

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA E PARASITOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA



Dissertação

Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux; 1909) e fatores de risco associados em população rural de origem germânica no sul do Brasil

Aline Machado Carvalho

Pelotas, 2014

Aline Machado Carvalho

Soroprevalência para *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux; 1909) e fatores de risco associados em população rural de origem germânica no sul do Brasil

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Parasitologia)

Orientadora: Dr.^a. Nara Amélia da Rosa Farias

Pelotas, 2014

Dados de catalogação na fonte:
Maria Beatriz Vaghetti Vieira – CRB-10/1032
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

C331a Carvalho, Aline Machado
Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* e fatores de risco associados em uma população rural de origem germânica no sul do Brasil / Aline Machado Carvalho. – 79f. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia. Pelotas, 2014. – Orientador Nara Amélia da Rosa Farias.

1.Parasitologia. 2.Toxoplasmose. 3.Epidemiologia.
4.*Toxoplasma gondii*. I.Farias, Nara Amélia da Rosa. II. Título.

CDD: 616.96

Comitê de orientação:

Prof.^a Dr.^a Nara Amélia da Rosa Farias (Orientador)

Banca examinadora:

Prof.^o Dr.^o Jerônimo Lopes Ruas (IB-UFPeI)

Prof.^o Dr.^a Élvia Vianna (IB-UFPeI)

Prof.^a Dr.^a Tânia Regina Bettin dos Santos (FV-UFPeI)

Prof.^o Dr.^o Diego Moscarelli Pinto (IB-UFPeI)- suplente

AGRADECIMENTOS

A Deus, mestre do amor incondicional, fonte inesgotável de misericórdia, que perante os obstáculos me tornou forte e sábia suficiente para me conduzir até aqui.

Aos meus pais, que foram estímulo, abrigo e fortaleza para que eu sempre pudesse crescer profissionalmente desde bem pequena.

À minha orientadora que foi incansável e se tornou uma grande amiga, me mostrou os melhores caminhos. Acabou se tornando uma segunda mãe para me incentivar em todas as direções. Com ela ganhei amadurecimento profissional e pessoal para todo sempre.

À minha professora de ciências do ensino médio, Sulani, que auxiliou a construir uma aluna aplicada e apaixonada por essa área que atuo até hoje, seu jeito especial e cativante de ensinar, me conduziu sem querer até aqui.

Aos queridos colegas do ESF Santa Inês que me proporcionaram alegrias e momentos inesquecíveis, meu muito obrigado pela presença amiga e ajuda incansável, apoio total para que a pesquisa fosse um sucesso.

Aos grandes profissionais e colegas do laboratório 13, pelo apoio total, sugestões, troca de idéias e valiosa ajuda.

A colaboração e doação de kits e controles pela Wama diagnóstica®, Eliane Birck, Roberta , Luciara Muller e Cláudia Hartleben, meu muito obrigado.

Aos meus grandes amigos e familiares de São Lourenço do Sul e Pelotas que sempre estiveram ao meu lado torcendo, mesmo na minha ausência ou falta de paciência.

Aos colegas, funcionários e professores do PPGP, pelo incentivo e inestimável aprendizado, crescimento intelectual e pessoal.

A dor pode nos levar a fraquejar, mas os corajosos a vencem e passam a agradecê-la, pois os vitoriosos aprendem que a única forma de libertação é a gratidão que somente conhecemos na tribulação. A fonte de prosperidade é abdicar de si mesmo, para ir atrás de seus sonhos e passar a fazer diariamente o que não sabia e de forma independente, com auxílio eventual. O impossível você pode realizar desde que seja forte o suficiente para deixar Deus direcionar sua vida e co-habitar em seu coração. Aline Carvalho

RESUMO

CARVALHO, ALINE MACHADO. **Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* e fatores de risco associado em população rural de origem germânica no sul do Brasil.** 2014.80f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas, RS, Brasil.

A toxoplasmose, ocasionada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, é uma patologia difundida em todo mundo e altamente prevalente principalmente em regiões de clima quente e úmido. Trata-se de uma zoonose, de grande importância em saúde pública, podendo causar infecção em todos os animais homeotérmicos, além de peixes e moluscos. A soroprevalência varia mesmo entre populações de localidades próximas, e, por isso, é importante a realização de estudos regionais, que permitam a tomada de medidas específicas e eficazes para o controle da zoonose. Essa variação é determinada pelos hábitos e costumes dos habitantes de cada região, sendo também influenciada por fatores climáticos, geográficos e tipos de trabalho. No estado do Rio Grande do Sul, existem regiões de colonização germânica, cuja população mantém seus hábitos alimentares e culturais preservados. Este estudo teve como objetivo conhecer a soroprevalência de *T. gondii* em uma população germânica no Sul do Rio Grande do Sul e correlacionar com os principais fatores de risco, incluindo o consumo de carnes cruas defumadas, de anseriformes como patos, gansos e marrecos, e também de suínos. Foi aplicado questionário epidemiológico e realizado coletas de sangue venoso de 350 indivíduos, cadastrados no posto de saúde de comunidade rural do município de São Lourenço do Sul-RS. Os exames sorológicos para *T. gondii* foram realizados através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) segundo Camargo (1964), com ponto de corte de 1: 32 para IgG e 1:8 para IgM. A soroprevalência para *T. gondii* na população estudada foi de 75,1%, com títulos que variaram entre 32 e 16.380. Não foi diagnosticado nenhum caso agudo da doença ou de infecção recente (IgM positivo). Constatou-se que o hábito de provar o tempero de carne crua aumenta 2,45 vezes mais a chance de infecção dessas pessoas pelo protozoário. Mais de 90% dos pesquisados costumam consumir embutidos artesanais, água não tratada, pratos típicos à base de carne defumada, ter contato com o solo, não higienizar corretamente frutas e verduras, manusear carne crua e ter gatos no peridomicílio. Trata-se do primeiro estudo sobre a soroprevalência de *T. gondii* em população rural de origem germânica no Brasil.

Palavras-chave: toxoplasmose; epidemiologia; população origem germânica

ABSTRACT

CARVALHO, ALINE MACHADO. **Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and risk factors associated in a population of germanic origin in southern Brazil.** 2014. 78f. Thesis (Master degree) - Graduate Program in Parasitology, Federal University of Pelotas, RS, Brazil.

Toxoplasmosis, caused by *Toxoplasma gondii* protozoan, is a disease widespread throughout the world and highly prevalent particularly in regions with hot and humid weather. It is a zoonosis of major public health significance, and it may cause infection in all warm-blooded animals, fish and shellfish. The seroprevalence varies even among populations of nearby locations, and so it is important to conduct regional studies to permit the preparation of specific and effective measures for the control of the zoonosis. This variation is determined by the habits and customs of the inhabitants of each region, and it is also influenced by climatic and geographic factors and types of jobs. In the state of Rio Grande do Sul, there are regions of Germanic settlement, whose population keeps its eating and cultural habits preserved. This study aimed to assess the seroprevalence of *T. gondii* in a German population in the southern region of Rio Grande do Sul and to correlate with the major risk factors, including consumption of raw and smoked meats from anseriforms such as ducks, geese and pork. Epidemiological questionnaire was applied, and it was done collections of venous blood samples of 350 individuals registered at the health center in the rural community the municipality of São Lourenço do Sul - RS. This is the first study on the seroprevalence of *T. gondii* infection in the rural population of German origin in Brazil. The serologic tests for *T. gondii* were done through the Indirect Immunofluorescence Assay, according to Camargo (1964), with a cutoff of 1:32 for IgG and 1:8 IgM. The seroprevalence of *T. gondii* in the studied population was 75.1%, with titers ranging from 32 to 16,380. No case of acute illness or recent infection (IgM positive) was diagnosed. It was found that the habit of tasting the flavor of raw meat increases 2.45 times the chance of infection by the protozoan of these people. Over 90% of the respondents usually consume artisanal sausages and typical smoked meat dishes, drink untreated water, have contact with the ground, do not properly sanitize fruits and vegetables, handle raw meat and have cats around the house, which may explain the higher seroprevalence than in other population groups in the region. This is the first study on the seroprevalence of *T. gondii* infection in the rural population of German origin in Brazil.

Keywords: toxoplasmosis; epidemiology; germanic

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1- Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* e fatores de risco associado em população rural de origem germânica no sul do Brasil

- Tabela 1-** Caracterização socioeconômica da população germânica no Sul do RS.....52
- Tabela 2-** Distribuição da população rural de origem germânica de São Lourenço do Sul-RS (n=350), segundo possíveis fatores de risco para infecção por *T. gondii*.....53
- Tabela 3-** Frequência das supostas fontes de infecção humana citadas pelos indivíduos de origem germânica que julgavam conhecer a toxoplasmose.....54
- Tabela 4-** Distribuição dos indivíduos (n=263) da população de origem germânica estudada, do sul do RS, segundo o título de anticorpo IgG para *T. gondii* (RIFI).....55
- Tabela 5-** Associação ($p \leq 0,05$) dos fatores de risco à infecção com a soropositividade para *T. gondii* em população rural de origem germânica (n=350), do Sul do RS, após análise univariada.....56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ECLIA	Eletroquimioluminescência
ESF	Estratégia de saúde da família
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IFI	Imunofluorescência indireta
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
PR	Paraná
RIFI	Reação de Imunofluorescência indireta
RS	Rio Grande do Sul
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
PSF	Posto de Saúde Familiar
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1. Introdução Geral	12
2. Revisão Bibliográfica	15
2.1. Histórico da Toxoplasmose	15
2.2. O parasito	16
2.3. Toxoplasmose	20
2.4. Epidemiologia	21
2.5. Patogenia e Sinais Clínicos	26
2.6. Diagnóstico Sorológico	27
2.7. Prevenção e Controle	28
2.8. Hábitos Germânicos	29
3. Objetivos	30
4. Artigo	43
4.1 Referências do artigo	64
5. Conclusões Gerais	67
6. Apêndices	68
7. Anexos	73

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma antropozoonose, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que é um coccídio, parasito intracelular obrigatório. Os hospedeiros intermediários de *T. gondii* são vários vertebrados, principalmente aves e mamíferos, porém os únicos hospedeiros definitivos são os membros da família Felidae, que eliminam oocistos nas fezes, contaminam o ambiente e, conseqüentemente o homem e outros animais homeotérmicos, peixes e moluscos (TENTER *et al.*, 2000).

Quase todas as formas de vida do protozoário são infectantes para os hospedeiros intermediários e definitivos. Dentre as formas de transmissão em humanos, estão a ingestão de oocistos presentes no ambiente ou em água e alimentos contaminados (HILL e DUBEY, 2002; DUMÉTRE *et al.*, 2008), a ingestão de cistos nos tecidos de hospedeiros intermediários (FERGUSSON, 2009) e a transmissão congênita (DUBEY E JONES, 2008). Existe também a possibilidade de ocorrer através de transplante de órgãos e transfusões de sangue e hemocomponentes (NELSON *et al.*, 1989; HILL e DUBEY, 2002).

Em indivíduos imunocompetentes a infecção costuma ser autolimitada e, frequentemente, assintomática. No entanto, o protozoário irá permanecer viável nos tecidos, na forma de cistos, de modo que não é possível erradicá-la (DUBEY *et al.*; 1996; FERGUSON, 2009). Nos pacientes imunocomprometidos, como indivíduos com neoplasias, síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) ou outras condições imunossupressoras, a doença causada por *T. gondii* pode ser severa e fatal (JEFREY *et al.*, 2001; MEDEIROS *et al.*, 2001; FERGUSON, 2009). Na transmissão congênita da toxoplasmose podem ocorrer abortos ou danos à criança, que tanto podem ser detectados no momento do nascimento como se manifestar tardiamente (ASPINALL *et al.*; 2003; DUBEY e JONES, 2008).

O parasito tem ampla distribuição geográfica e comporta-se como agente de alta infecciosidade e baixa patogenicidade, visto que 50% ou mais da população estão contaminados pelo coccídio e apenas uma proporção reduzida apresenta a doença (HOLLAND, 1999). No Brasil 50 a 83% da população adulta é soropositiva (ORÉFICE, 2005) e a forma mais comum da toxoplasmose sistêmica pós-natal

(TSPN) é a forma assintomática que acomete 80-90% casos (AKSTEIN, 1982). A ingestão de cistos viáveis, presentes em carnes de animais infectados, é a via de transmissão mais importante para infecção por *Toxoplasma gondii*, em seres humanos (DUBEY, 1996; SOCCOL, 2009). O consumo de carne mal passada é o maior fator de infecção em humanos, especialmente na Europa, onde vários surtos estavam ligados epidemiologicamente a essa forma de infecção (COOK *et al.*, 2000; DUBEY, 2010). Entre as espécies destinadas à alimentação humana, as infecções por *T. gondii* são mais prevalentes em suínos, ovinos e caprinos, do que em bovinos (DUBEY; BEATTIE, 1988; DUBEY, 2010). Entretanto, deve ser considerada a importância dos bovinos como fonte de infecção para a espécie humana, principalmente pelo consumo de derivados, é a mais consumida na região. (SANTOS, *et al.*; 2012).

Vários inquéritos no Brasil em populações urbanas, rurais e, inclusive, em indígenas, têm demonstrado uma prevalência de sororeagentes geralmente superior a 50% (COUTINHO, 1981), chegando a 80% em algumas regiões (KAWAZOE, 1995). Esta variação na prevalência está relacionada a fatores geográficos, climáticos, socioculturais, tipo de trabalho, entre outros (FRENKEL, 1991)

As prevalências nas populações estudadas no estado do Rio Grande do Sul variam entre 54,8% e 80%. Não existem registros sobre a prevalência dessa zoonose em populações de origem germânica e a relação com seus hábitos alimentares, no Brasil. Em relação aos fatores associados com a soropositividade para esse coccídio, estudos realizados em diferentes áreas geográficas e populações, tiveram resultados conflitantes, evidenciando a necessidade de estudos regionais que caracterizem a epidemiologia desta infecção e, assim, possibilitem melhorias nas estratégias de controle e prevenção (ZARKOVIC *et al.*, 2007; LOPES *et al.*, 2009; LOGES *et al.*, 2010).

O segundo distrito do município de São Lourenço do Sul, RS, comunidade rural de Taquaral, é uma região típica de colonização germânica. O posto de saúde (PSF) da comunidade que pertence ao Sistema Único de Saúde, responsável pelo atendimento da população local e realização de orientações aos grupos de hipertensos, diabéticos e gestantes. A sorologia para *T. gondii* somente é feita quando o médico solicita para gestantes e/ou pacientes suspeitos, e inexistem dados relativos à prevalência desta infecção na população.

Este trabalho teve como objetivo avaliar a prevalência de imunoglobulinas (IgM e IgG) em indivíduos de origem germânica em uma comunidade rural no sul do Brasil (RS), e correlacionar os resultados obtidos na sorologia, com os dados de inquérito epidemiológico realizado na população local.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Histórico da toxoplasmose

O protozoário *Toxoplasma gondii*, foi descrito por Nicolle e Manceaux (1908) na Tunísia, Norte da África, no cérebro de um roedor selvagem, *Ctenodactylus gondii* e, no mesmo ano, por Splendore (1908) em São Paulo, Brasil, em coelhos de laboratório. O gênero foi denominado *Toxoplasma* (do grego táxon=arco) devido a sua forma de “quarto crescente”, ou “meia lua”, e *gondii* em referência ao roedor hospedeiro (BLACK e BOOTHROYS, 2000). O parasito já foi reportado na maioria dos continentes.

Janku (1923) observou o agente no olho de uma criança de 11 meses, em Praga, na Tchecoslováquia. A paciente apresentava um quadro de hidrocefalia, microftalmia e coloboma macular. Essa foi a primeira descrição de doença ocular congênita, embora ainda não reconhecida como toxoplasmose. No Brasil, Margarino Torres (1926), registrou a presença do parasito intracelular em criança vítima de meningoencefalite congênita. Entre os anos de 1937 e 1939 em Nova York, foi realizado o reconhecimento do *T. gondii* como agente causador de encefalomielite em neonatos humanos, e nesse último ano foi determinada uma tríade clássica de sintomas da toxoplasmose congênita em humanos: retinocoroidite, hidrocefalia e encefalite seguida de calcificação cerebral (WOLF; COWEN, 1937; WOLF *et al.*, 1940), além de isolarem o parasita por inoculação em animal. Na década de 40, a toxoplasmose adquirida foi descrita pela primeira vez por Pinkerton e Weinman, em um caso de adulto jovem com doença generalizada (AMATO NETO *et al.*, 1995)

Sabin e Feldman (1948) criaram o teste do corante de Sabin-Feldman, permitindo que vários pesquisadores estudassem os aspectos clínicos e epidemiológicos da toxoplasmose, demonstrando ser uma infecção de alta prevalência no mundo e assintomática na maioria dos indivíduos. Assim, iniciaram-se os primeiros estudos epidemiológicos. Em 1957, Goldman desenvolveu o teste de imunofluorescência indireta, que detecta a presença de anticorpos IgM e IgG na toxoplasmose. Posteriormente, Couver e Desmonts (1962) sugeriram que a doença ocular, na forma congênita, poderia se manifestar tardiamente. Hogan *et al.*, (1964) concluíram que o envolvimento ocular em pacientes com a infecção pós natal era

incomum, e descreveram um grande número de indivíduos com infecção assintomática.

