sinal ou sintoma sugestivo da infecção por *T. gondii*.

Dos 510 animais examinados, 206 (40,4%; IC 95%: 36,1-44,7) foram positivos para anticorpos anti-*T. gondii* no teste de hemaglutinação indireta (HAI), considerando título maior ou igual a 1:16, como positivo. Se considerados positivos os animais com título igual ou superior a 1:32, a prevalência foi de 158/510 ou 30,9% (IC 95%: 26,9-34,9). A distribuição dos animais soronegativos e soropositivos, segundo o município de origem, foi apresentada na Tabela 2 e na tabela 1 do APÊNDICE F onde estão as freqüências dos resultados com os respectivos intervalos de confiança a 95%.

Os resultados obtidos com o teste de aglutinação modificado (MAT) estão resumidos na Tabela 2 e na Tabela 1 do APÊNDICE G com os respectivos intervalos de confiança. Dos 510 animais examinados, 198 (38,8%; IC 95%:34,6-43,0) foram positivos para anticorpos anti-*T. gondii*, com títulos iguais ou maiores que 1:25.

A comparação dos resultados positivos obtidos com os testes de hemaglutinação indireta e aglutinação modificado está resumida na Tabela 3.

Tabela 2. Distribuição da freqüência de galinhas soronegativas e soropositivas para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* através dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) e aglutinação modificado (MAT), segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.

Município	Número de galinhas examinadas	Negativos		Positivos	
		HAI n (%)	MAT n (%)	HAI n (%)	MAT n (%)
Cariacica	10	10 (100%)	8 (80%)	0 (0%)	2 (20%)
Colatina	99	36 (36,4%)	26 (26,3%)	63 (63,6%)	73 (73,7%)
Domingos Martins	10	10 (100%)	10 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Guarapari	53	43 (81,1%)	40 (75,5%)	10 (18,9%)	13 (24,5%)
Linhares	60	42 (70%)	36 (60%)	18 (30%)	24 (40%)
Marechal Floriano	41	31 (75,6%)	28 (68,3%)	10 (24,4%)	13 (31,7%)
Serra	107	91 (85%)	90 (84,1%)	16 (15%)	17 (15,9%)
Vila Velha ¹	130	41 (31,5%)	74 (56,9%)	89 (68,5%)	56 (43,1%)
TOTAL	08	510	304 (59,6%)	312 (61,2%)	206 (40,4%)

¹ abatedouros de galinha caipira; n = número.

Tabela 3. Resultados dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) e aglutinação modificado (MAT), para pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.

Município	Número de galinhas examinadas	Positivos	
		HAI n (%; IC 95%)	MAT n (%; IC 95%)
Cariacica	10	0 (0%)	2 (20%; -4,8-44,8)
Colatina	99	63 (63,6%; 54,1-73)	73 (73,7%; 65-82,4)
Domingos Martins	10	0 (0%)	0 (0%)
Guarapari	53	10 (18,9%; 8,4-29,4)	13 (24,5%; 12,9-36,1)
Linhares	60	18 (30%; 20,3-39,7)	24 (40%; 27,6-52,4)
Marechal Floriano	41	10 (24,4%; 11,3-37,5)	13 (31,7%; 17,5-45,9)
Serra	107	16 (15%; 8,2-21,8)	17 (15,9%; 9-22,8)
Vila Velha ¹	130	89 (68,5%; 60,5-76,5)	56 (43,1%; 34,6-51,6)
TOTAL	08	510	206 (40,4%; 36,1-44,7)

¹ abatedouros de galinha caipira; n = número; IC = intervalo de confiança.

A Tabela 4 mostra a comparação dos resultados com a utilização do HAI (considerando resultados positivos a partir de 1:16) e MAT. A concordância entre os dois testes foi de 82%.

Como o fabricante do kit utilizado para HAI indica como ponto de corte para resultado positivo a diluição 1:32, foi feita a comparação dos dois métodos considerando resultados positivos os com título igual, ou maior, que 1:32. A Tabela 5 mostra essa comparação que indica uma concordância de 80,6%.

Tabela 4. Comparação dos resultados da sorologia para identificação de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em galinhas caipiras, obtidos por meio dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) com títulos $\geq 1:16$ e aglutinação modificado (MAT) com títulos $\geq 1:25$, para base de cálculo de coeficiente, ES, 2007.

HAI \ MAT	MAT	Positivo	Negativo	Total
Positivo		154	52	206
Negativo		42	262	304
Total		196	314	510

Concordância = 82%

Tabela 5. Comparação dos resultados da sorologia para identificação de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em galinhas caipiras, obtidos por meio dos testes de hemaglutinação indireta (HAI) com títulos $\geq 1:32$ e aglutinação modificado (MAT) com títulos $\geq 1:25$, para base de cálculo de coeficiente, ES, 2007.

HAI \ MAT	MAT	Positivo	Negativo	Total
Positivo		121	37	158
Negativo		62	290	352
Total		183	327	510

Concordância = 80,6%

A distribuição de frequências dos diferentes títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* na HAI, observados na amostra estudada está na Tabela 6. Observa-se que a maioria dos animais (82,03%) apresentou títulos iguais, ou inferiores, a 1:64.

Tabela 6. Distribuição dos títulos de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* obtidos pelos testes de hemaglutinação indireta (HAI) em galinhas, naturalmente infectadas, no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.

Título	Número de galinhas soropositivas	%
16	48	23,30
32	52	25,24
64	69	33,49
128	14	6,80
256	9	4,37
512	8	3,88
1.024	3	1,46
2.048	3	1,46
Total	206	100

4.2 Resultados do isolamento do *Toxoplasma gondii*

Dos 64 bioensaios realizados, o isolamento foi positivo em 48 (75%; IC 95%: 85,6-64,4) e em outras duas amostras houve soroconversão, resultando um total de 50 bioensaios positivos. A Tabela 7 mostra a frequência de bioensaios positivos de acordo com o título de anticorpos dos animais testados. Como se

esperava, a frequência de isolamentos aproximou-se de 100% nos animais com títulos maiores que 1:128.

Tabela 7. Número de bioensaios positivos de *Toxoplasma gondii* de galinhas naturalmente infectadas, segundo o título de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* no teste de hemaglutinação indireta (HAI) e o número respectivo de bioensaios realizados em camundongos, Espírito Santo, 2007.

Título	N. de bioensaio positivo/ N. total de bioensaios
16	0/2 (0%)
32	4/8 (50%)
64	29/36 (80%)
128	5/5 (100%)
256	4/5 (80%)
512	4/4 (100%)
1.024	2/2 (100%)
2.048	2/2 (100%)
Total	50/64 (78,1%; 73,2-84,0)

Coefficiente de correlação Rô de Spearman = 0.856, p= 0,003

Em todos os municípios onde foi realizado o bioensaio a partir das galinhas soropositivas (Tabela 8), obteve-se um grande número de isolamento do *T. gondii*, exceto no município de Serra onde a frequência de isolamentos ficou bem abaixo dos outros municípios.

Tabela 8. Número de bioensaios de tecidos de galinhas realizados em camundongos e número de isolados de *Toxoplasma gondii* obtidos, segundo o município de procedência das galinhas no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.

Município	Número de bioensaios em camundongos*	Número de isolados n (%)
Colatina	27	23 (85,2%)
Guarapari	04	4 (100%)
Linhares	07	6 (85,7%)
Marechal Floriano	10	9 (90%)
Serra	11	2 (18,2%)
Vila Velha	05	4 (80%)
Total	64	48 (75%)

*cada bioensaio corresponde a uma galinha soropositiva; n = número.

A Tabela 9 resume os resultados observados nos 64 bioensaios realizados. Dos 64, 50 foram positivos. Desses 50, 48 com o isolamento do parasita, e 02 com soroconversão. Observa-se que o percentual de óbitos nos camundongos com isolamento do protozoário (48 bioensaios) variou de 0% a 100%, quando levado em consideração o número de animais infectados. Houve variação no início da mortalidade de acordo com a procedência dos animais nos quais foi feito o isolamento. A sobrevida média variou de 10 a 31 dias. Nos grupos inoculados, onde não ocorreram óbitos (16 bioensaios), em 02 houve soroconversão em pelo menos 01 dos 05 camundongos inoculados. Nos outros 14 grupos nenhum dos animais mostrou soroconversão, sendo o bioensaio considerado negativo. A pesquisa de cistos teciduais nesses grupos soronegativos foi, sistematicamente, negativa.

Tabela 9. Bioensaio em camundongos para o isolamento de *Toxoplasma gondii* de galinhas, naturalmente infectadas, através de bioensaio em camundongos, segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo e título de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* no teste de hemaglutinação indireta (HAI) e resultado do teste de aglutinação modificado (MAT) das galinhas, Espírito Santo, 2007.

Município	Nº da galinha	Título de Anticorpos		Bioensaio em camundongos [§]			Média
		HAI	MAT	óbitos/ infectados/ inoculados	% de óbitos ^ε	Sobrevida (dias P.I.)*	
Colatina	253	512	Positivo	5/5/5	100	12-14	13,6
	256	64	Positivo	3/3/5	100	14-15	14,3
	259	128	Positivo	5/5/5	100	12-17	14,2
	260	64	Positivo	5/5/5	100	14-16	14,8
	261	128	Positivo	5/5/5	100	13-16	14,4
	262	64	Positivo	4/4/4	100	13-14	13,8
	265	256	Positivo	5/5/5	100	10-14	12,0
	272	64	Positivo	3/3/5	100	14-17	15,6
	274	64	Positivo	5/5/5	100	14-18	15,6
	278	512	Positivo	5/5/5	100	12-16	14,2
	283	256	Positivo	5/5/5	100	14-22	16,6
	291	64	Positivo	5/5/5	100	13-31	17,8
	292	64	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	298	256	Positivo	1/2**/5	50	15	15,0
	299	64	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	301	64	Positivo	5/5/5	100	14-16	14,6
	305	64	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	306	512	Positivo	4/4/4	100	14-21	16,5
	308	64	Positivo	5/5/5	100	13-19	15,6
	310	64	Positivo	5/5/5	100	16-21	18,0
313	64	Positivo	5/5/5	100	15-17	15,6	
317	64	Positivo	2/2/5	100	23-24	23,5	
329	512	Positivo	4/4/5	100	16-27	19,5	
330	64	Positivo	5/5/5	100	14-16	15,6	
332	64	Positivo	5/5/5	100	14-21	16,6	
334	64	Positivo	5/5/5	100	12-13	12,2	
347	64	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-	
Guarapari	26	64	Positivo	5/5/5	100	12-14	13,4
	37	32	Positivo	5/5/5	100	11	11,0
	38	128	Positivo	5/5/5	100	10	10,0
	43	64	Positivo	5/5/5	100	12-14	12,8
Linhares	387	32	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	401	64	Positivo	5/5/5	100	13-15	14,2
	404	1.024	Positivo	4/4/5	100	14-17	15,3
	405	64	Positivo	5/5/5	100	13-15	13,2
	406	64	Positivo	1/1/5	100	16	16,0
	407	256	Positivo	5/5/5	100	11-15	12,6

RESULTADOS

	410	64	Positivo	1/5**/5	20	16	16,0
Mar. Florianópolis	59	128	Positivo	5/5/5	100	14-21	16,2
	60	64	Positivo	5/5/5	100	16-21	17,8
	61	2.048	Positivo	5/5/5	100	12-16	14,2
	62	2.048	Positivo	5/5/5	100	14-22	16,6
	63	64	Positivo	5/5/5	100	16-23	17,6
	65	1.024	Positivo	4/4/4	100	14-15	14,8
	78	32	Positivo	5/5/5	100	12-16	13,8
	81	16	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	86	64	Positivo	5/5/5	100	11-14	12,8
	89	64	Positivo	1/5**/5	20	27	27,0
Serra	157	32	Positivo	0/1**/5	0	Soroconversão	-
	159	32	Negativo	0/5/5	0	Sem infecção	-
	166	32	Positivo	2/2/5	100	12-20	16,0
	181	16	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	189	64	Positivo	0/3**/5	0	Soroconversão	-
	221	64	Positivo	1/1/5	100	15	15,0
	222	64	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	223	64	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	224	64	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	228	256	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	240	32	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
Vila Velha	105	32	Negativo	0/0/5	0	Sem infecção	-
	130	64	Positivo	5/5/5	100	12-14	13,0
	98-07	128	Positivo	5/5/5	100	10-13	11,4
	99-07	64	Positivo	5/5/5	100	11-13	12,0
	100-07	64	Positivo	5/5/5	100	11-14	12,8

Nº: número

§ Cinco camundongos inoculados por grupo

* Pós-inoculação

** número de infectados = óbito + camundongos que soroconverteram

€ número de óbitos / número de infectados

A tabela 10 mostra o cálculo da sensibilidade e da especificidade do MAT, tomando como padrão ouro o isolamento do parasita nos tecidos (bioensaio). Esse cálculo pôde ser feito porque HAI teve um coeficiente de concordância de 82% com o MAT havendo, portanto, um percentual de galinhas que, embora positivas para o HAI (acima de 1:16), eram negativas no MAT. O MAT mostrou especificidade e sensibilidade de 100% na amostra examinada.

