

HEITOR DAGUER

**OCORRÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii*
(NICOLLE & MANCEAUX, 1909) EM BOVINOS E FUNCIONÁRIOS DE
MATADOUROS DA MICRORREGIÃO DE
PATO BRANCO, PARANÁ, BRASIL**

Dissertação apresentada como requisito parcial
à obtenção do grau de Mestre em Ciências ao
Curso de Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias, Setor de Ciências Agrárias,
Universidade Federal do Paraná.

Área de concentração: Patologia Veterinária

Orientador: Prof. Dr. Waldir Hamann

CURITIBA

2003

Daguer, Heitor

Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil / Heitor Daguer. – Curitiba, 2003.

xiv, 75 f.

Dissertação (Mestrado) – Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

1. Toxoplasmose. 2. Bovinos. I. Título.

CDD 636.2

CDU 636.2



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação do Candidato ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária **HEITOR DAGUER** após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Tese, intitulada “**Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909) em bovinos e funcionários de matadouros da micro região de Pato Branco, Paraná, Brasil**” foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) O Candidato se houve muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pelo Candidato, atribuiu o conceito "A" concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária.

Curitiba, 21 de março de 2003.

Prof. Dr. WALDIR HAMANN
Presidente/Orientador

Profa. Dra. MARIA REGINA REIS AMENDOEIRA
Membro

Profa. Dra. LYS MARY BILESKI CANDIDO
Membro

AGRADECIMENTOS

Este trabalho não poderia ter se concretizado sem as seguintes pessoas:

- Minha esposa **DANIELLE PELAJO DAGUER**, pela paciência nas horas em que estive ausente e pelo constante apoio e incentivo;
- Meus pais, **PEDRO JORGE DAGUER** e **REGINA MARIA DAGUER**, por tudo o que ainda fazem por mim;
- Dra. **MARIA REGINA REIS AMENDOEIRA**, pela acolhida no Laboratório de Toxoplasmose da FIOCRUZ, pela orientação e pelo auxílio;
- Prof. Dr. **WALDIR HAMANN**, pela oportunidade de ingressar no Mestrado em Ciências Veterinárias da UFPR e pela orientação neste trabalho;
- As técnicas **REGIANE TRIGUEIRO VICENTE** e **TATIANA DA COSTA**, do Laboratório de Toxoplasmose, e toda a equipe da Dra. Regina, pelo incansável préstimo a esta pesquisa;
- Meus chefes, médicos veterinários, **JUHIL MARTINS DE OLIVEIRA** (SEAB – Núcleo Regional de Pato Branco), **MARCO ANTONIO TEIXEIRA PINTO** (SEAB – SIP/POA) e **IBERÊ MARCONDES BAPTISTA** (Escritório Regional do Ministério da Agricultura em Palmas) pelas dispensas de serviço quando necessitei para dedicar-me ao Mestrado;
- Prof. Dr. **LUIZ ERNANDES KOZICKI**, em nome do colegiado do curso de Mestrado em Ciências Veterinárias da UFPR;
- Profa. Dra. **ROBERTA LEMOS FREIRE** e Prof. Dr. **ITALMAR TEODORICO NAVARRO**, do Laboratório de Protozoologia da UEL, pelo constante apoio, auxílio e informações prestadas e sobretudo pelo conjugado para a RIFI e pelos soros-controle positivos e negativos;
- **ROSANA ALVES MARTORELLI**, médica veterinária e doutoranda da FIOCRUZ, pela amizade e inesgotável ajuda;
- O farmacêutico-bioquímico **PAULO VIRMOND** e seu filho, médico veterinário, **MAURÍCIO PAULO VIRMOND**, do Centro de Diagnóstico Virmond, pelo auxílio na coleta de amostras dos funcionários dos matadouros;

- Os proprietários e funcionários dos abatedouros de bovinos da região de Pato Branco, pelo acesso e contribuição no material desta pesquisa;
- Meus amigos professores da UFPR, *Campus* Palotina: **CYBELLE DE SOUZA**, **LUCIANO DOS SANTOS BERSOT** e **VINÍCIUS CUNHA BARCELLOS**, pelas sugestões, amizade e incentivo;
- Meus amigos **PEDRO VALDIR GENIZ**, **LEOMAR ROQUE FERRAZ** e **MAURICI FERRAZ**, auxiliares de inspeção do SIF 3094 (Palmas), pelos momentos de descontração durante o período de tensão do estudo;
- **WANDERLEI MARGOTTI KARAM**, zootecnista, colega de turma, pela companhia em Curitiba e pelo auxílio prestado;
- **VICTOR EMMANUEL STAHLSCHMIDT DOS REIS**, da Palmali Industrial de Alimentos Ltda., pela confecção dos gráficos deste trabalho;
- Prof. Dr. **CARLOS HENRIQUE KLEIN**, do Departamento de Epidemiologia e Métodos Quantitativos em Saúde da Escola Nacional de Saúde Pública/FIOCRUZ, pelo apoio nos cálculos estatísticos deste trabalho.

A TODOS VOCÊS AGRADEÇO E DEDICO ESTE TRABALHO.

BIOGRAFIA DO AUTOR

HEITOR DAGUER, filho de Pedro Jorge Daguer e Regina Maria Daguer, nasceu no Rio de Janeiro, RJ, aos 14 de agosto de 1973. É casado com a bióloga Danielle Pelajo Daguer.

Cursou o ensino de primeiro e segundo graus no Rio de Janeiro e em 1997 recebeu o grau de Médico Veterinário, conferido pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

De 1998 a 2001, após aprovação e classificação em concurso público, trabalhou para a Secretaria de Estado da Agricultura e Abastecimento do Paraná (SEAB), no Serviço de Inspeção do Paraná/Produtos de Origem Animal (SIP/POA), lotado no Núcleo Regional de Pato Branco, PR. Em 1999 lecionou, como Professor Substituto, a disciplina de "Tecnologia dos Produtos de Origem Animal" no *campus* Palotina da Universidade Federal do Paraná. Em 2000, foi convidado a lecionar a disciplina de "Doenças dos Suínos", na mesma instituição. Em 2002 ingressou, por meio de concurso público, no quadro efetivo de Fiscais Federais Agropecuários do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, passando a atuar no Serviço de Inspeção Federal (SIF), estando lotado na cidade de Palmas, PR, junto ao matadouro-frigorífico de suínos Palmali Industrial de Alimentos Ltda. (SIF 3094).

Em março de 2001 iniciou o Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de concentração em Patologia Veterinária, no Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE GRÁFICOS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE QUADROS.....	xi
LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS.....	xii
RESUMO.....	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1 HISTÓRICO.....	5
2.2 SISTEMÁTICA.....	5
2.3 MORFOLOGIA E BIOLOGIA.....	6
2.3.1 Morfologia.....	7
2.3.1.1 Taquizoítas (sinônimos: merozoítas; trofozoítas; endozoítas).....	7
2.3.1.2 Bradizoítas (sinônimo: cistozoíta).....	7
2.3.1.3 Esporozoítas.....	8
2.3.2 Ciclo biológico.....	9
2.3.2.1 Ciclo sexuado, entérico ou entero-epitelial.....	9
2.3.2.2 Ciclo assexuado, exoentérico ou extra-intestinal.....	10
2.4 MECANISMOS DE TRANSMISSÃO DA TOXOPLASMOSE.....	11
2.4.1 Transmissão horizontal.....	11
2.4.1.1 Ingestão de oocistos.....	11
2.4.1.2 Ingestão de cistos teciduais.....	12
2.4.1.3 Ingestão de leite cru.....	13
2.4.2 Transmissão vertical.....	13
2.4.3 Outros mecanismos de transmissão.....	14
2.5 PATOGENIA.....	14
2.6 TOXOPLASMOSE HUMANA.....	15
2.6.1 Toxoplasmose congênita.....	15
2.6.2 Toxoplasmose adquirida.....	16
2.6.3 Toxoplasmose em imunocomprometidos.....	17
2.7 TOXOPLASMOSE BOVINA.....	17
2.8 DIAGNÓSTICO.....	20
2.8.1 Diagnóstico sorológico.....	21
2.8.1.1 <i>Dye-test</i> (teste do corante ou reação de Sabin-Feldman).....	22
2.8.1.2 Reação de imunofluorescência indireta.....	22
2.8.1.3 <i>Enzyme linked immunosorbent assay</i> (ELISA).....	22
2.8.1.4 Fixação do complemento.....	23
2.8.1.5 Teste da hemaglutinação indireta (HAI).....	23
2.8.2 Diagnóstico histológico.....	23
2.8.3 Bioensaio.....	24
2.8.4 Reação em cadeia da polimerase.....	24
2.8.5 Diagnóstico clínico.....	24
2.9 TRATAMENTO.....	25
2.10 CONTROLE E PREVENÇÃO.....	25

3 MATERIAL E MÉTODOS	27
3.1 ÁREA ESTUDADA.....	27
3.1.1 Matadouros de bovinos.....	29
3.2 POPULAÇÕES ESTUDADAS.....	31
3.2.1 População bovina.....	31
3.2.2 População humana.....	33
3.3 MÉTODOS LABORATORIAIS.....	33
3.3.1 Pesquisa de anticorpos da classe IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i> por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em soros de bovinos.....	34
3.3.1.1 Preparo do antígeno.....	34
3.3.1.2 Procedimento técnico.....	34
3.3.2 Pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> da classe IgG através da técnica “ <i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (ELISA)” em soros de humanos.....	35
3.3.2.1 Preparo do antígeno.....	35
3.3.2.2 Procedimento técnico.....	36
3.3.3 Pesquisa de anticorpos anti- <i>T. gondii</i> da classe IgG através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em soros de humanos.....	37
3.3.3.1 Preparo do antígeno.....	37
3.3.3.2 Procedimento técnico.....	37
3.3.4 Dosagem de proteínas pelo método de Lowry.....	38
3.4 MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	39
3.4.1 População bovina.....	39
3.4.2 População humana.....	39
4 RESULTADOS	41
4.1 SOROLOGIA DOS BOVINOS.....	41
4.2 SOROLOGIA HUMANA.....	44
5 DISCUSSÃO	50
6 CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	62
ANEXOS	71

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS DOS MUNICÍPIOS DE LOCALIZAÇÃO DOS MATADOUROS DE BOVINOS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL.....	27
TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS BOVINOS EXAMINADOS POR MUNICÍPIO DE PROCEDÊNCIA.....	32
TABELA 3 – QUANTIDADE DE ANIMAIS EXAMINADOS POR MATADOURO.....	32
TABELA 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS POR IDADE ESTIMADA.....	32
TABELA 5 – RESULTADOS SOROLÓGICOS (RIFI-IgG) PARA TOXOPLASMOSE EM BOVINOS ABATIDOS NOS MATADOUROS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, DE ACORDO COM O SEXO.....	42
TABELA 6 – DISTRIBUIÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS (RIFI-IgG) DOS BOVINOS PROVENIENTES DE ABATEDOUROS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, DE ACORDO COM A IDADE DOS ANIMAIS.....	42
TABELA 7 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI- <i>T. gondii</i> DA CLASSE IgG OBSERVADOS NOS BOVINOS POR MEIO DA RIFI, SEGUNDO A IDADE ESTIMADA.....	43
TABELA 8 – DISTRIBUIÇÃO DA RESPOSTA SOROLÓGICA DOS BOVINOS ABATIDOS NOS MATADOUROS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, POR MICRORREGIÃO DE PROCEDÊNCIA.....	44
TABELA 9 – RESULTADOS SOROLÓGICOS PARA ANTICORPOS ANTI- <i>T. gondii</i> DA CLASSE IgG NOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, POR MEIO DAS TÉCNICAS DE ELISA E RIFI.....	45
TABELA 10 – SOROPREVALÊNCIAS (RIFI E ELISA) PARA TOXOPLASMOSE DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, DISTRIBUÍDAS POR ESTABELECIMENTO.....	45

TABELA 11 – DISTRIBUIÇÃO, POR SEXO, DOS SOROS DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI- <i>T. gondii</i> DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI	47
TABELA 12 – DISTRIBUIÇÃO, POR FAIXA ETÁRIA, DOS SOROS DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI- <i>T. gondii</i> DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI.....	47
TABELA 13 – DISTRIBUIÇÃO DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI- <i>T. gondii</i> DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI DE ACORDO COM O TEMPO DE SERVIÇO.....	48
TABELA 14 – DISTRIBUIÇÃO DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI- <i>T. gondii</i> DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI DE ACORDO COM CONTATO COM GATOS.....	48
TABELA 15 - DISTRIBUIÇÃO DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI- <i>T. gondii</i> DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI DE ACORDO COM HÁBITO DE INGERIR CARNE CRUA OU MAL COZIDA.....	49

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – PERCENTUAL DE BOVINOS REAGENTES E NÃO REAGENTES NA REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA PESQUISA DE ANTICORPOS IgG ANTI- <i>T. gondii</i>	41
GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS IgG ESPECÍFICOS PARA <i>T. gondii</i> ENCONTRADOS NOS BOVINOS SOROPOSITIVOS PELA REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA.....	43
GRÁFICO 3 – RESULTADOS SOROLÓGICOS DOS FUNCIONÁRIOS DE MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO PARA ANTICORPOS IgG ANTI- <i>T. gondii</i> POR MEIO DAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI.....	46
GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS ENCONTRADOS NA RIFI DOS FUNCIONÁRIOS SORO-REAGENTES.....	46

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – CICLO BIOLÓGICO E MECANISMOS DE TRANSMISSÃO DO <i>Toxoplasma gondii</i>	11
FIGURA 2 – MAPA DO ESTADO DO PARANÁ E SUAS MICRORREGIÕES ADMINISTRATIVAS.....	28
FIGURA 3 – MAPA DA REGIÃO SUDOESTE DO ESTADO DO PARANÁ.....	28
FIGURA 4 – SALA DE MATANÇA DE MATADOURO DE BOVINOS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL NO MUNICÍPIO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL.....	30
FIGURA 5 – OPERAÇÃO DE EVISCERAÇÃO DE BOVINO EM MATADOURO SOB INSPEÇÃO ESTADUAL NO MUNICÍPIO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL.....	30

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – QUANTIDADE DE BOVINOS ABATIDOS PELOS ESTABELECIMENTOS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, NOS ANOS DE 1999 A 2001.....	29
QUADRO 2 – DOSAGEM DE PROTEÍNAS DO ANTÍGENO PELO MÉTODO DE LOWRY.....	38
QUADRO 3 – CRITÉRIOS DE CONCORDÂNCIA PARA O ÍNDICE DE CONCORDÂNCIA AJUSTADA “KAPPA”.....	39
QUADRO 4 – CÁLCULO DA CO-POSITIVIDADE E DA CO-NEGATIVIDADE ENTRE AS TÉCNICAS SOROLÓGICAS DE RIFI E ELISA UTILIZADAS PARA EXAME DOS SOROS DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL.....	40

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C	⇒	grau centígrado
°	⇒	grau
'	⇒	minuto
"	⇒	segundo
α	⇒	nível de confiança
χ^2	⇒	qui-quadrado
κ	⇒	<i>kappa</i>
μg	⇒	micrograma
μL	⇒	microlitro
μm	⇒	micrômetro
AIDS	⇒	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
BSA	⇒	albumina sérica bovina
DNA	⇒	ácido desoxirribonucléico
ELISA	⇒	<i>enzyme linked immunosorbent assay</i> (imunoensaio enzimático)
EUA	⇒	Estados Unidos da América
g	⇒	grama
HAI	⇒	método de hemaglutinação indireta
HIV	⇒	vírus da Imunodeficiência Humana
IgA	⇒	imunoglobulina A
IgG	⇒	imunoglobulina G
IgM	⇒	imunoglobulina M
km	⇒	quilômetro
LAT	⇒	teste da aglutinação em látex
M	⇒	molar
m	⇒	metro
MAT	⇒	teste da aglutinação modificada
mL	⇒	mililitro
mm	⇒	milímetro
n	⇒	número
N	⇒	normal
nm	⇒	nanômetro
ng	⇒	nanograma
OPD	⇒	ortofenilenodiamino
P	⇒	probabilidade
PBS	⇒	tampão fosfato
PBS-T	⇒	tampão fosfato Tween
PCR	⇒	reação em cadeia da polimerase
pH	⇒	potencial hidrogeniônico
PR	⇒	Paraná
q.s.p.	⇒	quantidade suficiente para
®	⇒	marca registrada
RSF	⇒	reação de Sabin-Feldman
RIFI	⇒	reação de imunofluorescência indireta
SEAB	⇒	Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento
SIP/POA	⇒	Serviço de Inspeção do Paraná/Produtos de Origem Animal
<i>T. gondii</i>	⇒	<i>Toxoplasma gondii</i>
UFPR	⇒	Universidade Federal do Paraná

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial e pode manifestar-se como infecção ou doença nas diversas espécies animais de sangue quente, incluindo o homem. As principais vias de transmissão são a ingestão de cistos do parasita, através da ingestão ou manipulação de carne infectada crua ou mal cozida e a ingestão de oocistos esporulados, formas de resistência do parasita que, eliminados por felídeos no meio-ambiente, contaminam água, solo e alimentos. Embora os bovinos sejam considerados resistentes à toxoplasmose, os dados disponíveis atualmente são discrepantes. Com o objetivo de avaliar a participação da carne bovina na epidemiologia da toxoplasmose, foram coletadas amostras de soro de 348 bovinos e de 64 funcionários de quatro matadouros da microrregião de Pato Branco, estado do Paraná, Brasil. Os bovinos foram avaliados pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e apresentaram soropositividade (IgG) em 41,4% das amostras examinadas. O título mais freqüentemente encontrado foi o de 1:64 (92,4%). Nenhum animal apresentou título superior a 1:1024. Não foram encontradas diferenças significativas em relação ao sexo, idade e procedência dos animais. Os soros humanos, avaliados pelos testes de RIFI e de ELISA (imunoensaio enzimático) para IgG, apresentaram 67,2% e 84,4% de positividade, respectivamente. Não foram encontradas diferenças significativas com relação às variáveis idade, sexo, tempo de serviço no abatedouro, contato com gatos e hábito de ingerir carne crua ou mal cozida. As altas prevalências encontradas sugerem que a ingestão e a manipulação da carne bovina podem desempenhar papel significativo na manutenção da toxoplasmose na região.

PALAVRAS-CHAVE: *toxoplasmose; bovinos; matadouros; sorologia.*

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a worldwide-distributed zoonosis and it can appear as infection or disease in all warm-blooded animals, including man. The main routes of transmission are the ingestion of the parasite's cysts, through the ingestion or manipulation of undercooked or raw infected meat and the ingestion of sporulated oocysts eliminated by *Felidae*, contaminating soil, water and food. Although cattle are supposed to be resistant, available data regarding cattle toxoplasmosis shows discrepancy. With the aim to determinate the participation of bovine meat in the epidemiology of toxoplasmosis, 348 serum samples were collected from cattle and 64 serum samples from slaughterhouse workers at four plants in the region of Pato Branco, state of Paraná, southern Brazil. Cattle sera were examined by the indirect fluorescent antibody test (IFAT), showing an IgG-seropositivity of 41,4%. Most frequently titer found was 1:64 (92,4%). Maximum titer found was 1:1024. There was no significant difference due to sex, age and origin of positive sera. Human sera were tested by the IFAT and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), showing 67,2% and 84,4% of IgG-seropositivity, respectively. No significant difference was observed between prevalences and age, sex, duration of employment at slaughterhouse, contact with cats and eating raw or undercooked meat. High prevalences found indicate bovine meat as a possible source of toxoplasmosis in the region.

KEY WORDS: *toxoplasmosis; cattle; slaughterhouses; serology.*

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial que acomete o homem e outros animais de sangue quente (mamíferos e aves), tanto de produção quanto de estimação, domésticos e silvestres. O agente etiológico, o protozoário *Toxoplasma gondii*, é a única espécie existente no gênero, sendo um parasita intracelular obrigatório que pode assumir morfologia múltipla em seu ciclo biológico, dependendo do habitat e do estágio evolutivo (REY, 1991).