Foi somente em 1969, 60 anos após a descoberta do parasito, que *T. gondii* foi reconhecido como coccídeo e teve seu ciclo biológico definido, tendo como hospedeiros definitivos os felídeos em geral, e não apenas o gato doméstico (*felis catus*), e como hospedeiros intermediários, os mamíferos, aves e roedores (FRENKEL, 1970; HUTCHISON, 1970).

Mansur *et al.* (1978) descreveram em Nova York, um surto de toxoplasmose em pessoas que viviam num mesmo domicílio após ingestão de carne contaminada.

A partir de 1980, com o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), ocorreram os primeiros registros de toxoplasmose no sistema nervoso central desses indivíduos, sendo reconhecido como patógeno oportunista (LUFT *et al.*, 1983; LUFT *et al.*, 1984).

Nas últimas décadas, inúmeras conquistas foram alcançadas tanto no desenvolvimento de métodos sorológicos, como na biologia celular e molecular, que tem permitido um melhor diagnóstico da parasitose em humanos e animais.

2.2. O parasito

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório, com ciclo evolutivo heteroxênico, na classificação taxonômica do parasito, o gênero é formado por uma única espécie. O hospedeiro definitivo pertence ao grupo dos felídeos, sendo o gato doméstico de maior importância epidemiológica, o homem e outros animais são seus hospedeiros intermediários. Esse coccídeo foi detectado em diferentes células e tecidos do hospedeiro intermediário, tais como: placenta, músculos estriados, esqueléticos e cardíacos, cérebro, retina e leucócitos. Líquidos orgânicos como peritoneal, a saliva, o leite materno, o esperma, e a urina podem exibir o parasita. O protozoário pode ser detectado no epitélio do intestino de felídeos não-imunes (DUBEY, 1986; FRENKEL, 1986; ORÉFICE E BAHIA-OLIVEIRA, 2005).

2. 2.1. Taxonomia

O protozoário *Toxoplasma gondii*, segundo Levine (1980), apresenta a seguinte posição taxonômica:

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Apicomplexa

Classe: Sporozoa

Sub-classe: Coccidea

Ordem: Eucoccidiida

Sub-ordem: Eimeriina

Família: Sarcocystidae

Sub-família: Toxoplasmatinae

Gênero: *Toxoplasma*

Espécie: *T. gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909)

2.2.2 Morfologia

O parasito pode apresentar diversas variações morfológicas, dependendo do habitat e do estágio evolutivo (AMATO NETO, 1982; ORÉFICE E BAHIA-OLIVEIRA, 2005). No seu ciclo evolutivo, passa por três formas infectantes: os taquizoítos (individual ou em grupo), bradizoítos (em cistos teciduais) e esporozoítos (em oocistos esporulados) (MILLER *et al.*, 1972).

Os taquizoítos possuem diversas estruturas celulares comuns às células animais, além de organelas características do filo, como os anéis polares, conóide, roptrias e micronemas. Essas formas de multiplicação rápida difundem-se no organismo dos hospedeiros intermediários pelo sangue e pela linfa, reproduzindo-se assexuadamente no interior das células por repetidas endodiogenias (DUBEY *et al.*; 1998). São também conhecidos como formas livres, trofozoítos ou formas proliferativas e se multiplicam na fase aguda da infecção (ORÉFICE E BAHIA-OLIVEIRA, 2005).

O parasito utiliza-se de estruturas de superfície e do complexo apical para penetrar na célula hospedeira. Ao aderir à célula, por meio de receptores de

superfície (SAG-1), o protozoário orienta seu complexo apical de forma a criar uma junção intracelular, formando um vacúolo (HUYNH *et al.*,2003). Esse modo de invasão usa o mínimo de exposição de antígenos, o que dificulta o reconhecimento pelo sistema imune (HIRAMOTO *et al.*; 2001). Dessa forma o parasito replica-se rapidamente e se dissemina para vários tecidos, como o sistema nervoso central (SNC), olhos, placenta, músculo esquelético e cardíaco, através da corrente circulatória (MONTROYA E LIENSENFELD, 2004).

Alguns taquizoítos, após a invasão da célula hospedeira, desenvolvem-se mais lentamente formando os bradizoítos, que irão dar origem aos cistos. Os bradizoítos são morfologicamente semelhantes aos taquizoítos, mas de multiplicação lenta, e expressam moléculas estágio-específicas (MONTROYA E LIENSENFELD, 2004). Um cisto tecidual pode conter centenas ou milhares de bradizoítos (DUBEY *et al.*;1998).

Os cistos podem se desenvolver em vários órgãos como, pulmão, fígado, rins, sendo, no entanto, mais prevalentes na musculatura (esquelética e cardíaca) e tecido nervoso, incluindo cérebro e olhos. Os cistos intactos provavelmente não causem nenhum dano e podem persistir por longos períodos ou por toda vida do hospedeiro sem causar nenhuma resposta inflamatória ou despertar resposta tecidual significativa (DUBEY, 2004). Os cistos teciduais podem se romper, liberando os bradizoítos que podem ser destruídos pelo sistema imune ou formar novos cistos (DUBEY, 1993). A parede cística dupla é formada por componentes tanto do parasita quanto do hospedeiro tornando-o imperceptível ao sistema imune e inacessível a drogas. Multiplica-se por endodiogenia, porém mais lentamente, caracterizando a fase crônica da infecção. Os cistos são mais resistentes que os taquizoítos às condições ambientais e à refrigeração (DUBEY E BEATTIE, 1988;.ORÉFICE E BAHIA-OLIVEIRA, 2005).

Os oocistos são de forma ovalada e quando esporulados possuem dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos em seu interior. São encontrados em fezes de felídeos, em consequência de processo sexuado que ocorre nas células epiteliais da mucosa intestinal (JONES; DUBEY, 2010; ELMORE *et al.*, 2010) Podem sobreviver fora do corpo por pelo menos um ano (FRENKEL E DUBEY, 1975) desde que não expostos à luz solar direta e umidade relativa do ar muito baixa (DUBEY *et al.*, 2008).

2.2.3 Biologia

O ciclo biológico do parasito ocorre em duas fases distintas. A fase sexuada, nos hospedeiros definitivos (gatos domésticos e outros da família Felidae), que também podem servir de hospedeiro intermediário (DUBEY; BEATTIE, 1988). A fase assexuada ocorre nos hospedeiros intermediários, dentre eles aves, répteis, anfíbios, peixes, moluscos e mamíferos incluindo o homem, no qual pode ou não ser sintomática dependendo da forma e estado imunológico do hospedeiro (REMINGTON *et.al*, 1982; JEFFREY *et al.*, 2001)

O parasito desenvolve-se em células epiteliais do intestino delgado do hospedeiro definitivo. Durante esse desenvolvimento ocorre uma fase assexuada (merogonia) e outra sexuada (gametogonia) do parasito. Deste modo, um gato jovem e não-imune, infectando-se oralmente por oocistos, cistos ou taquizoítos, desenvolverá o ciclo sexuado (ELMORE *et al.*, 2010).

O gato primoinfectado é capaz de eliminar oocistos durante quinze a vinte dias, e em condições ambientais favoráveis (umidade, temperatura, local sombreado) esses oocistos podem manter-se infectantes por 12 a 24 meses (DUBEY, 2000). O tempo decorrido entre a infecção e o aparecimento de oocistos nas fezes dos felídeos (período pré-patente) dependerá da forma do parasito ingerido. Este período será de três dias, quando a infecção ocorrer por cistos, dezenove dias por taquizoítos e vinte ou mais por oocistos (KAWAZOE, 2002). DUBEY; FRENKEL (1974) comprovaram que gatos soropositivos, frente a quadros de imunossupressão, podem voltar a eliminar oocistos, mas em menor quantidade.

2.3. Toxoplasmose

2.3.1 Transmissão

As formas de infecção podem variar dependendo de fatores sociais e higiênicos, da umidade ambiental, da ocupação profissional, dos hábitos e costumes dos habitantes de determinada região, do grau e da frequência de exposição ao agente (ELMORE *et al.*, 2010). Ocorrem por ingestão de água, frutas, verduras e outros alimentos contaminados pelos oocistos esporulados, além de embutidos de carnes cruas ou mal passada contendo cistos (DUBEY; TOWLE, 1986).

Alguns hospedeiros intermediários, em fase aguda da doença, como ovelhas, cabras e vacas, podem eliminar taquizoítos no leite, e a ingestão do mesmo, não pasteurizado, pode servir de fonte de infecção (BONAMETTI *et al.*; 1997).

A contaminação da água de consumo com oocistos de *T. gondii* pode causar grandes surtos de toxoplasmose aguda em seres humanos (de MOURA *et al.*; 2006).

No entanto, a infecção por cistos presentes na carne crua ou mal cozida, incluindo a carne de suínos, ovinos, caprinos e aves (DUBEY *et al.*; 2007), são frequentemente considerados a via predominante da infecção humana (COOK *et al.*; 2000). Os bradizoítos nos cistos podem sobreviver à exposição ao meio ácido e à tripsina, mostrando que a ingestão de cistos teciduais nessas carnes é uma importante forma de infecção (FERGUSON, 2009; FREYRE *et al.*, 2008; MILLER *et al.*; 2009). No sistema digestivo, ocorrerá a destruição da parede do cisto, e através dessa ruptura ocasionará a liberação dos bradizoítos, que atravessam a parede do trato digestivo e penetram em diferentes células, multiplicando-se rapidamente nos primeiros dias (taquizoítos - fase aguda) e, posteriormente, de forma lenta no interior de cistos (bradizoítos- fase crônica) (DUBEY; FRENKEL, 1976). GARCIA (1999), em estudo realizado em propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil, com espécies onívoras, carnívoras e herbívoras, que estavam expostas às mesmas fontes de transmissão, concluiu que a maioria dos animais para o consumo humano apresentavam títulos de anticorpos característicos de infecção latente, o que explica a elevada prevalência da toxoplasmose humana na região e evidencia o risco que o consumo de carnes cruas ou mal cozidas representam.

Além do consumo, a manipulação de carne crua infectada, durante o preparo das refeições, pode representar risco de infecção (KAPPERUD *et al.*, 1996)

para os humanos . As formas de infecção podem variar, dependendo dos fatores sociais e higiênicos, da umidade ambiental, da ocupação profissional, dos hábitos e costumes dos habitantes de determinada região. KIMBAL (1974) verificou que a porcentagem de pessoas com infecção toxoplasmática foi mais elevada em povos que tinham o costume de comer carnes cruas ou mal cozidas, demonstrando que os hábitos culturais de uma população determinam a variabilidade da prevalência desta infecção em diferentes áreas geográficas de um determinado país (SILVEIRA, 1987).

A transmissão transplacentária ou congênita é uma das formas mais grave de infecção. Ocorre quando o agente está na forma de taquizoíto e atravessa a barreira placentária infectando o feto. Essa transmissão somente ocorre em mulheres que adquirirem infecção primária durante a gestação ou, mais raramente, após uma reagudização da infecção devido à imunossupressão (FRENKEL *et. al.*, 2004).

Também com taquizoítos, a transmissão percutânea ocorre através da manipulação, uso de facas e outros utensílios com carnes cruas contaminadas, além das superfícies onde preparam os alimentos. Esta forma de transmissão, somente ocorre quando há lesão de continuidade da pele ou em mucosa nasal e oral intacta (SMITH *et al.*, 1992).

2.4. Epidemiologia

2.4.1 Toxoplasmose humana

A infecção toxoplasmática nos seres humanos é muito comum, porém a forma clínica é rara, ocorrendo principalmente em indivíduos com o sistema imune deprimido por quimioterapia para o câncer, tratamento para transplantados e em indivíduos HIV positivos, e filhos de mulheres que contraem primariamente a infecção durante a gestação (BUXTON, 1993).

A prevalência da infecção varia muito geograficamente: nos Estados Unidos é estimado que 30 a 40% da população esteja infectada, e na América Central e do Sul, esse índice é de 50 a 80% (HILL; DUBEY, 2002).

Em diferentes países, a soroprevalência em humanos varia entre 10% e 90% (JAMES, 1996; CARRUTCHERS, 1999). Alguns países como Tailândia e Japão

apresentam baixa prevalência (<20%). Austrália, Polônia, Reino Unido e Bélgica mostram prevalência média (entre 23 e 53%), enquanto que o Taiti e a França apresentam alta prevalência (>60%) (Avelino *et al.*, 2003). Nos Estados Unidos, a prevalência atinge 10% a 50%, enquanto que é de 4% na Austrália, 20% na Finlândia, 36% na Polônia, 37% na Áustria, 40% na Itália, 48% na Etiópia, 53% na Bélgica, 63% no Panamá, 71% na França e 75% em El Salvador (ROOS e cols., 1993). No norte do México, em uma comunidade de Menonitas, em áreas rurais, foi relatado uma prevalência de 30,3% e associado aos hábitos sanitários (ALVARADO-ESQUIVEL *et al.* 2010).

No Brasil, a soroprevalência varia entre 50 e 80% (CANTOS, 2000). CADEMARTORI *et al.* (2008) verificaram soroprevalência de 54,8% entre gestantes atendidas pelo Sistema Único de Saúde, na cidade de Pelotas, Rio Grande do Sul. No mesmo município, LOGES *et al.* (2012) descrevem prevalência de 57,5% entre doadores de sangue do Hemocentro. NAVARRO *et al.* (2010) afirmam, em Londrina-PR, que a prevalência de anticorpos IgG específicos anti-*T. gondii* apresenta variações regionais devido a diferenças climáticas e, sobretudo, culturais da população.

Vários inquéritos realizados no Brasil em populações urbanas e rurais revelam que o risco de infecção toxoplasmática tende a ser maior para a população rural (SOUZA 1987, GARCIA 1995 e EXCLER 1988) do que para a urbana, devido aos hábitos e ao contato frequente com as fontes de infecção, como mexer na terra e consumir água não tratada. A soroprevalência tende a aumentar com a idade, devido à exposição pelas duas principais fontes de infecção: os cistos teciduais presentes na carne de animais, e os oocistos, disponíveis em solo contaminado por fezes de felídeos, e também varia geograficamente devido aos hábitos alimentares (WINSTALEY, 1995).

2.4.2 Toxoplasmose nos animais

Pesquisas preliminares para detecção de anticorpos para *T. gondii* em suínos, galináceos, ovinos e bovinos realizados na região de Pelotas mostraram resultados relevantes de infecção nesses animais, confirmando a importância epidemiológica do parasito. Em animais o percentual encontrado foi de 33,9% em suínos de criação artesanal (PEREIRA, 2005), 38,0% em galinhas caipiras (DUBEY *et al.*, 2007) 20,2% em ovinos (PAPPEN, 2008), 27,2% em búfalos e 17,4% em bovinos (SANTOS *et al.*, 2013)..

Os levantamentos sorológicos da toxoplasmose na espécie suína servem para avaliar, além da ocorrência dessa infecção, o risco a que estão expostos os humanos que ingerem carne suína em determinada região (da SILVA *et al.*, 2010). Além da carne *in natura*, embutidos crus elaborados com carne suína podem veicular *T. gondii* para seres humanos. Segundo Dubey *et al.* (2012), estes produtos são responsáveis pela maioria dos casos de toxoplasmose humana nos Estados Unidos.

No Brasil, em algumas localidades, a ingestão de embutidos artesanais preparados com carnes desta espécie, é uma via de transmissão importante, não só para os indivíduos que ingerem, mas também para aqueles que estão envolvidos com a sua preparação (SPALDING *et al.*, 2005). Essa afirmação foi confirmada por Dias *et al.* (2005) que demonstraram a presença de cistos de *T. gondii* em amostras de linguiças de origem suína tipo frescal, verificada por meio do bioensaio em camundongos. Em outro estudo, foram avaliados cérebros de suínos comercializados para consumo humano no município de Campos dos Goytacazes-RJ, onde verificaram um percentual de 50% de positividade para presença do parasito (FRAZÃO-TEIXEIRA *et al.*, 2006).

Anticorpos para *T. gondii* foram encontrados em ovinos de todo mundo. No Sul do Rio Grande do Sul, Pappen (2008) descreveu 20,2% de soroprevalência para *T. gondii* em ovinos. A prevalência varia de acordo com a região estudada, de 66,4% na Áustria (EDELHOFER & ASPOCK, 1996) a 5,6% na África do Sul (ABU SAMRA, 2007). No Uruguai, essa parasitose é tida como a principal responsável por perdas reprodutivas em ovinos e a prevalência para *T. gondii* chega a 28,7% (FREYRE, 2007). Estudos no Brasil com ovinos demonstram a presença de *T. gondii*

em várias regiões (FLIGLIOULO, 2004; De La RUE, 2006; SOCCOL, 2009; UENO, 2009; SOARES, 2009).

Na região de Porto Alegre no Rio Grande do Sul, foram analisadas 360 amostras de soros de caprinos através das técnicas da Hemaglutinação Indireta (HAI) e Imunofluorescência Indireta (IFI). Através da HAI foi verificada freqüência de 19,4% de soropositivos (70 animais) e pela IFI, de 30% (108), indicando índices elevados (MACIEL; ARAÚJO, 2004).