Quanto ao HAI, o cálculo da especificidade não pôde ser realizado já que o isolamento foi feito a partir de amostras positivas no método. Desse modo, pode-se afirmar apenas, que a sensibilidade do método foi de 100% na amostra avaliada.

Tabela 10. Distribuição da frequência de galinhas com isolamento do *Toxoplasma gondii*, soronegativas e soropositivas para anticorpos anti-*T. gondii* através do teste de aglutinação modificado (MAT).

MAT \ Bioensaio	Positivo	Negativo	Total
Positivo	50	00	50
Negativo	00	14	14
Total	50	14	64

Sensibilidade = 100%; especificidade = 100%

4.3 Resultados dos questionários aplicados nas diferentes propriedades

As informações obtidas a partir da aplicação dos questionários nas diferentes propriedades estão resumidas nos APÊNDICES D e E no fim do trabalho.

Nas 33 propriedades estudadas, 73% (24) dos proprietários relataram possuir gatos com livre acesso aos quintais, obtendo-se números de 01 a 10 gatos por casa (média de 1,9 gatos/casa). Em relação aos roedores, 91% (30/33) dos proprietários relataram, não só a presença desses, como também seu fácil acesso às fontes de água e alimentos. Também foi informado o fácil / livre acesso de gatos e/ou cães (média e 3,4 cães/casa) aos alimentos estocados (rações).

Em relação aos hábitos dos moradores, 79% (26/33) dos entrevistados informaram que consomem carne e ovos dos animais criados e abatidos na propriedade. O que chamou mais atenção foi o fato de que 88% (29/33) dos entrevistados desconheciam que as verduras, hortaliças, carnes e o gato estão envolvidos na transmissão do *T. gondii*.

Quando avaliada a prevalência de galinhas soropositivas para anticorpos anti-*T. gondii* por propriedade foi verificado que 67% (22/33) dessas apresentaram pelo menos um animal infectado.

DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

5.1 Análise crítica da amostra estudada

O número de animais avaliados (N = 510) foi adequado, tendo em vista que para uma prevalência estimada antes da pesquisa, em torno de 47,7%, a avaliação de 100 aves permitiria a obtenção de um resultado com erro alfa de 5% e erro beta de 20%. Em 05 dos 08 municípios avaliados colheu-se um número maior que 50 aves para compor a amostragem.

Embora não se tenha feito a colheita em todo o Estado, os municípios nos quais esse trabalho foi realizado pertencem a duas (Metropolitana e Noroeste) das quatro macrorregiões de planejamento do Espírito Santo. Por outro lado, nos abatedouros visitados no município de Vila Velha são abatidas aves originadas de diferentes municípios das regiões Metropolitana e Sul.

5.2 Prevalência da sorologia positiva para *Toxoplasma gondii* observada na amostra em relação a outras regiões do Brasil

A prevalência média da sorologia positiva para *T. gondii* na amostra estudada foi de 40,4% na HAI, considerando casos positivos aqueles com título igual, ou superior, a 1:16. Se tomarmos a diluição recomendada pelo fabricante

(positivos igual, ou acima de 1:32), que diminui a sensibilidade do teste, mas aumenta sua especificidade, a prevalência média será de 30,6%. Porém, se tomarmos os resultados com o MAT, método mais sensível e específico, a prevalência média será de 38,8%. Como a maioria das publicações sobre prevalência da infecção com *T. gondii* em galinhas utilizou o MAT, comentaremos os resultados obtidos na amostra estudada com o mesmo método (38,8%).

A soroprevalência encontrada na população de aves estudada foi semelhante àquelas encontradas por outros pesquisadores, também estudando galinhas caipiras. Como mostrado na Tabela 2, a prevalência de sorologia positiva para anticorpos anti-*T. gondii* variou de 10,3% (GARCIA et al., 2000) a 71% (LOPES, 2006) em diferentes estados brasileiros. A prevalência média observada em nossa pesquisa (38,8%) está mais próxima da observada no Pará (DUBEY et al., 2007b), no Nordeste (DE OLIVEIRA et al., 2008), em Minas Gerais (BRANDÃO et al., 2006), em São Paulo (DUBEY et al., 2002), no Paraná (DUBEY et al., 2003d) e no Rio Grande do Sul (DUBEY et al., 2007b), que variaram de 30,0% a 53,3%. No entanto, quando se considerou o município de procedência dos animais amostrados, houve variação de 0% a 73,7% na prevalência, detectado pelo MAT. Essa variação pode estar relacionada a variações geográficas (clima) e diferenças no sistema de criação das aves. Variação na prevalência em amostras diferentes de um mesmo Estado, foi observada no Paraná onde, em um estudo foi de 10% (GARCIA et al., 2000), e de 40%, em outro (DUBEY et al., 2003d).

Quando analisaram-se as condições climáticas das regiões do Estado do Espírito Santo de onde as aves eram provenientes, percebeu-se que a prevalência foi maior naquelas onde o clima é quente e úmido (Colatina e Linhares). Além disso, a presença de áreas alagadas foi detectada em 74% das propriedades de onde foram tomadas as amostras. Essa diferença de prevalência em relação às condições climáticas foi também relatada por Asgari et al. (2006) em Chiraz, no Irã. Eles admitiram que a umidade relativa do ar e a temperatura são fatores que influenciam a sobrevivência do oocisto no ambiente (daí a menor prevalência ter sido observada na região onde o clima é mais quente e seco). Observação semelhante foi feita por Dubey et al. (2005f), na Argentina.

As propriedades que apresentaram maior prevalência caracterizavam-se por grandes áreas, cuja criação era numerosa (mais que 40 animais) e as inter-relações com outras espécies animais (felinos, caninos, suínos, etc.) eram evidentes. Nas propriedades da Região Serrana (Domingos Martins e Marechal Floriano), que ficaram entre as de menor prevalência observou-se que, além de criações menores, as aves eram mantidas em cercados de tela, uma vez que a atividade principal da região é horticultura e cafeicultura. Apesar de as aves estarem em contato permanente com o solo, a limitação de exploração da área pode ter reduzido as chances de transmissão, embora os felinos tivessem livre acesso a esses locais. Essa observação difere da relatada por Silva et al. (2003) que encontraram maior prevalência em propriedades de menor extensão, justificando que menor área para deposição dos oocistos aumentaria a

concentração destes no solo, favorecendo a disseminação para as aves e outras espécies.

Quanto aos títulos observados na sorologia, verificou-se que 82% das aves tinham títulos iguais, ou inferiores, a 1:64 na HAI considerados como decorrentes de infecções mais antigas (chamadas por alguns de cicatriz imunológica), como admitido por Bonna et al. (2006), no Rio de Janeiro.

Não foi possível avaliar se houve diferença na prevalência entre machos e fêmeas, já que o número de machos amostrados foi muito pequeno. Também não foi possível avaliar diferença em relação à idade por falta de informações mais precisas, embora o aspecto dos animais sugerisse terem idade acima de 8 meses.

5.3 Frequência do isolamento do *Toxoplasma gondii*

O percentual de bioensaios positivos, por isolamento do *T. gondii* ou por soroconversão dos camundongos, foi alto (78,1%), semelhante ao relatado pela maioria dos pesquisadores que tentaram isolar o parasita a partir de aves com sorologia positiva. Como pode ser observado na Tabela 2, a frequência de isolamento está entre 69,8% (DUBEY et al., 2003a) e 84,6% (DUBEY et al., 2007b). Alguns autores relataram baixa frequência de isolamento: 30% em Minas Gerais (BRANDÃO et al., 2006); 9,8% em Goiás (ALVES et al., 2005) e 28,4% no nordeste (DE OLIVEIRA et al., 2008). O sucesso do isolamento do *T. gondii* depende do número de camundongos inoculados, da quantidade de tecido

utilizado no bioensaio, da concentração de parasitos na amostra utilizada (DUBEY et al., 2006b) e, ainda, do genótipo do parasita (PENA et al., 2008).

Na amostra estudada nesta investigação, maior frequência de isolados se relacionou com títulos maiores na sorologia e houve uma correlação positiva entre título e isolamento, demonstrada pelo cálculo do coeficiente de correlação $R\hat{o}$ de Spearman. Dados semelhantes foram encontrados por Pena (2004) trabalhando com isolamento em gatos, no Estado de São Paulo. Esses achados sugerem uma relação positiva entre títulos elevados e maior carga parasitária tecidual favorecendo o isolamento. Silva et al. (2003), no Rio de Janeiro, conseguiram o isolamento do protozoário em 04 galinhas com título menor que 1:10, no MAT, consideradas como soronegativas. Dubey et al. (2006a), na Amazônia, também conseguiram isolamento em galinhas com título 1:5 para anticorpos anti-*T. gondii*.

Estudos comparativos em galinhas, naturalmente infectadas, demonstraram que existem diferenças de carga parasitária em diferentes órgãos de um mesmo animal (DUBEY et al., 2005c; DUBEY et al., 2005e; DUBEY et al., 2006a; DUBEY et al., 2007b). Uma das observações de DUBEY et al. (2007c) mostrou que de 11 galinhas soropositivas, o isolamento do protozoário foi obtido em 05 cérebros, 08 músculos da perna e nos 11 corações, demonstrando serem mais frequentes os cistos no coração que no cérebro. A frequência de animais infectados após inoculação do macerado de cada órgão (04 camundongos por órgão, por animal, num total de 44 camundongos/órgão), foi bem maior para o coração (12/44 para o cérebro, 25/44 para o músculo e 43/44 para o coração). Esses dados mostram que em galinhas, o coração é o órgão mais parasitado pelo protozoário, mas os

autores reforçam a importância de se utilizar macerados de diferentes órgãos, isolados ou misturados, para aumentar a sensibilidade do isolamento. Há relatos do isolamento do parasita apenas do cérebro, em alguns animais (DUBEY et al., 2006a), o que reforça a importância de se utilizar macerados dos três órgãos no ensaio biológico para isolamento do parasita.

Nos ensaios de isolamento na amostra estudada a mortalidade dos camundongos foi alta e precoce na maioria dos experimentos. Um dos fatores que pode ter contribuído para a grande mortalidade foi a utilização de camundongos suíços, mais susceptíveis, e da via intraperitoneal para a inoculação, considerada a via onde a infecção é mais precoce e letal (MEDEIROS e SOUZA, 1997).