Os felídeos, principalmente os gatos, desempenham papel fundamental na transmissão do *T. gondii* para o homem e outros animais, pois são os únicos hospedeiros que eliminam oocistos do parasita resistentes às condições ambientais, formas estas resultantes da fase sexuada do ciclo, que é limitada ao epitélio intestinal desses animais (MILLER *et al.*, 1972; DUBEY, 1995a). As condições climáticas são fundamentais para a esporulação dos oocistos eliminados no meio-ambiente e, conseqüentemente, na propagação da toxoplasmose, por meio da contaminação de água e alimentos por estes oocistos (ROGER *et al.*, 1991; AMENDOEIRA *et al.*, 1999). O convívio do homem próximo a felinos, a possibilidade de eliminação de oocistos por esses animais, a preservação desses oocistos por longos períodos no solo e a contaminação de produtos hortifrutigranjeiros justificam a ocorrência de altas prevalências em humanos (CHAPLIN *et al.*, 1984).

Os demais animais não podem manter senão as fases assexuadas do ciclo e, portanto, desempenham o papel de hospedeiros intermediários, transmitindo a infecção apenas quando sua carne serve para alimentação ou por via congênita (REY, 1991). Como o homem também pode se infectar através dos animais produtores de carne, é importante, do ponto de vista médico e de saúde pública, que se elucidem as rotas de transmissão e os potenciais reservatórios da infecção (ARIAS *et al.*, 1994b). Formas viáveis de *T. gondii* têm sido isoladas de grande variedade de carnes e estudos sorológicos têm evidenciado ampla distribuição da infecção entre os animais produtores de carne (WARNEKULASURIYA *et al.*, 1998).

Em termos de morbidade e mortalidade, o *T. gondii*, junto com as bactérias *Listeria* sp. e *Salmonella* sp., são os três patógenos mais importantes transmitidos por alimentos nos Estados Unidos da América (EUA) e Europa (SLIFKO *et al.*, 2000).

Além da transmissão da toxoplasmose pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos, há a possibilidade de infecção quando se manuseia de forma contínua produtos de origem animal, como, por exemplo, ao se preparar carne para refeições e magarefes ao executar suas tarefas em abatedouros (AMENDOEIRA, 1995).

A toxoplasmose pode se manifestar como infecção ou doença em seus diversos hospedeiros. Na maioria dos casos, o hospedeiro sobrevive e produz anticorpos, limitando o poder de invasão do parasita e tornando a infecção crônica e geralmente imperceptível, com cistos persistentes (MILLER *et al.*, 1972; TENTER *et al.*, 2000). No entanto, a toxoplasmose tem sido uma constante preocupação em função da gravidade das lesões que pode determinar nas primoinfecções de mulheres gestantes, levando ao retardo mental e perda da visão nas crianças infectadas congenitamente (PEIXOTO & LOPES, 1995; DUBEY, 1996; SPALDING, 2000).

Outra situação alarmante é a grande capacidade do parasita se multiplicar em pacientes imunocomprometidos, aparecendo como infecção oportunista grave. Nesses indivíduos, principalmente nos que sofrem de câncer ou de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), a reativação da infecção latente pode resultar em cegueira, encefalite e, não raramente, morte (GAMBLE, 1997; GAJADHAR *et al.*, 1998; LIESENFELD, 2002).

Aproximadamente 30% da população humana adulta dos EUA e do Reino Unido possuem anticorpos para o parasita e a prevalência é ainda maior em outras partes da Europa e das Américas Central e do Sul (DUBEY, 1996). As soroprevalências variam de 51% a 80% em países da América Latina, como Argentina, Brasil, Cuba, Jamaica e Venezuela e, também, na parte oriental da África. As prevalências são mais baixas em países de clima frio, como os da Escandinávia, onde variam de 11% a 28% (TENTER *et al.*, 2000). Já segundo ROBERTS *et al.* (1994), as soroprevalências variam de 15% a 68% nos EUA; de 40% a 70% na

Alemanha; 80% na França; 1% a 60% na Indonésia; 9,8% em Hong Kong e 15% a 60% na África.

Pode-se inferir que a distribuição da toxoplasmose é universal, em todos os continentes e sob todos os climas. Mas, por falta de inquéritos epidemiológicos, sua prevalência ainda não é suficientemente bem conhecida (REY, 1991). Variações podem ocorrer em função de diferenças epidemiológicas entre as diversas espécies animais e também pela forma de preparo da carne para consumo nos diversos países (BARIL *et al.*, 1999).

Não se pode determinar, com base nas informações disponíveis atualmente, qual a principal via de infecção para humanos; se é a exposição aos oocistos eliminados no ambiente ou a ingestão de cistos teciduais na carne infectada crua ou mal cozida. No entanto, assume-se que a infecção crônica dos animais produtores de carne, detectável muitas vezes apenas através de sua resposta sorológica, constitui papel fundamental na manutenção da toxoplasmose entre os carnívoros, incluindo o homem e os felinos (MILLER *et al.*, 1972; ARIAS *et al.*, 1994b; GAMBLE, 1997).

Apesar dos bovinos constarem entre os hospedeiros mais resistentes ao *T. gondii*, o papel da carne bovina na transmissão da toxoplasmose permanece obscuro e pesquisas se fazem necessárias à determinação de animais infectados dentre os bovinos abatidos (DUBEY, 1992; DUBEY & THULLIEZ, 1993; ARIAS *et al.*, 1994a; HORIO *et al.*, 2001).

Com base no exposto, o presente trabalho teve como **objetivo geral**:

- Contribuir para o estudo da cadeia epidemiológica da toxoplasmose na microrregião de Pato Branco, Paraná.

Os **objetivos específicos** foram:

- Estimar, por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), a frequência de soro-reagentes em bovinos abatidos para consumo humano em matadouros sob inspeção estadual da microrregião de Pato Branco;

- Avaliar a resposta sorológica dos bovinos com relação as variáveis: sexo, idade e procedência;
- Estimar, por meio das duas técnicas mais utilizadas para o diagnóstico da toxoplasmose humana (RIFI e ELISA - imunoenensaio enzimático -) a frequência de soro-reagentes em funcionários desses matadouros, que manipulam diretamente carcaças e vísceras dos bovinos abatidos;
- Correlacionar os resultados obtidos nos funcionários dos matadouros pelo emprego das duas técnicas sorológicas;
- Avaliar a distribuição dos funcionários soro-reagentes por estabelecimento de trabalho;
- Correlacionar as variáveis: sexo, idade, tempo de serviço no matadouro, contato com gatos e hábito de ingerir carne bovina crua ou mal cozida com os resultados sorológicos obtidos nos seres humanos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

As primeiras descrições dos organismos do gênero *Toxoplasma* ocorreram quase que concomitantemente em 1908, quando, no Brasil, Splendore observou que os mesmos provocavam a morte de coelhos em seu laboratório e, na Tunísia, Nicolle & Manceaux evidenciaram a ação do parasita no roedor norte-africano *Ctenodactylus gondi* (PESSOA & MARTINS, 1988; REY, 1991).

Em 1909, Nicolle & Manceaux, que até então acreditavam pertencer o agente ao gênero *Leishmania*, renomearam o parasita, criando o gênero *Toxoplasma* (do grego *toxon* = arco; *plasma* = forma), com a espécie *gondii*. Essa denominação valeu-se da forma alongada, encurvada em arco ou crescente do parasita na sua fase multiplicativa no interior de macrófagos (REY, 1991). A partir daquela data, organismos semelhantes descritos em várias espécies animais foram classificados como espécies do gênero *Toxoplasma*, de acordo com o hospedeiro infectado.

Em 1939, SABIN, baseado no estudo das semelhanças biológicas e imunológicas das espécies de *Toxoplasma* até então descritas, concluiu que havia uma única espécie do protozoário, mantendo a denominação originalmente proposta: *Toxoplasma gondii*.

2.2 SISTEMÁTICA

A classificação vigente, proposta pelo Comitê de Sistemática e Evolução da Sociedade de Protozoologia (LEVINE *et al.*, 1980), identifica o *T. gondii*, parasita unicelular eucariota, da seguinte forma:

- REINO: *Protista* Whittaker, 1977
- SUB-REINO: *Protozoa* Goldfuss, 1817

- FILO: *Apicomplexa* Levine, 1970
- CLASSE: *Sporozoea* Leuckart, 1879
- SUB-CLASSE: *Coccidia* Leuckart, 1879
- ORDEM: *Eucoccididia* Léger & Duboscq, 1910
- SUB-ORDEM: *Eimeriina* Léger, 1911
- FAMÍLIA: *Sarcocystidae* Poche, 1913
- SUB-FAMÍLIA: *Toxoplasmatinae* Biocca, 1959
- GÊNERO: *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909

Apesar de *T. gondii* ser a única espécie conhecida do gênero *Toxoplasma*, diferenças na virulência de amostras têm sido relatadas em vários estudos, através da sua inoculação em animais de laboratório (DENKERS, 1999).

Estudos epidemiológicos em nível molecular evidenciaram pelo menos duas linhagens clonais de *T. gondii*, uma compreendendo cepas virulentas para camundongos e outra que corresponderia a cepas avirulentas para camundongos (DENKERS, 1999; TENTER *et al.*, 2000). No entanto, não existe, até o momento, uma classificação imunológica ou molecular para as várias amostras de *T. gondii* (MITSUKA *et al.*, 1998).

2.3 MORFOLOGIA E BIOLOGIA

O *T. gondii* é um coccídio formador de cistos teciduais, de ciclo biológico facultativamente heteroxeno, capaz de infectar provavelmente todos os animais de sangue quente, tanto mamíferos quanto aves (DUBEY, 1994; TENTER *et al.*, 2000).

Seu ciclo de vida pode ser dividido em duas fases distintas. A primeira, sexuada, ocorre nas células do epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos não imunes (felídeos domésticos e silvestres). É nessa fase que o protozoário é eliminado no meio-ambiente, contaminando água, solo e alimentos. A segunda, assexuada, ocorre nos tecidos de diversas espécies animais (hospedeiros intermediários), inclusive dos próprios felídeos, que são os únicos hospedeiros que podem desenvolver as duas fases do ciclo (DUBEY, 1994).

2.3.1 Morfologia

Durante o ciclo biológico, o parasita se apresenta em três estádios infectantes distintos: taquizoítas, bradizoítas e esporozoítas.

2.3.1.1 Taquizoítas (sinônimos: merozoítas; trofozoítas; endozoítas)

São formas de multiplicação rápida assexuada, por endodiogenia, dentro de vacúolos intracitoplasmáticos, em hospedeiros com infecção aguda. Esses organismos são altamente invasivos e se desenvolvem em quase todas as células, tecidos, secreções, excreções e líquidos orgânicos de mamíferos e aves (DUBEY & BEATTIE, 1988).

Apresentam-se com a forma grosseira de uma banana ou meia-lua, com uma das extremidades mais afilada e a outra arredondada, medindo de 4-9 μ m x 2-4 μ m. O núcleo é central e esférico (KAWAZOE, 1997).

2.3.1.2 Bradizoítas (sinônimo: cistozoítas)

São formas de multiplicação lenta assexuada, contidas em cistos teciduais nos hospedeiros com imunidade, na forma crônica da infecção. Esses cistos encontram-se em diversos tecidos e dentro deles podem existir de centenas a milhares de bradizoítas que vão se multiplicando lentamente, também por endodiogenia. Os principais tecidos acometidos são: muscular (cardíaco e esquelético), nervoso e retina. Os cistos são microscópicos, medindo de 10 μ m a 100 μ m e sua forma pode ser arredondada ou alongada. Nos bradizoítas, o núcleo se apresenta deslocado para um dos pólos (REY, 1991; DUBEY, 1994).

A parede dos cistos é resistente e elástica, isolando os bradizoítas dos mecanismos imunológicos do hospedeiro e mantendo-os viáveis por período indeterminado (DUBEY, 1994; KAWAZOE, 1997). A resistência à ação péptica e trípica permite a sua transmissão por via oral (PESSOA & MARTINS, 1988).

2.3.1.3 Esporozoítas

Os esporozoítas são o resultado final do ciclo sexuado do parasita, que ocorre no intestino dos hospedeiros definitivos (felídeos não imunes). Formam-se no interior dos oocistos excretados com as fezes desses animais, contaminando solo, água e alimentos. O oocisto recém eliminado é imaturo, não esporulado e não infectante. A esporulação ocorre no meio-ambiente, em um a cinco dias após a eliminação, quando os oocistos se tornam infectantes aos hospedeiros intermediários (FRENKEL *et al.*, 1970).

Os oocistos são esféricos, medem cerca de $12,5\mu\text{m} \times 11\mu\text{m}$ e constituem o estágio-chave na epidemiologia da toxoplasmose. São altamente resistentes às influências ambientais e são infecciosos para todos os animais de sangue quente (carnívoros ou não), incluindo o homem (FRENKEL *et al.*, 1970; MILLER *et al.*, 1972; SPEER *et al.*, 1998).

Contrários aos taquizoítas e cistos de toxoplasma, os oocistos são resistentes aos desinfetantes comuns. No entanto, temperaturas acima de 66°C destroem os oocistos efetivamente após algum tempo (MILLER *et al.*, 1972).

Taquizoítas, bradizoítas e esporozoítas de *T. gondii* são semelhantes ultraestruturalmente, mas diferem em termos de certas organelas e corpos de inclusão. Taquizoítas possuem alguns micronemas; esporozoítas possuem um número intermediário dessas estruturas e bradizoítas possuem muitas delas. Grânulos densos são numerosos em esporozoítas e taquizoítas, mas escassos em bradizoítas. Grânulos de amilopectina são numerosos e relativamente grandes em esporozoítas e bradizoítas, mas escassos e pequenos ou mesmo ausentes em taquizoítas. Corpos lipídicos são maiores em esporozoítas do que em taquizoítas e ausentes em bradizoítas. Todos os três zoítas possuem número similar de róprias (SPEER *et al.*, 1998). Acredita-se que o conteúdo das róprias e dos micronemas seja secretado durante a penetração na célula hospedeira, facilitando o processo pela ação de suas enzimas proteolíticas (PESSOA & MARTINS, 1988).

2.3.2 Ciclo Biológico

2.3.2.1 Ciclo sexuado, entérico ou entero-epitelial

A fase sexuada do ciclo biológico do toxoplasma tem ocorrência limitada nos gatos domésticos e em alguns outros felídeos (MILLER *et al.*, 1972). Apesar dos gatos poderem se infectar transplacentariamente ou pela ingestão de oocistos esporulados, geralmente esses animais se infectam através da ingestão de cistos teciduais, no ato de caçarem pequenos animais (aves e roedores) ou ao serem alimentados com carne crua ou mal cozida (DUBEY *et al.*, 1995b; DUBEY *et al.*, 1999).

No trato gastro-intestinal dos felídeos, os bradizoítas são liberados pela digestão, penetram no epitélio intestinal e, inicialmente, multiplicam-se assexuadamente por endodiogenia, gerando diversos esquizontes (ou merontes). Essa fase é conhecida como esquizogônica (ou merogônica) e ocorre no intestino delgado.

A seguir, inicia-se a fase sexuada propriamente dita: os merontes se rompem e liberam os merozoítas, que penetram em novas células epiteliais e se transformam em formas sexuadas. Esse processo é conhecido por gametogonia e gera os gametas masculinos – microgametas – móveis, com dois flagelos e os gametas femininos – macrogametas –, imóveis. Os macrogametas permanecem dentro do epitélio, enquanto os microgametas saem de suas células para fecundarem os macrogametas, formando o ovo ou zigoto. Este evolui dentro do epitélio, formando uma parede externa dupla, dando origem ao oocisto. Em alguns dias, a célula epitelial se rompe e libera o oocisto imaturo, que é eliminado com as fezes no meio externo (KAWAZOE, 1997).

Depois da defecação, ocorre a esporogonia, que resulta no desenvolvimento do oocisto infectante. Dentro do oocisto, formam-se dois esporocistos com quatro esporozoítas cada, em um a cinco dias, dependendo das condições ambientais (DUBEY, 1994; DENKERS, 1999; TENTER *et al.*, 2000).

Os gatos somente eliminam grandes números de oocistos após infecção primária (primo-infecção) com o *T. gondii* e geralmente a eliminação dura de uma a

duas semanas (DUBEY, 1994; TENTER *et al.*, 2000). Em um único dia, milhões de oocistos podem ser eliminados e estes podem sobreviver no meio-ambiente por mais de um ano (DUBEY & BEATTIE, 1988).

Após o período de excreção de oocistos, os gatos desenvolvem imunidade contra o parasita, sendo incomum ocorrer nova eliminação de oocistos. No entanto, a duração desta imunidade ainda não está bem definida, podendo os gatos reeliminarem oocistos no ambiente, com ou sem reinfecção pelo *T. gondii* (DUBEY, 1995a).

2.3.2.2 Ciclo assexuado, exoentérico ou extra-intestinal

Na fase assexuada do ciclo, o hospedeiro suscetível pode se infectar com o *T. gondii* através da ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos ou através da ingestão de carne, infectada com cistos, crua ou mal cozida.

No intestino, o oocisto se rompe, liberando oito esporozoítas. Os esporozoítas se multiplicam nas células intestinais e nos linfonodos regionais, formando taquizoítas. Os taquizoítas se dispersam pelo resto do organismo através do sangue e da linfa, formando cistos no cérebro, músculos esqueléticos e cardíaco e no fígado (DUBEY, 1994).

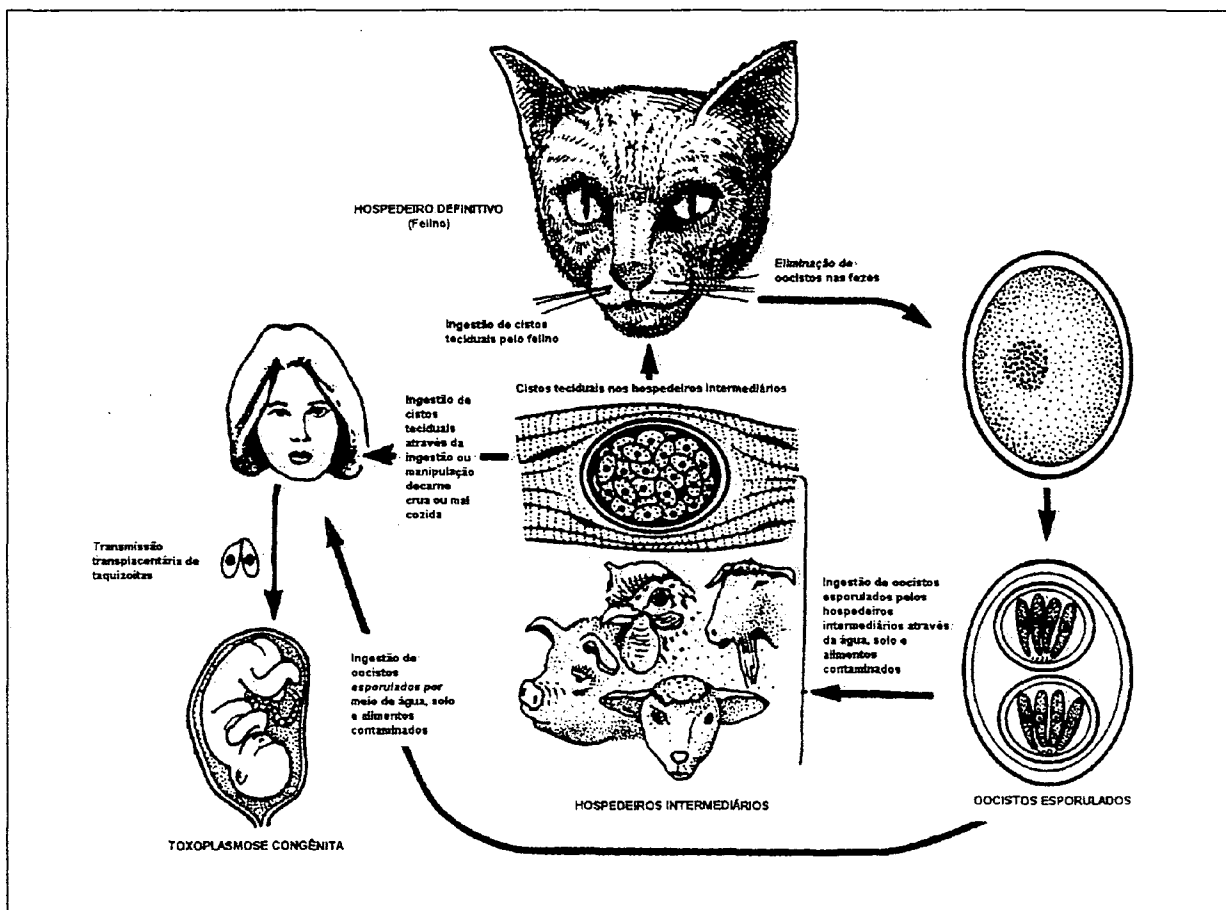
Após a ingestão de carne infectada crua ou mal cozida, enzimas proteolíticas dissolvem a parede do cisto tecidual, liberando os bradizoítas que infectam o epitélio intestinal do hospedeiro. Depois da invasão celular, os bradizoítas se transformam em taquizoítas, que se multiplicam e se dispersam pelo organismo (DUBEY, 1994).