O protozoário *Toxoplasma gondii*, já foi isolado a partir de tecidos de anseriformes domésticos. Recentes estudos sorológicos sugerem que as infecções do *T. gondii* nesses animais, podem ocorrer em todo mundo, e não são raras (LITERÁK *et al.*, 1993; EL MASSRY *et al.*, 2000; DUBEY *et al.*, 2003; YAN *et al.*, 2009; SROKA *et al.*, 2010). Dubey *et al.* (2007) isolaram o protozoário de corações e cérebros de 19 galinhas caipiras na região Sul e, a na análise do DNA desses isolados foi possível detectar a presença de genótipos do tipo I e III, além de genótipos recombinantes. A grande procura dos consumidores por produtos diferenciados e de qualidade superior vem influenciando mudanças nos sistemas utilizados para produção de frangos. A sociedade está interessada em sistemas de produção que aumentem o bem-estar na criação de animais. Resgata-se o estilo da criação da galinha caipira e, em um âmbito ainda mais moderno, a criação orgânica. Há mais de vinte anos, Literak e Hejlicek (1993) já chamavam a atenção para o fato de que galinhas oriundas de pequenas criações podem conter cistos teciduais de *T. gondii*, representando risco de infecção para o homem, principalmente quando estes manipulam carnes sem muita higiene ou por meio do consumo de carnes cruas ou semicozidas. As galinhas podem funcionar como hospedeiros intermediários, até mesmo para filhotes de gatos, uma vez que é comum as pessoas oferecerem vísceras e cabeça de galinhas a gatos e cães (RUIZ e FRENKEL, 1980).

2.4.3. Fatores de riscos

As fontes de infecção são diferentes entre populações com diferença na cultura e hábitos alimentares. Vários fatores têm impacto na epidemiologia, tais como: tipo de manejo e produção de animais, padrões de higiene de abatedouros, processamento de alimentos, densidade de gatos e felídeos silvestres na região, condições do ambiente para a esporulação do oocisto e sua dispersão (temperatura, umidade e ventos), localização geográfica e diferentes hábitos de consumo da população entre outros (TENTER, 2000).

Melamed *et al.*(1981) relatam que altas prevalências podem estar relacionadas com fatores ambientais, com altitude e clima, que favoreceriam a sobrevivência dos oocistos.

Os hábitos culturais e higiene são determinantes na ocorrência ou não da infecção, uma vez que envolvem a ingestão de alimentos que podem estar contaminados (carnes, embutidos, defumados, verduras, hortaliças, frutas, etc).

A água também pode ser uma fonte de infecção do parasito, atuando como um disseminador de oocistos para a população. A contaminação de reservatórios municipais de água, por fezes de felinos, infectado com oocistos de *T. gondii*, pode levar a surtos ou epidemias, envolvendo uma cidade ou uma região (FUNASA, 2002). Somente sistemas de tratamento de água completos e que prezam pela qualidade de água, desde a captação até a distribuição, são capazes de reter a maioria dos oocistos de *T. gondii* e de outros coccídeos nas etapas de coagulação, sedimentação e filtração. A desinfecção com o cloro, realizadas nas estações de tratamento, não inativa os oocistos de coccídeos e cistos de *Giardia sp.* (NAVARRO *et al.*, 2008). Em 2011, Araújo descreve altas taxas de infecção compatíveis com o encontrado em populações rurais em outros estudos realizados no Brasil e foi possível associar a infecção em humanos à ausência de caixa d'água no domicílio.

A ingestão do leite de cabra não pasteurizado é uma possível fonte de infecção (BONAMETTI *et al.*, 1997), sendo o risco de infecção por leite de vaca considerado mínimo (DUBEY, 1994).

O tipo de trabalho também pode influir na prevalência. Em 1978, Ishizuka, detectou 97, 1% de positividade para *T.gondii* em magarefes de São Paulo. Souza (1995) encontrou uma soropositividade de 84,7% de magarefes reagentes em abatedouros do Rio de Janeiro.

A toxoplasmose está associada a hábitos culturais e alimentares. Melamed *et al.*, em 1981, mostraram a influência que os padrões culturais poderiam ter sobre a epidemiologia da parasitose. Os autores estudaram uma população bastante homogênea em termos de hábitos e costumes, estando composta em 90%, de descendentes de imigrantes italianos. Com referência aos seus hábitos alimentares, verificaram que é habitual a ingestão de carne de porco crua, em forma de embutidos, principal fonte de infecção humana. Não costumam ter muito gatos, enquanto que a criação de suínos é muito comum.

2.5. Patogenia e sinais clínicos

A multiplicação do parasito é o fator primário na patogênese da doença, tanto na forma sistêmica quanto a ocular. O *T. gondii* afeta todas as células nucleadas em humanos e animais vertebrados (SIIM, 1961). Os taquizoítos se multiplicam nos vacúolos das células do hospedeiro, que terminam por romper-se, infectando as células adjacentes. Estas, por conseguinte, rompem-se provocando resposta inflamatória e necrose tissular (HAY E DUTTON, 1983). Esse evento ocorre porque os taquizoítos ao penetrarem ativamente nas células hospedeiras, as quais modificam suas condições de defesa, por um fator de exclusão lisossomal imprescindível à sua sobrevivência no hospedeiro. A fase aguda se caracteriza pela presença de taquizoítos nos diferentes tecidos, seguidos de reação inflamatória e pequenas áreas de necrose (ORÉFICE E BAHIA-OLIVEIRA, 2005). A fase crônica inicia-se com o desenvolvimento da imunidade quando os taquizoítos são liberados dos tecidos. No homem, o período de incubação varia de 10 a 23 dias após a ingestão de carne mal cozida, e de 5 a 20 dias após ingestão de oocistos. (JONES *et al.*, 2001).

Quanto aos sinais clínicos, a maioria dos casos de toxoplasmose em indivíduos imunocompetentes é assintomática. Porém, 10% a 20% dos adultos infectados podem apresentar, na fase aguda da doença, as seguintes formas clínicas: linfoglandular (mais frequente), meningoencefalite, pneumonite, hepatite, miosite, erupção cutânea e retinocoroidite (AMATO NETO; MARCHI, 2002). De acordo com Beaman *et al.* (1995), as manifestações clínicas mais comuns são a linfadenopatia (um único nódulo cervical posterior aumentado) e a astenia sem febre. A linfadenopatia pode ocasionalmente vir acompanhada de febre, mal-estar,

cefaleia, astenia, mialgia, exantema máculo-papular, odinofagia e hepatoesplenomegalia. Estes sintomas geralmente duram algumas semanas, porém, a adenomegalia e hepatoesplenomegalia podem durar meses. Encefalite, miocardite e pneumonite raramente ocorrem, com exceção nos pacientes imunocomprometidos. Retinocoroidite raramente ocorre no curso da infecção aguda e geralmente é unilateral, entretanto Silveira (2002) estima que de 12 a 15% das pessoas infectadas irão desenvolver a lesão ocular em algum momento da vida. Devido à semelhança dos sintomas, deve ser realizado o diagnóstico diferencial com a mononucleose infecciosa e com a citomegalovirose.

2.6. Diagnóstico

Na fase aguda da toxoplasmose, primeiro ocorre a produção de imunoglobulina M (IgM), seguida da produção de imunoglobulina G (IgG). A infecção pode também produzir imunoglobulina A (IgA), no caso da transmissão ter sido por via oral. Pela técnica de imunofluorescência, os anticorpos IgM podem ser dosados 1 a 2 semanas depois do início da infecção, alcançando um pico em 6 a 8 semanas, quando então declinam sendo que títulos baixos podem persistir por mais de 12 meses. O anticorpo IgG persiste por toda a vida na maioria dos pacientes (REMINGTON *et al.*, 2001).

Para o diagnóstico em humanos, existem testes sorológicos de escolha, como imunofluorescência indireta (IFI), hemaglutinação (MAT) e ELISA, a procura de anticorpos específicos como IgM e ou IgA, ou por determinação de aumento dos níveis séricos de IgG. Mesmo se positivos, os resultados devem ser discutidos e interpretados com muito cuidado, pois esses anticorpos podem permanecer no soro das pessoas por muito tempo e levar a resultados falso-positivos. Vários testes devem ser realizados como forma de diagnóstico, constituindo um painel (MIORANZA *et al.*, 2008).

2.7. Prevenção e controle

Para a prevenção da infecção de seres humanos por *T. gondii*, deve-se visar à redução da infecção no ambiente, minimizando a população de gatos, através da utilização da castração, uso de caixa de areia e destino correto as fezes, no vaso sanitário, além da conscientização dos donos, para posse responsável. O acesso dos felinos a reservatórios de água deve ser interrompido. Para diminuir a infecção nos felídeos, estes devem ser alimentados somente com carne cozida e ou ração e a caixa de areia trocada diariamente. Também devem ser mantidos em casa e castrados para não caçarem. (DUBEY, 2004).

Medidas preventivas relacionadas à proteção humana estão relacionadas a hábitos alimentares e de higiene. Pessoas que manipulam carne devem lavar bem as mãos, com água e sabão antes de realizar outras tarefas (DUBEY e BEATTIE, 1988; LOPEZ *et al.*; 2000). Tábuas de corte, tampo de pia, facas e outros materiais em contato com carne crua devem ser lavados com água e sabão (DUBEY e BEATTIE, 1988). Carne de qualquer animal deve ser cozida a uma temperatura mínima de 67,8°C antes do consumo. A degustação de carne durante o cozimento ou enquanto é temperada, deve ser evitada. As gestantes e imunocomprometidos não devem limpar caixas de areia de gatos e ter contato com solo, consumir carne crua e verduras mal lavadas. Luvas devem ser usadas durante a jardinagem e legumes devem ser lavados antes de comer. Evitar o consumo de água não filtrada de lagos, lagoas, rios e nascentes (DUBEY, 2004).

A promoção de programas educacionais para reduzir a contaminação ambiental com *T. gondii*, acabaria por reduzir o custo do tratamento de seres humanos com toxoplasmose clínica (ZHOU *et al.* 2011). Também deve haver programas de educação para orientar as pessoas a mudar seu hábito de consumir carne crua e água não fervida, pois os oocistos podem sobreviver por mais de dois anos e serem transmitidos através da água (DUBEY, 2004). A detecção de anticorpos é muito importante para as mulheres grávidas e em idade fértil. Este é um meio eficaz para detectar a infecção e, em seguida, fornecer tratamento, sendo também uma maneira eficiente para diminuir a toxoplasmose congênita em recém-nascidos (TENTER *et al.*,2000).

Como um dos agravantes é o desconhecimento sobre o agente, campanhas educativas de uma população, visando reduzir os riscos de adquirir a infecção devem conter essas informações e as alternativas para evitá-la.

Práticas sanitárias adequadas devem ser indicadas para produtores de animais de criação, o que também reduz o risco de infecção humana. Se tais estratégias e medidas puderem ser implementadas, será possível controlar de forma eficaz ou pelo menos reduzir substancialmente, a prevalência e intensidade das infecções humanas e animais com *T. gondii* no Brasil (ZHOU *et al.* 2011).

2.8. Hábitos germânicos

A colonização germânica se destaca por ainda manter seus hábitos e costumes preservados e se caracteriza no meio rural por manter-se de forma homogênea, vivendo em comunidades mais restritas e cultivando o dialeto pomerano e seus costumes rurais e alimentares herdados por seus ascendentes.

Possuem alguns hábitos peculiares como o consumo de especiarias como aves e partes dessas após processo de defumação. Exemplo seria peito e sobrecoxa de ganso e peças inteiras de pato defumado. Este é um hábito considerado nobre herdado da antiga Pomerânia, que era localizada na costa sul do mar Báltico, hoje atual Polônia e Alemanha Ocidental.

Ainda consomem lingüiça crua ou bem defumada, “toucinho” de porco defumado, sopa de sangue de ganso com temperos e ovos mexidos com cérebro de porco.

Atualmente se dedicam a lavoura de fumo, soja e milho, hábitos de trabalho que sofreram alterações desde a chegada ao Brasil. O hábito de consumir carne de porco foi adquirido aqui, pois o costume típico germânico e nobre por eles assim considerado é a criação e abate de anseriformes (pato, ganso, marreco e entre outros), mas principalmente a ingestão de ganso defumado. Segundo (WILHELM, 2008), essa população alvo, tanto na antiga Pomerânia quanto em terras brasileiras, continuou muito ligado “às coisas da terra”, ou seja, no meio rural. A culinária, durante séculos, se destacou pela pesca de arenque e produção de ganso, hábito modificado no Brasil pelo contato com os índios. Foi adicionada na agricultura e culinária, a batata inglesa, que por sua vez começou a ser consumida com derivados de leite e suíno por eles produzidos (COSTA, SCHOLL, J. 2007).

As diferenças entre alemães e pomeranos foram sendo demarcadas pela expressão oral, sendo um elemento de distinção positiva o domínio da língua alemã, enquanto que falar o dialeto pomerano se aproximava da caricatura forjada entre os nativos, ou seja, o camponês de traços e hábitos rudimentares (FERREIRA, 2009). Um estudo feito em 2011, por Maksimov, na Alemanha destacou que o consumo típico de anseriformes pela população pode ser um forte fator de risco para soropositividade ao *T. gondii* e causar infecção toxoplasmática aos consumidores.

3. Objetivos

3.1 Geral

- Avaliar a soroprevalência de *Toxoplasma gondii*, e associá-la aos hábitos alimentares e socioculturais de população de origem germânica no sul do Rio Grande no Sul, Brasil.

3.2 Específico

- Determinar a soroprevalência e a titulação de anticorpos do tipo IgG e IgM para *Toxoplasma gondii* em população de origem germânica
- Identificar possíveis associações de fatores epidemiológicos com a positividade para *Toxoplasma gondii* na população em estudo.

Referências Bibliográficas

- AKSTEIN R.B.; TEUTSCH S.M.; Acquired toxoplasmosis. **Ophthalmology**, V.89, p. 1299-1302,1982.
- AMATO NETO, V.; CAMPOS, R.; BARUZZI, R.G.; DUARTE, M. I. S. **Toxoplasmose**. São Paulo: Sarvier (Monografias Médicas: Série Clínica Médica; v. 10), 1982.
- AMATO NETO, V.; MEDEIROS, E. A. S.; LEVI, G. C.; DUARTE, M. I. S. **Toxoplasmose**. 4. Ed. São Paulo: Sarvier, p.154, 1995
- AMATO, N. V.; MARCHI, C.R. Toxoplasmose. In. Cimerman B. & Cimerman. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p.160-177.
- AMENDOREIRA, M.R.R; MILLAR, P.R.; DAGUER, H. Toxoplasma gondii: estudo- soroepidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.28, n.1, p.15-18, 2008.
- ARAUJO, E.J.A.; ALVES, M.A. Toxoplasma gondii Induces Death of Gastric Myenteric Neurons In Rats. **Institute Journal Morphology**, v.29, p.293-298, 2011.
- ASPOCK, H. Prevention of congenital toxoplasmosis in Austria. **Archives de Pédiatrie**, v.10, Suppl. 1, p. 16-17, 2003.
- ASPINALL, T. V.; GUY, E.C.; ROBERTS, K.E.; JOYNSON, D.H.; HYDE, J.E.; SIMS, P. F. Molecular evidence for multiple Toxoplasma gondii infections in individual patients in England and Wales: public health implications. **International Journal for Parasitology**, v.33, p.97-103, 2003.
- AVELINO, M. M.; CAMPOS JR., D.; PARADA, J. C. B.; CASTRO, A. M. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 108, p. 19-24, 2003.
- BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; JONES, J.L.; SILVA, J.A.; ALVES, C.F.; ORÉFICE F.; ADDISS, D. G.; Highly Endemic, Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.9, n.01, p.57-60, 2003.
- BARUZZI R.G. Toxoplasmose: história natural e níveis de prevenção. **ARS CURANDI**, v.9, p.6-22, 1976.
- BEAMAN RT, McCABE RE, REMINGTON JS. *Toxoplasma gondii*. In: Mandell GL, Douglas ER, Bennett JE (eds). Principles and practice of Infectious diseases. 4nd edition, **Churchill Livingstone**, New York, p. 2455-2475, 1995.
- BLACK, M.W.; BOOTHROYD, J.C.; Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 64, p.607-623, 2000.
- BOCH, J. Die Toxoplasmose des Haustiere-Vorkommen, Diagnose und Bedeutung. **Berl. Münch. Tierärztl. Wschr.** v.93, n.19, p.385-391,1980

BONAMETTI, A.M.; PASSOS, J.N.; SILVA E.M.K.; BORTOLIERO A.L.; Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical**. jan-fev; 30(1): p.21-5; 1997.

BOWIE W.R.; KING A.S.; WERKER D.H.; ISSAC-RENTON J.L.; BELL A.; Eng S.B.; Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. **The BC Toxoplasma Investigation Team**. *Lancet*; v.350, p.173–710.1016/S0140 6736 (96)11105-3, 1997.

BROOKS K.D. Feline toxoplasmosis and human health. **Veterinary Technician** v.13, p.568-563, 1992.

BUXTON D. Toxoplasmosis: the first commercial vaccine. **Parasitology Today**, v.9, p.335-337, 1993.

CARRUTCHERS, V.B. Armed and dangerous: *Toxoplasma gondii* uses an arsenal of secretory proteins to infect host cells, **Parasitology institute**, v.48, n.1, p.1-10, 1999.