Mortalidade de 100% foi observada na maioria das amostras testadas dos diferentes municípios (45), e apenas 3 isolados apresentaram mortalidade inferior (um em Colatina 50%; um em Linhares 20%;um em Marechal Floriano 20%). Essa variação na frequência da mortalidade dos animais não pode ser avaliada com muita precisão, porque desconhecíamos o número de parasitos em cada inóculo. No entanto, pode ser que esteja relacionada à virulência das cepas. Reforça a hipótese de maior virulência das cepas isoladas o fato de terem sido utilizados camundongos machos, considerados mais resistentes (MEDEIROS e SOUZA, 1997; SILVA, 2003; DUBEY et al., 2003; DUBEY et al., 2005; DUBEY et al., 2005).

O resultado do bioensaio observado no Município da Serra foi o mais baixo: de 11 amostras apenas 4 foram positivas, resultado muito inferior ao observado nos outros municípios. No entanto as sete amostras negativas no bioensaio,

embora positivas na HAI foram negativas no MAT, reforçando a maior especificidade deste último teste. Atentou-se para os resultados do bioensaio do município de Serra, que de 11 amostras, obteve-se apenas 4 bioensaios positivos (sendo 2 por isolamento do parasito e 2 por soroconversão dos camundongos), apresentando uma freqüência de isolados bem abaixo dos outros municípios. As demais amostras, negativas no bioensaio, também foram todas negativas no MAT na diluição inicial de 1:25, comprovando mais uma vez a ótima sensibilidade da técnica.

5.4 Comparação dos resultados da sorologia feita com o HAI e MAT

Os resultados mostraram que houve 82% de concordância da HAI com o MAT, tomando como ponto de corte positivo para a HAI a diluição 1:16 e concordância de 80,9% quando considerado o ponto de corte indicado pelo fabricante ($\geq 1:32$). Essa observação mostra que a HAI que considera ponto de corte a diluição 1:16, pode ser utilizada como método de triagem.

Dubey et al. (1993) ao compararem as provas de aglutinação em látex, aglutinação indireta, Sabin-Feldman, MAT e ELISA, verificaram que apenas os dois últimos testes apresentaram sensibilidade satisfatória para detectar *T. gondii* em galinhas. De fato, os resultados obtidos na amostra estudada confirmaram o bom desempenho do MAT, com sensibilidade e especificidade de 100%, tomando

como padrão ouro o isolamento do parasita, embora com número pequeno de casos negativos.

No entanto, o índice de concordância entre os dois métodos observados na amostra estudada pôde ser considerado bom (82,0%), e a diferença na prevalência observada com a utilização da HAI (1:16) ou da MAT, foi pequena: 40,4% com HAI e 38,8% com MAT. Levando-se em conta o custo da HAI e a simplicidade de sua execução, o teste pode ser considerado como útil para triagem na pesquisa da presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em galinhas.

5.5 Informações obtidas com os questionários aplicados nas propriedades onde as amostras foram colhidas

Encontrou-se um elevado percentual de residências que, além de criarem numerosos gatos e cães, estes tinham livre acesso a todos os locais da propriedade. Também foi elevado o índice de residências onde a presença de roedores era relatada pelos entrevistados. Presença de gatos e roedores deve ser importante na infecção de galinhas de criação extensiva, já que os gatos eliminam oocistos e se infectam com o *T. gondii* alimentando-se de roedores infectados. Essa correlação entre a presença de gatos e roedores com a infecção de galinhas com *T. gondii* foi relatada por outros autores (BONNA et al., 2006). Alguns admitem que mais importante que a presença de felinos na propriedade é a

quantidade, já que quanto maior esse número, maior a eliminação de oocistos contaminando o ambiente (WEIGEL et al., 1995).

O questionário respondido pelos residentes nas propriedades mostrou um baixo grau de escolaridade (64,5% com fundamental, incompleto) o que talvez explique a ignorância em relação ao conhecimento do parasita ou da doença que ele pode produzir: 42% desconheciam a doença toxoplasmose, e dos 58% que conheciam, nenhum sabia da possibilidade do parasita ser transmitido a partir de animais domésticos infectados. Dentre os que conheciam a doença e seu potencial zoonótico, a maioria não sabia que a transmissão podia ser feita por verduras, carnes mal cozidas ou pelas fezes dos gatos.

Todos abatiam as aves na propriedade com grande frequência, sem qualquer cuidado na sua manipulação e preparo, em consequência da ignorância sobre o parasita e dos respectivos cuidados que devem ser tomados para evitar a infecção com o mesmo.

5.6 A possibilidade de infecção com *Neospora caninum* na amostra estudada

Pesquisa publicada recentemente por Costa et al. (2008) demonstrou a galinha como potencial hospedeiro intermediário natural do protozoário *Neospora caninum*, podendo ser fonte de infecção para cães. Foi ainda demonstrado que as galinhas caipiras estão mais expostas à infecção quando comparadas àquelas criadas confinadas, semelhante ao que é relatado para o *T. gondii*. Foi frequente a

ocorrência de coinfeção por *T. gondii* em 17 das 50 galinhas soropositivas para *N. caninum* examinadas pelos autores. Como o *N. caninum* é um protozoário do grupo Apicomplexa, muito semelhante ao *T. gondii* (taquizoítos e cistos, morfologicamente, muito semelhantes), poder-se-ia admitir reação cruzada entre os antígenos dos dois parasitos. No entanto, Costa et al. (2008) mostraram que não existiu reação cruzada nos testes sorológicos para *T. gondii* ou para *N. caninum* em galinhas com a dupla infecção, utilizando reação de imunofluorescência.

5.7 Potencial das galinhas caipiras como possíveis transmissoras do *Toxoplasma gondii* para o homem

Existem poucas investigações tentando correlacionar a presença de *T. gondii* em galinhas e a infecção humana. Garcia et al. (2000) não mostraram significância entre o percentual de galinhas sororreagentes com o percentual de humanos e felinos reagentes nas mesmas áreas. Outros admitem que as galinhas infectadas são responsáveis pela transmissão do parasita para gatos e cães, já que é comum o oferecimento de vísceras e cabeça das aves cruas para animais domésticos, no momento do abate (RUIZ & FRENKEL, 1980).

Por outro lado, é provável que as galinhas não sejam importantes na transmissão da toxoplasmose humana já que, normalmente, são consumidas fritas ou bem cozidas (DUBEY, 1986). Ainda assim, num recente estudo sobre o

assunto, Dubey (2009) alerta para a possível transmissão do parasita para os seres humanos através do consumo de carne de frango mal cozida infectada. No entanto, tem-se admitido que a manipulação inadequada de carnes cruas seja o fator de risco mais importante na transmissão do toxoplasma quando se fala de galinhas caipiras, por serem abatidas e manipuladas nas propriedades sem quaisquer cuidados no contato com as carcaças (YAN et al., 2009). É necessário, portanto, investigar melhor essa possibilidade de transmissão do *T. gondii* nas zonas rurais, onde o uso de galinhas caipiras é mais frequente.

A avaliação da infecção de galinhas pelo *T. gondii* é importante na indicação do nível de contaminação dos ambientes por oocistos do protozoário. Altos índices de sorologia positiva em galinhas caipiras indicam altos índices de contaminação do solo com oocistos do parasita (DUBEY et al., 2002; SILVA, 2003; ZHU et al., 2008; YAN et al., 2009).

O hábito de geofagia torna a galinha um animal que facilmente se contamina com oocistos presentes no meio ambiente. Se galinhas, sorologicamente negativas, são soltas num ambiente e se tornam soropositivas, isso indica a contaminação desse ambiente. Seriam, portanto, as galinhas, ótimos “sentinelas” para detectar ambientes contaminados por oocistos do *Toxoplasma*, cuja identificação é muito trabalhosa através do exame microscópico de amostras do solo (SILVA, 2003; DUBEY et al., 2004c).

CONCLUSÕES

6. CONCLUSÕES

- 1- A prevalência média geral da infecção pelo *T. gondii* em 510 galinhas caipiras no Estado do Espírito Santo foi elevada (38,8% no teste de aglutinação modificado - MAT; e 40,4%, utilizando-se o teste de hemaglutinação indireta - HAI), semelhante a outros Estados.
- 2- Os resultados confirmaram que o MAT é mais sensível e específico que a HAI na detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas.
- 3- Na amostra estudada a concordância da HAI (ponto de corte 1:16) com o MAT foi de 82%, o que justifica o uso da HAI como teste de triagem, por ser um método econômico, de fácil aquisição e execução.
- 4- Na amostra estudada, obteve-se bioensaio positivo para *T. gondii* em 75% de 64 amostras avaliadas (sendo 48 isolamentos e duas soroconversão), frequência semelhante à relatada na maioria dos estudos realizados no Brasil.
- 5- A taxa de mortalidade dos camundongos inoculados foi muito variável e, nos isolamentos, a sobrevivência ficou entre 10-31 dias, variação que pode estar relacionada às diferenças na virulência das cepas isoladas.
- 6- O inquérito epidemiológico, realizado por meio da aplicação de questionários, mostrou reduzido grau de conhecimento dos moradores nas propriedades sobre a doença Toxoplasmose e seus meios de transmissão, em consequência do baixo grau de escolaridade, podendo isto ser fator de risco para a infecção entre os entrevistados .

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aganga AO, Belino ED. Toxoplasmosis in local breed of chicken in Zaria, Nigeria. Int J Zoonoses. 1984 11(2):170-2.

Ajzenberg D, Bañuls AL, Su C, Dumètre A, Demar M, Carme B, Dardé ML. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol, 2004 34: 1185-1196.

Albuquerque GR, Munhoz AD, Flausino W, Silva RT, Almeida CRR, Medeiros SM, Lopes CWG. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros do Vale do Paraíba Sul Fluminense, Estado do Rio de Janeiro. Rev Bras Parasitol Vet, 2005 14(3): 125-128.

Almeida MAO, Silva MS, Ayres MCC, Duarte LFC. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em avestruzes (*Struthio camelus*) do semi-árido baiano. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia, 19, 2005, Porto Alegre. Congresso Brasileiro de Parasitologia [resumo], 2005.

Alves EC, Aleixo FS, Junior CRM, Castro AM, Soares JDAAH. 2005. Incidência de *Toxoplasma gondii* em galinhas provenientes de feiras da região urbana de Goiânia-GO.; Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária / Simpósio Latino-Americano de Riquetsioses: Anais do XIX Congresso Brasileiro de parasitologia, 1, ISBN: Português, Impresso [resumo].

Amendoeira MR, Sobral CA, Teva A, Lima JN, Klein CH. [Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in isolated Amerindians, Mato Grosso] Rev Soc Bras Med Trop. 2003 36(6): 671-6.

Araujo FAP. Avaliação Soroepidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da região da Grande

Erechim, RS - Brasil, detectados através das técnicas de imunofluorescência indireta e imunoenzimática. [Tese de doutorado (Especialidade: Protozoologia) defendida em maio de 1999].125f do Curso de Pós-Graduação em Biologia Parasitária do Instituto Oswaldo Cruz/FIOCRUZ, Arquivos da Faculdade de Veterinária. UFRGS. 2001 29(2): 149-150.

Areal KR. Estudo de soroprevalência de toxoplasmose em gestantes atendidas na rede municipal de saúde de Vitória, ES [dissertação]. Vitória (ES): Universidade Federal do Espírito Santo, 2007.

Asgari Q, Farzaneh A, Kalantari M, Akrami MF, Moazeni M, Zarifi M, Esmailzadeh B and Motazedian MH. Seroprevalence of Free-Ranging Chicken Toxoplasmosis in Sub-Urban Regions of Shiraz, Iran, Int J Poult Sci 2006 5(3): 262-264.

Barros GC, Sessa PA, Barros RC. Toxoplasmosis in medical students. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1979 21(4): 198-201.