À medida que o hospedeiro vai desenvolvendo imunidade, o parasita começa a se encistar, sob a forma de bradizoítas. Esses cistos induzem discreta ou nenhuma reação inflamatória no hospedeiro. No entanto, a manutenção desse equilíbrio requer imunidade ativa, sem a qual os cistos se reativam, emergindo taquizoítas que causariam destruição tecidual localizada e sistêmica (DENKERS, 1999).

2.4 MECANISMOS DE TRANSMISSÃO DA TOXOPLASMOSE

Segundo TENTER *et al.* (2000), todos os três estádios infecciosos do ciclo de vida do *T. gondii*, denominados taquizoítas, bradizoítas (contidos em cistos teciduais) e esporozoítas (contidos em oocistos esporulados), são infectantes tanto para hospedeiros intermediários como para o hospedeiro definitivo (FIGURA 1).

FIGURA 1 – CICLO BIOLÓGICO E MECANISMOS DE TRANSMISSÃO DO *Toxoplasma gondii*



Adaptado de DUBEY, 1994.

Os hospedeiros adquirem a infecção por *T. gondii* pelas seguintes formas:

2.4.1 Transmissão horizontal

2.4.1.1 Ingestão de oocistos

Oocistos eliminados pelos gatos e outros felídeos através de suas fezes

contaminam o solo, a água e os alimentos (AMENDOEIRA, 1995). Surtos de toxoplasmose podem ocorrer pelo consumo de água contaminada com oocistos, afetando coletividades (SLIFKO *et al.*, 2000). Esse modo de infecção, assim como a ingestão de vegetais contaminados com oocistos, é, provavelmente, o responsável pela prevalência da infecção por *T. gondii* em indivíduos vegetarianos e animais herbívoros. Alia-se a esses fatores o fato de que, na região rural, os felinos não possuem contato tão estreito com os habitantes, contaminando, isto sim, o meio-ambiente (AMENDOEIRA, 1995; SPALDING, 2000).

Há indícios recentes de que infecções toxoplásmicas em adultos, adquiridas pela ingestão de oocistos esporulados, são mais patogênicas que as infecções induzidas pela ingestão de cistos teciduais (DUBEY & BEATTIE, 1988; ECKERT, 1996).

2.4.1.2 Ingestão de cistos teciduais

A manipulação de carcaças e vísceras nos abatedouros, açougues e em nível doméstico e a ingestão de carne, vísceras e produtos cárneos crus ou mal cozidos é importante na transmissão da toxoplasmose quando os mesmos alojam bradizoítas encistados. Dentre os animais produtores de carne, *T. gondii* tem sido encontrado encistado em tecidos de suínos, ovinos e caprinos mais freqüentemente que em tecidos de outras espécies animais (DUBEY, 1996).

A literatura registra surtos de toxoplasmose transmitidos pela ingestão de carnes de animais infectados, variando com os hábitos culturais e alimentares das diferentes populações humanas (BONAMETTI *et al.*, 1997; CHOI *et al.*, 1997). Há evidências epidemiológicas de que em alguns países, como a França, a ingestão de cistos teciduais em carnes infectadas seja a fonte principal de infecção da toxoplasmose (ROBERTS *et al.*, 1994; CHOI *et al.*, 1997), devido à crença popular de que a carne crua é um alimento saudável e fortificante, fazendo com que seu consumo seja mais freqüente (AMENDOEIRA, 1995).

Aves provavelmente não são importantes na transmissão da toxoplasmose, já que a prevalência nesses animais é baixa e sua carne é geralmente congelada e/ou consumida bem cozida (ECKERT, 1996).

Alguns produtos cárneos derivados também podem estar relacionados à transmissão da toxoplasmose. Há pouca informação existente acerca da eficiência da técnica de cura de carnes em inativar cistos do *T. gondii* (GAMBLE, 1997). No Brasil, experimento realizado por NAVARRO *et al.* (1992) demonstrou que os tratamentos com sal a que são submetidas as lingüiças tipo frescal não eliminam o potencial de risco de infecção por *T. gondii* desses produtos para o consumo antes de 24 horas da fabricação. A ação do sal sobre os cistos de *T. gondii* em lingüiça fresca mostrou-se eficaz somente após 48 horas de sua elaboração, em concentrações de 2,0% e 2,5%. Mais recentemente, WARNEKULASURIYA *et al.* (1998) detectaram formas viáveis de *T. gondii* em uma de 67 amostras de produtos cárneos crus, prontos para consumo (salames e similares), através da reação em cadeia da polimerase (PCR), indicando falha no processo de cura.

2.4.1.3 Ingestão de leite cru

Taquizoítas de *T. gondii* têm sido encontrados no leite de diversos hospedeiros intermediários, incluindo ovinos, caprinos e bovinos. Durante a pré-lactação, o leite também pode se contaminar dentro da glândula mamária com cistos do protozoário alojados nas células mamárias. Esses cistos seriam secretados junto com o leite, no processo de exocitose (HIRAMOTO *et al.*, 2001).

Apesar dos taquizoítas serem sensíveis às enzimas proteolíticas e destruídos pela digestão gástrica, tem sido proposta a possibilidade da sua penetração pela mucosa do esôfago, com acesso à circulação sanguínea e linfática antes mesmo de sua chegada ao estômago (TENTER *et al.*, 2000).

A pasteurização destrói os toxoplasmas, sendo especialmente recomendada para o leite destinado às crianças, que possuem menor concentração de enzimas proteolíticas no tubo digestivo, sendo mais suscetíveis à toxoplasmose que os adultos (TENTER *et al.*, 2000; HIRAMOTO *et al.*, 2001).

2.4.2 Transmissão vertical

A transmissão do *T. gondii* ao homem e aos animais através de taquizoítas,

pela via transplacentária ao feto, é menos freqüente. Apenas um baixo percentual de infecções com *T. gondii* nas populações humanas são adquiridas verticalmente, com incidências de infecção pré-natal variando de 1 a 120 para cada 10.000 nascimentos (TENTER *et al.*, 2000). Nos EUA, estimam-se cerca de 4.100 casos de toxoplasmose congênita por ano (ROBERTS *et al.*, 1994).

De modo geral, isso ocorre quando a fêmea contrai a primo-infecção durante a gestação, através de qualquer um dos estádios do parasita. O *T. gondii* se multiplica na placenta e então se dissemina pelos tecidos fetais. Apesar da infecção transplacentária poder se desenvolver em qualquer estágio da gestação, o feto é mais severamente afetado quando a fêmea prenhe se infecta durante a primeira metade da gestação (DUBEY, 1994).

2.4.3 Outros mecanismos de transmissão

Outras vias de transmissão da toxoplasmose têm sido discutidas, como através da transfusão de sangue e de componentes sanguíneos (WENDEL, 1994), transplantes de órgãos (ROSE *et al.*, 1983) e acidentes laboratoriais (HERWALDT & JURANEK, 1993). Existe, ainda, a possibilidade de transmissão direta inter-humana por intermédio de taquizoítas, principalmente se encontrados na saliva, na vigência da forma aguda da infecção, mesmo sem sintomatologia aparente (AMENDOEIRA, 1980; AMENDOEIRA & COUTINHO, 1982).

2.5 PATOGENIA

O grau de suscetibilidade dos animais ao *Toxoplasma gondii* varia com a cepa do parasita; mas, para uma dada linhagem, alguns hospedeiros mostram-se mais suscetíveis que outros (REY, 1991).

Como as infecções são, em sua maioria, adquiridas por via digestiva, os organismos se disseminam pelo sistema linfático e pelo sistema porta, com subsequente invasão de órgãos e tecidos diversos. Em infecções maciças, os taquizoítas em multiplicação produzem áreas de necrose em órgãos vitais, como:

miocárdio, pulmões, fígado e cérebro. Durante esta fase, o hospedeiro manifesta febre e linfadenomegalia. Com a formação dos bradizoítas, a infecção atinge a fase crônica que é, em geral, assintomática (URQUHART *et al.*, 1990).

Não foi confirmada a produção de qualquer toxina pelo parasito, supondo-se que os mecanismos patogênicos dependam da destruição celular e de fenômenos alérgicos (REY, 1991).

2.6 TOXOPLASMOSE HUMANA

A infecção humana pode ser adquirida ou congênita (URQUHART *et al.*, 1990; REY, 1991). No entanto, enquanto a infecção por *T. gondii* é muito comum, a manifestação clínica da doença está quase confinada a grupos de risco, sendo que a maioria dos casos de infecção em indivíduos imunocompetentes é assintomática (TENTER *et al.*, 2000).

2.6.1 Toxoplasmose congênita

Foi em 1923, em Praga, que JANKU descreveu pela primeira vez a presença de cistos de *T. gondii* na retina de uma criança de 11 anos com hidrocefalia e microftalmia.

Atualmente, sabe-se que a exposição da mulher ao *T. gondii* pela primeira vez durante a gestação é causa reconhecida de aborto em humanos, morte neonatal e defeitos físicos e mentais nas crianças sobreviventes (DUBEY & BEATTIE, 1988; WARNEKULASURIYA *et al.*, 1998; LIESENFELD, 2002). Os taquizoítas são transmitidos transplacentariamente e invadem todos os órgãos fetais, mas prevalecem as lesões do sistema nervoso central (encefalomielite) e da retina (retinocoroidite). Os casos são mais graves quando a mãe adquire a infecção toxoplásmica no primeiro trimestre de gestação; já as mulheres com infecção crônica não contaminam seus filhos durante a gravidez (REY, 1991).

De acordo com ROBERTS *et al.* (1994), as conseqüências da toxoplasmose congênita são: retardo mental severo (33% dos casos), leve (23%) ou moderado

(17%); redução da visão (53%) e redução da audição (10%). Das crianças sobreviventes, cerca de 10% apresentam a tríade clássica da toxoplasmose congênita: hidrocefalia, retinocoroidite e calcificações intracraniais (DUBEY & BEATTIE, 1988; TENTER *et al.*, 2000). A retinocoroidite é uma lesão freqüente na toxoplasmose congênita. A retina se torna inflamada e necrosada e a camada pigmentada se rompe, em consequência da infiltração de células inflamatórias. Por fim, forma-se tecido de granulação que invade o humor vítreo (URQUHART *et al.*, 1990).

No entanto, se a transmissão ocorre no final da gestação (terceiro trimestre), os efeitos no feto são menos severos e a maioria das crianças infectadas é assintomática ao nascer. Com o seu desenvolvimento, poderão manifestar, tardiamente, sintomas clínicos e deficiências neurológicas, visuais e auditivas (WONG & REMINGTON, 1994).

2.6.2 Toxoplasmose adquirida

A maioria das infecções por *T. gondii* adquirida após o nascimento pelos indivíduos imunocompetentes é assintomática, não sendo detectada até que seja instalado um programa de investigação específico na população em estudo (TENTER *et al.*, 2000). Quando ocorre a manifestação da doença, as perturbações são, em geral, de natureza leve e temporária, sendo raramente fatais ou permanentes (PESSOA & MARTINS, 1988).

Os sintomas mais comumente observados são linfadenopatia cervical ou cervical/axilar, febre baixa, cefaléia, mialgia, artralgia e sensação de fadiga (BONAMETTI *et al.*, 1997; YAMAMOTO *et al.*, 2000). Os sintomas podem durar de semanas a meses e geralmente aparecem em cinco a vinte dias pós-infecção (REY, 1991).

A toxoplasmose ocular também é documentada na forma adquirida da protozoose (PESSOA & MARTINS, 1988; SILVEIRA *et al.*, 1988; WARNEKULASURIYA *et al.*, 1998). A doença atinge principalmente a retina, caracterizando-se pela retinite necrosante com lesões ovais ou circulares (YAMAMOTO *et al.*, 2000). O quadro se manifesta pela retinocoroidite e pode levar à

cegueira total ou parcial. Como a imunidade na retina é deficiente, os cistos continuam seu desenvolvimento no globo ocular mesmo quando o indivíduo adquire imunidade (KAWAZOE, 1997).

No Brasil, destaca-se a região de Erechim, no estado do Rio Grande do Sul, na qual 95% da população são soropositivos para a toxoplasmose e, interessante, 20% desenvolvem toxoplasmose ocular, a maioria dos casos sendo atribuída à forma adquirida da infecção (SILVEIRA *et al.*, 1988).

2.6.3 Toxoplasmose em imunocomprometidos

Recentemente, tornou-se evidente que o *T. gondii* é uma importante causa de doença (principalmente neurológica) e morte em pacientes com câncer e Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). A emergência da toxoplasmose nos anos 80 como importante infecção oportunista em pacientes imunocomprometidos estimulou novo interesse na comunidade científica com relação a este organismo (DEROUIN & GARIN, 1992; GLASER *et al.*, 1994; FACHADO *et al.*, 1997).

Infecções crônicas e totalmente assintomáticas assumem caráter agudo em doentes que venham a sofrer depressão imunológica de etiologias diversas ou em consequência de terapia imunodepressora (como em pacientes transplantados). Na maioria dos casos, desenvolve-se um quadro clínico de encefalite aguda, fatal em poucos dias (REY, 1991; ROBERTS *et al.*, 1994).

2.7 TOXOPLASMOSE BOVINA

Embora segundo ESTEBAN-REDONDO *et al.* (1999) haja poucos trabalhos a respeito dos aspectos clínicos da infecção por *T. gondii* em bovinos, em condições experimentais esses animais parecem ter alta resistência ao protozoário (DUBEY, 1992; DUBEY & THULLIEZ, 1993). Os primeiros casos de bovinos com manifestações clínicas atribuídas ao *T. gondii* foram relatados por SANGER *et al.* (1953) nos Estados Unidos da América. Segundo DUBEY (1986), estudos de casos naturais e induzidos da infecção em bovinos realizados a partir daquela época não

demonstraram causar aborto ou mortalidade neonatal, nem se pôde comprovar etiologicamente a ação do *T. gondii*. O autor considera que não há nenhum relato de toxoplasmose clínica em bovinos que seja bem documentado, sem levantar dúvidas quanto ao agente etiológico envolvido. Atualmente, considera-se que o gado bovino é suscetível à infecção, mas é resistente à doença induzida por *T. gondii*, não manifestando sintomas clínicos (DUBEY, 1986; DUBEY & THULLIEZ, 1993; ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1997). Os oocistos presentes nas pastagens são a principal fonte de infecção para os bovinos (MARANA *et al.*, 1994).

Embora o manejo e as condições higiênicas difiram muito nos tipos de criação de bovinos de corte e de leite, tais fatores não chegam a determinar diferenças em relação ao comportamento do bovino na epidemiologia da toxoplasmose (SILVA *et al.*, 1985).

Anticorpos séricos para *T. gondii* têm sido encontrados mundialmente nos bovinos, apesar das atuais taxas de prevalência serem difíceis de se determinar (DUBEY & BEATTIE, 1988). MORENO *et al.* (1991) relatam que, através do emprego da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), soroprevalências observadas em bovinos na Tasmânia e na Tunísia variam de 1% a 91%, respectivamente.

ROGER *et al.* (1991) encontraram soroprevalência de 54,2% em um total de 780 bovinos testados através de ELISA na Ilha da Reunião, observando, naquele território, variações de prevalência em zonas com características climáticas diferentes: 51% na zona de alta umidade e 81% na zona seca, semidesértica. Também através da técnica de ELISA, GARCIA-VAZQUEZ *et al.* (1993) detectaram, no México, em amostras de 397 animais, soroprevalência de 11,8% de bovinos reagentes. Na Suíça, também por meio desta técnica sorológica, BUSATO *et al.* (1997) encontraram 14% de positividade em 148 soros de bovinos analisados.

No Brasil, no estado da Bahia, PITA-GONDIM *et al.* (1999) analisaram sorologicamente 194 bovinos e 104 bubalinos, encontrando prevalências, respectivamente, de 1,03% e 3,85%, através da técnica de aglutinação em látex (LAT). Na Arábia Saudita, EL-METENAWY (2000) também encontrou baixa incidência de anticorpos para *T. gondii* em 60 bovinos, com apenas uma vaca positiva e com um título muito alto (1:2084) na prova de hemaglutinação indireta.

Segundo o autor, esse animal possuía histórico de aborto e era soronegativo para brucelose.

Mais recentemente, no Brasil, OLIVEIRA *et al.* (2000) inocularam três animais de cada uma das espécies *Bos indicus*, *B. taurus* e *Bubalus bubalis*, machos, entre quatro e sete meses de idade, com doses de 2×10^5 oocistos esporulados por via oral. Todos os animais responderam ao estímulo antigênico, produzindo anticorpos anti-*T. gondii*, detectados através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), a partir do quinto dia pós-infecção. Apesar de todas as três espécies terem respondido ao estímulo antigênico, os autores observaram títulos sorológicos mais elevados em taurinos que nos zebuínos e bubalinos.

No Brasil, em 1980, FERRARONI & MARZOCHI detectaram, através da hemaglutinação indireta, 60% de soropositivos em bovinos da Amazônia, de um total de 25 animais examinados. No Rio Grande do Sul, SILVA *et al.* (1985) atribuíram baixas prevalências (3,7%) detectadas por meio da hemaglutinação indireta em 1.100 bovinos examinados à ausência do agente no meio-ambiente, não relacionando a ingestão de carne bovina com as altas prevalências em humanos daquele estado. Na Colômbia, em 1981, MONTOYA *et al.* detectaram, também através da hemaglutinação indireta, prevalência de 24% em um total de 371 bovinos.

Em 1992, DUBEY realizou bioensaio em gatos e em camundongos, alimentando-os com vísceras e cortes de carne de uma vaca naturalmente infectada com *T. gondii*, com altos títulos de anticorpos específicos em vida. Nenhum dos gatos eliminou oocistos ou desenvolveu anticorpos para *T. gondii*. Todos os camundongos inoculados com tecidos bovinos permaneceram saudáveis, exceto aqueles inoculados com intestino. Todos os camundongos inoculados com intestino morreram do quinto ao 15º. dia pós-infecção, tendo sido encontrados taquizoítas do protozoário em impressões de seus pulmões em lâmina. Em seguida, tecidos de alguns desses camundongos foram fornecidos a gatos livres de toxoplasmose, obtendo-se a eliminação de oocistos em cinco dias.