CASTILHO, E.A. An estimation of the incidence of congenital toxoplasmosis in São Paulo city, Brasil. **Revista do Instituto Medicina Tropical de São Paulo**, v.18, p.202-205, 1976.

CADEMARTORI, B.G.; FARIAS, N.A.R.; BROD, C.S. Soroprevalência e fatores de risco à infecção por *Toxoplasma gondii* em gestantes de Pelotas, Sul do Brasil. **Revista Panamericana de Infectologia**, v.10, n.4, p.30-35, 2008.

CAMARGO, ME Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista Instituto Medicina Tropical**. São Paulo; 6 (3):117-118, 1964.

CANTOS, G.A.; PRANDO, M.D.; SIQUEIRA, M.V.; TEIXEIRA, R.M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* e diagnóstico. **Revista Associação Médica Brasil**, v. 4, n.46, p.335-341, 2000.

CHAVES-CARBALLO. *Toxoplasma* antibodies and cats, **The Lancet**, v.307, p. 309-310, 1976.

COOK, A. J.; GILBERT, R.E.; BUFFOLANO, W.; ZUFFEREY, J.; PETERSEN, E.; JENUM, P.A.; FOULON, W.; SEMPRINI, A. E.; DUNN, D. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study, **British Medical Journal**, v.321, p.142-147, 2000.

COSTA, SCHOOL J. Pomeranos: construtores de um império? **Revista do Instituto Humanistas Unisinos**, 2008. Seção 271, ano VIII. Disponível em: http://www.ihuonline.unisinos.br/index.php?option=com_content&view=article&id=2095&secao=271 acesso em: 28 nov.2013.

COUTINHO G, SOUZA WJ, COURA C, MARZOCHI CA, AMENDOEIRA MR. Levantamento dos resultados das reações de imunofluorescência indireta para toxoplasmose em 6079 pacientes de ambulatório ou gestante no RJ realizadas

durante os anos de 1971 a 1977. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de SP.** 23:48-56, 1981.

COUTINHO, S.G.; LOBO, R.; DUTRA, G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during na outbreak of toxoplasmosis in a rural área in Brazil. **Journal Parasitology**, Lancaster, v.68, n.05, p.866-868, 1982.

DAGUER, H ; VICENTE, R.T; COSTA, T, VIRMOND, M.P.;HAWANN, W.; AMENDOREIRA, M.R.R. Soroprevalência de anticorpos anti-toxoplasma gondii em bovinos e funcionários de abatedouros da microregião de Pato Branco. Panamá, Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.34, n.4, p.1133-1137, 2004.

DARLING S.T. Sarcosporidiose: with report of a case in man. **Proc Canal Zone Medd**, v.1, p.141-152, 1908.

de MOURA L.; BAHIA-OIIVEIRA L.M.G.; TUBOI S.H.; CARMO E.H.; RAMALHO W.M.; CAMARGO N.J.; Trevisan R.; Graça R.M.T.; da Silva A.J.; Moura I.; Dubey J.P.; Garrett D.O., Waterborne Toxoplasmosis, Brazil, from Field to Gene. **Emerging Infectious Diseases**; v. 12, p. 326-329, 2006.

DESMONTS, G.; COUVREUR, J.; ALISON, F.; BAUDELOT, J.; GERBEAUX, J.; LELONG, M. Epidemiological study on toxoplasmosis: the influence of cooking slaughter-animal meat on the incidence of human infection. **Revista. Fr. Etud. Clin. Biol.**, v. 10, n. 9, p. 952-958. 1965

DESMONT, G. et. al. *Toxoplasma gondii* antigens recognized by sequential samples of serum obtained from congenitally infected infantis. **Journal Clinical. Microbiology**, 25(10): 1926-1931,1987.

DRESSEN D.W.; *Toxoplasma gondii*. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.196, p.274-276, 1990

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Immunity to feline toxoplasmosis: modification by administration of corticosteroids. **Veterinary Pathology**, v. 11, p. 350-379, 1974

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cystis. **Journal of Protozoology**, v.23, p.537-546, 1976.

DUBEY, J.P.; TOWLE, A. Toxoplasmosis in sheep. St Albans, UK: **Commonwealth Institute of Parasitology**, p.11, 1986.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Associacion**, Chigago, v.189, n.2, p.166-170, 1986.

DUBEY, J.P. Status of toxoplasmosis in sheep and goats in the United States. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n.2, p.259-262, 1990.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n.11, p. 1593-1598, 1994.

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

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

DUBEY, J.P., Toxoplasma, Neospora, Sarcocystis, and other tissue cystis-forming coccidian of humans and animals. In:KREIER, J.P., editor: **Parasitic Protozoa**, 2^a ed., v.6, p.1-158,1993.

DUBEY, J.P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. **Journal of Parasitology**, v.81, n.3, p.410-415, 1995.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C.A, Structures of *Toxoplasma gondii* tachizoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p.267-299, 1998.

DUBEY, J. P.; Sources of *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Until rates of congenital toxoplasmosis fall, control measures are essential. **British Medical Journal**, v.321, p.127-128, 2000.

DUBEY J.P.; NAVARRO I.T.; GRAHAM D.H.; et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.117, p.229-234, 2003.

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

DUBEY, J.P.; SUNDAR, N.; GENNARI, S.M.; MINERVINO, A.H.H.; FARIAS, N.A.da R.; RUAS, J.L.; SANTOS, T.R.B.; CAVALCANTE, G.T.; KWOK, O.C.H.; SU, C. Biological and genetical comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and the southern state Rio Grande do Sul revealed highly diverse and distinct parasite populations. **Veterinary Parasitology**, n.143, p.182-188, 2007.

DUBEY, J.P.; JONES, J.L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, n.38, p.1257-1278, 2008.

DUBEY, J. P.; HILL, D. E.; SUNDAR, N.; VELMURUGAN, G. V.; BANDINI, L. A.; KWOK, O. C. H.; PIERCE, V.; KELLY, K.; DULIN, M.; THULLIEZ, P.; IWUEKE, C.; SU, C. Endemic Toxoplasmosis in Pigs on a Farm in Maryland: Isolation and Genetic Characterization of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, v. 94, p.36-41, 2008.

DUBEY, J. P.; RAJENDRAN, C.; COSTA, D. G. C.; FERREIRA, L. R.; KWOK, O. C. H.; QU, D.; SU, C.; MARVULO, M. F. V.; ALVES, L. C.; MOTA, R. A.; SILVA, J. C. R. New *Toxoplasma gondii* Genotypes Isolated from Free-Range Chickens from the

Fernando de Noronha, Brazil: Unexpected Findings. **Journal of Parasitology**. v. 96, N. 4, p. 709-712, 2010.

DUMÉTRE, A.; LE BRAS, C.; BAFFET, M.; MENECEUR, P.; DUBEY, J.P.; DEROUIN, F.; DUGUET, J.P.; JOYEUX, M.; MOULIN, L. Effects of ozone and ultraviolet radiation treatments on the infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. **Veterinary Parasitology**, n.153, p.209-213, 2008.

EI-MASSRY, O. A.; MAHDY, A.; EI-GHAISH, and J. P. DUBEY, Prevalence of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Sera of Turkeys, Chickens, and Ducks from Egypt. **Journal of Parasitology**: Vol. 86, No. 3, pp. 627-628, 2000.

ELMORE, S. A.; JONES, J. L.; CONRAD, P. A.; PATTON, S.; LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. **Trends in Parasitology**, v. 26, n. 4, p. 190-196, 2010.

EXCLER J.L.; PRETAI E.; POZZETO B.; CHARPIN B.; GARIN J.P. Seroepidemiological survey for toxoplasmosis in Burundi. **Tropical Medical Parasitology**, v.39, n.2, p.139-141, 1988.

FELDMAN H. & MILLER L. Serological study of toxoplasmosis prevalence. **American Journal of Hygiene**. v.64, p. 320-335, 1956.

FERREIRA, M.L.M.; HEIDEN, R. Políticas patrimoniais e reinvenção do passado: os pomeranos de São Lourenço do Sul, Brasil. **Cuadernos de Antropologia Social**, Universidade de Buenos Aires, Argentina, v.30, p.137-154, 2009. Disponível em <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180913916008>

FIGLIUOLO, L.P.C., Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-Neospora caninum antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.123, n.3/4, p. 161-166, 2004.

FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; OLIVEIRA, F. C. R.; PELISSARI-SANT'ANA, V.; LOPES, C. W. *Toxoplasma gondii* in brains of pigs commercialized at the Municipality of Campos dos Goytacazes in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, p. 33-36, 2006.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. K.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. **Science**, v.167, p. 893-896, 1970.

FRENKEL JK. **Toxoplasmose: Doenças infecciosas e parasitárias**. 8^a. Ed. Guanabara Koogan, RJ, p.734-749, 1991.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu. v. 2, p. 1310-1325, 2004.

FREYRE, A.; FALCÓN, J.; MENDEZ, J.; GONZALEZ.M. *Toxoplasma gondii*: Protection against colonization of the brain and muscles in a rat model. **Experimental Parasitology**, n.153, p.209-213, 2008.

Fundação Nacional de Saúde-FUNASA Boletim Eletrônico Epidemiológico p.01-03, 2002. Disponível em: < <http://www.funasa.com.br> > Acesso em: 21 jan. 2014

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

GARCIA, J. L. et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do Norte do Paraná-Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 91-97, 1999.

GOLDSMITH J.; SPEARE R.; BETTIOL S., The parasitology of food. In: Hocking AD (ed.) Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. Australian Institute of Food Science & Technology Inc., NSW Branch, **Food Microbiology Group**; p.705-21, 2003.

HAY J, DUTTON GN. Toxoplasma and the eye. **British Medical Journal**, V. 310, p.1021-1022, 1995.

HILL, D.; DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**, v.8, n.10, p.634-640, 2002.

HIRAMOTO, R.M., et al. Infeciosidade de cistos de *Toxoplasma gondii* ME-49 em leite bovino e leite caseiro. **Revista de Saúde Pública**. v.35, n.2, p.113-118, 2001.

HOLLAND, G.N. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course for disease. **American Journal Ophthalmology**, n.136, p.973-988, 2003.

HOGAN, M.J.; KIMURA, S.J., Ocular toxoplasmosis. **Archives of Ophthalmology**, v.72, p.592-600, 1964

HUTCHISON W.M.; DUNACHIE J.C.; SIIM. And work coccidian like nature of *T. gondii*. **Journal Brasileiro de Medicina**, v.1, p.142-144, 1970.

HUTCHISON W. M. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. **Nature**, v. 206, p. 961-962, 1965.

HUYNH M.H. ; RABENAU K.E.; HARPER J.M.; BEATTY W.L; et al. Rapid invasion of host cells by *Toxoplasma* requires secretion of the MIC2-M2AP adhesive protein complex . v.9, p.2082-2090, 2003.

ISHIZUKA, M.M. Avaliação da freqüência de reagentes ao *Toxoplasma gondii*, pela prova de imunofluorescência indireta (anti-IgG), em magarefes. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v.15, n.2, p.155-158, 1978.

JAMES, G. S. et al. Comparison of cell culture, mouse inoculation, and PCR for detection of *Toxoplasma gondii*: effects of storage conditions on sensitivity. **Journal Clinical Microbiology**, v. 34, n. 6, p. 1572-5, 1996.

JANKÚ, J. Pathogenes a patologická anatomie taknazvaného vrozeného kolobomu žluté skvrny v oku normálně velikém a mikrophthalmickém s nálezem parazitu v sítnici. **Casopis Lekarů Českých**, v.62, p.1021-1027, 1054-1059, 1081-1085, 1111-1115, 1138-1144, 1923.

JEFFREY, J. L.; LOPEZ, A.; WILSON, M.; SCHULKIN, J.; GIBBS, R. Congenital toxoplasmosis: a review. **Obstetrics and Gynecology**, v.56, p.296-300, 2001.

JONES, J. L.; KRUSZON-MORAN, D.; WILSON, M.; MCQUILLAN, G.; NAVIN, T.; MCAULEY, J. B. Toxoplasma gondii infection in the United States: seroprevalence and risk factors. **American Journal of Epidemiology**, v. 154, p. 357-365, 2001

JONES, J. L.; DUBEY, J. P. Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. **Experimental Parasitology**, v. 124, p. 10-25, 2010.

KANO, F.S., FREIRE, R.L., MITSUKA, R. *et al.* Ocorrência e anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos na região de Londrina. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, v. 6, n. 2, p. 34 , 1997.

KAPPERUD G.; JENUM P.A.; STRAY-PEDERSEN B.; MELBY K.K.; ESKILD A.; ENG J.; Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Results of a prospective case-control study in Norway. **American Journal Epidemiology**; v.144, p.405–412, 1996.

KAWAZOE, U. In: Neves, **D.P. Parasitologia humana**, 9^a ed, São Paulo: Atheneo, p.174-187, 1995.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: **Parasitologia humana**. 11^a ed. São Paulo: Atheneu, p.163-172, 2002.

KIMBALL, A. C; KEAN, B. H. & PUCHS, F. — Toxoplasmosis: risk variations in New York City obstetric patients. **American Journal Obstet. Gynecology**, v.119, p. 208-214, 1974.

LEVINE, N. D.; CORLISS, J. O.; COX, F. E. G.; DEROUX, G.; GRAIN, J.; HONIGBERG, B. M.; LEEDALE, G. F.; LOEBLICH, A. R.; LOM, J.; LYNN, D.; MERINFELD, E. G.; PAGE, F. C.; POLJANSKY, G.; SPRAGUE, V.; VAVRA, J.; WALLACE, F. G. A newly revised classification of the Protozoa. **Journal of Protozoology**, v. 27, p. 37-58, 1980.

LITERÁK I.; & HEJLICEK K. Incidence of *Toxoplasma gondii* in population of domestic birds in the Czech Republic. **Avian Pathology**. V.22, p.275-281, 1993.

LOGES, L. A.; CADEMARTORI, B. G.; FARIAS, N. A. R. Seroprevalence and associated factors to *Toxoplasma gondii* infection in blood donors in Southern Brazil. **Revista Panamericana de Infectologia**, v. 14, n. 1, p. 27-31, 2013.

LOPES, F.M.R.; MITSUKA-BREGANÓ, R.; GONÇALVES, D.D.; FREIRE, R.L.; KARIGYO, C.J.T.; WEDY, G.F.; MATSUO, T.; REICHE, E.M.V.; MORIMOTO, H.K.; CAPOBIANGO, J.D.; INOUE, I.T.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Factors associated

with seropositivity for anti- *Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women of Londrina, Paraná, Brazil. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.2, p. 378-382, 2009.

LOPES, A.P.; DUBEY, J.P.; NETO, F.; RODRIGUES, A.; MARTINS, T.; RODRIGUES, M.; CARDOSO, L. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption. **Veterinary Parasitology**, v. 31, n. 193(1-3), p. 266-269, 2013.

LOPEZ, A.; DIETZ, V.J.; WILSON, M.; NAVIN, T.R.; JONES, J.L. Preventing congenital toxoplasmosis. **Morbidity Mortality Weekly Report**, v.49, p.59-75, 2000.

LUFT, B. J.; CONLEY, F.; REMINGTON, J. S.; LAVERDIERE, M.; LEVINE, J. F. STRANDBERG, D. A.; WAGNER, K. F.; CRAVEN, P. C.; FILE, T. M.; RICE, N.; MEUNIER-CARPENTIER, F. Outbreak of central-nervoussystem toxoplasmosis in western Europe and North America. **Lancet**, v. 1, n. 8328, p.781-784. 1983.

LUFT, B.J.; BROOKS, R.G.; CONLEY, F.K.; MCCABE, R.E.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmic encephalitis in patients with acquired immune deficiency syndrome. **Journal of the American Medical Association**, v. 252, p 913-917, 1984.

MIORANZA S.L.; MEIRELLES L.R.; MIORANZA H.F.A.; ANDRADE JUNIOR H.F. Evidência sorológica da infecção aguda pelo *Toxoplasma gondii* em gestantes de Cascavel, Paraná. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** v.41, p.628-634, 2008.

MAKSIMOV. P.; BUSCHTONS S.; TENTER A.M.; DUBEY J.P.; et al. Serological survey and risk factors for *Toxoplasma gondii* in domestic ducks and geese in Lower Saxony, Germany. **Journal Veterinary Parasitology**, v.182, p.140-149, 2011.

MANSUR, H.; JONES, T.C.; LEMPert, J.A. Toxoplasmosis in a family and documentation of acquired retinochoroiditis. **American journal Medical** v.64, p.396-402, 1978.

MARANA, E.R.M., VENTURINI, A.C.H., FREIRE, R.L. *et al.* Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em rebanhos de bovinos de leite do norte do Paraná - Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 16, n. 1, p. 40-42, Mar. 1995.

MEDEIROS, B.C.; MEDEIROS, C.R.; WERNER, B.; LODDO, G.; PASQUINI, R.; BLEGGI-TORRES, L.F. Disseminated toxoplasmosis after bone marrow transplantation: report of nine cases. **Transplant Infectious Disease**, v.3, n.19 p.24-28, 2001.