Bonna ICF, Figueiredo FB, Costa T, Vicente RT, Santiago CAD, Nicolau JL, Neves LB, Millar PR, Sobreiro LG, Amendoeira MRR. Estudo Soroepidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos para abate em região rural do Rio de Janeiro. R Bras Ci Vet 2006 13(3): 186-189.

Brandão GP, Ferreira AM, Melo MN, Vitor RW. Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. Parasite. 2006 13(2): 143-149.

Carletti RT, Freire RI, Shimada MT, Ruffolo BB, Beagle LP, Lopes FMR, Navarro IT. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos no Estado do Paraná, Brasil. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 2005 26(4): 563-568.

Chaves SO de C e Diniz DB. Risco potencial da toxoplasmose, veiculada por alimentos. *Higiene Alimentar* 2004 18: 38-41.

Coelho RA, Kobayashi M, Carvalho LB Jr. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2003 45(4): 229-231.

Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA. Surces of *Toxoplasma* infection in pregnant woman: European Multicentric Case-Control Study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *BMJ* 2000 321: 142-147.

Costa KS, Santos SL, Uzêda RS, Pinheiro AM, Almeida MAO, Araújo FR, Mcallister MM, Gondim LFP. Chickens (*Gallus domesticus*) are natural intermediate hosts of *Neospora caninum*. *Int Jor Par* 2008 38: 157-159.

Darde ML, Bouteille B, Pestre-Alexandre M. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *J Parasitol* 1992 78: 786-94.

Darde ML, Bouteille B, Pestre-Alexandre M. Isoenzyme characterization of seven strains of *Toxoplasma gondii* by isoelectrofocusing in polyacrilamide gels. *Am J Trop Med Hyg* 1988 39: 551-58.

de Oliveira LN, Costa Junior LM, De Melo C, Ramos Silva J, Bevilaqua CM, Azevedo S, Muradian V, Araujo D, Dubey JP, Gennari SM. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the northeast region of Brazil. *J Parasitol* 2008 95(1): 235-237.

Devada K, Anandan R, Dubey JP. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Madras, India. *J Parasitol* 1998 84(3): 621-622.

Deyab AK, Hassanein R. Zoonotic toxoplasmosis in chicken. J Egypt Soc Parasitol 2005 35(1): 341-50.

Dias RA, Navarro IT, Ruffolo BB, Bugni FM, Castro MV, Freire RL. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Parana State, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo 2005 47(4): 185-9.

Dubey JP, Applewhaite L, Sundar N, Velmurungan GV, Bandini LA, Kwok OC, Hill R, Su C. Molecular and biological characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from Guyana, South America, identified several unique and common parasite genotypes. Parasitology., 2007a 134(Pt 11): 1559-1565.

Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. 1ed., Boca Raton : CRC Press, 220p, 1988.

Dubey JP, Desmouts G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Equine Vet J 1987 19: 337-339.

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

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

Dubey JP, Gomez-Marin JE, Bedoya A, Lora F, Vianna MC, Hill D, Kwok OC, Shen SK, Marcet PL, Lehmann T. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Colombia, South America. Vet Parasitol 2005b 134(1-2): 67-72.

Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, Lehmann T, Gennari SM, Ragozo AM, Nishi SM, Shen SK, Kwok OC, Hill DE, Thulliez P. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from Sao Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int J Parasitol* 2002 32(1): 99-105.

Dubey JP, Graham DH, Da Silva DS, Lehmann T, Bahia-Oliveira LM. *Toxoplasma gondii* isolates of free-ranging chickens from Rio de Janeiro, Brazil: mouse mortality, genotype, and oocyst shedding by cats. *J Parasitol* 2003a 89(4): 851-3.

Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Hilali M, El-Ghaysh A, Sreekumar C, Kwok OC, Shen SK, Lehmann T. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens and ducks from Egypt. *Vet Parasitol.* 2003b 114(2): 89-95.

Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Lehmann T, Davis MF, Morishita TY. *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. *J Parasitol.* 2003c 89(5): 1060-1062.

Dubey JP, Huong LT, Lawson BW, Subekti DT, Tassi P, Cabaj W, Sundar N, Velmurungan GV, Kwok OC, Su C. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens in Ghana, Indonesia, Italy, Poland, and Vietnam. *J Parasitol* 2008a 94(1): 68-71.

Dubey JP, Karhemere S, Dahl E, Sreekumar C, Diabate A, Dabire KR, Vianna MC, Kwok OC, Lehmann T. First biologic and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Africa (Democratic Republic of Congo, Mali, Burkina Faso, and Kenya). *J Parasitol* 2005c 91(1): 69-72.

Dubey JP, Lenhart A, Castillo CE, Alvarez L, Marcet P, Sreekumar C, Lehmann T. *Toxoplasma gondii* infections in chickens from Venezuela: isolation, tissue distribution, and molecular characterization. *J Parasitol* 2005d 91(6): 1332-1334.

Dubey JP, Levy MZ, Sreekumar C, Kwok OCH, Shen SK, Dahl E, Thullidez P, Lehmann T. Tissue distribution and molecular characterization of chicken isolates of *Toxoplasma gondii* from Peru. J Parasitol 2004a 90(5): 1015-1018.

Dubey JP, Lopez B, Alvarez M, Mendonza C, Lehmann T. Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Guatemala. Journal of Parasitology 2005e 91(4): 955-957.

Dubey JP, Marcet PL, Lehmann T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Argentina. J Parasitol 2005f 91(6): 1335-1339.

Dubey JP, Morales ES, Lehmann T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. J Parasitol 2004b 90(2): 411-413.

Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, Sreekumar C, Vianna MC, Lehmann T. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from Parana, Brazil. Vet Parasitol 2003d 117(3): 229-234.

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

Dubey JP, Rajapakse RP, Ekanayake DK, Sreekumar C, Lehmann T. Isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens from Sri Lanka. J Parasitol 2005g 91(6): 1480-1482.

Dubey JP, Ruff MD, Camargo ME. et al. Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. Am J Vet Res 1993 54(10): 1668-1672.

Dubey JP, Salant H, Sreekumar C, Dahl E, Vianna MC, Shen SK, Kwok OC, Spira D, Hamburger J, Lehmann TV. High prevalence of *Toxoplasma gondii* in a commercial flock of chickens in Israel, and public health implications of free-range farming. *Vet Parasitol* 2004c 121(3-4): 317-322.

Dubey JP, Su C, Oliveira J, Morales JA, Bolanos RV, Sundar N, Kwok OC, Shen SK. Biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Costa Rica, Central America. *Vet Parasitol* 2006c 139(1-3): 29-36.

Dubey JP, Sunar N, Pineda N, Kyvzgaard NC, Luna LA, Rimbaud E, Oliveira JB, Kwok OC, Qi Y, Su C. Biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Nicaragua, Central America. *Vet Parasitol* 2006d 142(1-2):v47-53.

Dubey JP, Sundar N, Gennari SM, Minervino AH, Farias NA, Ruas JL, Dos Santos, TR, Cavalcante GT, Kwok OC, Su C. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Para state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. *Vet Parasitol* 2007b 143(2): 182-188.

Dubey JP, Velmurugan GV, Chockalingam A, Pena HFJ, Nunes de Oliveira L, Leifer CA, Gennari SM, Bahia Oliveira LMG, Su C. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Brazil. *Vet Parasitol* 2008b 157: 299-305.

Dubey JP, Venturini MC, Venturini L, Piscopo M, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Vianna MC, Lehmann T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Argentina. *J Parasitol* 2003e 89(5): 1063-1064.

Dubey JP, Vianna MC, Sousa S, Canada N, Meireles S, Correia da Costa JM, Marcet PL, Lehmann T, Darde ML, Thulliez P. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Portugal. J Parasitol 2006e 92(1): 184-186.

Dubey JP, Webb DM, Sundar N, Velmurugan GV, Bandini LA, Kwok OCH, Su C. Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: clinical disease, diagnosis, biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*). Vet Par 2007c 148(3-4): 207-212.

Dubey JP. Epizootic toxoplasmosis associated with abortion in dairy goats in Montana. J Am Vet Med Assoc 1981 178(7): 661-670.

Dubey JP. Refinement of pepsin digestion method for isolation Of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. Vet Parasitol 1998 74: 75-77.

Dubey JP, Bhaiyat MI, De Allie C, Macpherson CN, Sharma RN, Sreekumar C, Vianna MC, Shen SK, Kwok OC, Miska KB, Hill DE, Lehmann T. Isolation, tissue distribution, and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from chickens in Grenada, West Indies. Journal of Parasitology. 2005h 91(3): 557-560.

Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. Clin Microbiol Rev 1998 11 (2): 267-299.

Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, Clinical Disease, Diagnosis and Public Health Significance. Zoonoses Public Health. 2009 57(1): 60-73.

Dubey JP. Toxoplasmosis. J Am Vet Med 1986, 189:166-170.

El-Massry A, Mahdy OA, El-Ghaysh A, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of turkeys, chickens, and ducks from Egypt. J Parasitol 2000 86(3): 627-628.

Ferreira AM, Vitor RW, Carneiro AC, Brandao GP, Melo MN. Genetic variability of Brazilian *Toxoplasma gondii* strains detected by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR) and simple sequence repeat anchored-PCR (SSR-PCR). Infec Genet Evol 2004 4: 131-142.

Fortes E. Parasitologia Veterinária. São Paulo : Ícone Editora, 3 ed., 686 p., 1997.

Frazão-Teixeira E, Oliveira FCR De, Pelissari-Sant'ana V, Lopes CWG. *Toxoplasma gondii* em encéfalos de suínos comercializados no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 2006 15(1): 33-36.

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Marana ER. M. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. Ciência Rural 2000 30(1): 123-127 .

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Oliveira RC. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e equinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. Ciência Rural 1999 29(1): 91-97.

Gazêta GS, Dutra AEA, Norberg AN, Serra-Freire NM, Souza WJS, Amorim M & Lopes LMS. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de

equinos no Estados do Rio de Janeiro, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 1997 6(2): 87-91.

Ghazaei, C. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii*. Afr J Health Sci 2006 13(1-2): 131-134.

Grigg ME, Suzuki Y. Sexual recombination and clonal evolution of virulence in *Toxoplasma*. Microbes Infect 2003 5: 685-690.

Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. J Infect Dis 1995 172: 1561-1566.

Klein CS, Zotti TR, Gava A, Pelisser MR, Qualidade Microbiológica de Salames tipo Colonial Comercializados na Cidade de Concórdia-SC: análise de *Staphylococcus aureus* e *Toxoplasma gondii* ISSN 0100-8862. Comunicado Técnico, Concórdia-SC, 2006.

Kuticic V, Wikerhauser T. A survey of chickens for viable toxoplasmosis in Croatia. Acta Vet Hung 2000 48(2): 183-185.

Lehmann T, Graham DH, Dahl E, BAHIA-OLIVEIRA LMG, GENNARI SM, DUBEY JP. Variation in the structure of *Toxoplasma gondii* and the roles of selfing, drift and epistatic selection in maintaining linkage disequilibria. Infec Genet Evol 2004 4: 107-114.

Lindström L, Sundar N, Lindh J, Kironde F, Kabasa JD, Kwok OC, Dubey JP, Smith JE. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from Ugandan chickens reveals frequent multiple infections. Parasitology 2008 135(Pt 1): 39-45.

Literák I, Hejlíček K. Incidence of *Toxoplasma gondii* in population of domestic birds in the Czech Republic. Avian Pathology 1993 22: 275-281.

Locatelli-Dittrich R; Richartz RRT; Patrício MAC; Gasinojoineau M; Lenati LF; Soccol VT. Diagnóstico sorológico de toxoplasmose em suínos de diferentes tipos de criação no Estado do Paraná. In: XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia, 2005, Porto Alegre. CD room do XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia. Porto Alegre : Sociedade Brasileira de Parasitologia [resumo], 2005.