DUBEY & THULLIEZ (1993) demonstraram que cistos teciduais podem se manter viáveis em músculos e vísceras de bovinos por até três anos após infecção experimental. Os autores inocularam oralmente quatro bezerros com oocistos de *T. gondii* e sacrificaram os animais em 350, 539, 1.191 e 1.201 dias pós-inoculação. Os

animais mantiveram-se saudáveis, manifestando apenas leve anorexia e diarreia. Quando alimentados gatos com tecidos oriundos da necropsia dos bovinos sacrificados, conseguiu-se a eliminação de oocistos pelos felinos aos quais se forneceram corações, fígados, línguas, intestinos, costelas, cérebro e alcatra de três dos bezerros inoculados. No entanto, no mesmo experimento, não se teve sucesso quando inoculados os mesmos tecidos em camundongos, o que os autores atribuíram à provável baixa concentração de cistos nos bovinos e/ou à pequena quantidade de inócuo fornecida para os camundongos em relação aos felinos.

Na Costa Rica, ARIAS *et al.* (1994a) alimentaram camundongos com amostras de diversos cortes de carne e vísceras bovinas adquiridas em açougues e, em seguida, demonstraram a presença de anticorpos para *T. gondii* através do carbono-imunoensaio nos soros dos camundongos. Nos tecidos positivos, o percentual de amostras positivas variou de 10% a 50%, indicando a importância do gado bovino na epidemiologia da toxoplasmose naquele país. Em outro bioensaio com camundongos, ESTEBAN-REDONDO *et al.* (1999), no Reino Unido, não detectaram a presença do parasita em amostras de tecidos retirados de bovinos previamente infectados com doses de 10^3 e 10^5 oocistos esporulados, após seis semanas e após seis meses da infecção. Nenhum dos camundongos testados, quando inoculados com tecidos bovinos, apresentaram infecção aguda. No entanto, um camundongo apresentou anticorpos IgG específicos para *T. gondii* através de ELISA. Na mesma pesquisa, através de PCR, não se detectou o parasita em tecidos coletados seis meses pós-infecção dos bovinos.

2.8 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da toxoplasmose se baseia na detecção do parasita por meio da inoculação em animais, exames histológicos, ensaios de cultivos celulares, pela reação em cadeia da polimerase (PCR) e por meio de testes sorológicos que detectem anticorpos específicos (D'AGOSTINO, 1994). Em qualquer uma das formas clínicas da toxoplasmose, as manifestações do paciente não são específicas do *T. gondii*, sendo necessário amplo diagnóstico diferencial (MONTROYA, 2002).

A seguir serão revistos os principais métodos diagnósticos para a toxoplasmose, seja como infecção ou como doença.

2.8.1 Diagnóstico sorológico

O uso de testes sorológicos para a demonstração de anticorpos IgG e IgM, específicos para o *T. gondii* é, classicamente, o método inicial para diagnóstico da toxoplasmose (BARIL *et al.*, 1999; CANTOS *et al.*, 2000; MONTOYA, 2002). Quando aplicados em adultos de uma população, os testes sorológicos evidenciam, em regra geral, a proporção de portadores de anticorpos correspondentes, na maioria dos casos, a infecções adquiridas no passado (FERRARONI & MARZOCHI, 1980).

Na fase aguda da toxoplasmose, primeiro ocorre a produção de IgM, seguida da produção de IgG. A infecção pode também produzir IgA, tanto nos casos de transmissão por via oral, como nos casos de toxoplasmose congênita (CANTOS *et al.*, 2000; MONTOYA, 2002).

A IgG aparece em uma a duas semanas após a aquisição da infecção, atingindo seu pico de produção em um a dois meses e em seguida declinando em níveis variáveis, mas mantendo-se persistente por toda a vida do hospedeiro (MONTOYA, 2002).

Anticorpos IgM aparecem logo no início da infecção e declinam mais rapidamente que os anticorpos IgG, mas há relatos de títulos persistentes de IgM em indivíduos com fase crônica da infecção, mas são raros (D'AGOSTINO, 1994; MONTOYA, 2002). Já segundo CAMARGO (1996), qualquer título de IgM traduz infecção recente, independente da existência ou não de títulos de IgG, em contraste com a infecção latente, onde prevaleceriam os anticorpos dessa última classe.

Segundo D'AGOSTINO (1994), os testes sorológicos podem ser divididos em dois grupos, de acordo com o antígeno que utilizam: o primeiro, dos testes que utilizam o microorganismo intacto (*Dye-test* e RIFI) e o segundo, dos testes que empregam proteínas provenientes do rompimento do parasita (ELISA, fixação de complemento e hemaglutinação indireta).

2.8.1.1 *Dye-test* (teste do corante de Sabin-Feldman)

A reação de Sabin-Feldman foi o primeiro teste sorológico utilizado no diagnóstico da toxoplasmose, em 1948 (DOMINGUES *et al.*, 1998).

Baseia-se na união de anticorpos específicos à superfície de taquizoítas viáveis, com subseqüentes fixação do complemento e rompimento da parede celular. Dessa forma, o parasita é incapaz de reter o azul de metileno. Esta prova é raramente efetuada fora de centros de referência, já que emprega parasitas vivos (D'AGOSTINO, 1994).

Apesar de considerado o teste mais específico para diagnóstico sorológico da toxoplasmose humana, o mesmo não se aplica a outras espécies, não sendo considerado específico para a infecção pelo *T. gondii* em bovinos e aves (DUBEY *et al.*, 1999). O *dye test* provavelmente não é adaptável ao gado devido à ocorrência natural de uma globulina sérica, provavelmente IgM, que implica em falsos resultados (DUBEY, 1986; ESTEBAN-REDONDO & INNES, 1997).

2.8.1.2 Reação de imunofluorescência indireta

Essa prova emprega taquizoítas mortos aderidos a lâminas de vidro, que são incubadas com diluições seriadas do soro a investigar. Essa união se revela em uma segunda incubação com anti-soro anti-imunoglobulina, conjugado com isotiocianato de fluoresceína. A interpretação da prova apresenta certa subjetividade, requerendo pessoal treinado para leitura (D'AGOSTINO, 1994).

2.8.1.3 *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA)

É uma prova rápida e sensível, com boa especificidade, que utiliza reagentes estáveis, permite testar vários animais simultaneamente e pode ser automatizada, desprovido de riscos o manipulador (SANCHEZ *et al.*, 1985; ROGER *et al.*, 1991; GARCIA-VAZQUEZ *et al.*, 1993). Fundamenta-se na incubação dos soros a serem examinados, em uma única diluição, diretamente com o antígeno fixado nos poços da placa de poliestireno. Posteriormente, adiciona-se conjugado anti-IgG acoplado a

uma enzima, seguindo-se a adição de substrato específico dessa enzima, do que resulta uma reação colorimétrica que é medida pelo espectrofotômetro.

2.8.1.4 Fixação do complemento

É um teste que necessita de padronização e sua sensibilidade e especificidade dependem do preparo do antígeno. Os anticorpos determinados por este método aparecem mais tardiamente que os detectados pela RIFI e *dye test*, tornando-se negativos em dois anos após a infecção (D'AGOSTINO, 1994).

2.8.1.5 Teste da hemaglutinação indireta (HAI)

É um teste menos sensível que outras provas sorológicas, porém sua simplicidade, baixo custo, adequada especificidade e o fato de não necessitar de um conjugado anti-IgG específico fazem desta prova a metodologia de escolha em algumas pesquisas (MONTROYA *et al.*, 1981; GORMAN *et al.*, 1999). Consiste na fixação de antígenos provenientes do rompimento do taquizoíta, utilizando hemácias como suporte. A reação entre estes e o soro com anticorpos específicos produzem a aglutinação visível (D'AGOSTINO, 1994).

2.8.2 Diagnóstico histológico

Pode ser difícil o diagnóstico de *T. gondii* em cortes histológicos em função de um baixo número de organismos presentes, particularmente quando se estão examinando tecidos de animais de grande porte. Além disso, os cistos são semelhantes aos de outros protozoários como *Sarcocystis* spp. e *Neospora caninum* à coloração hematoxilina-eosina, usualmente empregada na histopatologia (ESTEBAN-REDONDO *et al.*, 1999).

A técnica da imuno-peroxidase, que usa anti-soro para *T. gondii* em cortes histológicos, tem demonstrado boa sensibilidade e especificidade (MONTROYA, 2002).

2.8.3 Bioensaio

O ato de alimentar gatos soronegativos com tecidos animais e após algum tempo demonstrar a eliminação de oocistos em suas fezes é a maneira mais específica de se isolar o parasita de animais infectados, embora menos prática, implicando em questões éticas, custos de obtenção e manutenção dos felinos (GAMBLE, 1997; ESTEBAN-REDONDO *et al.*, 1999). Alternativamente, formas viáveis do parasita podem ser detectadas nos animais em teste através da inoculação de camundongos com amostras de seus tecidos, com as desvantagens do consumo excessivo de tempo e exposição a risco do operador (DEROUIN & GARIN, 1992; ESTEBAN-REDONDO *et al.*, 1999; WARNEKULASURIYA *et al.*, 1998).

2.8.4 Reação em cadeia da polimerase

A técnica da reação em cadeia da polimerase (PCR) baseia-se na evidenciação do parasita pela demonstração de seus componentes como antígenos ou segmentos de DNA, sendo de alto valor diagnóstico. Essa técnica vem assumindo posição de destaque especialmente em imunodeficientes e em casos de retinocoroidite toxoplásmica, tendo sido preferível aos testes sorológicos por detectar a presença do parasita (CAMARGO, 1996; CANTOS *et al.*, 2000).

2.8.5 Diagnóstico clínico

Como a maioria das infecções é assintomática, sendo a manifestação clínica mais comum a linfadenopatia em 10% a 20% dos casos, o diagnóstico clínico da toxoplasmose é muito difícil de ser precisado. Nos casos de toxoplasmose ocular, seja congênita ou adquirida, a retinocoroidite é diagnosticada pelo exame oftalmológico, associado a testes sorológicos complementares (MONTROYA, 2002).

2.9 TRATAMENTO

Em humanos e animais são aplicadas sulfas (sulfadiazina, sulfametazina e sulfamerazina) e pirimetamina (daraprim), que possui alta toxicidade, devendo ser usada por no máximo duas semanas e associada com ácido fólico ou ácido folínico para minimizar o efeito tóxico (DUBEY & BEATTIE, 1988; REY, 1991). Outras drogas empregadas são o trimetoprim (em combinação com a sulfa e o ácido fólico) e a clindamicina (DUBEY & BEATTIE, 1988).

A monesina, um coccidiostático usado como aditivo na ração para prevenção e tratamento das infecções coccidiais em aves industriais e bovinos, parece ser bastante efetiva no controle da infecção e eliminação do agente pelos felídeos. No entanto, seu uso ainda não foi autorizado para adição na formulação de rações para felinos (URQUHART *et al.*, 1990).

2.10 CONTROLE E PREVENÇÃO

A prevenção da infecção dos animais produtores de carne baseia-se na adoção de boas práticas de produção desses animais, procurando evitar sua exposição a oocistos (GAMBLE, 1997). No entanto, a redução da transmissão do *T. gondii* nas fazendas e granjas é muito difícil, devido à existência de múltiplas fontes de infecção (DUBEY, 1996).

Todas as pessoas que manipulam animais de produção devem estar cientes dos procedimentos necessários à redução do potencial zoonótico do *T. gondii*. Essas medidas incluem: remoção da placenta e tecidos de fetos abortados do acesso a gatos e roedores; manter gatos sem acesso a locais de estocagem de alimentos e rações; não permitir que gatos defequem em instalações de criação de animais; evitar tocar mucosa e olhos enquanto manipular carne crua; lavar bem as mãos com sabão após manusear carne crua (GARCIA-VAZQUEZ *et al.*, 1993).

O cozimento da carne a temperaturas superiores a 67°C e o seu congelamento a temperaturas inferiores a -12°C são capazes de matar os cistos de *T. gondii* (DUBEY, 1996). Por outro lado, os cistos permanecem relativamente

resistentes e infecciosos em carcaças resfriadas entre 1°C a 4°C. Deve-se considerar, ainda, que o cozimento da carne só é efetivo se a mesma for cozida pelo tempo necessário a que esta temperatura seja atingida em todas as suas partes (TENTER *et al.*, 2000).

Medidas de prevenção se aplicam a todas as pessoas, mas merecem atenção especial de mulheres grávidas (especialmente as soronegativas) e imunocomprometidos. Indivíduos pertencentes ao grupo de risco não devem comer carne crua ou mal cozida, devem manipular carnes cuidadosamente e evitar limpar fezes de gatos (DUBEY, 1994).

Todos os utensílios que tiveram contato com carne crua devem ser bem lavados e carne e vísceras cruas ou mal cozidas não devem ser fornecidas aos animais. Tampar lixos, para evitar que gatos se alimentem de restos e aparas de carne crua, assim como não permitir que felinos domésticos cacem.

O desenvolvimento de vacinas para gatos com a finalidade de prevenir a eliminação de oocistos servirá para reduzir a transmissão do protozoário no meio-ambiente. No entanto, a duração da imunidade induzida pela vacina ainda não está bem definida, podendo os gatos se tornarem novamente suscetíveis à infecção, com subsequente eliminação de oocistos. Além disso, a imunização de gatos sem lar seria problemática, especialmente na área rural, devido à dificuldade de se conter os animais (DUBEY, 1995a). Vacinas para os animais de produção, fabricadas com cepas não persistentes de *T. gondii*, vêm sendo desenvolvidas com as finalidades de reduzir o aborto resultante da infecção transplacentária nas espécies mais sensíveis (ovinos e caprinos) e de reduzir o risco de infecção do homem pela ingestão de carne infectada (DUBEY, 1996).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ÁREA ESTUDADA

A microrregião de Pato Branco corresponde à porção leste da região sudoeste do estado do Paraná (FIGURAS 2 e 3), abrangendo 15 municípios. O clima da microrregião é o subtropical úmido mesotérmico com temperatura média nos meses mais quentes superior a 22°C e nos meses mais frios inferior a 18°C (IBGE, 2002; IPARDES, 2002).

A economia da microrregião está baseada na agricultura, pecuária e indústrias. O município de Pato Branco é o pólo comercial e centro de serviços da microrregião, estando localizado a cerca de 450 km de Curitiba, capital do estado.

Contígua à microrregião de Pato Branco situa-se a microrregião de Francisco Beltrão, abrangendo 28 municípios e correspondendo à porção oeste da região sudoeste do Paraná.

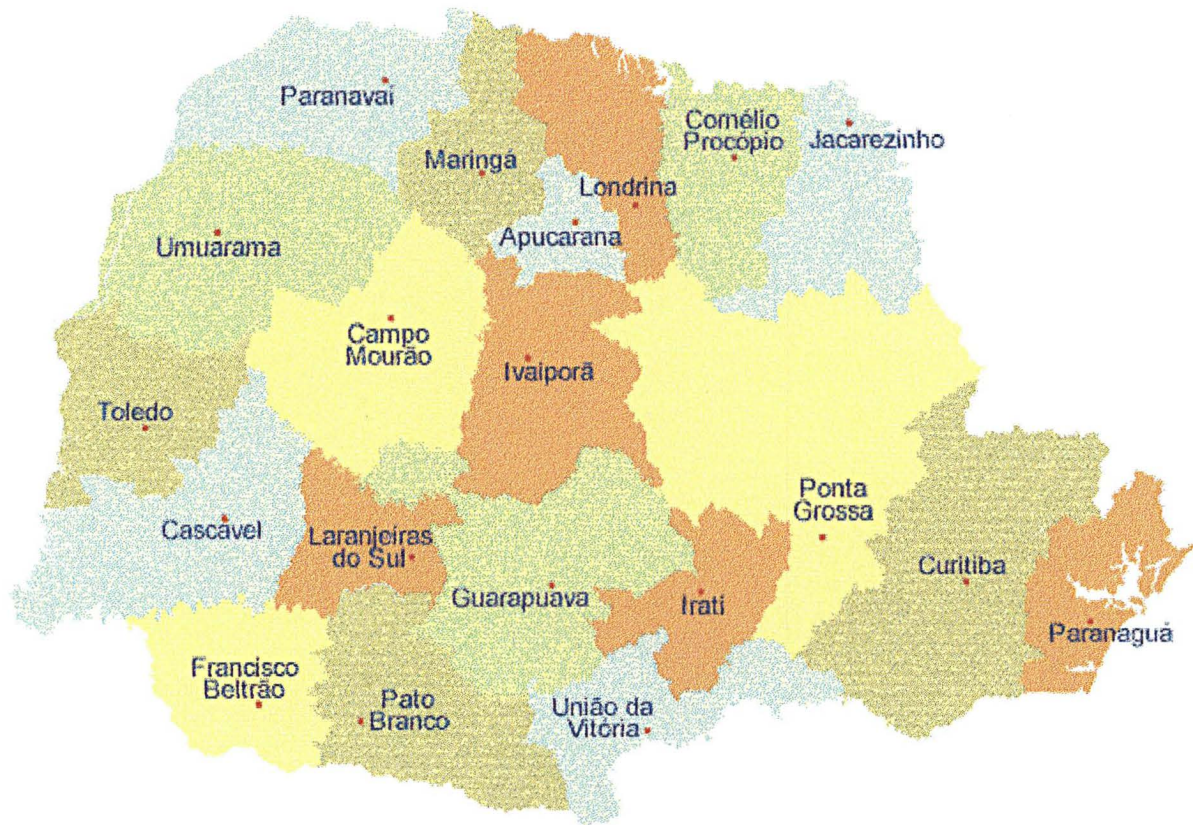
As principais características geográficas e econômicas dos municípios onde estão localizados os matadouros participantes desta pesquisa estão relacionados na Tabela 1.

TABELA 1 – CARACTERÍSTICAS GEOGRÁFICAS DOS MUNICÍPIOS DE LOCALIZAÇÃO DOS MATADOUROS DE BOVINOS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL.

MUNICÍPIO	LATITUDE	LONGITUDE	ALTITUDE	POPULAÇÃO URBANA	POPULAÇÃO RURAL
Coronel Vivida	26°00'	52°32'	760 m	14.727	8.563
Itapejara d'Oeste	25°58'30"	52°50'	632 m	4.958	4.206
Pato Branco	26°11'	52°36'	760 m	56.739	5.428

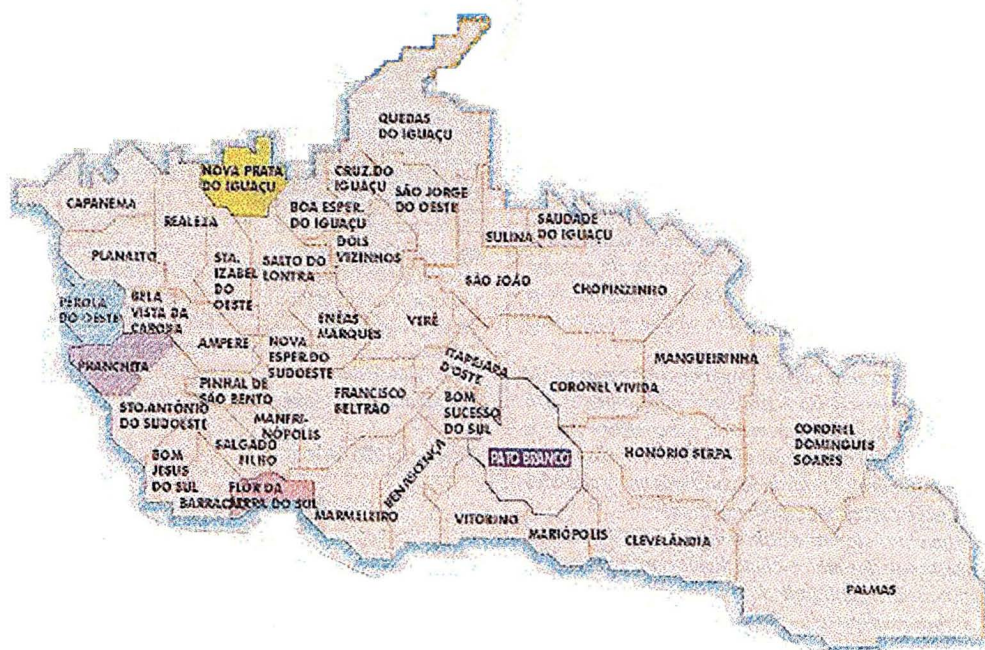
FONTES: IBGE (2002); IPARDES (2002).