MELAMED J.; RAFFIN N.N.; AGNES J.M. Toxoplasmose no Rio Grande do Sul- Inquérito Sorológico no interior do Estado. **Revista Patologia Tropical**, v.10, n 1, p. 1-7, 1981.

MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v.363, p.1965-1976, 2004.

MILLER N.L.; FRENKEL J.K.; DUBEY J.P. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. **Journal Parasitology**, V.58, n.5, p. 928-937, 1972.

MILLER, C.M.; BOULTER, N.R.; IKIN, R.J.; SMITH, N.C. The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, n.39, p.23-39, 2009.

MOURA, A.B et al. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, V.16, n.1, p.54-56. 2007.

NELSON, J.C.; KAUFFMANN, D.J.H.; CAVARELLA, D.; SENISI, W.J. Acquired toxoplasmic retinochoroiditis after platelet transfusions. **Annals. Ophtalmology**, n.21, p.253, 1989.

NICOLLE, M. M. C.; MANCEAUX, L. Sur un protozoaire nouveau du gondi. **Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academie des Sciences**, Paris, v.148, p. 369-372, 1909.

ORÉFICE, F.; BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G. Toxoplasmose. In: Oréfice, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, v.2, p.699-804, 2005.

PAPPEN, F.G.; RUAS J.L.; FARIAS N.M.; RIBEIRO, P.B.; Prevalência de anticorpos para **Toxoplasma gondii** (Nicolle e Manceaux, 1909) em ovinos da região Sul do estado do Rio Grande do Sul, Open Thesis,

PENA H.F.J., SOARES R.M., DUBEY J.P. & GENNARI S.M. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo State, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. **Research in Veterinary Science**. V.18, p. 58-67, 2006.

PEREIRA, I. **Soroprevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal da região de Pelotas-RS**. 2005. 99f. Dissertação (Mestrado em Veterinária)-Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas

REMYINGTON, J. S.; KRAHENBUHL, J. L. **Immunology of *Toxoplasma gondii***. In. A. J. Nahmias and R. J. O'Reilly, Immunology of Human Infection. Part II: Viruses and Parasites; Immunodiagnosis and Prevention of Infectious Diseases. Plenum, New York, p. 327-362, 1982.

Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, editores. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 5ª ed. Philadelphia: **WB Saunders**; 2001. p. 205-346.

ROOS, T.; MARTIUS, J.; SCHROD, L. Systematic serologic screening for toxoplasmosis in pregnancy. **Obstetrical Gynecology**, v. 81, n. 2, p. 243-50. 1993.

SABIN A.B.; FELDMAN, H.A., Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v. 108, p.600-603. 1948.

SANTOS, L. M. J. F.; DAME, M. C. F.; CADEMARTORI, B. G.; CUNHA FILHO, N. A.; FARIAS, N. A. R.; RUAS, J. L. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in water buffaloes and meat cattle in Rio Grande do Sul State, southern Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 58, n. 3, p. 334-336, 2013.

SANTOS, L.S.S, CADEMARTORI, B., CARVALHO, A., FARIAS N.A. Avaliação soropidemiológica de *Toxoplasma gondii* em humanos e sua relação com o convívio com gatos (*Felis catus*) como animal de estimação [Dissertação], Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, Laboratório Parasitologia, 2012.

SILVEIRA, C. *et al.* The effect of long-term intermittent trimetropim-Sulfamethoxazole treatment on recurrences of toxoplasmic retinochoroiditis. **American Journal Ophthalmol**, v.134, p.41-46, 2002.

SIIM J.C., Pathogenic aspects of human acquired toxoplasmosis. **Survey of Ophthalmology**; p.781-798.1961.

SMITH, K. E.; ZIMMERMAN, J. J.; PATTON, S.; BERAN, G. W.; HILL, H. T. The epidemiology of toxoplasmosis on Iowa swine farms with an emphasis on the roles of free-living mammals. **Veterinary Parasitology**, v.42, p.199-211,1992.

SOCOL, V.T.; CASTRO E.A.; GAZDA D.L.; GARCIA, G., Ocurrence of anti-toxoplasma gondii antibodies in ovine from urban and periurban areas from Curitiba, Paraná State. *Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v.36, p.483-491, 2003.

SOUZA W.J.; COUTINHO S.G.; LOPES C.W.; dos Santos C.S.; NEVES N.M.; CRUZ A.M. Epidemiological aspects of toxoplasmosis in schoolchildren residing in localities with urban or rural characteristics within the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** v. 82, p.82-475, 1987.

SOUZA, W.J.S. **Epidemiologia da toxoplasmose: avaliação sorológica de suínos e trabalhadores em abatedouros na mesorregião do Grande Rio de Janeiro**. 1995. 102f. Tese (Doutorado em Parasitologia Veterinária)- Curso de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

SPALDING, S.M.; AMENDOEIRA, M.R.R.; KLEIN, C.H.; RIBEIRO, L.C. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in south of Brazil. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**. n.38, p.173-177, 2005.

SPLENDRE, A. Un nuovo protozoa parassita deconigli incontrato nelle lesione anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uoma. Nota preliminare pel. **Revista Sociedade Scientia médica. São Paulo**, v. 3, p. 109-112, 1908.

SROKA, S.; BARTELHEIMER, N.; WINTER, A.; HEUKELBACH, J.; ARIZA, L.; RIBEIRO, H.; OLIVEIRA, F.A.; QUEIROZ, A.J.N.; LIESENFELD, O. Prevalence and risk factors of toxoplasmosis among pregnant women in Fortaleza, Northeastern Brazil. **American Journal of Parasitology**, v.39, n.8, p.895-901, 2009.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**, v. 30, n. 12/13, p. 1217-1258, 2000.

UENO, T. E. H., GONÇALVES, V. S. P., HEINEMANN, M. B., DILLI, T. L. B., AKIMOTO, B. M., DE SOUZA, S. L. P., GENNARI, S. M. AND SOARES, R. M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. **Tropical Animal Health and Production**, v. 41, p. 547-552, 2009.

VIDOTTO O.; NAVARRO I.T.; GIRALD N., et al. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina – PR. **Semina: Ciencia Agr.** v.11, p.53-59, 1990.

WHILHELM, W. Pomeranos: 150 anos de história e contradições. **Revista do Instituto Humanistas Unisinos** on-line, 2008. Seção 271, ano VIII. Disponível:<<http://www.ihuonline.unisinos.br/index.php?secao=271>>acesso:29out.2013

WOLF A.; and COWEN D. Granulomatous encephalomyelitis due to a protozoan (*Toxoplasma* or *Encephalitozoon*): II. Identification of a case from the literature, **Bull Neurology Institute New York**, v. 7, p.266-290, 1937.

XAVIER, G. A.; CADEMARTORI, B. G.; CUNHA FILHO, N. A.; FARIAS, N. A. R. Evaluation of seroepidemiological toxoplasmosis in HIV/AIDS patients in the south of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 1, p. 25-30, 2013.

YAN C.; YUE C.L.; YUAN Z.H.; HE Y.; YIN C.C.; LIN R.Q.; DUBEY, J.P.; ZHU X.Q. *Toxoplasma gondii* infection in ducks free-range and caged chickens in Southern China. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.337-340, 2009.

ZARCOVIC,A.;MacMURRAY,C.;DEVA,N.;GHOSH,S.;WHITLEY,D.;GUEST,S.Seropositivity rates for *Bartonella henselae*, *Toxocara canis* e *Toxoplasma gondii* in New Zeland blood donors. **Clinical and Experimental Ophtalmology**, 2007.

ZONTA, J.C., ARAÚJO, F.A.P., STOBBE, N.S. *et al.* Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em ovinos de Marau e de Uruguaiana, RS. **Arquivos Faculdade Veterinária-UFRGS**, v. 15-16, p. 59-61, 1987/8.

ZHOU, P.; CHEN Z.; Li H.L.; ZHENG H.; HE S.; LIN R.Q. et al.; *Toxoplasma gondii* infection in humans in China. **Parasites and Vectors**, v.4, p.4-9, 2011.

ARTIGO

Manuscrito a ser submetido à Revista Panamericana de Infectologia

Seroprevalência para *Toxoplasma gondii* e fatores de risco associados em população rural de origem germânica no sul do Brasil

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and risk factors associated in a rural populations of Germanic origin in Southern Brazil

Aline Machado Carvalho¹; Beatriz González Cademartori²; Carla Peters³; Caren Meyer³; Cintia Lidiane Guidotti Aguiar; Mairo Hammes³; Nara Amélia da Rosa Farias

¹Mestranda em Parasitologia- Universidade Federal de Pelotas, Farmacêutica- Hospital de Caridade de Canguçu-RS, Brasil.

²Mestre em Ciências/ Parasitologia, Doutoranda em Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas, Farmacêutica- Bioquímica- Hospital Universitário, Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Pelotas- RS, Brasil.

³Enfermeiro(a) Secretaria de Saúde de São Lourenço do Sul- Vigilância Sanitária- Estratégia de Saúde da família.

Prof^a Dr^a em Biologia Parasitária, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Brasil.

Correspondência:

Universidade Federal de Pelotas- Instituto de Biologia- Departamento de Microbiologia e Parasitologia- Laboratório de Parasitologia- sala nº13
Avenida Eliseu Maciel, sem nº- Campus Universitário
CEP 96010-900-Capão do Leão, RS-Brasil-caixa-Postal:354
Telefones: (53) 9911 24 22 (53) 3227 6477 (53) 32223002
E-mail: alinemcpesquisa@gmail.com

Resumo

A toxoplasmose, ocasionada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, é uma patologia difundida em todo mundo e altamente prevalente principalmente em regiões de clima quente e úmido. Trata-se de uma zoonose, de grande importância em saúde pública, podendo causar infecção em todos os animais homeotérmicos, além de peixes e moluscos. A soroprevalência varia mesmo entre populações de localidades próximas, e, por isso, é importante a realização de estudos regionais, que permitam a tomada de medidas específicas e eficazes para o controle da zoonose. Essa variação é determinada pelos hábitos e costumes dos habitantes de cada região, sendo também influenciada por fatores climáticos, geográficos e tipos de trabalho. No estado do Rio Grande do Sul, existem regiões de colonização germânica, cuja população mantém seus hábitos alimentares e culturais preservados. Este estudo teve como objetivo conhecer a soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em uma população germânica no Sul do Rio Grande do Sul e correlacionar com os principais fatores de risco, incluindo o consumo de carnes cruas e defumadas de anseriformes como patos, gansos e marrecos e também suínos. Foi aplicado questionário epidemiológico e realizadas coletas de sangue venoso de 350 indivíduos cadastrados no posto de saúde de comunidade rural do município de São Lourenço do Sul-RS. Os exames sorológicos para *T.gondii* foram realizados através da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) segundo Camargo (1964), com ponto de corte de 1:32 para IgG e 1:8 para IgM. A soroprevalência para *T. gondii* na população estudada foi de 75,1%, com títulos que variaram entre 32 e 16.380. Não foi diagnosticado nenhum caso agudo da doença ou de infecção recente (IgM positivo). Constatou-se que o hábito de provar o tempero de carne crua aumenta 2,45 vezes mais a chance de infecção dessas pessoas pelo protozoário. Mais de 90% dos pesquisados costumam consumir embutidos artesanais, água não tratada, pratos típicos à base de carne defumada, ter contato com o solo, não higienizar corretamente frutas e verduras, manusear carne crua e ter gatos no peridomicílio. Trata-se do primeiro estudo sobre a soroprevalência de *T. gondii* em população rural de origem germânica no Brasil

Palavras-chave: Toxoplasmose, epidemiologia, população origem germânica

Abstract

Toxoplasmosis, caused by *Toxoplasma gondii* protozoan, is a disease widespread throughout the world and highly prevalent particularly in regions with hot and humid weather. It is a zoonosis of major public health significance, and it may cause infection in all warm-blooded animals, fish and shellfish. The seroprevalence varies even among populations of nearby locations, and so it is important to conduct regional studies to permit the preparation of specific and effective measures for the control of the zoonosis. This variation is determined by the habits and customs of the inhabitants of each region, and it is also influenced by climatic and geographic factors and types of jobs. In the state of Rio Grande do Sul, there are regions of Germanic settlement, whose population keeps its eating and cultural habits preserved. This study aimed to assess the seroprevalence of *T. gondii* in a German population in the southern region of Rio Grande do Sul and to correlate with the major risk factors, including consumption of raw and smoked meats from anseriforms and pork. Epidemiological questionnaire was applied, and it was done collections of venous blood samples of 350 individuals registered at the health center in the rural community the municipality of São Lourenço do Sul - RS. The serologic tests for *T. gondii* were done through the Indirect Immunofluorescence Assay, according to Camargo (1964), with a cutoff of 1:32 for IgG and 1:8 IgM. The seroprevalence of *T. gondii* in the studied population was 75.1%, with titers ranging from 32 to 16,380. No case of acute illness or recent infection (IgM positive) was diagnosed. It was found that the habit of tasting the flavor of raw meat increases 2.45 times the chance of infection by the protozoan of these people. Over 90% of the respondents usually consume artisanal sausages and typical smoked meat dishes, drink untreated water, have contact with the ground, do not properly sanitize fruits and vegetables, handle raw meat and have cats around the house. This is the first study on the seroprevalence of *T. gondii* infection in the rural population of German origin in Brazil.

Keywords: Toxoplasmosis, Epidemiology, Germanic.

Introdução

A toxoplasmose é umas das protozoonoses mais comuns e difundidas em todo mundo. O agente *Toxoplasma gondii* infecta o homem, a maioria dos animais homeotérmicos, e até peixes e moluscos bivalves. Em humanos podem ocorrer níveis elevados de prevalência, detectados através de anticorpos séricos, variando entre as populações, de 20% a até 90% em indivíduos adultos. A soropositividade é crescente de acordo com a faixa etária (ADDEBBOUS *et al.* 2012; ESMERINI *et al.*,2010).

A transmissão pode ocorrer pela ingestão de oocistos eliminados pelas fezes de felídeos, os quais permanecem infectantes, no solo ou na água, por vários meses. Esses oocistos contaminam vegetais e água consumidos pelos humanos. Também pode haver a ingestão de alimentos de origem animal, especialmente carne crua ou mal cozida contendo cistos do parasito, além de infecção por transplante de órgãos, contendo cistos, e transmissão placentária através dos taquizoítos, presentes na fase aguda da doença (ADDEBBOUS *et al.* 2012).

A prevalência de indivíduos soropositivos para toxoplasmose aumenta com a idade e difere segundo os padrões culturais da população, hábitos alimentares e procedência urbana ou rural. Um fator influente é o nível de conhecimento sobre a doença, com cerca de 80% de desconhecimento, o que facilita a infecção por *T. gondii* (CADEMARTORI *et al.*, 2008).

Nas regiões tropicais e subtropicais de clima úmido, a prevalência é mais elevada, pois este tipo de clima favorece a sobrevivência dos oocistos no meio ambiente (MELAMED *et al.*,1981; XAVIER *et al.*,2013). A patogenia na espécie humana depende da virulência da cepa do parasito, resistência do hospedeiro, forma infectante e via pelo qual o indivíduo se infecta (DUBEY *et al.*, 2000;

AMENDOREIRA *et al.*, 2003). Existe uma carência de informações sobre a prevalência de toxoplasmose em populações rurais. O sul do Brasil foi colonizado, principalmente, por imigrantes germânicos e italianos. Este estudo foi realizado em uma população de origem germânica da região, levando em conta seus hábitos alimentares, culturais, e a soroprevalência da zoonose.

O objetivo desta pesquisa foi avaliar a prevalência de imunoglobulinas IgM e IgG para *T. gondii*, em indivíduos de origem germânica de comunidade rural do Sul do Brasil, Rio grande do Sul, no sul do Brasil, e correlacionar os resultados sorológicos com os dados epidemiológicos.

Material e Métodos

Características e localização da região

O Município de São Lourenço do Sul está localizado na mesoregião do Sudeste do Estado do Rio Grande do Sul. A altitude média, inferior a 50 metros, temperaturas médias mensais de 12 °C a 23°C e umidade relativa do ar de 70 a 80%, com precipitação média anual de 1300 mm, com chuvas distribuídas durante o ano.

Trata-se de uma área de baixa altitude e elevada umidade, com clima subtropical úmido ou temperado. O estudo foi realizado no 2º distrito rural do município, Taquaral, comunidade de Santa Inês, localizado a uma latitude 31º 19' 49" sul e a uma longitude 52º 21' 55" oeste. O distrito caracteriza-se por possuir a maioria da população de origem germânica.

População de estudo e desenho experimental

Foi realizado um estudo de coorte, no período de maio a agosto de 2013, sendo examinadas 350 pessoas, de uma população de 1683 indivíduos com idade superior a 15 anos, da comunidade de Santa Inês, distrito de Taquaral, município de São Lourenço do Sul (banco de dados da Vigilância Sanitária do município)

Aspectos legais e éticos

O estudo foi realizado com a anuência e colaboração da Secretaria de Saúde do município, através de parceria com o Grupo de Saúde Familiar da Vigilância Sanitária local, o que facilitou o acesso aos participantes, devido ao auxílio das agentes de saúde, informando a população sobre a pesquisa e requisitando-os de acordo com a origem dos indivíduos e explicando como seria feito a pesquisa, e

também os dias e horário da presença da pesquisadora. Cada indivíduo foi informado sobre os objetivos da pesquisa e convidado a participar, após a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, sob o número 244.037.