Lopes CS, Silva NM, Silva-Oliveira Da, Mineo JR. Isolamento e caracterização genotípica de cepas de *Toxoplasma gondii* de galinhas caipiras (*Gallus gallus domesticus*) da cidade de Uberlândia, MG, Universidade Federal de Uberlândia Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação. Diretoria de Pesquisa Comissão Institucional de Iniciação Científica 2006 (apresentação de trabalho/seminário).

Lunden A, Lind P, Engvall EO, Gustavsson K, Uggla A, Vagsholm I. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in pigs slaughtered in Sweden. Scand J Infect Dis 2002 34(5): 362-5.

Maciel KP, Araujo FAP, Inquérito sorológico para detecção de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em caprinos (*Capra hircus*) criados nos municípios de Gravataí e Viamão, região da Grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Revista de Ciências Agroveterinárias (Lages) 2004 3(2): 121-125.

Mainardi RS, Stachissini AVM, Langoni H, Padovani CR & Modolo JR. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no Estado de São Paulo. Rev Bras Parasitol Vet 2000 9(2): 97-99.

Markell EK, John DT, Krotoski WA. Markell & Vogt: Parasitologia Médica. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2003, 8 ed., 150-159 p.

Marobin L, Flôres ML, Rizzatti BB, Segabinazi SD, Lagaggio VRA, Grigulo M, Scalco MA. Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em emas (*Rhea americana*) em diferentes criatórios do Estado do Rio Grande do Sul. Braz J Vet Res Anim Sci 2004 4: 5-9.

Maubon D, Ajzenberg D, Brenier-Pinchart M-P, Dardé M-L, Pelloux H. What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis? Trends in Parasitology 2008 24 (7): 299-303.

Medeiros SM, Souza WJS. Avaliação da sobrevivência de camundongos singênicos inoculados com taquizoítas de *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceous, 1909 (Apicomplexa: toxoplasmatinae). R Bras Med Vet 1997 19(2) 70-71.

Meireles LR, Galisteo AJ Jr., Andrade HF de JR. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo state, Brazil. Braz J Vet Res Anim Sci 2003 40: 267-271.

Mendonça AO. Detecção de *Toxoplasma gondii* em linguiças suínas tipo frescal, comercializadas no município de Botucatu-SP. [Dissertação mestrado] – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2003.

Moraes RG; Leite IC, Goulart EG. Moraes: Parasitologia & Micologia Humana. Rio de Janeiro : Cultura Médica : Guanabara Koogan, 143-153, 2008.

Moura AB, Osaki S, Zulpo DL, Marana ERM, Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 2007 16(1): 54-56.

Netto EG, Munhoz AD, Albuquerque GR, Lopes CWG, Ferreira AMR. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909

(Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. Rev Bras Parasitol Vet 2003 12(4): 145-149.

Owen MR, Trees AJ. Genotyping of *Toxoplasma gondii* associated with abortion in sheep. J Parasitol 1999 85: 382-384.

Pena HFJ, Gennari SM, Dubey JP, Su C. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. Int J Parasitol 2008 38: 561-569.

Pereira IC. Soroprevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal de Pelotas-RS [tese]. Pelotas (RS): Universidade Federal de Pelotas; 2005.

Rey L. Parasitologia : parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan S. A., 2008, 4 ed., 883 p.

Ruiz A & Frenkel JR. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in costa Rica. Am J Trop Med Hyg 1980 29:1161-1166.

Sella MZ, Navarro IT, Vidotto O, Freire RL & Shida PN. Epidemiologia da Toxoplasmose caprina: levantamento sorológico do *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na microrregião de Londrina, Paraná, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet 1994 3(1): 13-16.

Silva ACB, Mitsuka R, Navarro JT, Freire RL, Jankevicius SI, Vidotto O & Jankevicius JV. Avaliação pela Imunofluorescência Indireta dos Aspectos Imunogênicos e Antigênicos de diferentes amostras de *Toxoplasma gondii* inoculadas em suínos. Rev Bras Parasitol Vet 1994 3(1): 17-22.

Silva AV, Cutolo AA, Langoni H., Comparação da Reação de Imunofluorescência Indireta e do Método de Aglutinação Direta na detecção de anticorpos anti-Toxoplasma em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. *Arq Inst Biol São Paulo* 2002 69(1): 7-11.

Silva DS Da, Bahia-Oliveira LM, Shen SK, Kwok OC, Lehman T, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. *J Parasitol* 2003 89(2): 394-396.

Smith HJ. Seroprevalence of Anti-Toxoplasma IgG in Canadian Swine. *Can J Vet Res* 1991 55: 380-381.

Spagnol FH. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos abatidos nos matadouros municipais de Ilhéus e Itabuna - Bahia. 2005. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Estadual de Santa Cruz.

Spalding SM, Amendoeira MR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. [Prospective study of pregnant and babies with risk of congenital toxoplasmosis in municipal district of Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003 36(4): 483-491.

Sposito-Filha E, Amaral V, Macruz R, Rebouças MM, Santos SM, Drumond LS. *Toxoplasma gondii* em ovinos: isolamento do parasita a partir de diafragmas de animais procedentes do Estados do Rio Grande do Sul e abatidos em matadouros de São Paulo, para consumo humano. *Rev Bras Parasitol Vet* 1992 1(2): 117-119.

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

Tenter AM, Heckeroth AR, Wiess LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol 2000 30: 1217-1258.

Tsutsui VS, Navarro IT, Freire RL, Freitas JC, Prudencio LB, Delbem ACB, Marana ERM. Soroepidemiologia e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná, Brasil. Arch Vet Sci 2003 8(2): 27-34.

Urquhart GM. Parasitologia Veterinária. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1998, 2 ed., 273 p.

Uzêda RS, Fernández SY, Jesus EEV, Pinheiro AM, Ayres Mcc, Spinol S, Barbosa Junior HV, Almeida MAO. Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia. Rev Bras Saúde Prod An 2004 5(1): 1-8.

Weigel RM, Dubey JP, Siegel AM. Risk factors for transmission of *Toxoplasma gondii* on swine farms in Illinois. J. Parasitol 1995 81(5): 736-741.

Yan C, Yue CL, Yuan ZG, He Y, Yin CC, Lin RQ, Dubey JP, Zhu XQ. *Toxoplasma gondii* infection in domestic ducks, free-range and caged chickens in southern China. Vet Parasitol 2009 165(3-4): 337-340.

Zaki M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic animals in Pakistan. J Pak Med Assoc 1995 45(1): 4-5.

Zhu J, Yin J, Xiao Y, Jiang N, Ankarlev J, Lindh J, Chen Q. A Sero-epidemiological survey of *Toxoplasma gondii* infection in free-range and caged chickens in northeast China. Vet Parasitol. 2008 158(4): 360-363.

APÊNDICES

APÊNDICE A – DADOS DA PROPRIEDADE

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO – UFES
NÚCLEO DE DOENÇAS INFECCIOSAS

FICHA EPIDEMIOLÓGICA DA PROPRIEDADE

N. da prop.: _____ Localidade: _____ GPS: _____

Quantidade de moradores: _____ mulheres _____ homens _____ crianças

Sistema de criação: () intensivo () semi-intensivo () extensivo

Número médio de animais: aves _____ (frangas) _____ (adultas) _____ (galos)

Suínos _____ (marrã) _____ (matriz) _____ (cachaço)

Outras espécies: () bubalinos, () bovinos, () ovinos, () caprinos, () eqüinos, () caninos

() outros _____

N.	PERGUNTAS	SIM	NÃO
1	Presença de áreas alagadiças		
2	Funcionário separado por área		
3	Presença de felinos	Quantos?	
4	Presença de caninos	Quantos?	
5	Acesso de animais ao cocho de ração		
6	Acesso de roedores ao cocho de ração		
7	Acesso de felinos ao cocho de ração		
8	Acesso de caninos ao cocho de ração		
9	Acesso de outros animais ao cocho de ração		
10	Uso de água tratada (ou de poço artesiano)		
11	Acesso de animais ao reservatório de água		
12	Acesso de roedores ao reservatório de água		
13	Acesso de felinos ao reservatório de água		
14	Acesso de caninos ao reservatório de água		
15	Presença de lâmina d'água		
16	Previne roedores		
17	Higienização das instalações		
18	Higienização do reservatório de água		
19	Utilização de tampa no reservatório		
20	Leptospirose reagente		
21	Ocorrência de natimortos		
22	Ocorrência de abortos		
23	Repetição irregular do cio		
24	Nascimentos de leitões fracos		
25	Faz vacinação contra Leptospirose		
26	Ocorrência de descarga vulvar		
27	Ocorrência de fetos mumificados		
28	Funcionário separado por área		
29	Propriedade com localização urbana		
30	Presença de áreas alagadiças		
31	Localização da propriedade: Urbana, Rural	Urbana	Rural
32	Sistema de criação: Intensivo, Semi-intensivo	Intensivo	Semi-intensivo
33	Tipo de Alimentação: Ração comercial, Produzida na propriedade	Ração comercial	Produzida no local
34	Tipo de bebedouro: Canaleta, Automático	Canaleta	Automático
35	Origem da matriz: Comprada, Seleccionada na propriedade	Comprada	Seleccionada no local
36	Descarte de reprodutor na propriedade: Por idade, Por problemas reprodutivos	Por idade	Por problema reprodutivo

(Tsutsui et al., 2003).

APÊNDICE B – DADOS DOS ENTREVISTADOS

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO – UFES
NÚCLEO DE DOENÇAS INFECCIOSAS

FICHA EPIDEMIOLÓGICA DOS MORADORES

N. prop.: _____ Pessoa entrevistada: () homem () mulher () criança Data: ____/____/____

Grau de escolaridade: _____ (ensino fundamental incompleto, ensino fundamental completo, ensino médio incompleto, ensino médio completo e nível superior)

N.	PERGUNTAS	SIM	NÃO
1	Consumo de carne crua ou mal cozida		
2	Consumo de carnes de Porco (P), Ave (A) e bovino (B)		
3	Consumo de ovos		
4	Abate animais na propriedade		
5	Lava faca quando corta verdura e depois carne (e vice-versa)		
6	Lava as mãos sempre que vai comer		
7	Lava as verduras para comer		
8	Presença de quintal de terra		
9	Referência à prática de jardinagem ou cultivo de horta		
10	Presença (acesso) de gato dentro de casa		
11	Já ouviu falar sobre Toxoplasmose		
12	Conhecimento do potencial zoonótico do agente		
13	Você sabia que verdura pode transmitir		
14	Você sabia que carne pode transmitir		
15	Você sabia que o gato pode transmitir		
16	Hábito e frequência da realização de refeições fora de casa		
17	Consumo de carne é ()7, ()6, ()5, ()4, ()3, ()2 ou ()1 dia na semana		
18	Tem interesse em obter os resultados do trabalho		

(Garcia et al., 2000).