FIGURA 2 – MAPA DO ESTADO DO PARANÁ E SUAS MICRORREGIÕES ADMINISTRATIVAS*



FONTE: <<http://www.pr.gov.br/seab>> (acesso em 2 de março de 2003)

FIGURA 3 – MAPA DA REGIÃO SUDOESTE DO ESTADO DO PARANÁ



FONTE: <<http://www.pr.gov.br>> (acesso em 2 de março de 2003)

3.1.1 Matadouros de bovinos

Os quatro matadouros que participaram da pesquisa estão registrados no serviço de inspeção estadual de produtos de origem animal e, como tais, possuem autorização para comercializar seus produtos apenas no âmbito estadual.

Tratam-se de estabelecimentos de pequeno porte e programação irregular de abate semanal. Apenas um desses estabelecimentos possui instalações para abate de suínos a parte da linha de matança de bovinos; os demais possuem autorização para abater apenas bovinos. A quantidade anual de animais abatidos por esses estabelecimentos consta do Quadro 1.

Todos os estabelecimentos são construídos e funcionam de acordo com as exigências sanitárias do serviço de inspeção, com divisão entre zona suja (da insensibilização à esfolação) e zona limpa de abate (da evisceração às câmaras-frias e área de expedição), além de disporem de equipamentos higiênico-sanitários para uso dos funcionários nas diversas posições de trabalho (pias, saboneteiras e esterilizadores de facas).

A linha de abate é aérea (trabalha-se sobre os animais suspensos pelos membros posteriores em trilho aéreo), não mecanizada, sendo as carcaças em operação empurradas manualmente. A mão-de-obra é reduzida e predominantemente do sexo masculino. (FIGURAS 4 e 5).

QUADRO 1 – QUANTIDADE DE BOVINOS ABATIDOS PELOS ESTABELECIMENTOS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO NOS ANOS DE 1999 A 2001.

Ano:	1999			2000			2001		
No. SIP	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL	M	F	TOTAL
21	2.285	1.390	3.675	2.146	820	2.966	2.256	835	3.091
43	2.992	2.056	5.048	461	1.331	1.792	474	1.369	1.843
50	2.548	1.450	3.998	2.708	852	3.560	1.690	286	1.976
94	697	1.281	1.978	1.203	1.188	2.391	1.057	882	1.939
TOTAL	8.522	6.177	14.699	6.518	4.191	10.709	5.477	3.372	8.849

FONTE: SEAB (2001).

FIGURA 4 – SALA DE MATANÇA DE MATADOURO DE BOVINOS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL NO MUNICÍPIO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL

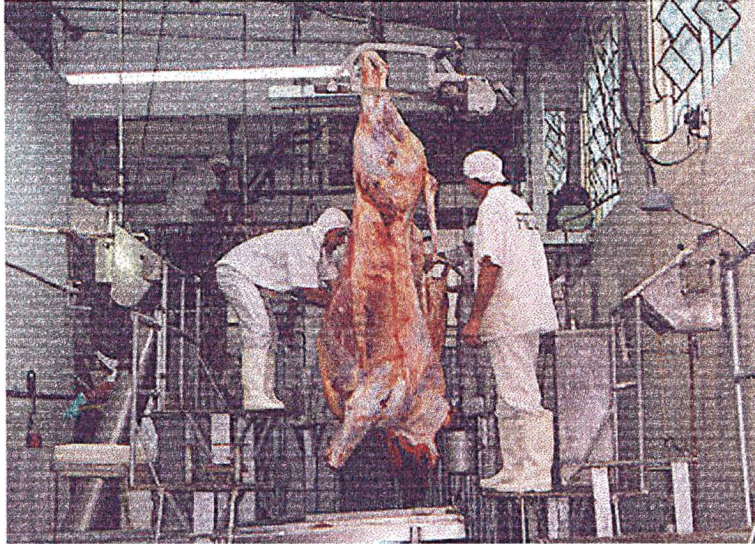
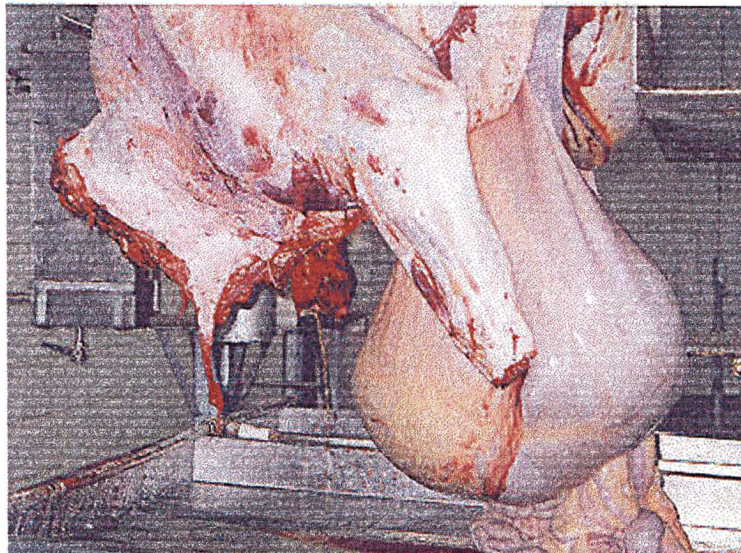


FIGURA 5 – OPERAÇÃO DE EVISCERAÇÃO DE BOVINO EM MATADOURO SOB INSPEÇÃO ESTADUAL NO MUNICÍPIO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL



3.2 POPULAÇÕES ESTUDADAS

Para a realização do presente trabalho, o material estudado foi dividido em dois grupos. O primeiro, constituído de animais da espécie bovina, destinados ao abate nos quatro matadouros sob inspeção estadual da microrregião de Pato Branco, na região sudoeste do estado do Paraná. O segundo grupo foi constituído de funcionários desses estabelecimentos, que voluntariamente se submeteram a participar da pesquisa, após consentimento livre e esclarecido.

3.2.1 População bovina

Com a finalidade de determinar a prevalência sorológica de anticorpos anti-*T. gondii* da classe IgG, por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), foram coletadas, no período de 19 de abril de 2001 a 14 de março de 2002, amostras de soros de 348 bovinos, correspondentes a 3,0% da média do total de animais abatidos por ano, nos anos de 1999 a 2000, pelos quatro matadouros habilitados a abater bovinos existentes na microrregião de Pato Branco e registrados no Serviço de Inspeção do Paraná/Produtos de Origem Animal (SIP/POA), da Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento do Paraná (SEAB). Os animais eram provenientes de municípios da região sudoeste do Paraná e não se fez distinção de raça na amostra da população estudada. A amostragem foi em aglomerados, com uma expectativa de prevalência de 30%, com erro máximo de 5% e grau de confiança de 95% (DEAN *et al.*, 1997).

Para a colheita das amostras de sangue, os animais liberados pelo serviço de inspeção sanitária após o exame *ante mortem* eram tocados rumo à área de insensibilização. Em seguida, eram erguidos por um dos membros posteriores e então sangrados através de incisão, à faca, nos grandes vasos do pescoço. No ato da sangria, o sangue era coletado em frascos próprios, numerados, sem anticoagulante, sendo depois deixado em repouso, à temperatura ambiente, para que ocorresse a retração do coágulo. Os frascos com sangue eram então submetidos à centrifugação de 900 giros por cinco minutos. As amostras de soro foram acondicionadas em frascos estéreis, identificadas e estocadas a -20°C até o

momento da análise laboratorial. Todos os soros foram obtidos no dia da colheita.

Os animais amostrados foram classificados por estabelecimento de abate, procedência, sexo e por idade estimada através da cronologia dentária (TABELAS 2, 3 e 4).

TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS BOVINOS EXAMINADOS POR MUNICÍPIO DE PROCEDÊNCIA

Procedência	n
Chopinzinho	38
Cruzeiro do Iguaçu*	26
Francisco Beltrão*	21
Honório Serpa	9
Itapejara d'Oeste	25
Mangueirinha	25
Mariópolis	20
Pato Branco	88
Renascença*	5
São João	10
São Jorge d'Oeste*	9
Saudade do Iguaçu	20
Verê*	35
Vitorino	17
TOTAL	348

* Municípios pertencentes à microrregião de Francisco Beltrão.

TABELA 3 – QUANTIDADE DE ANIMAIS EXAMINADOS POR MATADOURO

Número de registro do matadouro	Espécie(s) abatida(s)	Município de localização do matadouro	Machos	Fêmeas	Total
21	BOVINA	Itapejara d'Oeste, PR	64	27	91
43	BOVINA E SUÍNA	Pato Branco, PR	58	19	77
50	BOVINA	Coronel Vivida, PR	89	11	100
94	BOVINA	Pato Branco, PR	50	30	80
TOTAL:			261	87	348

TABELA 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS POR IDADE ESTIMADA

Idade em anos	Machos	Fêmeas	TOTAL
<1	24	23	47
1,1-2	67	13	80
2,1-3	84	8	92
3,1-4	58	8	66
≥4	28	35	63
TOTAL	261	87	348

3.2.2 População humana

A população humana estudada se constituiu de funcionários (magarefes, médicos veterinários e técnicos de inspeção sanitária) dos matadouros de bovinos sob inspeção estadual em que foram coletadas as amostras dos animais. A doação da amostra de sangue foi voluntária e aos doadores solicitou-se a leitura e assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido para participar da pesquisa (ANEXO 1).

Foram coletadas 64 amostras (60 homens e 4 mulheres) de um total de 69 funcionários dos quatro estabelecimentos, no período compreendido entre 6 de agosto de 2001 e 27 de dezembro de 2001, representando 92,8% da população total. Essas amostras foram destinadas à pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii* por meio dos métodos de ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) e RIFI e à pesquisa de anticorpos IgM anti-*T. gondii* por meio da RIFI.

A colheita foi realizada por um farmacêutico-bioquímico nas dependências sociais dos estabelecimentos, com material estéril e de único uso. O sangue coletado por punção venosa, sem anticoagulante, era acondicionado em frascos com numeração crescente e em seguida deixado em banho-maria a 37°C por três a quatro horas. O soro era então recuperado e submetido a centrifugação de 900 giros durante cinco minutos. A seguir, as amostras de soro eram acondicionadas em tubos para microcentrífuga, identificadas e estocadas a -20°C até a sua análise. Paralelamente ao ato da colheita, os funcionários respondiam a um questionário epidemiológico (ANEXO 2), que recebia numeração correspondente à dos tubos para coleta de sangue.

3.3 MÉTODOS LABORATORIAIS

Todas as análises laboratoriais desta pesquisa foram realizadas no período de 14/09/2001 a 22/11/2002, no Laboratório de Toxoplasmose do Departamento de Protozoologia, Instituto Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ.

3.3.1 Pesquisa de anticorpos da classe IgG anti-*T. gondii* por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em soros de bovinos

3.3.1.1 Preparo do antígeno

O antígeno foi obtido do exsudato peritonial de camundongos *Swiss Webster* (*Mus musculus*) infectados com cepa RH de *Toxoplasma gondii*. Ao exsudato peritonial foi adicionado volume duas vezes maior de formol a 2%. Após 30 minutos em repouso, o material foi centrifugado a 500 giros durante 5 minutos a fim de sedimentar células do hospedeiro eventualmente existentes. Transferiu-se o sobrenadante para outro tubo e depois este foi centrifugado a 3.000 giros por 10 minutos, para a separação dos parasitas. Desprezou-se o sobrenadante e o sedimento foi ressuspensão, com aproximadamente 5 mL de PBS (solução salina tamponada) 0,01M, pH 7,2 (ANEXO 3), sendo novamente centrifugado a 3.000 giros por 10 minutos, por mais duas vezes, para lavagem do parasita. Após a última centrifugação, o sedimento foi ressuspensão em uma pequena quantidade de PBS estéril de forma a ser obtido cerca de 7×10^6 parasitas/mL.

3.3.1.2 Procedimento técnico

A reação de imunofluorescência indireta foi desenvolvida de acordo com o método descrito por CAMARGO (1964) com algumas modificações.

O antígeno previamente preparado era então utilizado na sensibilização das lâminas de imunofluorescência (*Perfecta* n^o. 5) previamente limpas em solução de álcool-éter (50% álcool + 50% éter). Em cada retículo da lâmina, foram colocados 10 μ L de antígeno, retirando-se o excesso de antígeno e deixando-se secar as lâminas a temperatura ambiente. Após esse processo, as delimitações da lâmina eram reforçadas, utilizando-se esmalte vermelho para evitar a formação de pontes entre cada retículo. Os soros foram diluídos em PBS 0,01M, pH 7,2, nas diluições de 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096. Em seguida, 10 μ L das diluições eram distribuídos nas áreas sensibilizadas das lâminas e estas colocadas em câmara úmida e levadas à estufa a 37°C por uma hora. Passada esta etapa, as lâminas eram lavadas duas

vezes com PBS, por 5 minutos. Após a lavagem e secagem ao ar livre das lâminas, colocavam-se 10 μ L do conjugado anti-IgG bovino com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA-CHEMICAL) na diluição de 1:500 em solução de Azul de Evans, 1 mg%, preparado na proporção de 1:10 (ANEXO 3), incubando-se novamente na estufa a 37°C por uma hora. Após este período, as lâminas eram lavadas duas vezes em PBS por 5 minutos e secas a temperatura ambiente. Depois de secas, colocava-se uma gota de glicerina tamponada (ANEXO 3) e lamínula (24mm x 32mm).

As lâminas eram observadas em microscópio Y-FL de epi-fluorescência (NIKON), com lâmpada de mercúrio, filtro ND16, com objetiva de 40 vezes e ocular de 10 vezes. A maior diluição do soro, na qual fluorescência era detectada em toda a periferia do taquizoíta de *T. gondii*, era determinante do título reagente para o método. As diluições do soro, onde o protozoário não apresentava fluorescência, ou esta era localizada em apenas uma das extremidades do parasita, eram consideradas como não reagentes. A cada lâmina, eram acrescentados controles positivo e negativo e um controle do conjugado para serem usados como controles da reação e guias para a leitura. A positividade foi considerada como maior ou igual a 1:64.

3.3.2 Pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* da classe IgG através da técnica "Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)" em soros de humanos

3.3.2.1 Preparo do antígeno

O antígeno foi obtido do exsudato peritoneal de camundongos infectados com cepa RH de *Toxoplasma gondii*. Os taquizoítas são mantidos por passagem peritoneal seriada de três em três dias. O exsudato foi centrifugado a 500 giros durante 10 minutos, a fim de que as células do hospedeiro, caso existissem, fossem separadas do sobrenadante rico em parasitas. Este sobrenadante foi centrifugado a 2.000 giros por 10 minutos e o sedimento ressuspenso em solução salina tamponada (PBS) a 0,01M, pH 7,2 e centrifugado a 2.000 giros por 10 minutos, repetindo-se a operação para lavar o antígeno. Após a última centrifugação, o sedimento foi ressuspenso em aproximadamente 0,5mL de PBS 0,01M pH 7,2 estéril

e procedeu-se a quebra dos parasitas pela técnica de congelamento rápido com metanol e gelo seco, seguido do descongelamento em banho-maria a 56°C, repetindo-se o procedimento até que à microscopia não fossem visualizados parasitas íntegros. A seguir, o material foi centrifugado a 12.000 giros por 5 minutos para separação do antígeno solúvel. Fez-se então a dosagem de proteína através da técnica de LOWRY *et al.* (1951), padronizando-se a concentração ideal de proteínas em 1,25µg/mL, através de soros-padrão reagentes e não reagentes, sendo o material aliquotado e congelado a -20°C para posterior diluição em tampão de sensibilização (VAN KNAPEN, 1984).

3.3.2.2 Procedimento técnico

A técnica de ELISA foi desenvolvida de acordo com a metodologia proposta por VOLLER *et al.* (1976), com algumas modificações.

Utilizaram-se placas com 96 poços de poliestireno e fundo plano (CORNING-SIGMA), as quais foram sensibilizadas, em cada poço, com 100µL de antígeno a 1,25µg/mL diluído em tampão carbonato-bicarbonato, pH 9,6 (ANEXO 4). Após incubação a 4°C "*overnight*", a placa foi lavada duas vezes com PBS 0,01M, pH 7,2, tween 0,05% (PBS-T). Adicionou-se o soro diluído a 1:16 em solução de leite em pó desnatado (MOLICO®) a 1% em PBS-T para bloqueio, colocando-se 100µL de cada diluição nos respectivos poços. A placa foi então incubada a 37°C por 45 minutos em câmara úmida, sendo lavada três vezes com PBS-T (ANEXO 4). Colocou-se o conjugado anti-IgG humano com peroxidase (SIGMA) previamente titulado, submetendo-se a placa a nova incubação a 37°C por 45 minutos em câmara úmida. Ao seu término, fizeram-se três lavagens e acrescentaram-se 100µL de solução reveladora com substrato (tampão fosfato-citrato, pH 3,5, com 0,01g de ortofenilenodiamina e peróxido de hidrogênio – OPD – 30% - MERCK – ANEXO 4), colocando-se a placa em câmara escura por 15 minutos. Após este período, fez-se leitura no leitor "*EIA microplate reader*" (SIGMA), com absorvância de 492 nm a 620 nm.

Utilizaram-se doze soros não reagentes e quatro reagentes, diluídos ao quádruplo de 1:16 até 1:4096, para o estabelecimento do *cut off*, sendo as reações

repetidas em quatro placas distintas. Fez-se, então, a média das leituras obtidas dos soros negativos de cada placa, somando-se a esta o valor de dois desvios padrões para obtenção do valor de *cut off* da placa. O mesmo procedimento foi realizado para as outras placas para a obtenção de um fator que permita o ajuste da leitura dos soros negativos da placa em relação à padronização. Este fator é obtido a partir da divisão da média dos valores do *cut off* obtidos nas quatro placas pela média das médias da leitura dos soros negativos destas mesmas placas. O fator resultante será utilizado para a obtenção do *cut off* nas placas dos soros dos indivíduos em estudo.

Foi estabelecido um *cut off* por diluição e verificou-se que a diferença entre eles não era significativa, padronizando-se a utilização do *cut off* obtido do soro negativo diluído a 1:16. Foram considerados positivos os soros que apresentaram, em qualquer das reações subseqüentes, leituras iguais ou superiores ao valor de *cut off* da placa. Em cada placa dos soros em teste foram utilizados dois soros negativos e um positivo como controles.

3.3.3 Pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* da classe IgG através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em soros de humanos

3.3.3.1 Preparo do antígeno

Utilizou-se o mesmo antígeno empregado na RIFI executada para os bovinos. Seu preparo deu-se como descrito no item 3.2.1.1.

3.3.3.2 Procedimento técnico

A técnica de RIFI executada para os soros humanos desta pesquisa seguiu a mesma metodologia descrita no item 3.2.1.2 desta dissertação, sendo que o conjugado anti-IgG humano (SIGMA) foi utilizado na diluição de 1:100 e o anti-IgM humano (SIGMA) na diluição de 1:50. Os soros foram diluídos em PBS nas diluições 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1:4096, sendo considerados positivos aqueles que apresentaram títulos maiores ou iguais a 1:16.