Coleta dos dados

Após esclarecimentos e assinatura do termo de consentimento, foi feita coleta de sangue por venopunção periférica (cubital ou cefálica) dos 350 indivíduos, em tubos vacutainer® sem anticoagulante. O soro obtido foi levado, sob refrigeração, para o Laboratório de Parasitologia 13 do Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, e armazenado a -20°C, em tubos eppendorf®, até o momento da análise.

Logo após a coleta, os participantes responderam ao questionário epidemiológico padronizado, abordando informações socioeconômicas, como idade, sexo, escolaridade e renda mensal. Também incluía dados relativos a hábitos culturais, como consumo de carnes de diferentes espécies, abate doméstico de animais e manipulação da carne, hábito de provar o tempero de carnes cruas durante o preparo, consumo de embutidos frescal e carnes cruas ou mal-passadas, leite não pasteurizado, vegetais crus, água não tratada, contato com solo e presença de gatos no domicílio. Além de receberem informações verbais, os participantes também receberam folder explicativo e tiveram acesso a cartazes fixados no posto de saúde, visando esclarecer formas de transmissão e profilaxia da toxoplasmose.

Análise sorológica

A pesquisa sorológica de anticorpos para *T. gondii* foi realizada pela técnica de Imunofluorescência indireta (IFI) utilizando Kits WAMA Diagnóstica® para determinação qualitativa e semi-quantitativa de anticorpos. O kit Imunocom G® foi utilizado para pesquisar antigamaglobulina G (IgG) e o conjugado Fluocom M® para pesquisa de antigamaglobulina M (IgM), conforme instruções do fabricante. Foram consideradas reagentes as amostras que apresentaram fluorescência a partir da diluição 1:32 para IgG e 1:8 para IgM. A confirmação da reatividade para anticorpos IgM foi feita por Eletroquimioluminescência (ECLIA), realizado pelo laboratório Bem-me-quer® de Pelotas, RS. As amostras reativas para IgG foram testadas em diluições seriadas na base dois até a máxima titulação reagente.

Análise Estatística

Todas as variáveis foram categorizadas em dois estratos em escala crescente de risco. Dessa forma, a categoria com menor risco (zero) foi considerada como base para as demais categorias. Primeiramente, foi realizado uma análise univariada, através do teste do qui-quadrado (χ^2) e teste de Fisher ($p \leq 0,25$), para verificar a possível associação entre os fatores de risco e a variável dependente (soropositividade para *T. gondii*). Após, as variáveis independentes foram analisadas em modelo de regressão logística (análise multivariada). Para a análise da significância entre essas associações foi utilizado a Odds Ratio (OR), com intervalo de confiança (IC) de 95%. A análise foi feita com a utilização do software Statistix 9.0.

Resultados

Os dados relativos às características da população estudada, e os possíveis fatores de risco para *T. gondii*, encontram-se nas Tabelas 1 e 2, respectivamente. Constatou-se um predomínio de participantes do sexo feminino (63,14%). Trata-se de um grupo de baixa escolaridade (89,4% estudou até a 5ª série), indivíduos de renda superior a 3 salários mínimos. Com relação à toxoplasmose, 87,7 % não conheciam os meios de transmissão e 68,6% desconheciam a existência da enfermidade. A faixa etária dos participantes variou de 15 a 78 anos, sendo que a maioria (72,6%) possui mais de 30 anos. Atividades na lavoura são executadas por 94,3% da população (em plantação de fumo e milho), e a criação artesanal de animais para consumo familiar por 96% dos mesmos.

Tabela 1- Caracterização socioeconômica de população rural de origem germânica no sul do Brasil

Variáveis	n	%
Sexo		
Masculino	129	36,8%
Feminino	221	63,1%
Idade		
Até 30 anos	96	27,4%
Mais de 30 anos	254	72,6%
Escolaridade		
Ensino fundamental incompleto	266	76,0%
Ensino fundamental completo	28	8,0%
Ensino médio incompleto	14	4,0%
Ensino médio completo	38	10,8%
Ensino superior incompleto	1	0,3%
Ensino superior completo	3	0,9%
Residência		
Própria	246	70,3%
Alugada	9	2,6%
Mora com a família	95	27,1%
Renda familiar mensal		
Até 2 salários mínimos	88	25,1%
Mais de 3 salários	262	74,8%

Tabela 2 – Características da população rural de origem germânica no sul do Brasil (n=350), segundo possíveis fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii*.

Variáveis	Categoria	n	%
Consumo de água não tratada	Sim	334	95,4*
	Não	16	4,6
Consumo de carne crua ou mal cozida	Sim	148	42,3
	Não	202	57,7
Consumo de embutidos caseiros	Sim	321	91,7*
	Não	29	8,3
Consumo de leite <i>in natura</i>	Sim	41	11,7
	Não	309	88,3
Consumo de pratos típicos (defumados)	Sim	340	97,1*
	Não	10	2,9
Conhecimento sobre Toxoplasmose	Sim	110	31,4
	Não	240	68,8
Contato com o solo	Sim	348	99,4*
	Não	2	0,6
Higienização correta de frutas e verduras	Sim	29	8,3
	Não	321	91,7*
Lavar as mãos antes das refeições	Sim	341	97,4
	Não	9	2,6
Manusear carne crua	Sim	323	92,3*
	Não	27	7,7
Água de nascente ou açude para irrigação da horta	Sim	282	80,6
	Não	68	19,4
Provar o tempero da carne crua	Sim	143	40,9
	Não	207	59,1
Possui ou já possuiu gato jovem	Sim	314	89,7
	Não	36	10,3
Presença de gato no peridomicílio	Sim	340	91,4*
	Não	30	8,6

*Variáveis que caracterizam mais de 90% da população

Entre os entrevistados, que afirmaram conhecer a toxoplasmose e suas formas de transmissão, 32% citaram formas errôneas de transmissão.

Tabela 3- Frequência das supostas fontes de infecção humana citadas por indivíduos de origem germânica do sul do Brasil que julgavam conhecer a toxoplasmose (n=240).

Váriaveis	n	%
Através do gato	131	54,6
Verduras e Carnes	41	17,1
Fezes de gato	24	10
Consumo de carne	16	6,6
Através da água	1	0,4
Pêlo de gato	14	5,8
Mordida de gato	4	1,6
Arranhão de gato	2	0,8
Contato com gato	10	4,2
Saliva de gato	4	1,6
Urina de gato	3	1,3
Gato comer na cozinha	1	0,4
Através do rato	9	3,8
Urina do rato	1	0,4
Cachorro	17	7,1
Saliva do cachorro	1	0,4
Fezes de animais	1	0,4
Pombos	1	0,4
Pássaros contaminados	1	0,4
Insetos	1	0,4
Mão suja	2	0,8
Sujeira	2	0,8
Leite cru	5	2,1
Comida contaminada	5	2,1

Cada paciente respondeu mais de uma variável, o que reuniu um total de 297 possibilidades de fatores de risco, sendo o total de quem já ouviu falar em toxoplasmose entre positivos e negativos para *Toxoplasma gondii* foi de 240 pessoas.

A prevalência de IgG anti-*T. gondii* foi de 75,1%. Os títulos variaram entre 32 e 16.384, sendo os mais freqüentes os de 32 (31,5%) e 128 (24,3%) (Tabela 4). Cerca de 90% dos indivíduos estudados apresentaram títulos de IgG de até 256, e não foram detectadas reações positivas para IgM.

Tabela 4 – Distribuição dos indivíduos (n=263) da população rural de origem germânica estudada, do sul do Brasil, segundo o título de anticorpos IgG para *T.gondii* (RIFI)

Título de Anticorpo IgG	n	%
32	83	31,5
64	50	19,0
128	64	24,3
256	37	14,1
512	17	6,5
1024	7	2,7
2048	1	0,4
4096	1	0,4
8192	2	0,8
16384	1	0,4
Total	263	100%

A análise univariada revelou que determinados fatores, como idade, consumo de embutidos, abate de suínos na propriedade, utilização de água de açude e nascente para irrigação da horta, consumo de leite “in natura”, manusear carne crua e provar tempero de carne crua, tendem a aumentar o risco de infecção por *T. gondii* (Tabela 5). No entanto, quando analisadas por um modelo multivariado de regressão logística, o único fator de risco estatisticamente significativo ($p \leq 0,05$), foi o hábito de provar o tempero de carne crua durante seu preparo artesanal. Constatou-se, que as pessoas que têm esse hábito, possuem 2,45 vezes mais chance de serem soropositivos para *T. gondii* (OR=2,45; IC=95%: 1,42 - 4,24).

Tabela 5- Associação ($p \leq 0,05$) dos fatores de risco à infecção com a soropositividade para *Toxoplasma gondii* em população rural de origem germânica ($n=350$), do sul do Brasil, após análise univariada.

Variáveis	Amostras	Positivos	OR	P
Abate de Suínos			1	
Não	82	54 (65,85)	1,83	0,0261
Sim	268	209 (77,98)	(1,07 – 3,15)	
Idade			1	
15-30	96	64 (66,66)	1,46	0,0241
≤31	254	199 (78,59)	(0,81 – 2,62)	
Manuseio de carne crua			1	
Não	27	15 (55,55)	2,64	0,0142
Sim	323	248 (76,78)	(1,18 – 5,89)	
Provar Tempero			1	
Não	207	143(69,08)	2,33	0,0016
Sim	143	120 (83,91)	(1,36- 3,98)	

Discussão

A população estudada é homogênea em termos de hábitos e costumes, destacando-se o consumo de embutidos, pratos típicos defumados, carne oriunda de criação artesanal de suínos e aves crua ou mal cozida. Durante o preparo de carnes, embutidos e peito de ganso defumado, possuem o hábito de provar o tempero antes do processamento. A população do estudo costuma ter gatos como animais de estimação, porém utilizados para caçar ratos em galpões e não como animais de companhia no domicílio. Populações rurais do RS, de colonização italiana, possuem hábitos similares, segundo MELAMED *et al* (1981), e, nessas, a soroprevalência para *T. gondii* foi de 82%.

A taxa de soroprevalência para *T. gondii* varia de acordo com fatores como: faixa etária, hábitos alimentares e culturais, condição sócio econômica, contato com o solo e qualidade da água. Como a frequência da infecção está ligada a padrões culturais da população, a prevalência varia de acordo com os grupos étnicos, devido aos hábitos sanitários e a forma de preparo dos alimentos (DUBEY, 1988; ALMEIDA FILHO *et al.*, 2002).

Algumas pesquisas destacam maior prevalência em indivíduos que vivem no meio rural, devido ao maior contato com o solo contaminado por oocisto esporulado (DUBEY 2000; XAVIER, *et al.*, 2013). Este é o primeiro estudo sobre soroprevalência de *T. gondii* realizado com população rural de origem germânica no Brasil.

A prevalência da infecção por *T. gondii* é geralmente superior em populações que vivem em áreas de baixas altitudes e elevada umidade relativa, como observado no presente estudo. Isto provavelmente devido ao favorecimento da sobrevivência e

propagação de oocistos do parasito no ambiente, por períodos mais longos (MELAMED *et al.*, 1981; DUBEY 1988; AMENDOREIRA *et al.*, 2003).

A soroprevalência para *T. gondii* entre moradores do meio rural, de origem germânica (75,1%), foi superior aos encontrados em outros grupos populacionais urbanos da mesma região Sul do RS. Utilizando as mesmas técnicas sorológicas e pontos de corte. Loges *et al* (2009) detectou em doadores de sangue 57,5%, Cademartori *et al* (2008) em gestantes atendidas na rede pública 54,8% e Santos *et al* (2012) na população geral, 35,5%. As diferenças de soroprevalência encontradas entre essas populações, foram atribuídas nas condições sanitárias e hábitos culturais de moradores de áreas urbanas e rurais uma vez que as provas sorológicas utilizadas foram as mesmas.

Estudos feitos com pacientes imunocomprometidos na região, detectaram soroprevalências maiores: 84,2% em pacientes oncológicos (RADIN *et al.*, 2011) e 80% em pacientes HIV positivos (XAVIER *et al.*, 2013). Na região do alto Uruguai (RS), de colonização germânica, italiana, polonesa e portuguesa, com grande consumo de carne suína não cozida, a soroprevalência foi de 74, 5% em gestantes atendidas em Unidades do Sistema Único de Saúde (SPALDING *et al.*, 2003). A dosagem sorológica para IgG foi determinada pela mesma técnica de imunofluorescência indireta e igual ponto de corte.

Em Belém do Pará, onde as condições climáticas são mais favoráveis à sobrevivência do oocisto e é elevado o consumo de carnes cruas ou mal cozidas, a soroprevalência varia entre 71% e 81% (CARMO *et al*, 2004; BICHARA *et al.*, 2001), comparáveis ao verificado na população rural de origem germânica, aqui estudada. No Paraná, GARCIA *et al.* (1999) encontraram soroprevalência para *T. gondii* de 66% em moradores de área rural.

Em índios brasileiros na região da Amazônia e Mato grosso a soroprevalência varia de 39 a 100% (BARUZZI *et al.*, 1970). A alta ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em silvícolas (80,4%), da tribo Enawenê-Nawê, região noroeste do Mato Grosso-MT, que não consomem carnes vermelhas e não possuem gatos domésticos, foi atribuída a hábitos e costumes de ingerirem fungos *in natura*, que crescem nos locais ricos em matéria orgânica, possivelmente infectada por oocistos, liberados por felídeos silvestres (AMENDOREIRA *et al.*, 2003).

Em estudo similar realizado com grupo étnico de origem germânica, que vive no meio rural, no México (menonitas), a soroprevalência para *T. gondii* em adultos foi de 30,3% para IgG e 3,3% para IgM pelo teste de ELISA (ALVARADO-ESQUIVEL *et al.*, 2010), superior às da população urbana, e à de outra população rural da região (Oaxaca): 3,8% (GOLDSMITH *et al.*, 1991). Essa diferença de soroprevalência entre populações rurais do México, devem-se, segundo os autores, ao fato de que os menonitas consomem carne com muito maior frequência, e tem grande número de gatos no domicílio, o que não ocorria no grupo de Oaxaca.

A soropositividade detectada em áreas urbanas de outros países, como África (50%), Haiti e França (>60%), Marrocos (62,1%), segundo Ledru *et al* (1995), AVELINO *et al* (2003), ADDEBBOUS *et al* (2012), respectivamente, demonstra a variação na prevalência de região para região, conforme descreve DUBEY (1988), embora deva ser considerado que a comparação entre soroprevalências pode ser influenciada pelos diferentes testes sorológico e pontos de corte utilizados em cada trabalho.

O título mais freqüente de IgG para *T.gondii* na população rural de origem germânica foi de 32, porém houve variação de 32 a 16.384. A baixa titulação aqui observada é semelhante à encontrada em estudos realizados no município de

Pelotas (SANTOS, *et al*, 2013) no qual a titulação de 32 foi a mais prevalente. Títulos baixos sugerem infecção crônica. Em termos gerais, os resultados deste estudo são semelhantes à maioria dos resultados prévios que demonstram uma predominância dos títulos baixos e um número variável de títulos altos, sem ultrapassar a titulação de 16.384, conforme encontrado no município de Encantado-RS, por Melamed *et al.*, (1981) e em Pelotas-RS (CADEMARTORI *et al.*, 2008 ; LOGES *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2013).

Nesta pesquisa não foram detectados indivíduos IgM positivos, o que confirma a hipótese de ausência de infecções recentes, agudas. Resultado similar foi verificado por diferentes autores, entre eles, Cademartori *et al.* (2008) e Santos *et al.* (2013), em Pelotas, RS, e Carmo *et al.* (2004) em Belém do Pará.

Entre todas as variáveis epidemiológicas estudadas, somente o hábito de provar o tempero de carne crua durante o preparo, revelou associação significativa ($p \leq 0,05$) com a soropositividade para *T. gondii*. Resultado similar foi observado por autores, em zona urbana de São Paulo, ao comparar a frequência de positivos segundo as ocupações (profissões): donas de casa apresentaram maior positividade, indicando que o hábito de provar carne crua durante o preparo das refeições é fator de risco (JAMRA *et al.*, 1964). Em universitários de Pelotas-RS, também foi constatado que provar o tempero de carne crua representa correlação estatisticamente significativa com a soropositividade para o parasito (SANTOS *et al*, 2013). Essa associação foi igualmente constatada por Paul (1998) na Polônia.

Fatores de risco, como consumir embutidos artesanais, água não tratada, pratos típicos à base de carne defumada, ter contato com o solo, não higienização correta de frutas e verduras, manusear carne crua e presença de gatos no peridomicílio, não apresentaram associação significativa com a soropositividade

($p \leq 0,05$) das pessoas para *T. gondii*, ao contrário do verificado pela maioria dos autores (BICHARA *et al.*, 2012; SROKA, *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2007; ALVARADO-ESQUIVEL *et al.*, 2010; XAVIER *et al.*, 2013; SANTOS *et al.*, 2013). Este resultado é explicado pelo fato de que mais de 90% dos entrevistados enquadra-se em uma categoria, (exemplo: 99,4% deles tem contato com o solo), o que mascara a influência do fator de risco sobre a soropositividade. Em estudo realizado em zona rural de Jaguapitã-PR, por GARCIA *et al.* (1999), o consumo de carne crua, leite cru, contato com felinos, abate de animais e produção de derivados de origem animal, não tiveram associação estatisticamente significativa com a soroprevalência para *T. gondii* nos humanos avaliados.