APÊNDICE C – LISTAGEM DOS ANIMAIS AMOSTRADOS

MUNICÍPIO	Nº da galinha	Sexo	Título de anticorpos		Bioensaio em camundongos	Isolamento de <i>T. gondii</i>
			HAI	MAT		
CARIACICA	171	F	Negativo	Negativo	-	-
	172	F	Negativo	Negativo	-	-
	173	M	Negativo	Negativo	-	-
	174	M	Negativo	Negativo	-	-
	175	F	Negativo	Positivo	-	-
	176	F	Negativo	Negativo	-	-
	177	F	Negativo	Positivo	-	-
	178	F	Negativo	Negativo	-	-
	179	M	Negativo	Negativo	-	-
	180	M	Negativo	Negativo	-	-
COLATINA	252	M	Negativo	Negativo	-	-
	253	F	512	Positivo	Sim	Sim
	254	F	128	Positivo	-	-
	255	F	256	Positivo	-	-
	256	F	64	Positivo	Sim	Sim
	257	F	64	Positivo	-	-
	258	F	64	Positivo	-	-
	259	F	128	Positivo	Sim	Sim
	260	F	64	Positivo	Sim	Sim
	261	F	128	Positivo	Sim	Sim
	262	F	64	Positivo	Sim	Sim
	263	F	64	Positivo	-	-
	264	F	16	Positivo	-	-
	265	F	256	Positivo	Sim	Sim
	266	F	Negativo	Negativo	-	-
	267	F	512	Positivo	-	-
	268	F	64	Positivo	-	-
	269	F	64	Positivo	-	-
	270	F	Negativo	Negativo	-	-
	271	F	Negativo	Negativo	-	-
	272	F	64	Positivo	Sim	Sim
	273	F	64	Positivo	-	-
	274	F	64	Positivo	Sim	Sim
	275	F	Negativo	Positivo	-	-
	276	F	Negativo	Negativo	-	-
	277	F	128	Positivo	-	-
	278	F	512	Positivo	Sim	Sim
	279	F	64	Positivo	-	-
	280	F	Negativo	Positivo	-	-
	281	M	Negativo	Negativo	-	-
282	F	Negativo	Negativo	-	-	
283	F	256	Positivo	Sim	Sim	
284	F	16	Positivo	-	-	
285	F	Negativo	Negativo	-	-	
286	F	Negativo	Negativo	-	-	
287	F	Negativo	Negativo	-	-	
288	F	Negativo	Negativo	-	-	
289	F	Negativo	Negativo	-	-	

290	F	Negativo	Positivo	-	-
291	F	64	Positivo	Sim	Sim
292	F	64	Positivo	Sim	Não
293	F	Negativo	Negativo	-	-
294	F	Negativo	Positivo	-	-
295	F	Negativo	Negativo	-	-
296	F	32	Positivo	-	-
297	M	512	Positivo	-	-
298	F	256	Positivo	Sim	Sim
299	F	64	Positivo	Sim	Não
300	F	32	Positivo	-	-
301	F	64	Positivo	Sim	Sim
302	F	16	Positivo	-	-
303	F	16	Positivo	-	-
304	F	64	Positivo	-	-
305	F	64	Positivo	Sim	Não
306	F	512	Positivo	Sim	Sim
307	F	Negativo	Positivo	-	-
308	F	64	Positivo	Sim	Sim
309	F	32	Positivo	-	-
310	F	64	Positivo	Sim	Sim
311	F	16	Positivo	-	-
312	F	32	Positivo	-	-
313	F	64	Positivo	Sim	Sim
314	F	64	Positivo	-	-
315	F	Negativo	Negativo	-	-
316	F	16	Positivo	-	-
317	F	64	Positivo	Sim	Sim
318	F	32	Positivo	-	-
319	F	Negativo	Positivo	-	-
320	F	16	Positivo	-	-
321	F	32	Positivo	-	-
322	F	16	Positivo	-	-
323	F	256	Positivo	-	-
324	F	32	Positivo	-	-
325	F	16	Positivo	-	-
326	F	Negativo	Negativo	-	-
327	F	32	Positivo	-	-
328	F	32	Positivo	-	-
329	F	512	Positivo	Sim	Sim
330	F	64	Positivo	Sim	Sim
331	F	32	Positivo	-	-
332	F	64	Positivo	Sim	Sim
333	F	Negativo	Positivo	-	-
334	F	64	Positivo	Sim	Sim
335	F	Negativo	Positivo	-	-
336	F	32	Negativo	-	-
337	F	Negativo	Negativo	-	-
338	F	Negativo	Negativo	-	-
339	F	Negativo	Negativo	-	-
340	F	Negativo	Positivo	-	-
341	F	Negativo	Negativo	-	-
342	F	32	Negativo	-	-
343	F	Negativo	Negativo	-	-
344	F	Negativo	Negativo	-	-

	345	F	Negativo	Negativo	-	-
	346	F	Negativo	Positivo	-	-
	347	F	64	Positivo	Sim	Não
	348	F	Negativo	Negativo	-	-
	349	F	Negativo	Negativo	-	-
	350	F	Negativo	Negativo	-	-
DOMINGOS MARTINS	95	F	Negativo	Negativo	-	-
	96	F	Negativo	Negativo	-	-
	97	F	Negativo	Negativo	-	-
	98	M	Negativo	Negativo	-	-
	99	F	Negativo	Negativo	-	-
	100	F	Negativo	Negativo	-	-
	101	F	Negativo	Negativo	-	-
	102	F	Negativo	Negativo	-	-
	103	M	Negativo	Negativo	-	-
	104	F	Negativo	Negativo	-	-
GUARAPARI	01	F	Negativo	Negativo	-	-
	02	F	Negativo	Negativo	-	-
	03	F	Negativo	Positivo	-	-
	04	M	Negativo	Negativo	-	-
	05	F	Negativo	Negativo	-	-
	06	F	Negativo	Negativo	-	-
	07	F	Negativo	Negativo	-	-
	08	F	Negativo	Negativo	-	-
	09	F	Negativo	Negativo	-	-
	10	F	Negativo	Negativo	-	-
	11	F	Negativo	Negativo	-	-
	12	F	Negativo	Negativo	-	-
	13	M	Negativo	Negativo	-	-
	14	F	Negativo	Negativo	-	-
	15	F	Negativo	Negativo	-	-
	16	F	Negativo	Negativo	-	-
	17	F	Negativo	Positivo	-	-
	18	F	Negativo	Negativo	-	-
	19	F	Negativo	Positivo	-	-
	20	F	Negativo	Negativo	-	-
	21	M	Negativo	Negativo	-	-
	22	F	Negativo	Negativo	-	-
	23	F	Negativo	Negativo	-	-
	24	F	Negativo	Negativo	-	-
	25	F	16	Positivo	-	-
	26	F	64	Positivo	Sim	Sim
	27	F	Negativo	Negativo	-	-
	28	F	Negativo	Negativo	-	-
	29	F	Negativo	Negativo	-	-
	30	F	16	Negativo	-	-
	31	F	Negativo	Positivo	-	-
	32	F	Negativo	Negativo	-	-
	33	F	Negativo	Negativo	-	-
	34	F	Negativo	Negativo	-	-
	35	F	Negativo	Negativo	-	-
	36	F	Negativo	Negativo	-	-
	37	F	32	Positivo	Sim	Sim
	38	F	128	Positivo	Sim	Sim

39	F	Negativo	Negativo	-	-
40	F	32	Positivo	-	-
41	F	32	Positivo	-	-
42	F	16	Positivo	-	-
43	F	64	Positivo	Sim	Sim
44	F	32	Positivo	-	-
45	F	Negativo	Negativo	-	-
46	F	Negativo	Negativo	-	-
47	F	Negativo	Negativo	-	-
48	F	Negativo	Negativo	-	-
49	F	Negativo	Negativo	-	-
50	M	Negativo	Negativo	-	-
51	F	Negativo	Negativo	-	-
52	M	Negativo	Negativo	-	-
53	M	Negativo	Negativo	-	-
351	F	64	Positivo	-	-
352	F	Negativo	Negativo	-	-
353	F	Negativo	Positivo	-	-
354	F	32	Positivo	-	-
355	F	Negativo	Negativo	-	-
356	F	Negativo	Positivo	-	-
357	F	Negativo	Negativo	-	-
358	F	Negativo	Negativo	-	-
359	F	Negativo	Negativo	-	-
360	F	16	Negativo	-	-
361	F	Negativo	Negativo	-	-
362	F	Negativo	Negativo	-	-
363	F	Negativo	Positivo	-	-
364	F	Negativo	Negativo	-	-
365	F	Negativo	Negativo	-	-
366	F	Negativo	Negativo	-	-
367	F	Negativo	Negativo	-	-
368	F	Negativo	Negativo	-	-
369	F	Negativo	Negativo	-	-
370	F	Negativo	Negativo	-	-
371	F	Negativo	Negativo	-	-
372	F	Negativo	Negativo	-	-
373	F	Negativo	Negativo	-	-
374	F	Negativo	Negativo	-	-
375	F	Negativo	Negativo	-	-
376	F	Negativo	Negativo	-	-
377	F	Negativo	Negativo	-	-
378	F	Negativo	Positivo	-	-
379	F	Negativo	Negativo	-	-
380	F	Negativo	Negativo	-	-
381	F	16	Positivo	-	-
382	F	Negativo	Negativo	-	-
383	F	Negativo	Negativo	-	-
384	F	Negativo	Negativo	-	-
385	M	Negativo	Negativo	-	-
386	F	Negativo	Negativo	-	-
387	F	32	Negativo	Sim	Não
388	F	Negativo	Negativo	-	-
389	F	Negativo	Negativo	-	-
390	F	Negativo	Negativo	-	-

LINHARES

391	F	Negativo	Negativo	-	-
392	F	256	Positivo	-	-
393	F	16	Positivo	-	-
394	F	Negativo	Negativo	-	-
395	F	Negativo	Positivo	-	-
396	M	Negativo	Positivo	-	-
397	F	64	Positivo	-	-
398	F	Negativo	Negativo	-	-
399	F	16	Positivo	-	-
400	F	Negativo	Positivo	-	-
401	F	64	Positivo	Sim	Sim
402	F	32	Positivo	-	-
403	F	16	Positivo	-	-
404	F	1.024	Positivo	Sim	Sim
405	F	64	Positivo	Sim	Sim
406	F	64	Positivo	Sim	Sim
407	F	256	Positivo	Sim	Sim
408	F	32	Positivo	-	-
409	F	Negativo	Positivo	-	-
410	F	64	Positivo	Sim	Sim
54	F	Negativo	Negativo	-	-
55	F	Negativo	Negativo	-	-
56	F	Negativo	Negativo	-	-
57	F	Negativo	Negativo	-	-
58	F	Negativo	Negativo	-	-
59	F	128	Positivo	Sim	Sim
60	F	64	Positivo	Sim	Sim
61	F	2.048	Positivo	Sim	Sim
62	F	2.048	Positivo	Sim	Sim
63	F	64	Positivo	Sim	Sim
64	M	Negativo	Negativo	-	-
65	F	1.024	Positivo	Sim	Sim
66	F	Negativo	Negativo	-	-
67	F	Negativo	Positivo	-	-
68	F	Negativo	Negativo	-	-
69	F	Negativo	Negativo	-	-
70	F	Negativo	Negativo	-	-
71	F	Negativo	Negativo	-	-
72	F	Negativo	Negativo	-	-
73	F	Negativo	Negativo	-	-
74	F	Negativo	Negativo	-	-
75	F	Negativo	Negativo	-	-
76	F	Negativo	Negativo	-	-
77	F	Negativo	Negativo	-	-
78	F	32	Positivo	Sim	Sim
79	F	Negativo	Negativo	-	-
80	F	Negativo	Negativo	-	-
81	M	16	Negativo	Sim	Não
82	F	Negativo	Negativo	-	-
83	F	Negativo	Negativo	-	-
84	F	Negativo	Positivo	-	-
85	F	Negativo	Negativo	-	-
86	F	64	Positivo	Sim	Sim
87	F	Negativo	Positivo	-	-
88	F	Negativo	Negativo	-	-