3.4 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

3.4.1 População bovina

Nas análises estatísticas que compararam sexo, idade e procedência dos animais foram utilizados o teste do qui-quadrado (χ^2) e o teste exato de Fisher, obtidos através do programa estatístico STATA versão 2002¹.

3.4.2 População humana

O índice de concordância ajustada “kappa” (κ) foi calculado para avaliar a concordância real entre as técnicas sorológicas de RIFI e ELISA (QUADRO 3)² e o cálculo da co-positividade e da co-negatividade entre as duas técnicas foi realizado de acordo com o proposto por GUIMARÃES *et al.*, 1987 (QUADRO 4).

Nas análises estatísticas que compararam a distribuição de reagentes por estabelecimento, sexo, faixa etária, tempo de serviço, contato com gatos e hábito de comer carne crua ou mal cozida foram utilizados o teste do qui-quadrado (χ^2) e o teste exato de Fisher, obtidos através do programa estatístico STATA¹.

QUADRO 3 – CRITÉRIOS DE CONCORDÂNCIA PARA O ÍNDICE DE CONCORDÂNCIA AJUSTADA “KAPPA ”

VALOR DE KAPPA	CONCORDANCIA ENTRE OS TESTES SOROLÓGICOS
≥ 0,75	BOA
0,74 a 0,41	REGULAR
≤ 0,40	RUIM

FONTE: KAPPA PEPI PROGRAMS, 2001.

¹STATA STATISTICAL SOFTWARE – Release 7.0. College Station: STATA CORPORATION. 2002.

²PEPI – STATISTICAL PROGRAMS FOR EPIDEMIOLOGISTS – Version 4.0. Salt Lake City: SAGEBRUSH PRESS. 2001.

QUADRO 4 – CÁLCULO DA CO-POSITIVIDADE E DA CO-NEGATIVIDADE ENTRE AS TÉCNICAS SOROLÓGICAS DE RIFI E ELISA UTILIZADAS PARA EXAME DOS SOROS DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL

RIFI	ELISA		TOTAL
	Reagentes	Não reagentes	
Reagentes	a	b	(a + b)
Não reagentes	c	d	(c + d)
TOTAL	(a + c)	(b + d)	n

Co-positividade ELISA/RIFI = $[a / (a + c)] \times 100$

Co-positividade RIFI/ELISA = $[a / (a + b)] \times 100$

Co-negatividade ELISA/RIFI = $[d / (b + d)] \times 100$

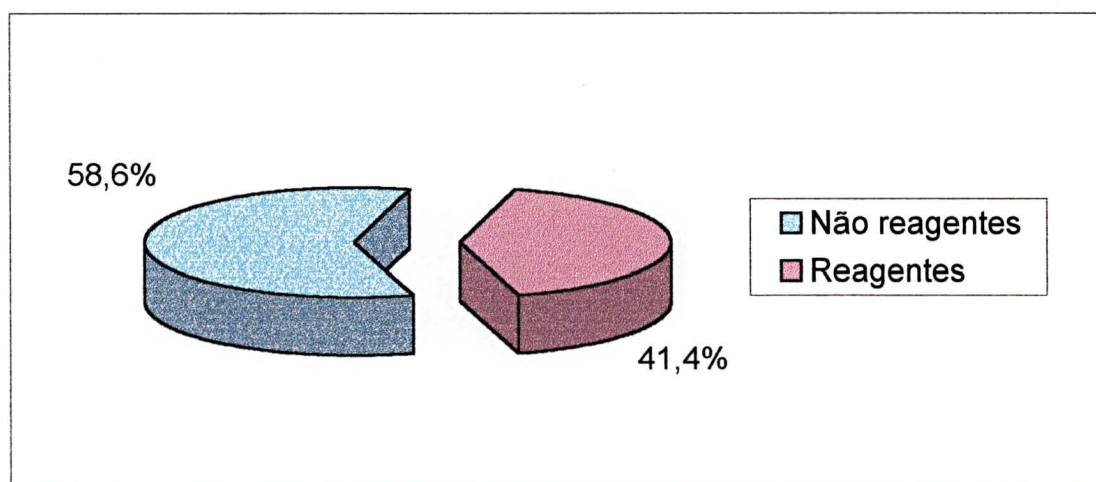
Co-negatividade RIFI/ELISA = $[d / (c + d)] \times 100$

4 RESULTADOS

4.1 SOROLOGIA DOS BOVINOS

Anticorpos da classe IgG, específicos para *T. gondii*, foram encontrados, por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), em 41,4% dos soros de 348 bovinos abatidos nos quatro matadouros sob inspeção estadual da microrregião de Pato Branco, PR, Brasil (GRÁFICO 1).

GRÁFICO 1 – PERCENTUAL DE BOVINOS REAGENTES E NÃO REAGENTES NA REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA PESQUISA DE ANTICORPOS IgG ANTI-*T. gondii*



Na Tabela 5 estão relacionados os resultados sorológicos em percentuais, agrupados por sexo, dos animais testados para toxoplasmose. Encontrou-se uma positividade de 42,9% e 36,8% entre os animais do sexo masculino e feminino, respectivamente, em relação ao número total da amostra. Quando o teste exato de Fisher foi aplicado aos dados da Tabela 5 foi revelado não haver diferença significativa na frequência de anticorpos para este protozoário nos machos e nas fêmeas ($P = 0,379$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 5 – RESULTADOS SOROLÓGICOS (RIFI-IgG) PARA TOXOPLASMOSE EM BOVINOS ABATIDOS NOS MATADOUROS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, DE ACORDO COM O SEXO (*)

Sexo	Reagentes	Não reagentes	Total
Machos	42,9% (112)	57,1% (149)	100,0% (261)
Fêmeas	36,8% (32)	63,2% (55)	100,0% (87)
Total	41,4% (144)	58,6% (204)	100,0% (348)

(*) Entre parênteses o número total de animais de cada grupo.

Na Tabela 6 estão relacionados os resultados dos bovinos reagentes agrupados por idade. Realizou-se o teste do qui-quadrado para esta variável e encontrou-se $\chi^2 = 0,887$ ($\alpha = 5\%$), mostrando que não há diferenças significativas entre as faixas etárias dos animais.

Em relação à população total, 47 (13,5%) bovinos tinham menos de um ano de idade e, desses animais, 46,8% revelaram-se soropositivos, correspondendo a 15,3% do total de reagentes. 301 (86,5%) animais amostrados possuíam mais de um ano de idade e, destes, 35,1% mostraram-se soropositivos, correspondendo a 84,7% do total de soropositivos (TABELA 6).

TABELA 6 – DISTRIBUIÇÃO DOS RESULTADOS SOROLÓGICOS (RIFI-IgG) DOS BOVINOS PROVENIENTES DE ABATEDOUROS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, DE ACORDO COM A IDADE DOS ANIMAIS

Idade (anos)	Reagentes		Não reagentes		Total	
	n	%	n	%	N	%
<1	22	46,8	25	53,2	47	100,0
1,1-2	32	40,0	48	60,0	80	100,0
2,1-3	35	38,0	57	62,0	92	100,0
3,1-4	28	42,4	38	57,6	66	100,0
>4	27	42,9	36	57,1	63	100,0
Total	144	41,4	204	58,6	348	100,0

Na Tabela 7 são apresentados os títulos de anticorpos IgG anti-*T. gondii* específicos dos bovinos soropositivos, agrupados em percentuais por idade.

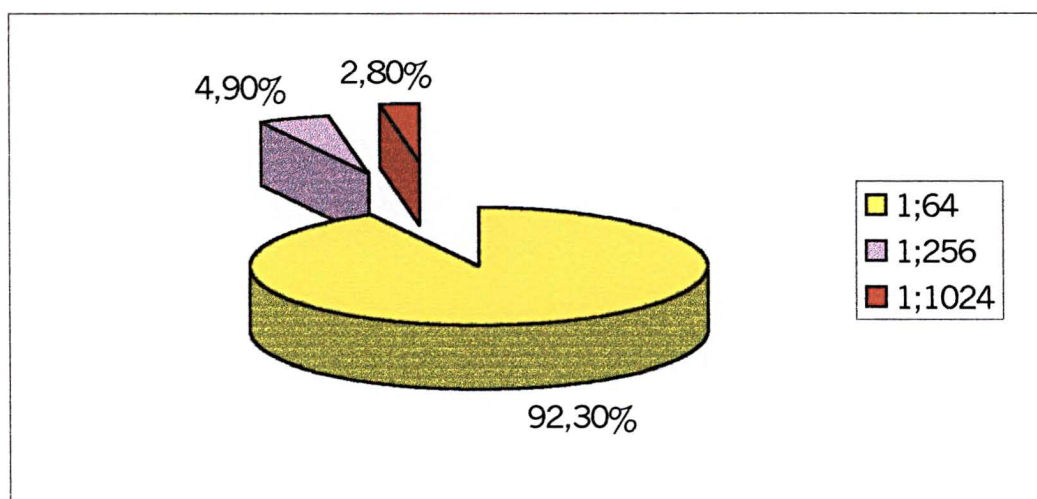
TABELA 7 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* DA CLASSE IgG OBSERVADOS NOS BOVINOS POR MEIO DA RIFI, SEGUNDO A IDADE ESTIMADA (*).

	Idade (anos)	1:64	1:256	1:1024	Total
BOVINOS	<1	21	1	0	22 (47)
	1,1-2	26	4	2	32 (80)
	2,1-3	33	0	2	35 (92)
	3,1-4	28	0	0	28 (66)
	>4	25	2	0	27 (63)
Total		133	7	4	144 (348)

(*) Entre parênteses o número total de bovinos examinados por faixa etária.

O título mais freqüentemente encontrado foi o de 1:64 (92,3%), seguido do título 1:256 (4,9%). Apenas dois animais com mais de dois anos de idade apresentaram o título 1:256, correspondendo a 28,6% dos animais que apresentaram este título. Apenas quatro animais (2,8%) apresentaram o título 1:1024 e nenhum bovino apresentou título igual ou superior a 1:4096. Dos quatro animais que apresentaram o título 1:1024, nenhum possuía mais de três anos. A distribuição desses percentuais está expressa no Gráfico 2.

GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS IgG ESPECÍFICOS PARA *T. gondii* ENCONTRADOS NOS BOVINOS SOROPOSITIVOS PELA REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA.



Na Tabela 8 estão distribuídos os perfis sorológicos dos bovinos examinados de acordo com a microrregião do município de procedência dos animais. Observou-se uma variação de 36,5% a 43,3% na freqüência de soro-reagentes entre as

microrregiões. O teste do qui-quadrado, quando aplicado a esses dados, revelou não haver diferença estatisticamente significativa entre as microrregiões ($\chi^2 = 1,324$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 8 – DISTRIBUIÇÃO DA RESPOSTA SOROLÓGICA DOS BOVINOS ABATIDOS NOS MATADOUROS SOB INSPEÇÃO ESTADUAL DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, POR MICRORREGIÃO DE PROCEDÊNCIA

Procedência	R	%	NR	%	Total	%
Microrregião de Pato Branco	109	43,3	143	56,7	252	100,0
Microrregião de Francisco Beltrão	35	36,5	61	63,5	96	100,0
Total	144	41,4	204	58,6	348	100,0

R = número de reagentes; NR = número de não reagentes.

4.2 SOROLOGIA HUMANA

Foi estudada uma amostra de 92,7% da população ($n = 64$) e os soros foram avaliados por meio das técnicas de ELISA e RIFI.

Estimando-se o índice de concordância (“*kappa*”) entre as duas técnicas sorológicas empregadas, encontrou-se $\kappa = 0,55$. Considerando o critério de concordância $0,74 > \kappa > 0,41$, os testes foram avaliados como de nível regular de concordância.

Na Tabela 9 estão representados os resultados para anticorpos IgG anti-*T. gondii* dos soros dos funcionários dos matadouros de bovinos da microrregião de Pato Branco, PR, Brasil, mostrando a co-positividade e a co-negatividade de cada teste (ELISA e RIFI) em relação ao outro, de forma pareada.

Nenhum indivíduo testado apresentou soropositividade para IgM anti-*T. gondii* na RIFI.

TABELA 9 – RESULTADOS SOROLÓGICOS PARA ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* DA CLASSE IgG NOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, POR MEIO DAS TÉCNICAS DE ELISA E RIFI.

RIFI	ELISA		Total
	Reagentes	Não reagentes	
Reagentes	43 (67,2%)	0 (0,0%)	43 (67,2%)
Não reagentes	11 (17,2%)	10 (15,6%)	21 (32,8%)
Total	54 (84,4%)	10 (15,6%)	64 (100,0%)

Co-positividade ELISA/RIFI = 79,6%; Co-positividade RIFI/ELISA = 100%; Co-negatividade ELISA/RIFI = 100%; Co-negatividade RIFI/ELISA = 47,6%.

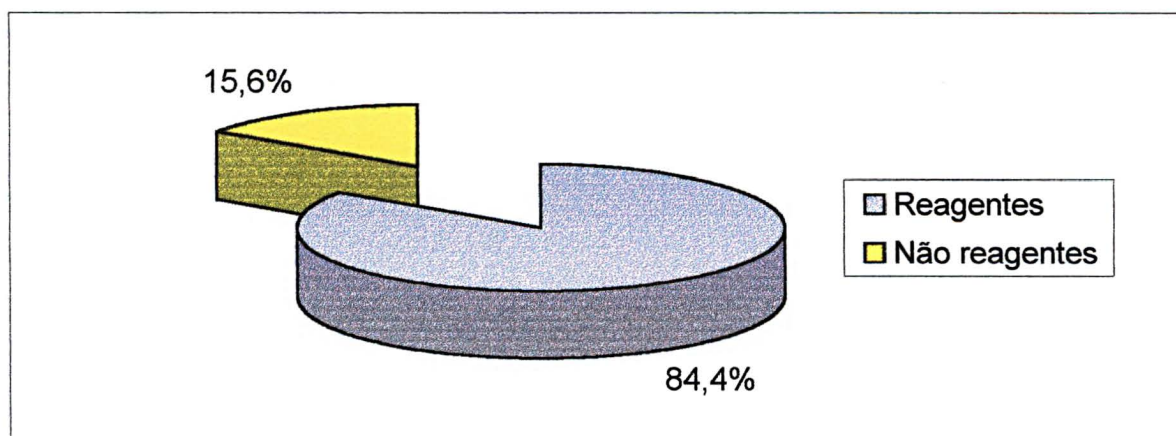
As prevalências obtidas por meio de RIFI e ELISA nos soros dos funcionários de cada estabelecimento estão expressas na Tabela 10. Realizou-se o teste do χ^2 para a distribuição de anticorpos IgG específicos anti-*T. gondii* detectados nos funcionários provenientes dos quatro matadouros da microrregião estudada, não sendo considerada significativa a diferença da freqüência de soro-reagentes nos quatro estabelecimentos ($\chi^2 = 1,320$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 10 – SOROPREVALÊNCIAS (RIFI E ELISA) PARA TOXOPLASMOSE DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, DISTRIBUÍDAS POR ESTABELECIMENTO.

MATADOURO	REAGENTES		NÃO REAGENTES		TOTAL DE SOROS EXAMINADOS	
	ELISA e/ou RIFI		ELISA e RIFI			
	n	%	n	%	n	%
SIP 21	20	90,9	02	9,1	22	34,4
SIP 43	13	81,3	03	18,7	16	25,0
SIP 50	14	87,5	02	12,5	16	25,0
SIP 94	07	70,0	03	30,0	10	15,6
TOTAL	54	84,4	10	15,6	64	100,0

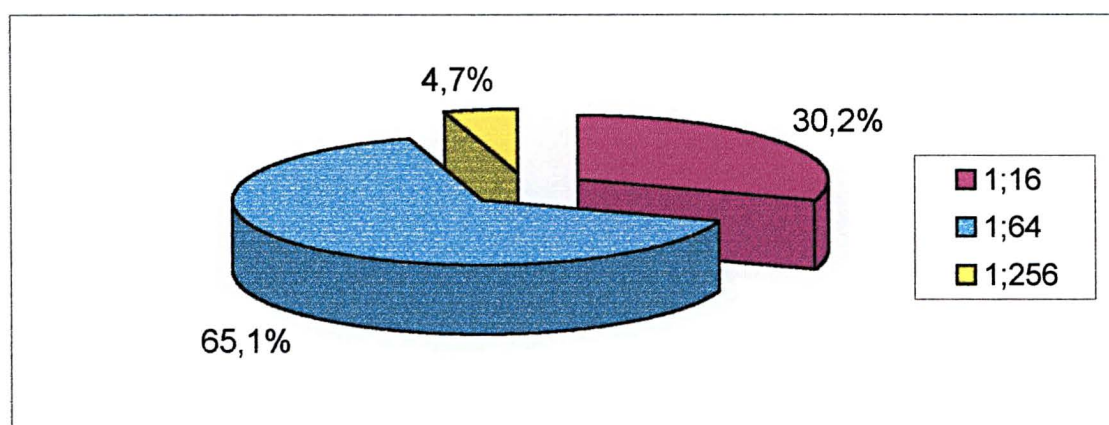
Observou-se uma soropositividade de 84,4% na população quando se analisaram os resultados das técnicas de ELISA e/ou RIFI, como pode ser observado no Gráfico 3.

GRÁFICO 3 – RESULTADOS SOROLÓGICOS DOS FUNCIONÁRIOS DE MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO PARA ANTICORPOS IgG ANTI-*T. gondii* POR MEIO DAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI



O título mais freqüentemente encontrado, na RIFI, foi o de 1:64 (65,1%) dos soropositivos, seguido dos títulos 1:16 (30,2%) e 1:256 (4,7%). Nenhum funcionário apresentou título igual ou superior a 1:4096 (GRÁFICO 4).

GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO PERCENTUAL DOS TÍTULOS DE ANTICORPOS ENCONTRADOS NA RIFI DOS FUNCIONÁRIOS SORO-REAGENTES



Na Tabela 11 estão representados os percentuais de IgG-reagentes segundo o sexo. Encontrou-se uma positividade de 75% e 85% entre os indivíduos do sexo feminino e do sexo masculino, respectivamente. Realizou-se o teste exato de Fisher

para a variável sexo e a variação da frequência de anticorpos por sexo nos funcionários dos matadouros não foi considerada significativa ($P = 0,502$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 11 – DISTRIBUIÇÃO, POR SEXO, DOS SOROS DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI (*)

SEXO	REAGENTES		NÃO REAGENTES		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
MASCULINO	51	85,0	09	15,0	60	100,0
FEMININO	03	75,0	01	25,0	04	100,0
TOTAL	54	84,4	10	15,6	64	100,0

Na Tabela 12 estão distribuídos os percentuais de reagentes e não reagentes de acordo com a faixa etária dos funcionários. Observou-se um aumento da prevalência à medida que aumentava a faixa etária. Quando aplicado o teste exato de Fisher para esta variável, a variação da frequência de anticorpos por faixa etária nos funcionários dos matadouros, no entanto, não foi considerada significativa ($P = 0,316$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 12 – DISTRIBUIÇÃO, POR FAIXA ETÁRIA, DOS SOROS DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI

FAIXA ETÁRIA	≤30		31-39		≥40		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Reagentes	13	76,5	18	81,8	23	92,0	54	84,4
Não Reagentes	04	23,5	04	18,2	02	8,0	10	15,6
Total	17	100,0	22	100,0	25	100,0	64	100,0

Quando classificados de acordo com o tempo de serviço no estabelecimento, 88,6% dos indivíduos com menos de cinco anos de atividades se revelaram soropositivos, enquanto 79,3% dos indivíduos com mais de seis anos de atividades foram reagentes às técnicas de RIFI e/ou ELISA (TABELA 13). O teste exato de

Fisher revelou não haver diferença significativa na frequência de anticorpos de acordo com o tempo de serviço dos funcionários ($P = 0,409$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 13 – DISTRIBUIÇÃO DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI DE ACORDO COM O TEMPO DE SERVIÇO

TEMPO DE SERVIÇO	REAGENTES		NÃO REAGENTES		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
≤ 5 ANOS	31	88,6	04	11,4	35	100,0
≥ 6 ANOS	23	79,3	06	20,7	29	100,0
TOTAL	54	84,4	10	15,6	64	100,0

Na Tabela 14 estão apresentados os soropositivos para *T. gondii* de acordo com a variável “possuir ou não contato com gatos”. Da população estudada, 24 indivíduos (37,5)% declararam possuir contato com gatos. Desses indivíduos, 75% foram reagentes para a infecção por *T. gondii*, 40 indivíduos (62,5%) declararam não possuir contato com gatos e nesse grupo houve 36 soropositivos (90%). Quando aplicado o teste exato de Fisher a esses dados, não se observou diferença significativa entre os grupos ($P = 0,157$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 14 – DISTRIBUIÇÃO DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI DE ACORDO COM CONTATO COM GATOS.