Deve-se salientar que o consumo de carnes cruas ou mal cozidas contendo cistos é um dos fatores de risco de infecção para *T. gondii* mais citados na literatura e a principal causa de contaminação em humanos (COOK *et al.*, 2000; CADEMARTORI *et al.*, 2008; SILVA *et al.*, 2007). Isso demonstra a relevância da realização de programas estratégicos de prevenção, para educação específica em saúde, para cada região e doença em questão.

O aumento da soroprevalência segundo a idade pode ser explicado pelo maior tempo de exposição aos fatores de risco e confirma o verificado pela maioria dos autores (COELHO *et al.*, 2003; VARELLA *et al.*, 2003; SPALDING *et al.*, 2003; ASPINALL *et al.*, 2003; ERTUG *et al.*, 2005).

A baixa escolaridade não foi um fator de risco significativo ($p \leq 0,05$) para a soropositividade ao agente, mas também deve ser levado em consideração que a maioria (cerca de 80%) dos analisados apresenta essa característica, o que mascara a análise estatística. A baixa escolaridade contribui para o desconhecimento sobre as formas de transmissão da doença, conforme o verificado

em estudo feito em Pelotas-RS (CADEMARTORI *et al.*, 2008, XAVIER *et al.*, 2013). Embora constatado que a maioria dos participantes da pesquisa possuam casa própria (70,3%) e renda superior a três salários mínimos (74,8%), a soroprevalência encontrada foi similar à de populações com condições socioeconômicas inferiores, que facilitariam a infecção por *T. gondii*. Em Fortaleza-CE, foi verificada maior prevalência em mulheres de baixa renda, com condições sócio-econômicas precárias, que, segundo os autores, proporcionam maior chance de adquirir infecção pelo protozoário (SROKA *et al.*, 2010).

Foi constatado alto desconhecimento sobre a doença e as formas de transmissão, a exemplo do verificado por CADEMARTORI *et al.* (2008) e SANTOS *et al.* (2013). Grande parte dos entrevistados, que afirmou conhecer as formas de transmissão, citou formas errôneas, evidenciando a necessidade de esclarecimento dessa população sobre as reais medidas de prevenção que devem ser tomadas para reduzir o risco de infecção.

Pode-se concluir que, embora se trate de uma população rural com renda média superior a três salários mínimos mensais e acesso a serviços de saúde, está exposta à infecção por *T. gondii*, tanto cistos teciduais quanto oocistos, apresentando alta soroprevalência para o agente, devido, sobretudo, aos hábitos culturais e desconhecimento da doença.

Agradecimentos

À CAPES pelo financiamento do mestrado e a Wama diagnóstica® pela doação de todos os kits, conjugados e soros-controle para imunofluorescência indireta. À Secretaria de Saúde de São Lourenço do Sul que possibilitou a execução do

trabalho. Aos laboratórios Birck® e Müller® pela doação de soros-controle IgM positivos.

Referências

- 1- Almeida Filho N & Rouquayrol MZ Introdução à Epidemiologia. Minas Gerais: Editora Médica e Científica Ltda. Amendoeira M.R.R, Sobral C.A.Q, Teva A, Lima JN & Klein CH (2003) **Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados**, Mato Grosso. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 36: 671-676, 2002.
- 2.- Esmerini, P.O., Gennari S.M., Pena H.F.J., Isolamento e caracterização genotípica de *T. gondii* de moluscos bivalves marinhos da baixada santista de São Paulo. Veterinary Parasitology, v.170, n.1, p.8-13, 2010.
- 3- Dubey, J. P.; Sources of *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Until rates of congenital toxoplasmosis fall, control measures are essential. **British Medical Journal**, v.321, p.127-128, 2000.
- 4- Xavier, G. A.; Cademartori, B. G.; Cunha Filho, N. A.; Farias, N. A. R. Evaluation of seroepidemiological toxoplasmosis in HIV/AIDS patients in the south of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 55, n. 1, p. 25-30, 2013.
- 5-Melamed J.; Raffin N.N.; Agnes J.M. Toxoplasmose no Rio Grande do Sul- Inquérito Sorológico no interior do Estado. **Revista Patologia Tropical**, v.10, n 1, p. 1-7. 1981.
- 6- Amendoreira M.R.R.; Sobral C.A.Q.; Teva A.; De Lima J.N.; Klein C.H. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 6, p. 671-676, 2003.
- 7- Larsson, C.E.; Jamra, L.M.F.; Guimarães, E.C.; Pattoli, LINDSAY, D.S.; Holl, D.B.G.; LINCOLN, H.; Silva, L. Prevalência da toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. Revista de Saúde Pública, v. 14, n. 4, p. 582-588, 1980.
- 8- Dubey, J.P.; Lindsay, D. S.; Speer, C.A, Structures of *Toxoplasma gondii* tachizoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p.267-299, 1998.
- 9- Loges, L. A.; Cademartori, B. G.; Farias, N. A. R. Seroprevalence and associated factors to *Toxoplasma gondii* infection in blood donors in Southern Brazil. **Revista Panamericana de Infectologia**, v. 14, n. 1, p. 27-31, 2013.

- 10- Cademartori, B.G.; Farias, N.A.R.; Brod, C.S. Soroprevalência e fatores de risco à infecção por *Toxoplasma gondii* em gestantes de Pelotas, Sul do Brasil. **Revista Panamericana de Infectologia**, v.10, n.4, p.30-35, 2008.
- 11- Radin, J.; Radin, V.; Brod, R., Estudo prospectivo de toxoplasmose em pacientes oncológicos em tratamento quimioterápico, *The Biologist*, v.10, n.2,
- 11- Spalding, S.M.; amendoreira, M.R.R.; Klein, C.H.; Ribeiro, L.C. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in south of Brazil. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**. n.38, p.173-177, 2005.
- 12- Carmo EL, Silva M.C.M, Xavier U.A.M, Costa B.O, Póvoa M.M. Inquérito sorológico de toxoplasmose em candidatos a transplante renal no Hospital Ofir Loyola, Belém, Pará, Brasil. **Rev Panam Infectol**. 2004;6(4):15-7
- 13- Bichara CNC. Perfil epidemiológico da toxoplasmose humana na área metropolitana de Belém-Pará: a experiência no Serviço de Parasitologia do Instituto Evandro Chagas [dissertação]. Belém: Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas; 2001.
- 14- Garcia, J. L. et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do Norte do Paraná-Brasil. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 91-97, 1999.
- 15- Baruzzi R.G. Toxoplasmose: História natural e níveis de prevenção. **Archives RS CURANDI**, v.9, p.6-22, 1976.
- 16- Alvarado-Esquivel C.; Rojas A.; Estrada S.; Sifuentes A.; Liesenfeldo O.; Garcia C.R.; Dubey J.P. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in a mennonite community in Durango State, Mexico. **Journal of Parasitology**, 96 (5):941-945, 2010.
- 17- Goldsmith J.; Speare R.; Bettiol S., The parasitology of food. In: Hocking AD (ed.) Foodborne Microorganisms of Public Health Significance. Australian Institute of Food Science & Technology Inc., NSW Branch, **Food Microbiology Group**; p.705-21, 2003.
- 18-Ledru E., A study of *Toxoplasma* and Cytomegalovirus serology in tuberculosis and in HIV-infected patients in Burkina Faso. **Acta Tropica**, v.59, n.2, p.149-154, 1995.
- 19- Avelino, M. M.; Campos JR., D.; Parada, J. C. B.; Castro, A. M. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 108, p. 19-24, 2003.
- 20- Addebbous 2012 Addebbous A.; Adarmouch L.; Tali A.; Laboudi M.; Amine M.; Aajly L.; et al. IgG anti-toxoplasma antibodies among asymptomatic HIV-infected patients in Marrakesh-Morocco, **Acta Tropica**, v.123, p. 49-52, 2012

- 21- Santos, L.S.S, Cademartori, B.,Carvalho, A., Farias N.A. Avaliação soroepidemiológica de *Toxoplasma gondii* em humanos e sua relação com o convívio com gatos (*Felis catus*) como animal de estimação **[Dissertação]**, Pelotas, Universidade Federal de Pelotas, Laboratório Parasitologia, 2012.
- 22- .Jamra L.M.; Martins M.C.; Vieira M, de P. Ação do sal de cozinha sobre o *Toxoplasma gondii*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. 1991; v.33, p.359–363, 1991.
- 23-Paul, M. Potential risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in case with recently acquired toxoplasmosis. **Przegląd Epidemiologiczny**, v. 52, p. 447-454, 1998.
- 24- SROKA, S.; BARTELHEIMER, N.; WINTER, A.; HEUKELBACH, J.; ARIZA, L.; RIBEIRO, H.; OLIVEIRA, F.A.; QUEIROZ, A.J.N.; LIESENFELD, O. Prevalence and risk factors of toxoplasmosis among pregnant women in Fortaleza, Northeastern Brazil. **American Journal of Parasitology**, v.39, n n.8, p.895-901, 2009.
- 25- Silva, K.L.M.V.; DE La Rue, M.L. 2006. Possibilidade da transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* em ovinos através de seguimento sorológico no município de Rosário do Sul, RS, Brasil. **Ciência Rural**. v.36 p. 892–897.
26. Cook, A. J.; Gilbert, R.E.; Buffolano, W.; Zufferey, J.; Petersen, E.; Jenum, P.A.; Foulon, W.; Semprini, A. E.; Dunn, D. Sources of Toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study., **British Medical Journal** v.321, p.142-147, 2000
- 27- Coelho RAL, Kobayashi M, Carvalho Junior LB.Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. **Revista Instituto Medicina Tropical São Paulo**. 2003; 45: 229-31.
- 28-- Varella, I.S.; Wagner, M.B.; Darella, C.; Nunes, L.M.; Müller, R.W. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. **Jornal de Pediatria**, v.79, n 1, p.69-74, 2003
- 29- Aspinall, T. V.; Guy, E.C.; Roberts, K.E.; Joyson, D.H.; Hyde, J.E.; SIMS, P. F. Molecular evidence for multiple *Toxoplasma gondii* infections in individual patients in England and Wales: public health implications. **International Journal for Parasitology**, v.33, p.97-103, 2003.
- 30.Ertug, S.; Okyai, P.; Turkmen, M.; Yukself, H. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. **BioMed Central Public Health**, v.5, p.66-76, 2005.
- 31- Sobral CA, Amendoeira MRR, Teva A, Patel BN, Klein CH. Seroprevalence of Infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous Brazilian populations. **Am J Trop Med Hyg**. 2005;72(1):37-41.2005.

32- Souza AES, Sousa DC, Gomez JG, Matos CS. Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em pacientes atendidos no Laboratório Celso Matos- Santarém, PA. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 34, n. 1, p. 51-52, Março, 2002.

33- Tenter, A. M.; Heckeroti, A. R.; Weissel, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal of Parasitology**, v. 30, n. 12/13, p. 1217-1258, 2000.

10. Conclusões gerais

- Os humanos amostrados no presente estudo tiveram contato com formas infectantes de *T. gondii*, uma vez que 75,1% são soropositivos para o agente.
- No grupo estudado não havia casos de infecção recente por *T.gondii*, ou seja, com títulos detectáveis de IgM.
- Há elevado desconhecimento sobre essa zoonose e seu modo de transmissão, mesmo entre aqueles que se julgam conhecedores do assunto
- Provar o tempero da carne crua durante seu preparo aumenta 2,45 vezes a chance de adquirir a infecção por *T. gondii*.
- A elevada soroprevalência para *T. gondii*, na população rural estudada, também se deve a hábitos como consumir embutidos artesanais, água não tratada, pratos típicos à base de carne defumada, ter contato com o solo, não higienizar corretamente frutas e verduras, manusear carne crua e haver a presença de gatos no peridomicílio, presentes em mais de 90% das pessoas analisadas.
- O quadro epidemiológico exposto, com alta soroprevalência, desconhecimento sobre a doença e exposição a fatores de risco, evidencia a necessidade de tomadas constantes de medidas profiláticas e sanitárias para a região, que devem ser continuadas após as palestras e orientações realizadas durante o período de coleta de dados.

APÊNDICES

APÊNDICE A**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Você esta sendo convidado (a) para participar da pesquisa realizada pela mestranda Aline Machado Carvalho, sobre “Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* e possível associação com hábitos alimentares em populações rurais de origem germânica no Rio Grande do Sul”.

A avaliação do seu sangue permitirá saber se você já se infectou ou não com o protozoário *Toxoplasma gondii* que causa toxoplasmose (“doença do gato”). Esse parasito pode causar lesões cerebrais e abortos. Com o diagnóstico positivo, serás informado que possui defesa contra a doença (estarás protegido), caso for negativo serás informado dos riscos de adquirir a infecção e educação preventiva da infecção. O sangue será coletado da veia no braço como é feito nos laboratórios, podendo ocorrer leve dor local e ou hematoma. Você receberá a informação dos resultados pela pesquisadora e ficará a sua disposição o exame no Posto de Saúde Santa Inês.

Esta pesquisa está sendo realizada sob a orientação da Prof.^a Dr.^a Nara Amélia da Rosa Farias. Você poderá ter todas as informações que quiser e sua participação será voluntária e poderá interrompê-la a qualquer momento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro. Terá a segurança de não ser identificado (a) e que serão mantidos todos os preceitos éticos e legais após o término do trabalho.

Pelotas, ___ / ___ / _____

Assinatura do voluntário (a)

Assinatura do pesquisador (a)

Assinatura do orientador (a)

Telefone do pesquisador: (53) 8121.9930. Telefone do Laboratório: (53) 3275-7398

APÊNDICE B

INSTRUMENTO DE PESQUISA
 Universidade Federal de Pelotas
 Instituto de Biologia
 Programa de Pós Graduação em Parasitologia

Projeto: Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceuax; 1909) em populações rurais de origem germânica no Rio Grande do Sul e possíveis fatores epidemiológicos associados.

Instrumento de pesquisa

Nº Questionário: _____

Entrevistador: _____

Data da entrevista: ___ / ___ / _____

Entrevistado: _____

Dados gerais do Paciente:

1. Nome: _____ Idade: _____

2. Data de nascimento: ___ / ___ / _____ 3. Naturalidade: _____

4. Profissão: _____

5. Estado civil?

(1) Casado (2) Solteiro (3) Divorciado (4) viúvo (5) outro _____

6. Tem filhos? (1) Sim (2) Não Quantos? _____

7. Já ouviu falar em Toxoplasmose (“ doença do gato”)? (1) Sim (2) Não

8. Já teve Toxoplasmose? (1) Sim (2) Não 9. Algum familiar já teve toxoplasmose? (1) Sim (2) Não

10. Quais os meios de transmissão da toxoplasmose? (1) Gato (2) Carne e vegetais (3) Água (4) Não sabe

(5) Outro _____

11. Já fez este exame anteriormente? (1) Sim (2) Não por qual motivo? _____

Avaliação sócio-econômica familiar

12. A residência onde mora é:

(1) Própria (2) De familiares (3) Alugada (4) Outro _____ (5) IGN

13. Número de cômodos:

14. A fonte de renda da família provém do:

(1) Trabalho (2) Aposentadoria (3) Família (4) auxílio doença (5) mais de um

15. Qual é aproximadamente a renda fixa?

(1) até 1 salário mínimo (2) até 3 salários mínimos (3) até 5 salários mínimos (4) até 7 salários mínimos

(5) acima de 7 salários mínimos (6) IGN

16. Quantas pessoas vivem dessa renda? _____ pessoas

17. Qual seu nível de instrução (até onde estudou)?

(1) Fundamental Incompleto (2) Fundamental Completo (3) Ensino Médio Incompleto (4) Ensino Médio Completo

(5) Superior Incompleto (6) Superior Completo (7) Ignorado

Avaliação de hábitos gerais e costumes locais:

18. Possui hábito de comer carne crua e ou mal passada? (1) Sim (2) Não (3) Ambos

19. Possui hábito de provar o tempero de carne crua? (1) Sim (2) Não

20. Possui o hábito de manusear carne crua? (1) Sim (2) Não

21. Qual é a fonte de água usada para o consumo?

(1) Poço artesiano (2) Torneira (3) Açude (4) Fervida (5) Filtrada

22. Possui hábito de lavar as mãos antes das refeições? (1) Sim (2) Não

23. Qual a origem da água usada para irrigação da horta? _____

24. Possui o hábito de usar esterco como adubo na horta? (1) Sim (2) Não

25. Que tipo de atividade executa diariamente?

(1) Lavoura (2) Leitearia (3) Açougue (4) Criação de animais (5) outras _____

26. Costuma realizar abate doméstico de animais? (1) Sim (2) Não

27. De que espécies? (1) aves (2) suínos (3) ovinos (4) bovinos (5) outros

28. Qual é a origem da carne consumida? (1) Açougue (2) Doméstico

29. Possui o hábito de ingerir leite in natura? (1) Sim (2) Não

30. Costuma fazer sempre, antes do consumo, a higienização de frutas, verduras e legumes?

(1) Sim (2) Não

31. Qual é a forma de limpeza das verduras para consumo?

(1) somente com água (2) água clorada (3) vinagre (4) nenhuma (5) outro _____

32. Qual a origem dos vegetais que utiliza nas refeições? (1) horta (2) mercado

33. Possui ou já possuiu gato jovem em casa? (1) Sim (2) Não

34. Há presença de gatos peridomicílio (ao redor da casa)? (1) Sim (2) Não

35. Estes gatos no peridomicílio são de que origem?

(1) Vizinhaça (2) Abandonados (3) criados na rua (5) outros _____

36. Possui o hábito de alimentar seus animais domésticos com carne crua? (1) Sim (2) Não (3) às vezes

37. Possui histórico de aborto na família? (1) Sim (2) Não

38. Houve histórico de aborto nos animais domésticos? (1) Sim (2) Não

39. Possui animais de criação artesanal (“ caseira”)? (1) Sim (2) Não

40. Possui o hábito de consumir lingüiça frescal? (1) Sim (2) Não

41. Qual prato típico possui o hábito de consumir seguidamente?

(1) Queijos artesanais (2) embutidos (3) lingüiça frescal (4) outros _____

42. Possui o hábito de mexer na terra ou areia? (1) Sim (2) Não

Resultados da análise por imunofluorescência indireta: Anticorpos IgG e IgM presentes: (1) Sim (2) Não

Título:

APÊNDICE C



Universidade Federal de Pelotas

Instituto de Biologia

Programa de Pós-Graduação em
Parasitologia

Laboratório de Parasitologia

Mestranda:

Aline Carvalho

Orientador (a):

Profª Drª Nara Amélia da Rosa Farias

e-mail: alinemcpesquisa@gmail.com

Fone: (53) 8121.9930

e-mail: nafarias@ufpel.tche.br

Fone: (53) 9125.9687

TOXOPLASMOSE

*Pode ser grave,
mas podemos prevenir!*



2013



Como podemos nos infectar?