MAR. FLORIANO

	89	F	64	Positivo	Sim	Sim
	90	F	Negativo	Negativo	-	-
	91	F	Negativo	Negativo	-	-
	92	F	Negativo	Positivo	-	-
	93	F	Negativo	Negativo	-	-
	94	F	Negativo	Negativo	-	-
	135	F	Negativo	Negativo	-	-
	136	F	Negativo	Negativo	-	-
	137	F	Negativo	Negativo	-	-
	138	F	Negativo	Negativo	-	-
	139	F	Negativo	Negativo	-	-
	140	F	Negativo	Negativo	-	-
	141	F	Negativo	Negativo	-	-
	142	F	Negativo	Negativo	-	-
	143	F	Negativo	Negativo	-	-
	144	F	Negativo	Negativo	-	-
	145	F	Negativo	Negativo	-	-
	146	F	16	Negativo	-	-
	147	F	Negativo	Negativo	-	-
	148	F	16	Negativo	-	-
	149	F	Negativo	Negativo	-	-
	150	F	Negativo	Negativo	-	-
	151	F	Negativo	Negativo	-	-
	152	F	Negativo	Negativo	-	-
	153	F	Negativo	Negativo	-	-
	154	F	512	Positivo	-	-
	155	F	16	Negativo	-	-
	156	F	Negativo	Negativo	-	-
	157	M	32	Positivo	Sim	Não
	158	F	Negativo	Negativo	-	-
	159	F	32	Negativo	Sim	Não
	160	F	Negativo	Positivo	-	-
	161	F	Negativo	Negativo	-	-
	162	F	Negativo	Negativo	-	-
	163	F	Negativo	Negativo	-	-
	164	F	Negativo	Positivo	-	-
	165	F	Negativo	Negativo	-	-
	166	F	32	Positivo	Sim	Sim
	167	F	Negativo	Negativo	-	-
	168	F	Negativo	Negativo	-	-
	169	F	Negativo	Negativo	-	-
	170	F	Negativo	Negativo	-	-
	181	F	16	Positivo	Sim	Não
	182	F	Negativo	Negativo	-	-
	183	F	Negativo	Negativo	-	-
	184	F	Negativo	Negativo	-	-
SERRA	185	F	Negativo	Negativo	-	-
	186	F	Negativo	Negativo	-	-
	187	F	Negativo	Negativo	-	-
	188	F	Negativo	Negativo	-	-
	189	F	64	Positivo	Sim	Não
	190	F	Negativo	Negativo	-	-
	191	F	Negativo	Negativo	-	-
	192	F	Negativo	Negativo	-	-
	193	F	Negativo	Negativo	-	-

194	F	Negativo	Negativo	-	-
195	F	Negativo	Negativo	-	-
196	F	Negativo	Negativo	-	-
197	F	Negativo	Negativo	-	-
198	F	16	Positivo	-	-
199	F	Negativo	Negativo	-	-
200	F	Negativo	Negativo	-	-
201	F	Negativo	Negativo	-	-
202	F	Negativo	Negativo	-	-
203	F	Negativo	Negativo	-	-
204	F	Negativo	Negativo	-	-
205	F	Negativo	Negativo	-	-
206	F	Negativo	Negativo	-	-
207	F	Negativo	Negativo	-	-
208	F	Negativo	Negativo	-	-
209	F	Negativo	Negativo	-	-
210	F	Negativo	Negativo	-	-
211	F	Negativo	Positivo	-	-
212	M	Negativo	Negativo	-	-
213	F	Negativo	Negativo	-	-
214	F	Negativo	Negativo	-	-
215	F	Negativo	Negativo	-	-
216	F	Negativo	Negativo	-	-
217	F	Negativo	Negativo	-	-
218	F	Negativo	Negativo	-	-
219	F	Negativo	Negativo	-	-
220	F	Negativo	Negativo	-	-
221	F	64	Positivo	Sim	Sim
222	F	64	Positivo	Sim	Não
223	F	64	Positivo	Sim	Não
224	F	64	Positivo	Sim	Não
225	F	Negativo	Negativo	-	-
226	F	Negativo	Negativo	-	-
227	F	Negativo	Negativo	-	-
228	F	256	Positivo	Sim	Não
229	F	Negativo	Positivo	-	-
230	F	Negativo	Negativo	-	-
231	F	Negativo	Negativo	-	-
232	F	Negativo	Negativo	-	-
233	F	Negativo	Negativo	-	-
234	F	Negativo	Negativo	-	-
235	F	Negativo	Negativo	-	-
236	M	Negativo	Negativo	-	-
237	F	Negativo	Negativo	-	-
238	F	Negativo	Negativo	-	-
239	F	Negativo	Negativo	-	-
240	F	32	Positivo	Sim	Não
241	F	Negativo	Negativo	-	-
242	F	Negativo	Negativo	-	-
243	F	Negativo	Negativo	-	-
244	F	Negativo	Negativo	-	-
245	F	Negativo	Negativo	-	-
246	F	Negativo	Negativo	-	-
247	F	Negativo	Positivo	-	-
248	F	Negativo	Negativo	-	-

	249	F	Negativo	Negativo	-	-
	250	F	Negativo	Negativo	-	-
	251	F	Negativo	Negativo	-	-
	105	F	32	Positivo	Sim	Não
	106	F	Negativo	Negativo	-	-
	107	F	Negativo	Negativo	-	-
	108	F	Negativo	Positivo	-	-
	109	F	Negativo	Negativo	-	-
	110	F	Negativo	Negativo	-	-
	111	F	Negativo	Negativo	-	-
	112	F	Negativo	Positivo	-	-
	113	F	16	Positivo	-	-
	114	F	16	Negativo	-	-
	115	F	Negativo	Negativo	-	-
	116	F	Negativo	Positivo	-	-
	117	F	Negativo	Negativo	-	-
	118	F	Negativo	Positivo	-	-
	119	F	Negativo	Negativo	-	-
	120	F	Negativo	Negativo	-	-
	121	F	Negativo	Negativo	-	-
	122	F	16	Positivo	-	-
	123	F	Negativo	Negativo	-	-
	124	F	Negativo	Negativo	-	-
	125	F	Negativo	Negativo	-	-
	126	F	Negativo	Negativo	-	-
	127	F	Negativo	Negativo	-	-
	128	F	Negativo	Negativo	-	-
	129	F	Negativo	Positivo	-	-
	130	F	64	Positivo	Sim	Sim
	131	F	Negativo	Negativo	-	-
	132	F	Negativo	Negativo	-	-
	133	F	Negativo	Positivo	-	-
	134	F	16	Positivo	-	-
	01-07	F	Negativo	Negativo	-	-
	02-07	F	32	Negativo	-	-
	03-07	F	32	Positivo	-	-
	04-07	F	32	Negativo	-	-
	05-07	F	256	Positivo	-	-
	06-07	F	32	Negativo	-	-
	07-07	F	Negativo	Negativo	-	-
	08-07	F	Negativo	Negativo	-	-
	09-07	F	128	Negativo	-	-
	10-07	F	Negativo	Negativo	-	-
	11-07	F	16	Positivo	-	-
	12-07	F	32	Positivo	-	-
	13-07	F	16	Positivo	-	-
	14-07	F	128	Negativo	-	-
	15-07	F	Negativo	Negativo	-	-
	16-07	F	16	Negativo	-	-
	17-07	F	128	Positivo	-	-
	18-07	F	64	Positivo	-	-
	19-07	F	64	Negativo	-	-
	20-07	F	32	Negativo	-	-
	21-07	F	Negativo	Negativo	-	-
	22-07	F	32	Negativo	-	-

VILA VELHA

23-07	F	Negativo	Negativo	-	-
24-07	F	Negativo	Negativo	-	-
25-07	F	Negativo	Positivo	-	-
26-07	F	64	Negativo	-	-
27-07	F	32	Negativo	-	-
28-07	F	Negativo	Negativo	-	-
29-07	F	Negativo	Negativo	-	-
30-07	F	32	Positivo	-	-
31-07	F	Negativo	Negativo	-	-
32-07	F	16	Negativo	-	-
33-07	F	Negativo	Positivo	-	-
34-07	F	32	Positivo	-	-
35-07	F	16	Negativo	-	-
36-07	F	64	Negativo	-	-
37-07	F	64	Positivo	-	-
38-07	F	128	Positivo	-	-
39-07	F	64	Positivo	-	-
40-07	F	64	Negativo	-	-
41-07	F	64	Negativo	-	-
42-07	F	128	Positivo	-	-
43-07	F	64	Positivo	-	-
44-07	F	64	Positivo	-	-
45-07	F	64	Negativo	-	-
46-07	F	64	Positivo	-	-
47-07	F	32	Negativo	-	-
48-07	F	32	Positivo	-	-
49-07	F	64	Negativo	-	-
50-07	F	64	Negativo	-	-
51-07	F	128	Positivo	-	-
52-07	F	32	Positivo	-	-
53-07	F	32	Negativo	-	-
54-07	F	128	Positivo	-	-
55-07	F	16	Negativo	-	-
56-07	F	Negativo	Negativo	-	-
57-07	F	32	Negativo	-	-
58-07	F	64	Negativo	-	-
59-07	F	64	Positivo	-	-
60-07	F	Negativo	Negativo	-	-
61-07	F	64	Positivo	-	-
62-07	F	16	Positivo	-	-
63-07	F	16	Positivo	-	-
64-07	F	16	Positivo	-	-
65-07	F	16	Positivo	-	-
66-07	F	32	Positivo	-	-
67-07	F	2.048	Positivo	-	-
68-07	F	1.024	Positivo	-	-
69-07	F	32	Positivo	-	-
70-07	F	16	Negativo	-	-
71-07	F	32	Negativo	-	-
72-07	F	16	Negativo	-	-
73-07	F	64	Positivo	-	-
74-07	F	Negativo	Positivo	-	-
75-07	F	16	Negativo	-	-
76-07	F	64	Positivo	-	-
77-07	F	16	Negativo	-	-

78-07	F	32	Negativo	-	-
79-07	F	64	Negativo	-	-
80-07	F	32	Negativo	-	-
81-07	F	16	Positivo	-	-
82-07	F	512	Positivo	-	-
83-07	F	32	Negativo	-	-
84-07	F	64	Negativo	-	-
85-07	F	32	Negativo	-	-
86-07	F	64	Negativo	-	-
87-07	F	Negativo	Negativo	-	-
88-07	F	16	Negativo	-	-
89-07	F	32	Positivo	-	-
90-07	F	32	Positivo	-	-
91-07	F	16	Negativo	-	-
92-07	F	16	Negativo	-	-
93-07	F	32	Positivo	-	-
94-07	F	32	Positivo	-	-
95-07	F	16	Positivo	-	-
96-07	F	16	Negativo	-	-
97-07	F	16	Negativo	-	-
98-07	F	128	Positivo	Sim	Sim
99-07	F	64	Positivo	Sim	Sim
100-07	F	64	Positivo	Sim	Sim