CONTATO COM GATOS	REAGENTES		NÃO REAGENTES		TOTAL	
	n	%	n	%	n	%
SIM	18	75,0	06	25,0	24	100,0
NÃO	36	90,0	04	10,0	40	100,0
TOTAL	54	84,4	10	15,6	64	100,0

Com relação à variável “ingerir ou não carne crua ou mal cozida”, 44 funcionários responderam positivamente à questão, perfazendo 68,7% da população estudada, enquanto 20 indivíduos (31,3%) afirmaram não possuir o hábito de ingerir carne crua ou mal cozida. O teste exato de Fisher, quando aplicado aos dados apresentados na Tabela 15, revelou não haver diferença significativa quanto às

soroprevalências encontradas entre os funcionários que possuem o hábito de comer carne crua ou mal cozida e entre os que não possuem esse hábito ($P = 1$, $\alpha = 5\%$).

TABELA 15 – DISTRIBUIÇÃO DOS FUNCIONÁRIOS DOS MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL, COM ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* DA CLASSE IgG NAS TÉCNICAS DE ELISA E/OU RIFI DE ACORDO COM HÁBITO DE INGERIR CARNE CRUA OU MAL COZIDA.

INGESTÃO DE CARNE CRUA OU MAL COZIDA	REAGENTES		NÃO REAGENTES		TOTAL	
	n	%	n	%	N	%
SIM	37	84,1	07	15,9	44	100,0
NÃO	17	85,0	03	15,0	20	100,0
TOTAL	54	84,4	10	15,6	64	100,0

5 DISCUSSÃO

A ampla distribuição da toxoplasmose entre seus hospedeiros na natureza é conseqüência da diversidade dos mecanismos de transmissão do parasita e da enorme variedade de hospedeiros (MILLER *et al.*, 1972; AMENDOEIRA, 1995). A prevalência da infecção toxoplásmica pode variar de região para região. Estas variações nas freqüências de anticorpos anti-*T. gondii* podem ocorrer em função do tamanho da amostra, do teste sorológico empregado e do limiar de positividade determinado para cada teste e sua conseqüente sensibilidade (ARIAS *et al.*, 1994a; CABRAL *et al.*, 1998).

No Brasil e no mundo, a RIFI tem sido empregada como método de diagnóstico sorológico da toxoplasmose em bovinos por COSTA *et al.* (1978); COSTA & COSTA (1978); MORENO *et al.* (1991); ARIAS *et al.* (1994b); MARANA *et al.* (1994); MARANA *et al.* (1995); GARCIA *et al.* (1999a) e OLIVEIRA *et al.* (2000), entre outras técnicas sorológicas, conforme lista constante do Anexo 5. Observa-se grande discrepância na literatura científica com relação aos resultados sorológicos dos trabalhos de diversos autores.

A prevalência de bovinos soropositivos encontrada no presente trabalho (41,4%) foi bastante superior à encontrada recentemente por GARCIA *et al.* (1999a), que testaram 400 bovinos, dos quais 25,8% mostraram-se positivos para anticorpos IgG, na região norte do estado do Paraná. No mesmo estado, MARANA *et al.*, em 1994, detectaram soroprevalência de 32,3% em 334 bovinos de corte abatidos em matadouros da região de Londrina (região norte do estado), resultado que se aproxima à prevalência revelada por este estudo. Em 1995, MARANA *et al.* detectaram 48,5% de bovinos soropositivos em uma amostra de 503 bovinos de leite, provenientes de 17 rebanhos, também do norte paranaense, resultado este concordante com o presente.

Os resultados revelados na presente pesquisa são ainda superiores aos encontrados em avaliações semelhantes realizadas no Brasil, como as de COSTA *et*

al. (1978), que encontrou 32,3% de soropositivos em uma amostra de 204 bovinos da região de Jaboticabal, no estado de São Paulo e as de COSTA & COSTA (1978), com 12% de reagentes em 350 bovinos, na região de Poços de Caldas, no estado de Minas Gerais. Ambos os trabalhos, tais como o presente, empregaram a RIFI. Na Costa Rica, também pela RIFI, ARIAS *et al.* (1994b) detectaram 34,4% de positividade em 601 animais examinados, inferior à do presente trabalho. A prevalência encontrada na presente pesquisa é concordante com os achados de MORENO *et al.* (1991), que detectaram, na Espanha, 40,1% de bovinos reagentes em 304 soros examinados através da RIFI.

EL-METENAWY (2000), na Arábia Saudita, encontrou baixa prevalência (1,7%) de soropositivos para *T. gondii* em bovinos. O autor relacionou a baixa incidência de anticorpos em ruminantes com o controle eficaz da população de gatos nas proximidades das fazendas e ao adequado tratamento dispensado a resíduos de abatedouros naquele país. No entanto, o autor testou apenas 60 bovinos, através da técnica de hemaglutinação indireta.

Embora a prevalência encontrada na presente pesquisa tenha sido alta, nenhum dos animais apresentou lesões ou sintomas sugestivos de toxoplasmose à inspeção sanitária realizada nos matadouros, tendo sido a totalidade dos animais amostrados liberada para consumo. Esse fato concorda com as afirmações de ESTEBAN-REDONDO *et al.* (1999) de que, em situações experimentais, a infecção de bovinos com o *T. gondii* não produz alterações macroscópicas ou histopatológicas no exame *post mortem*.

No total de animais que compuseram a amostra, observou-se que o número de machos (75,0%) foi maior do que o das fêmeas (25,0%). Uma possível explicação para este fato reside na escassa disponibilidade de fêmeas para o mercado, devido a fatores tais como a necessidade de destinar uma grande maioria das mesmas à reprodução, produção de leite, entre outros. Tal fato não parece ter influenciado o resultado da presente pesquisa, pois não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre os sexos dos animais e a resposta sorológica, o que também tem sido observado na literatura (ARIAS *et al.*, 1994b; GARCIA *et al.*, 1999a).

DUBEY (1986) relata que, no gado bovino, há efeito da idade no desenvolvimento de anticorpos, com bezerros produzindo títulos mais altos e mais

duradouros que os animais adultos em condições experimentais, com a mesma dose infectante. O autor concluiu que os bovinos podem soronegativar à toxoplasmose dois anos após inoculação experimental. Na presente pesquisa, não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre as faixas etárias dos animais, embora se tenha verificado menor soropositividade nos bovinos adultos (40,5% de soro-reagentes) em relação aos animais com menos de um ano (46,8% de soro-reagentes), fato também observado por GARCIA *et al.* (1999a).

Os baixos títulos apresentados pelos bovinos no presente trabalho (1:64 em 92,3% dos soropositivos; 1:256 em 4,9% e 1:1024 em 2,8%), corroboram o achado de DUBEY (1985) de que, em um estudo de soroprevalência em 2.539 bovinos na região de Montana, nos Estados Unidos da América, a maioria dos animais naturalmente infectados possuía baixos títulos de anticorpos para *T. gondii*. A prevalência de bovinos soro-reagentes encontrada pelo autor foi de 15,9%, utilizando o teste de aglutinação modificado (MAT), com tratamento prévio dos soros com 0,2 M-mercaptoetanol e os títulos encontrados foram 1:64 (79,8% dos soro-reagentes), 1:128 (15,0%), 1:256 (4,5%) e 1:512 (0,7%). Os títulos encontrados nos bovinos da presente pesquisa também corroboram os achados de COSTA & COSTA (1978), que em seu trabalho pioneiro quanto à utilização da RIFI em soros de bovinos no Brasil, encontraram títulos máximos de 1:1024. Os títulos encontrados por MARANA *et al.* (1994) também são semelhantes aos da presente pesquisa, com 77,8% dos animais com o título 1:64, 19,4% (1:256) e 2,8% (1:1024), não havendo nenhum animal que tenha apresentado o título 1:4096. MATSUO & HUSIN (1996) também encontraram baixos títulos examinando 200 bovinos na Indonésia. A prevalência encontrada, através do teste de aglutinação em látex, foi de 9,0% e o título máximo foi de 1:128. De acordo com GARCIA *et al.* (1999a), baixos títulos de anticorpos são sugestivos de infecções latentes, com presença de cistos teciduais.

As diferenças regionais da freqüência da infecção por *T. gondii* em seres humanos são bem conhecidas (AMENDOEIRA *et al.*, 1999; SPALDING, 2000). O mesmo parece ocorrer com relação a bovinos (BEYER & SHEVKUNOVA, 1986; ROGER *et al.*, 1991; ARIAS *et al.*, 1994b; MARANA *et al.*, 1994). Os resultados da presente pesquisa não corroboram esses dados, uma vez que não se observou diferença estatisticamente significativa entre a distribuição dos bovinos reagentes de

acordo com as duas microrregiões de procedência dos animais. No entanto, deve ser considerado que os animais procediam de municípios pertencentes a duas microrregiões contíguas, de características geográficas como clima e altitude muito semelhantes, o que deve justificar o observado.

Na população humana estudada na presente pesquisa, foi observado um maior número de indivíduos reagentes em ELISA-IgG (84,4%) do que em RIFI-IgG (67,2%). Estes resultados corroboram os dados observados por UCHOA *et al.* (1999), que apontam uma maior frequência de soropositivos em ELISA, quando comparados à RIFI. Os autores examinaram 103 indivíduos atendidos em um hospital do Rio de Janeiro, sendo 28 com sintomatologia clínica de toxoplasmose e sem possuírem histórico de imunocomprometimento; 30 gestantes; 28 pacientes em diferentes fases de infecção pelo HIV e 17 indivíduos sem nenhuma alteração sugestiva de infecção. A positividade foi de 78,7% (ELISA-IgG) e 70,0% (RIFI-IgG).

Ao analisar os resultados da dosagem dos anticorpos IgG específicos anti-*T. gondii* por meio dos testes de RIFI e de ELISA, observou-se uma co-positividade e de co-negatividade RIFI/ELISA de 100,0% e 47,6%, respectivamente e em relação a ELISA/RIFI de 79,6% e 100,0%, respectivamente. Estes valores demonstram uma concordância absoluta dos resultados positivos obtidos pela técnica de RIFI em relação a ELISA, mas o mesmo não ocorreu com o inverso. Com relação a co-negatividade na obtenção de resultados negativos, a técnica de ELISA apresentou absoluta concordância com a RIFI, o que permite o uso da técnica com segurança nos processos de triagem como preconizaram VAN KNAPEN (1984) e UCHOA *et al.* (1999). Sendo assim, tornou-se necessária a utilização de dois testes diagnósticos em paralelo principalmente em razão das diferenças de sensibilidade na detecção de IgG pelas metodologias RIFI e ELISA.

Segundo VAN KNAPEN (1984), a concordância entre os resultados obtidos na RIFI e no ELISA não é absoluta, provavelmente em função do uso de antígenos distintos. Utilizam-se parasitas íntegros na RIFI, estimulando anticorpos produzidos mais precocemente na infecção enquanto no ELISA são empregados antígenos solúveis, citoplasmáticos, que detectariam anticorpos de aparecimento mais tardio.

A variabilidade da frequência da infecção está ligada a diversos fatores, tais como: padrões culturais da população, seus hábitos alimentares, a idade, a sua

procedência rural ou urbana (AMENDOEIRA, 1980). A prevalência da infecção por *T. gondii* pode variar até mesmo dentro do mesmo país ou estado (FERRARONI & MARZOCHI, 1980; AMENDOEIRA *et al.*, 1999). GUIMARÃES *et al.* (1993) observaram uma variação regional dentro da cidade de São Paulo de 58,9% a 77,9% entre gestantes. No presente trabalho foi observada uma variação de 70,0% a 90,9% de soro-reagentes entre os funcionários dos quatro matadouros em três municípios diferentes, não sendo, contudo, considerada estatisticamente significativa. No entanto, diferenças proporcionais foram observadas entre as freqüências de soro-reagentes, sendo que a maior delas foi encontrada no matadouro do município de Itapejara d'Oeste (90,9%). Esse estabelecimento abate somente bovinos. Os dois matadouros localizados no município de Pato Branco apresentaram as mais baixas prevalências (70,0% e 81,3%), sendo que um deles abate também suínos, o que não levou a um aumento da positividade entre os manipuladores. Este dado é corroborado pelos achados de HORIO *et al.* (2001), que observaram não haver diferença significativa de soro-reagentes entre os funcionários que abatiam suínos (32,4%) e bovinos (33,9%) em matadouro da cidade de Kitakyushu, no Japão, examinando 67 magarefes. Tendo por base estes dados, passou-se a considerar o grupo dos 64 funcionários como um todo.

Vários levantamentos sorológicos realizados em humanos no Brasil mostraram que, em indivíduos adultos, a taxa de prevalência varia de 40% a 80% (SOUZA *et al.*, 1987; CAMARGO, 1996; CANTOS *et al.*, 2000). A prevalência é geralmente mais alta em veterinários, funcionários de abatedouros e naqueles que lidam com gatos (ISHIZUKA, 1978; SOUZA, 1995; URQUHART *et al.*, 1990). Os resultados sorológicos encontrados nos soros humanos da presente pesquisa (84,4% de soro-reagentes) corroboram essas afirmações. Entretanto, a freqüência de reagentes é um pouco mais baixa que a encontrada por ISHIZUKA (1978) que, avaliando a freqüência de reagentes ao *T. gondii* pela prova de RIFI (IgG) em 102 magarefes, detectou 97,1% deles positivos, enquanto que em mesmo número de metalúrgicos de São Paulo, 70% reagiram positivamente, havendo nítida diferença estatística entre os dois grupos de trabalhadores. Os dados da presente pesquisa concordam parcialmente com os achados de SOUZA (1995) que, analisando soroprevalências para toxoplasmose em três abatedouros do Rio de Janeiro,

encontrou 84,7% de 72 magarefes reagentes às provas de RIFI e/ou HAI. Do total de humanos analisados pelo autor, 64% relataram que ingeriam carne crua ou mal cozida com frequência e/ou tinham a presença de gatos em sua residência. No entanto, dos 1.256 suínos examinados pelo autor, apenas 1,11% foram reagentes para *T. gondii*. Os animais eram provenientes de granjas tecnificadas e não geravam risco ocupacional para os funcionários de abatedouros desses animais.

Com relação a variável sexo, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os indivíduos examinados. Este resultado corrobora os achados por outros autores (SOUZA *et al.*, 1987; GARCIA *et al.*, 1999b; HORIO *et al.*, 2001) que sugerem que eventuais diferenças observadas ocorreriam ao acaso, a menos que as mulheres tivessem atividades diferenciadas dos homens, o que levaria a uma exposição a fatores de risco menor ou maior. No presente trabalho, indivíduos de ambos os sexos desenvolviam atividades de manipulação de carcaças e vísceras nos abatedouros.

Com relação a variável idade, tem sido relatado que há aumento da prevalência da infecção por *T. gondii* com a elevação da faixa etária (AMENDOEIRA, 1980; SOUZA *et al.*, 1987; SPALDING, 2000; HORIO *et al.*, 2001). Os resultados do presente estudo indicam um aumento proporcional da frequência de soro-reagentes nas faixas etárias mais elevadas, pois com o aumento da idade, aumentam as chances do indivíduo entrar em contato com um dos diversos mecanismos de transmissão da protozoose (AMENDOEIRA *et al.*, 1999; SPALDING, 2000). No entanto, não foram verificadas diferenças estatísticas significantes em relação à distribuição dos soro-reagentes por faixa etária, corroborando os achados de GARCIA *et al.* (1999b).

O tempo de serviço nos matadouros estudados não apresentou diferença estatisticamente significativa na distribuição dos soro-reagentes entre os funcionários com menos de cinco anos e os com mais de seis anos de atividades. Este dado não está de acordo com HORIO *et al.* (2001), que encontraram considerável diferença de soro-reagentes entre os funcionários de um matadouro de Kitakyushu, no Japão, com menos de cinco anos (25%) e os com mais de seis anos (41,5%) de atividades no estabelecimento.

O contato com gatos não influenciou na distribuição de soro-reagentes entre os funcionários dos matadouros examinados. A positividade foi maior entre os que não possuíam gatos (90%) do que entre os que possuíam contato com esses animais (75%), embora esta diferença não tenha sido considerada estatisticamente significativa. Este achado concorda em parte com HORIO *et al.* (2001), que também encontrou maior positividade entre magarefes não proprietários de gatos (41,7%) do que entre proprietários desses animais (10,5%), diferença esta significativa. O autor sugeriu que gatos não seriam a principal fonte de infecção para estes trabalhadores, mas sim os animais produtores de carne, abatidos no matadouro.

Alguns autores atribuem grande importância do consumo de carne vermelha em relação ao aumento da infecção por *T. gondii* em humanos (DUBEY & BEATTIE, 1988; ARIAS *et al.*, 1994b; ROBERTS *et al.*, 1994; CHOI *et al.*, 1997; BARIL *et al.*, 1999; AMENDOEIRA *et al.*, 1999). Provavelmente, este fator de exposição não influenciou significativamente no aumento da soropositividade dos indivíduos examinados, pois 84,1% dos indivíduos que comem carne crua ou mal cozida eram soro-reagentes, enquanto 85,0% dos que não comem também apresentavam anticorpos específicos anti-*T. gondii*, o que sugere que a ingestão de cistos teciduais pelo consumo de carne crua ou mal cozida não foi o fator responsável pela infecção de grande parte desses indivíduos. Uma possível explicação para o achado reside no pouco conhecimento da densidade de cistos teciduais existentes na carne e vísceras dos animais de açougue (ESTEBAN-REDONDO *et al.*, 1999).

Em animais de grande porte, os cistos podem estar distribuídos em dispersão pelos tecidos (DUBEY & THULLIEZ, 1993). Em geral, a densidade do parasita na musculatura é baixa, com cerca de um organismo de *T. gondii* por 50 a 100 gramas de carne (ECKERT, 1996). Porém, mesmo que a incidência da infecção da carne seja baixa, a frequência com que é consumida proporcionará o grau de exposição e risco à infecção toxoplásmica (FRENKEL & DUBEY, 1972). Por outro lado, BARIL *et al.* (1999) associaram o consumo de carne bovina crua ou mal cozida à soroconversão de mulheres gestantes, considerando-a como fator de alto risco à infecção por *T. gondii* para esse grupo de risco na França. Das mulheres que soroconverteram à toxoplasmose durante a gravidez, 53,3% declararam possuir o hábito de ingerir carne bovina crua ou mal cozida.

No presente trabalho observou-se que 95,3% dos soro-reagentes apresentaram títulos baixos ($\leq 1:64$) e total ausência de anticorpos IgM específicos anti-*T. gondii* nessa população, sugerindo a existência de infecção crônica nos magarefes estudados. Estes dados corroboram os de SOUZA (1995), que também encontrou baixos títulos em magarefes.