Durante a gravidez, mãe passa para o feto;

Comendo ou provando carnes cruas ou mal passadas;

Comendo verduras e frutas sem lavar;

Tomando leite e água sem ferver;

Não lavando bem as mãos antes de comer.



Dicas para a prevenção

Fazer rigorosa higiene das mãos antes de preparar e comer alimentos;

Não ingerir carnes e embutidos crus, frutas e legumes mal lavados;

Não dar carnes e miúdos crus para animais domésticos;

Evitar colocar a mão na boca durante o contato com carne crua;

Lavar utensílios de cozinha que entram em contato com carne crua;

Usar luvas ao trabalhar em jardim ou mexer com fezes de gato;

Moscas e baratas devem ser controladas.



.....

O contato com os gatos como animais de estimação não representa riscos de adquirir toxoplasmose, desde que se dê destino adequado às sua fezes.



Toxoplasmose

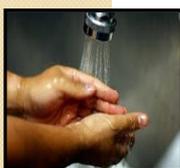
Pode ser grave, mas podemos prevenir

Como podemos nos infectar?

- Durante a gravidez, mãe passa para o feto
- Comendo ou provando carnes cruas ou mal-passadas
- Comendo verduras e frutas sem lavar
- Tomando leite e água sem ferver
- Não lavando bem as mãos antes de comer



Dicas para a prevenção:



- Acompanhamento médico antes e durante a gestação
- Evitar tomar remédios sem orientação de um médico
- Fazer rigorosa higiene das mãos antes de preparar e comer alimentos
- Não ingerir carnes e embutidos crus, frutas e legumes mal lavados
- Não dar carnes e miúdos crus para animais domésticos



Laboratório de Parasitologia –IB- UFPel
Mestranda :Aline Carvalho
Orientador(a): Profª Drª Nara Amélia da Rosa Farias



ANEXOS

ANEXO A

FACULDADE DE MEDICINA DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DE
PELOTAS

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux; 1909) e possível associação com hábitos alimentares em uma colônia de origem pomerana no Rio Grande do Sul.

Pesquisador: Aline Machado Carvalho

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 12541413.6.0000.5317

Instituição Proponente:

Patrocinador Principal: Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 244.037

Data da Relatoria: 29/01/2013

Apresentação do Projeto:

Esta pesquisa tem como prioridade conhecer os fatores de risco do local e possível associação com hábitos alimentares dos brasileiros de origem pomerana para toxoplasmose. Pelos costumes socioculturais e da própria colonização que ainda está preservada nesta região, pressupõe-se aumento da soroprevalência da população em estudo.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Conhecer a soroprevalência de *Toxoplasma gondii*, e sua relação com hábitos alimentares e socioculturais dos brasileiros de origem pomerana no 2º Distrito de São Lourenço do Sul, (Taquaral), na localidade de Santa Inês.

Objetivo Secundário:

Determinar a soroprevalência e a titulação de anticorpos do tipo IgG para *Toxoplasma gondii* na população estudada. Identificar possíveis associações de fatores epidemiológicos com a positividade para *Toxoplasma gondii* na população em estudo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Endereço: Rua Prof Araujo, 465 sala 301

Bairro: Centro

CEP: 96.020-360

UF: RS

Município: PELOTAS

Telefone: (53)3284-4960

Fax: (53)3221-3554

E-mail: cep.famed@gmail.com

ANEXO B

Normas para submissão de trabalhos da Revista Panamericana de infectologia

NORMAS DE PUBLICAÇÃO NA REVISTA PANAMERICANA DE INFECTOLOGIA

A Revista Panamericana de Infectología é o órgão oficial de divulgação da Asociación Panamericana de Infectología (API) e tem como principal objetivo estabelecer um elo de comunicação e integração entre os infectologistas das Américas. A publicação é trimestral e é distribuída em hospitais, clínicas, instituições de ensino e pesquisa. Nossos principais leitores são especialistas em doenças infecciosas e outros profissionais de áreas afins. O conteúdo da revista pode ser consultado via internet, no site www.revista-api.com. A publicação aceita trabalhos em português, espanhol ou inglês e abrange seções com editorial, artigos originais, artigos de revisão (atualização), notas prévias/cartas ao editor e relatos de casos. Além disso, a revista traz coberturas e informes sobre os principais eventos científicos relacionados à especialidade. Os artigos de revisão (atualização) serão solicitados a critério do Editor-Chefe. Os originais devem ser encaminhados para o Prof. Dr. Sérgio Cimerman, Editor-Chefe da Revista Panamericana de Infectología. O texto pode ser remetido eletronicamente para o endereço office.editora@uol.com.br, ou pelo correio, em três vias, para Office Editora e Publicidade Ltda., R. Gen. Eloy Alfaro, 239 - CEP 04139-060, Chácara Inglesa, São Paulo - SP - Brasil. Tel.: 55 - 11-5594.1770/5594.5455. Fax: 55 - Chácara Inglesa, São Paulo - SP - Brasil. Tel.: 55 - 11-5594.1770/5594.5455. Fax: 55 -11-275.6813.

O texto deve ser enviado em folhas formato A4, somente frente, com margem mínima de 25 mm, em espaço duplo e em letras corpo 12 e arial. As páginas devem ser numeradas consecutivamente. As versões escritas sempre devem vir acompanhadas de uma versão com suporte informatizado. Utilizar um processador de textos comum (Word ou Wordperfect). O disquete deve ser devidamente identificado, indicando-se o título do trabalho e o nome do principal autor. A extensão recomendada para os artigos originais e de revisão é de 12 páginas (A4). Será aceito um máximo de 30 referências bibliográficas e até 6 figuras e tabelas. As unidades de medida para qualquer seção devem basear-se no sistema internacional (SI). A extensão máxima recomendada para notas prévias/cartas ao editor e relatos de 58 casos é de 4 páginas (A4). Será aceito um máximo de 15 referências bibliográficas e até 2 figuras e/ou tabelas. Os trabalhos serão avaliados pelo Editor e por dois especialistas anônimos selecionados entre os membros do Comitê Editorial, entre os afiliados da Asociación Panamericana de Infectología e profissionais da área da saúde com respeitabilidade no tema designado. O Comitê Editorial tem a prerrogativa de rejeitar trabalhos que julgar inapropriados, assim como propor alterações que considerar necessárias.

A correspondência com os autores será realizada, sempre que possível, por correio eletrônico. Os manuscritos devem acompanhar a seguinte estrutura:

1. Carta de apresentação

Os trabalhos deverão ser precedidos de uma carta de apresentação dirigida ao Editor da Revista, contendo o título do trabalho, um parágrafo destacando a importância do artigo e a seção pretendida para a publicação. Os autores devem explicitar que o trabalho não tenha sido publicado anteriormente e nem que tenha sido enviado simultaneamente para outra revista. Além disso, deve-se indicar que todos os autores estão de acordo com o conteúdo do trabalho, que cedem os direitos de publicação para a Revista Panamericana de Infectología e que não há conflito de interesses.

2. Primeira página

A primeira página dos trabalhos deve conter obrigatoriamente os seguintes itens:

- Título do trabalho conciso, completo e explicativo sobre o assunto a que se refere no idioma original (português, espanhol ou inglês). E nos casos de artigos em inglês, enviar o título em português ou espanhol.
- Nome completo dos autores, sem abreviações. Os autores deverão indicar a forma pela qual desejam ser citados.
- Titulação acadêmica completa dos autores com o nome e endereço da instituição de trabalho a que o autor está filiado.
- Indicação da unidade/departamento da instituição onde o trabalho foi realizado.
- Nome, endereço, e-mail e número de telefone/fax do autor encarregado da correspondência.

3. Resumo e descritores

O resumo deve apresentar as seguintes características:

Deve ser enviado no idioma original (português, espanhol ou inglês). E nos casos de artigos em inglês, enviar o resumo em português ou espanhol. A extensão máxima é de 250 palavras para artigos originais e revisões, e de 100 palavras para notas prévias e relatos de casos. Deve ser informativo e não indicativo, explicando claramente os objetivos, os métodos, os resultados e as conclusões derivadas do estudo. Nos descritores deve-se incluir um mínimo de 3 e até um máximo de 10 palavras-chave, no idioma original e em inglês, empregadas no DeCS - Descritores em Ciências da Saúde, publicação da Bireme (Centro Latino-Americano e do Caribe de Informação em Ciências da Saúde) disponível em <http://decs.bvs.br> ou no Index Medicus (Medical Subject Headings) disponível em: <http://www.ncbi.nlm.gov/entrez/meshbrower.cgi>

4. Corpo do texto

O manuscrito deve ser dividido nas seguintes partes:

Introdução: Deve ser sucinta, contendo unicamente a informação necessária para compreender o trabalho que será apresentado. Não devem incluir dados nem conclusões. O último parágrafo deverá expor de forma clara os objetivos do trabalho.

Materiais (ou Pacientes) e Métodos: Deve explicar a metodologia utilizada e os critérios de seleção empregados; conter informes sobre a população estudada, dados sobre análises estatísticas e sobre os aspectos éticos do estudo.

Aspectos Éticos: Artigos sobre pesquisas com seres humanos devem apresentar a autorização prévia do Comitê de Ética da instituição em que o trabalho foi realizado, bem como mencionar ter sido obtido consentimento livre e esclarecido, por escrito, fornecido após o paciente, seus familiares ou seu representante legal (no caso de menores ou incapacitados) terem sido informados sobre os procedimentos ou estudos a serem realizados. Artigos sobre ensaios com modelos biológicos devem apresentar a aprovação dos protocolos obtidos. Os nomes comerciais dos medicamentos devem ser acompanhados do nome genérico correspondente, esclarecendo sempre as dosagens e as vias de administração.

Resultados: Devem expor exclusivamente a descrição e não a interpretação dos dados obtidos com a metodologia utilizada. Devem resumir as observações mais importantes, tomando-se o cuidado de não repetir as informações fornecidas por tabelas, figuras ou gráficos. Quando for necessário apresentar grandes volumes de dados, deve-se dar preferência a gráficos em vez de tabelas.

Discussão: Deve ressaltar as conclusões e os aspectos mais importantes do trabalho e evitar a repetição de informações. Destacar as inferências dos resultados, as deduções

efetuadas e também as limitações do estudo. Deve comparar os resultados com os obtidos por outros estudos e confrontar as observações finais com os objetivos propostos.

Agradecimentos: Devem ser limitados a indivíduos e instituições que efetivamente tenham contribuído para a realização do estudo.

Financiamentos: Informação detalhada sobre a fonte de financiamento. Se não houve fomento os autores devem declarar que não houve conflito de interesses

5. Material ilustrativo

Todo material utilizado para ilustrar o trabalho (tabelas, figuras ou fotografias) deve ser encaminhado em folhas à parte, no final do texto, utilizando-se uma página diferente para cada material apresentado.

Tabelas: Devem ser numeradas conforme a ordem de aparecimento no texto, utilizando números arábicos e devendo ser auto-explicativas. O título deve ser sucinto e informativo. As observações necessárias para esclarecer abreviações ou outros devem ser colocadas no pé da tabela. Para a formatação, utilizar os comandos de tabulação (tab) e nova linha (enter).

Figuras: Devem ser numeradas conforme a ordem de aparecimento no texto, em números arábicos. Todas as explicações devem ser apresentadas nas legendas. Os gráficos e figuras devem ser enviados em “power point”. No caso de figuras e fotografias, colar no verso de cada uma delas uma etiqueta adesiva identificando o nome do primeiro autor e uma seta indicando a margem superior. Fotografias digitais devem ser enviadas com boa definição (mínimo de 300 DPI). Quando necessário, utilizar sempre imagens produzidas por impressoras de alta resolução e em preto-e-branco.

6. Referências bibliográficas

As referências devem ser numeradas consecutivamente na ordem em que foram mencionadas no texto, devendo ser identificadas em números arábicos colocados como expoentes. Os nomes das publicações devem ser abreviados de acordo com a “List of Journals Indexed and Index Medicus”. Disponível em:

<http://www.ncbi.nlm.gov/entrez/jrbrowser.cgi>.

As citações sobre artigos originais deverão ser comprovadas e devem ser ordenadas segundo as normas de Vancouver (1997, edição revisada de outubro de 2001), disponível em: <http://www.icmje.org>. Quando houver 6 autores ou menos, todos deverão ser citados. Em caso de 7 ou mais autores, citar os 6 primeiros seguidos da expressão et al. Não deverão ser utilizados informes como “comunicações pessoais”. Trabalhos aceitos e ainda não publicados no momento da citação podem ser incluídos nas referências, especificando o nome da revista, seguido da expressão “no prelo” entre parênteses. A seguir, são fornecidos alguns exemplos dos principais tipos de referências utilizadas.

a) Artigo de periódico:

1. Bryan CS, Reynolds KL. Bacteremic nosocomial pneumonia. Analysis of 172 episodes from a single metropolitan area. *Am Rev Respir Dis* 1984;129:668-671.
2. Carratala J, Gudiol R, Pallares R, Dorca J, Verdaguer R, Ariza J, et al. Risk factors for nosocomial Legionella pneumophila pneumonia. *Am J Rev Respir Crit Care Med* 1994;149: 625-629.

b) Trabalho publicado por instituição ou corporação:

1. Ministerio de Sanidad y Consumo. Liga Española Para la Lucha Contra la

Hipertensión. Sociedad Española de Hipertensión. Control de la hipertensión arterial em España. Rev Esp Salud Pública 1996;70:139-210.

c) Volume com suplemento:

1. Vogel F. Sequential therapy in the hospital management of lower respiratory infections. Am J Med 1995;99 (Suppl 6B): 13S-19S.

d) Livros, teses e monografias:

1. Hawe P, Degeling D, Hall J. Evaluación en promoción de la salud. Guía para trabajadores de la salud. 1st ed. Barcelona: Masson; 1993.

2. World Health Organization. International drug monitoring the role of national centers. Technical Report Series Nº 498. Geneva: 1972.

3. Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly's access and utilization[dissertation]. St. Louis (MO): Washington Univ.; 1995.

4. Núñez L. Aspectos clínicos, hematológicos e inmunológicos en la Estrongyloidiasis Tesis. Universidad Central de Venezuela; 1993.

e) Capítulo de livro:

1. Rawlins MD, Thompson JW. Mechanisms of adverse drugs reactions. Em: Davies DM, editor. Textbook of Adverse Drug Reactions. 4th ed. Oxford: Oxford University Press;1991. p. 18-45.

f) Resumo de congresso:

1. Vettorello ML. A influência de fatores climáticos na incidência dos acidentes toxoscélicos no Município de Curitiba, no período de 1998 a 2001. XXXIX Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 008 TL. Belém, Brasil. 2003.

g) Artigo de fonte ou periódico eletrônicos:

1. The Counter Bioterrorism Research Agenda of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases for CDC Category A Agents. Washington, DC: National Institute of Allergy and Infectious Diseases; February 2002. Disponível em: [URL:http://www.nih.gov/dmid/pdf/bioresearchagenda.pdf](http://www.nih.gov/dmid/pdf/bioresearchagenda.pdf).

2. Carucci JA, McGovern TW, Norton ASA, Daniel CR, Elewski BE, Fallon-Friedlander S, et al. Cutaneous anthrax management algorithm. J Am Acad Dermatol 2001; Nov 21. Disponível:URL:http://www.harcourthealth.com/scripts/om.dll/serve?arttype=full&article=a121613.