NR = teste não realizado

APÊNDICE D – RESULTADO DO INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DA PROPRIEDADE

n.	Questionário	Número de Identificação da Propriedade Pesquisada																																	média ou %	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33		
1	Quantidade de moradores																																			
	Mulher	1		2	2	2	2	4	1	1	1	1	3	1		1		1	1	1	2	1	1		2	3	1	1	2	1	4		8	7		
	Homem	1	1	4	2	2	1	2	4	2	2	3	5	2	1	1		1	1	1	2	2	2		2	1	2	3	2	3	4	1	8	12		
	Criança	1						4				2	3					3	3	1	2		2		2					2	1		5	7		
2	Atividade principal																																			
	Agricultura							x		x	x		x		x	x					x	x	x			x	x	x	x			x	x			
	Fruticultura							x																												
	Pecuária																	x			x	x	x		x					x						
	Suinocultura		x															x			x	x	x		x											
	Avicultura							x						x	x	x		x			x	x	x		x		x	x	x			x				
	Lazer/residência	x			x	x	x				x								x	x										x				x		
	Agroturismo			x																																
3	Número médio de animais																																			
	Frangas	20	70	40	30	30	0	10	30	20	11	30	15	0	50	20		60	10	5	30	20	10		30	15	20	15	15	15	0	0	40	10		
	Adultas	15	30	40	18	18	13	30	30	8	12	40	10	14	50	13		30	20	10	60	20	30		150	20	60	20	30	20	70	25	20	26		
	Galos	4	2	10	3	2	1	2	20	2	1	15	1	2	6	2		3	2	2	5	2	2		10	1	1	2	1	1	2	5	3	0		
4	Outras espécies																																			
	Suínos		x			x		x		x	x		x	x		x		x			x	x	x		x			x	x		x	x	x			
	Bovinos		x	x					x	x								x			x	x	x		x		x		x		x		x			
	Ovinos/caprinos			x	x	x						x						x			x						x				x		x			
	Equinos			x		x			x			x						x			x	x	x		x				x		x		x			
5	Presença de áreas alagadiças																																			
	Sim			x		x		x	x	x	x	x	x	x	x	x		x			x	x	x		x	x	x	x	x		x		x			
	Não	x	x		x		x												x	x										x		x		x		
6	Presença de felinos?																																			
	Sim	x	x	x	x	x		x		x	x		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x		x		x	x	x	x	x	x		x	x	
	Não					x		x				x															x						x			
7	Quantidade de gatos presentes	1	5	1	4	4	0	2	0	3	3	0	1	2	0	2		2	1	1	3	0	5		3	0	10	2	2	1	1	0	0	1		

n.	Questionário	Número de Identificação da Propriedade Pesquisada																																média ou %	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		33
8	Presença de caninos?																																		
	Sim	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x		x		x		x	x	x	x	x	x		x		x	x	x	x	x	x	x	x	
	Não								x			x		x												x									
9	Quantidade de caninos presentes	8	8	14	1	3	1	3	10	0	1	2	0	2	0	4		1	1	1	14	4	8		3	0	1	1	3	1	1	3	5	1	
10	Acesso de animais ao cocho de ração																																		
	Sim	x	x	x	x	x			x	x	x		x	x		x		x	x	x	x	x	x		x		x	x	x	x	x	x	x	x	
	Não						x	x				x														x									
11	Acesso de roedores ao cocho de ração																																		
	Sim	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x				x	x	x	x	x	x		x			x	x	x	x	x	x	x	
	Não											x			x	x											x	x							
12	Acesso de felinos ao cocho de ração																																		
	Sim			x	x	x		x		x	x		x	x		x		x	x	x	x		x		x		x	x	x	x	x			x	
	Não	x	x				x					x			x											x							x	x	
13	Acesso de caninos ao cocho de ração																																		
	Sim		x	x														x		x	x	x	x		x		x	x	x	x		x	x	x	
	Não	x			x	x	x	x	x	x	x	x			x				x							x									
14	Acesso de outros animais ao cocho de ração																																		
	Sim		x	x		x		x					x					x																	
	Não	x			x		x	x	x	x	x		x	x	x			x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
15	Uso de poço artesiano/nascente																																		
	Sim	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	Não																																		
16	Acesso de animais ao reservatório de água																																		
	Sim																																		x
	Não	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x				
17	Acesso de																																		

n.	Questionário	Número de Identificação da Propriedade Pesquisada																																média ou %		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		33	
18	roedores ao reservatório de água																																			
	Sim																																			3,20%
	Não	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	96,80%	
19	Acesso de felinos ao reservatório de água																																			
	Sim																																			3,20%
	Não	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	96,80%	
20	Acesso de caninos ao reservatório de água																																			
	Sim																																			6,50%
	Não	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	93,50%	
21	Presença de lâmina d'água																																			
	Sim			x		x		x	x	x	x	x	x	x	x		x			x	x	x			x	x	x	x	x	x	x		x		74,20%	
	Não	x	x		x		x												x	x													x		x	25,80%
22	Previne roedores																																			
	Sim	x		x	x			x	x			x	x		x		x	x	x	x	x	x				x			x	x	x	x	x	x	64,50%	
	Não		x			x	x	x			x	x		x											x		x							x		35,50%
23	Higienização das instalações																																			
	Sim	x		x	x	x	x				x	x		x			x	x	x		x				x	x	x		x		x				54,80%	
	Não		x				x	x	x				x		x						x							x		x		x	x	x		45,20%
24	Higienização do reservatório de água																																			
	Sim			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	87,10%
	Não	x	x																														x			12,90%
25	Utilização de tampa no reservatório																																			
	Sim	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	87,10%	
	Não		x																														x		x	12,90%
25	Localização da propriedade:																																			

n.	Questionário	Número de Identificação da Propriedade Pesquisada																																	média ou %	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33		
26	Urbana, Rural																																			
	Urbana																																			
	Rural	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
27	Tipo de Alimentação																																			
	Ração comercial	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	Produção no local		x																																	
27	Tratamento da água para criação																																			
	Sim		x							x	x	x	x	x	x																					
	Não	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	

APÊNDICE E – RESULTADO DO INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO DOS ENTREVISTADOS

n.	Questionário	Número de Identificação da Propriedade Pesquisada																																Média ou %	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		33
1	Pessoa entrevistada																																		
	Homem	x	x	x	x	x		x	x	x			x	x	x	x				x	x	x	x			x		x				x			
	Mulher						x				x	x						x	x								x		x				x	x	
	Criança																																		
2	Grau de escolaridade																																		
	ensino fundamental incompleto	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x							x						x	x	x		x	x		x	
	ensino fundamental completo												x			x			x	x			x												
	ensino médio incompleto																x									x				x				x	
	ensino médio completo																								x										
	nível superior																																		
3	Consume carne crua ou mal cozida?																																		
	Sim	x		x					x	x					x				x									x				x			
	Não		x		x	x	x	x			x	x	x	x			x	x		x	x	x			x	x	x		x	x	x		x	x	
4	Consumo de carnes de:																																		
	Porco	x		x		x	x	x	x	x		x	x	x			x	x	x	x	x				x	x		x	x	x	x		x		
	Ave	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x		x	x	x	x			x		x	x	x	x	x	x	x	x	
	Bovino	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
5	Consumo de ovos																																		
	Sim	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x									x	x	x	x	x		x	x	x	
	Não																		x	x	x	x	x							x					
6	Abate animais na propriedade?																																		
	Sim		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x						x	x	x	x		x	x	x	x	
	Não	x																																	
7	Lava faca quando corta verdura e depois carne (e vice-versa)?																																		
	Sim	x		x	x	x	x		x	x	x		x	x	x		x		x	x	x	x				x	x	x	x	x	x	x	x		
	Não		x				x	x				x						x																	
8	Lava as mãos sempre que vai comer?																																		

n.	Questionário	Número de Identificação da Propriedade Pesquisada																																	Média ou %
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	
9	Sim	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x		x	x	93,50%
	Não							x																									x		6,50%
10	Lava as verduras para comer?																																		
	Sim	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	100%
11	Não																																		0%
	Presença de quintal de terra																																		
12	Sim	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x	x	100%	
	Não																																		0%
13	Referência à prática de jardinagem ou cultivo de horta?																																		
	Sim				x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x		x			x	x	x			x	x	x	x	x		x		x	x	77,40%
14	Não	x	x	x														x	x															22,60%	
	Presença (acesso) de gato dentro de casa																																		
15	Sim		x		x			x					x		x		x	x							x				x				x	35,50%	
	Não	x		x				x	x	x	x	x		x						x	x	x				x	x							64,50%	
16	Já ouviu falar sobre Toxoplasmose?																																		
	Sim	x			x	x	x		x	x	x		x	x		x	x	x						x	x	x			x	x				58%	
17	Não		x	x			x				x			x							x	x	x						x	x				42%	
	Conhecimento do potencial zoonótico do agente																																		
18	Sim	x			x	x	x		x	x	x		x	x		x		x	x					x	x	x			x	x				54,80%	
	Não		x	x			x				x			x																					45,20%
19	Você sabia que verdura pode transmitir?																																		
	Sim	x					x													x														16,10%	
20	Não		x	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x		x	x																	83,90%	
	Você sabia que carne pode transmitir?																																		
21	Sim	x					x				x	x		x											x	x								25,80%	
	Não		x	x	x	x	x		x	x	x			x													x	x	x					74,20%	
22	Você sabia que o gato pode transmitir?																																		
	Sim	x					x						x												x									32,30%	

n.	Questionário	Número de Identificação da Propriedade Pesquisada																																Média ou %				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		33			
18	Não Hábito e frequência da realização de refeições fora de casa		x	x	x		x	x		x		x	x		x			x			x	x	x			x	x	x	x		x	x	x	x		67,70%		
	Sim	x	x	x		x			x	x		x		x	x				x	x		x	x		x		x							x	x		54,80%	
19	Não Quantas vezes consome carne por semana				x		x	x		x		x			x			x			x					x		x	x	x	x	x	x			45,20%		
	1																																					
	2						x																														3,20%	
	3																		x																x		6,50%	
	4																									x									x	x		9,70%
	5				x																																	6,50%
	6																																					
7		x	x	x		x		x	x	x	x	x	x	x	x			x			x	x	x	x			x	x	x	x	x	x	x	x		77,40%		

APÊNDICE F – RESULTADOS DA FREQUENCIA SOROLÓGICA PELO TESTE DE HEMAGLUTINAÇÃO INDIRETA

Tabela 1. Distribuição da freqüência de galinhas soronegativas e soropositivas para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* através do teste de hemaglutinação indireta (HAI), segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.

Município	Número de galinhas examinadas	Hemaglutinação Indireta (HAI)	
		Negativos n (%; IC 95%)	Positivos n (%; IC 95%)
Cariacica	10	10 (100%)	0 (0%)
Colatina	99	36 (36,4%; 24,9-45,7)	63 (63,6%; 54,1-73)
Domingos Martins	10	10 (100%)	0 (0%)
Guarapari	53	43 (81,1%; 91,6-70,6)	10 (18,9%; 8,4-29,4)
Linhares	60	42 (70%; 60,3-79,7)	18 (30%; 20,3-39,7)
Marechal Floriano	41	31 (75,6%; 62,5-88,7)	10 (24,4%; 11,3-37,5)
Serra	107	91 (85%; 78,2-91,8)	16 (15%; 8,2-21,8)
Vila Velha ¹	130	41 (31,5%; 23,5-39,5)	89 (68,5%; 60,5-76,5)
TOTAL	08	510	304 (59,6%; 55,2-63,8)
			206 (40,4%; 36,1-44,7)

¹ abatedouros de galinha caipira; n = número; IC = intervalo de confiança.

APÊNDICE G – RESULTADOS DA FREQUENCIA SOROLÓGICA PELO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADO

Tabela 1. Distribuição da freqüência de galinhas soronegativas e soropositivas para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* através do teste de aglutinação modificado (MAT), segundo o município de procedência no Estado do Espírito Santo, ES, 2007.

Município	Número de galinhas examinadas	Aglutinação Modificado (MAT)	
		Negativos n (%; IC 95%)	Positivos n (%; IC 95%)
Cariacica	10	8 (80%; 55,2-104,8)	2 (20%; -4,8-44,8)
Colatina	99	26 (26,3%; 17,6-35)	73 (73,7%; 65-82,4)
Domingos Martins	10	10 (100%)	0 (0%)
Guarapari	53	40 (75,5%; 63,9-87,1)	13 (24,5%; 12,9-36,1)
Linhares	60	36 (60%; 47,6-72,4)	24 (40%; 27,6-52,4)
Marechal Floriano	41	28 (68,3%; 54,1-82,5)	13 (31,7%; 17,5-45,9)
Serra	107	90 (84,1%; 77,2-91)	17 (15,9%; 9-22,8)
Vila Velha ¹	130	74 (56,9%; 48,4-65,4)	56 (43,1%; 34,6-51,6)
TOTAL	08	510	312 (61,2%; 57-65,4)
			198 (38,8%; 34,6-43)

¹ abatedouros de galinha caipira; n = número; IC = intervalo de confiança.

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](#)