Outro aspecto a ser considerado é que, nos matadouros de bovinos pesquisados, a reduzida mão-de-obra e a linha de abate não mecanizada (predominantemente manual, com as carcaças sendo empurradas manualmente), faz com que os funcionários assumam múltiplas funções na sala de matança, manipulando diversas partes e regiões dos animais. Além disso, o hábito que alguns magarefes possuem de passar as mãos no rosto, sem prévia lavagem com sabão, com as finalidades de escorrer o suor e de retirar o sangue que espirra dos animais em operação, pode favorecer a ingestão de cistos do parasita durante as atividades de abate, podendo ser mais um fator associado a alta prevalência encontrada nos soros desses indivíduos. Segundo ISHIZUKA (1978) e HORIO *et al.* (2001), o risco ocupacional em matadouros deve ser considerado importante, posto que a pele lesada pode se constituir porta de entrada ao protozoário durante o manuseio de carcaças e/ou de vísceras de animais, ou, ainda, pela ingestão de carne crua durante as atividades.

O parasita tem sido isolado apenas raramente de tecidos de bovinos naturalmente infectados, apesar de haver algumas referências ocasionais de isolamentos com sucesso no Japão, República Checa, Itália e Argentina, todas citadas por DUBEY (1986).

DUBEY (1992) isolou o parasita dos intestinos de uma vaca naturalmente infectada por *T. gondii* e DUBEY & THULLIEZ (1993) demonstraram que cistos teciduais podem permanecer viáveis por períodos superiores a três anos em corações, línguas e fígados de bovinos experimentalmente infectados. Esses achados demonstram a nítida existência de risco de infecção por *T. gondii* pela manipulação não higiênica (principalmente para evisceradores e inspetores) ou mesmo pelo consumo dessas partes de forma crua ou mal cozida.

O fato de o parasita ter sido isolado em camundongos e gatos a partir de amostras de tecidos de bovinos (natural ou experimentalmente infectados) e também

do colostro e de leite cru, indica que a carne e o leite bovinos não podem ser descartados como potenciais reservatórios da infecção na epidemiologia da toxoplasmose (DUBEY, 1986). Essas referências fortalecem a suposição de que os animais soropositivos, revelados nesta pesquisa, poderiam ser mais uma fonte de infecção de *T. gondii*, tanto quando manipuladas as suas carnes e vísceras em abatedouros, açougues e em nível doméstico, quanto quando forem consumidos esses produtos crus ou mal cozidos com frequência.

Na microrregião de Pato Branco são bastante comuns a comercialização e o consumo de leite bovino cru e produtos derivados (principalmente queijos), sem prévia pasteurização. HIRAMOTO *et al.* (2001) demonstraram que cistos de *T. gondii* podem sobreviver no leite e queijo frescos, não submetidos a tratamento térmico, considerando tais produtos como importantes fontes de transmissão da toxoplasmose no meio rural, onde geralmente não se pasteuriza o leite antes de se consumi-lo ou de processá-lo. Esses fatores aumentariam o potencial da espécie bovina como disseminadora da infecção toxoplásmica pelo consumo de produtos de origem animal.

6 CONCLUSÕES

- A frequência de bovinos reagentes à RIFI para anticorpos anti-*T. gondii* da classe IgG, nos quatro abatedouros de bovinos da microrregião de Pato Branco, foi de 41,4%;
- As diferenças entre as soroprevalências encontradas nos bovinos do sexo masculino em relação ao sexo feminino não foram significativas, sugerindo variações ocasionais;
- O fator idade não mostrou associação significativa com a infecção toxoplásmica nos bovinos examinados, embora tenha sido observado maior percentual de soro-reagentes entre os animais com menos de um ano de idade;
- A origem dos animais abatidos nos quatro matadouros da microrregião de Pato Branco não influenciou na frequência da infecção por *T. gondii*;
- As altas prevalências de anticorpos anti-*T. gondii* encontradas nesta pesquisa indicam a necessidade de realização de outras pesquisas sorológicas e bioensaios a partir de material de bovinos, com a finalidade de se esclarecer melhor a participação de produtos derivados desses animais na cadeia de transmissão da toxoplasmose;
- As reações de RIFI-IgG e de ELISA-IgG apresentaram nível regular de concordância ($\kappa = 0,55$), tornando necessária a realização dos dois testes como marcadores sorológicos confiáveis para exame dos funcionários dos matadouros;

- A freqüência de funcionários dos quatro matadouros da microrregião de Pato Branco, reagentes para a presença de anticorpos anti-*T. gondii* da classe IgG, por meio das técnicas de ELISA e RIFI foi alta, sendo de, respectivamente, 84,4% e 67,2%;
- A freqüência de soro-reagentes, por estabelecimento de abate de bovinos, na microrregião de Pato Branco, não foi estatisticamente diferente. No entanto, observou-se uma variação de 70,0% a 90,9% entre os funcionários dos quatro matadouros nos três municípios;
- O sexo não influenciou a freqüência de soro-reagentes entre os funcionários de abatedouros da microrregião de Pato Branco;
- O aumento proporcional da freqüência de soro-reagentes nas faixas etárias mais elevadas sugere que as chances do indivíduo entrar em contato com um dos diversos mecanismos de transmissão aumentam com a idade, embora o fator idade não tenha mostrado diferenças estatisticamente significantes;
- O tempo de serviço nos matadouros estudados, provavelmente, não influenciou na ocorrência da infecção dos funcionários dos matadouros, uma vez que não foi observada diferença estatisticamente significativa na distribuição dos soro-reagentes entre os que possuíam menos de cinco anos e os que possuíam mais de seis anos de atividades;
- As variáveis “ingestão de carne crua ou mal cozida” (cistos teciduais) e “contato com gatos” (oocistos) provavelmente não contribuíram para o aumento da ocorrência da infecção de funcionários de abatedouros da microrregião de Pato Branco, embora possam ter facilitado a infecção destes ao longo do tempo;
- Os baixos títulos de anticorpos IgG específicos anti-*T. gondii* aliados à ausência de IgM reagentes encontrados nos funcionários de abatedouros da

microrregião de Pato Branco, sugerem que estes indivíduos estavam na fase crônica da infecção;

- A alta prevalência de reagentes em bovinos e em funcionários de matadouros desses animais, revelada nesta pesquisa, sugere que esses bovinos possam servir de fonte de infecção, tanto para os manipuladores de suas carcaças e vísceras em abatedouros, como para os consumidores que têm o hábito de consumir carne bovina crua ou mal cozida;

- Os manipuladores e os consumidores de carne bovina devem ser alertados quanto ao risco de infecção por *T. gondii* por meio deste produto e orientados quanto à necessidade de adoção de medidas higiênicas e preventivas que visam minimizar a possibilidade de infecção desses indivíduos.

REFERÊNCIAS

AMENDOEIRA, M. R. R. **Tentativa de evidenciação de *Toxoplasma gondii* em saliva e/ou amídalas em dois grupos de indivíduos do Rio de Janeiro: aspectos sorológicos.** Rio de Janeiro, 1980. 82f. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária). Fundação Oswaldo Cruz.

AMENDOEIRA, M. R. R.; COUTINHO, S. G. Isolation of *Toxoplasma gondii* from saliva and tonsils of a three-years old child. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.145, p.587, 1982.

AMENDOEIRA, M. R. R. Mecanismos de transmissão da toxoplasmose. **Anais da Academia Nacional de Medicina**, Rio de Janeiro, v.155, n.4, p.224-225, 1995.

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

ARIAS, M. L.; CHINCHILLA, M.; REYES, L.; SABAH, J.; GUERRERO, O. M. Determination of *Toxoplasma gondii* in several organs of cattle by carbon immunoassay (CIA) testing. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.55, p.133-136, 1994a.

ARIAS, M. L.; REYES, L.; CHINCHILLA, M.; LINDER, E. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* in meat producing animals in Costa Rica. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v.42, n.1/2, p.15-20, 1994b.

BARIL, L.; ANCELLE, T.; GOULET, V.; THULLIEZ, P.; TIRARD-FLEURY, V.; CARME, B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case-control study in France. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Oslo, v.31, p.305-309, 1999.

BEYER, T. V.; SHEVKUNOVA, E. A. A review of toxoplasmosis of animals in the U.S.S.R. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.19, p.250-243, 1986.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A. L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.30, n.1, p.21-25, 1997.

BUSATO, A.; STEINER, L.; GOTTSTEIN, B.; GAILLARD, C. Frequency and etiology of calf losses and calf diseases in cow-calf farms. III. Seroprevalence of selected diseases and prevalence of endoparasites at weaning age. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v.104, n.6, p.191-195, 1997.

CABRAL, D. D.; SILVA, D. A. O.; MINEO, J. R.; FERREIRA, F. A.; DURAN, F. P. Frequency of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Uberlândia-MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.7, n.2, p.87-90, 1998.

CAMARGO, M. E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.6, p.117-118, 1964.

CAMARGO, M. E. Toxoplasmose. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**, Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 1996. p.165-174.

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

CHAPLIN, E. L.; SILVA, N. R. S.; SEBEN, J. C.; ARAÚJO, F. A. P.; MENDEZ, L. D. V. Cadeia epidemiológica da toxoplasmose em Guaporé/RS, relacionando humanos e seus animais domésticos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v.12, p.25-34, 1984.

CHOI, W. Y.; NAM, H. W.; KWAK, N. H.; HUH, W.; KIM, Y. R.; KANG, M. W.; CHO, S. Y.; DUBEY, J. P. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.175, p.1280-1282, 1997.

COSTA, A. J.; AVILA, F. A.; KASAI, M.; PAULILLO, A. C.; SILVA, M. B.; GALLESKO, H. Anticorpos antitoxoplasma em soros de bovinos do município de Jaboticabal, SP, BR. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.45, n.4, p.299-302, 1978.

COSTA, A. J.; COSTA, E. P. Freqüência de bovinos reagentes à RIFI para *Toxoplasma gondii* em Poços de Caldas, MG. **Arquivos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, v.30, n.1, p.47-51, 1978.

D'AGOSTINO, L. E. Diagnóstico serológico de toxoplasmosis. Actualización. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, Buenos Aires, v.28, n.3, p.399-403, 1994.

DEAN, J. A.; COULOMBIER, D.; SMITH, D. C.; BRENDER, K. A.; ARNER, T. G.; DEAN, A. G. **Epi-Info, version 6.0b**, Atlanta, 1997 (CD-ROM).

DENKERS, E. Y. T lymphocyte-dependent effector mechanisms of immunity to *Toxoplasma gondii*. **Microbes and Infection**, Paris, v.1, p.699-708, 1999.

DEROUIN, F.; GARIN, Y. J. F. Isolement de *Toxoplasma gondii* par culture cellulaire chez les sujets infectés par le VIH. **La Presse Médicale**, Paris, v.21, n.39, p.1853-1856, 1992.

DOMINGUES, L. M.; MACHADO, R. Z.; COSTA, M. T.; CARVALHO, C. S.; COSTA, A. J.; MALHEIROS, E. B. Canine Toxoplasmosis: a comparative evaluation of the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies by the indirect immunoenzymatic assay (ELISA) and the indirect immunofluorescence reaction (IIF). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v.7, n.2, p.79-85, 1998.

DUBEY, J. P. Serologic prevalence of toxoplasmosis in cattle, sheep, goats, pigs, bison and elk in Montana. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.186, n.9, p.969-970, 1985.

DUBEY, J. P. A review of toxoplasmosis in cattle. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.22, p.177-202, 1986.

DUBEY, J. P. Isolation of *Toxoplasma gondii* from a Naturally Infected Beef Cow. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.78, n.1, p.151-153, 1992.

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

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

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

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

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v.54, n.2, p.270-273, 1993.

DUBEY, J. P.; THULLIEZ, P.; ROMAND, S.; KWOK, O. C. H.; SHEN, S. K.; GAMBLE, H. R. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in horses slaughtered for food in North America. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.86, p.235-238, 1999.

DUBEY, J. P. WEIGEL, R. M.; SIEGEL, A. M.; THULLIEZ, P.; KITRON, U. D.; MITCHELL, M. A.; MANNELLI, A.; MATEUS-PINILLA, N. E.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; TODD, K. S. Sources of *Toxoplasma gondii* infection on 47 swine farms in Illinois. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.81, n.5, p.723-729, 1995b.

ECKERT, J. Workshop summary: food safety: meat- and fish-borne zoonoses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.64, p.143-147, 1996.

EL-METENAWY, T. M. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies among domesticated ruminants at Al-Qassim Region, Saudi Arabia. **Deutsche Tierärztliche Wochenschrift**, Hannover, v.107, n.1, p.32-33, 2000.

ESTEBAN-REDONDO, I.; INNES, E. A. *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, Paris, v.20, n.2, p.191-196, 1997.

ESTEBAN-REDONDO, I.; MALEY, S. W.; THOMSON, K.; NICOLL, S.; WRIGHT, S.; BUXTON, D.; INNES, E. A. Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.86, p.155-171, 1999.

FACHADO, A.; FONSECA, L.; FONTE, L.; ALBERTI, E.; COX, R.; BANDERA, F. *Toxoplasma gondii* antigenuria in patients with Acquired Immune Deficiency Syndrome. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.92, n.5, p.589-593, 1997.

FERRARONI, J. J.; MARZOCHI, M. C. A. Prevalência da infecção pelo *Toxoplasma gondii* em animais domésticos, silvestres e grupamentos da Amazônia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.75, n.1-2, p.99-109, 1980.

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

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P. Toxoplasmosis and its prevention in cats and man. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.126, p.664-673, 1972.

GAJADHAR, A. A.; ARAMINI, J. J.; TIFFIN, G.; BISAILLON, J. R. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in canadian market-age pigs. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.84, n.4, p.759-763, 1998.

GAMBLE, H. R. Parasites associated with pork and pork products. **Revue scientifique et technique de l'Office Internationale des Epizooties**, Paris, v.16, n.2, p.496-506, 1997.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C. 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**, Santa Maria, v.29, n.1, p.91-97, 1999a.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C.; GARCIA, S. M. F.; LEITE, J. Soroepidemiologia da toxoplasmose e avaliação ocular pela Tela de Amsler, em pacientes da zona rural, atendidos pela unidade de saúde do município de Jaguapitã, PR, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.32, n.6, p.671-676, 1999b.

GARCIA-VAZQUEZ, Z.; ROSARIO-CRUZ, R.; DIAZ-GARCIA, G.; HERNANDEZ-BAUMGARTEN, O. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, swine and goats in four Mexican states. **Preventive Veterinary Medicine**, Amsterdam, v.17, p.127-132, 1993.

GLASER, C. A.; ANGULO, F. J.; ROONEY, J. A. Animal associated opportunistic infections among persons infected with the immunodeficiency virus. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.18, p.14-24, 1994.

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

GUIMARÃES, M. C.; COUTINHO, S. G.; ANTUNES, C. M. F. Normas para a sorologia de moléstias parasitárias. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.20, n.1, p.55-58, 1987.

GUIMARÃES, A. C. S.; KAWARABAYASHI, M.; BORGES, M. M.; TOLEZANO, J. E.; ANDRADE JUNIOR., H. F. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo Metropolitan region. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v.35, p.479-483, 1993.

HERWALDT, B.; JURANEK, D. D. Laboratory acquired malaria, leishmaniasis, trypanosomiasis and toxoplasmosis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, McLean, v.48, n.3, p.313-323, 1993.

HIRAMOTO, R. M.; BORGES, M. M.; GALISTEO, A. J.; MEIRELES, L. R.; MACRE, M. S.; ANDRADE JUNIOR, H. F. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.35, n.2, p.113-118, 2001.

HORIO, M.; NAKAMURA, K.; SHIMADA, M. Risk of *Toxoplasma gondii* infection in slaughterhouse workers in Kitakyushu City. **Journal of University of Occupational and Environmental Health**, Kitakyushu, v.23, n.3, p.233-243, 2001.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **População**. Disponível em <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em 28 de dezembro de 2002.

INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. **Base de dados**. Disponível em <<http://www.ipardes.gov.br>>. Acesso em 28 de dezembro de 2002.

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.

JANKU, J. Pathogenesis and pathologic anatomy of coloboma of the macula lutea in an eye of normal dimensions and in a microphthalmic eye with parasites in the retina. **Casopis Lekaru Ceskych**, Praga, v.39, n.43, p.1021-1144, 1923.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Atheneu, 1997. p.174-187.

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

LIESENFELD, O. Oral Infection of C57BL/6 Mice with *Toxoplasma gondii*: a new model of inflammatory Bowel Disease? **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.185 (Suppl.1), p.S96-S101, 2002.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v.193, n.1, p.265-275, 1951.

MARANA, E. R. M.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; FREIRE, R. L.; LOTT, R. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de corte, abatidos em matadouros do norte do Paraná – Brasil. **Semina**, Londrina, v.15, n.1, p.38-40, 1994.

MARANA, E. R. M.; VENTURINI, A. C. H.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; NAVARRO, I.T. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em rebanhos de bovinos de leite do norte do Paraná – Brasil. **Semina**, Londrina, v.16, n.1, p.40-42, 1995.

MATSUO, K.; HUSIN, D. A survey of *Toxoplasma gondii* antibodies in goats and cattle in Lampung Province, Indonesia. **Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, Bangkok, v.27, n.3, p.554-555, 1996.

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

MITSUKA, R.; SILVA, A. C. B.; NAVARRO, I. T.; BREGANÓ, J. W.; VIDOTTO, O. *Toxoplasma gondii*: I. Avaliação da virulência de oito amostras. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v.25, n.1, p.29-31, 1998.

MONTOYA, F. M.; RAMIREZ, L. E.; LOAIZA, A. H.; HENAO, J. C.; MURILLO, G. G. Prevalencia de anticuerpos para *Toxoplasma gondii* en bovinos y porcinos. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, Washington, v.91, n.3, p.219-226, 1981.

MONTOYA, J. G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and Toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.185 (suppl.1), p.S73-S82, 2002.

MORENO, T.; MARTINEZ-GOMEZ, F.; BECERRA, C. The seroprevalence of bovine toxoplasmosis in Cordoba, Spain. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, Liverpool, v.85, n.2, p.285-286, 1991.

NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R. Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em lingüiça de suínos. **Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana**, Washington, v.112, n.2, p.139-143, 1992.

OLIVEIRA, F. C. R.; COSTA, A. J.; SABATINI, G. A. Anticorpos em bovinos (*Bos indicus* e *Bos taurus*) e bubalinos (*Bubalus bubalis*) inoculados com oocistos de *Toxoplasma gondii*. Estudo comparativo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.52, n.4, p.331-336, 2000.

PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia Médica**. 11 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 872p.

PEIXOTO, C. M. S.; LOPES, C. W. G. Patogenicidade para camundongos do *Toxoplasma gondii* (NICOLLE e MANCEAUX, 1909, Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolado de galinhas naturalmente infectadas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, Belo Horizonte, v.4, n.1, p.37-41, 1995.

PITA-GONDIM, L. F.; BARBOSA JUNIOR, H. V.; RIBEIRO FILHO, C. H. A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v.82, p.273-276, 1999.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem das Américas e da África**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 731p.

ROBERTS, T.; MURRELL, K. D.; MARKS, S. Economic losses caused by Foodborne Parasitic Diseases. **Parasitology Today**, Cambridge, v.10, n.11, p.419-423, 1994.

ROGER, F.; PRUNAUX, O.; GUIGNARD, A. La Toxoplasmose bovine et caprine a l'île de la Réunion: resultats d'une enquete sérologique. **Revue de Médecine Vétérinaire**, Toulouse, v.142, n.2, p.143-146, 1991.

ROSE, A. G.; UYS, C. J.; NOVITSKY, D.; COOPER, D.; BARNARD, C. N. Toxoplasmosis of donor and recipient hearts after heterotropic cardiac transplantation. **Archives of Pathology and Laboratory Medicine**, Northfield, v.107, p.368-373, 1983.

SABIN, A. B. Biological and immunological identity of *Toxoplasma* of animal and human origin. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, New York, v.41, p.75-80, 1939.

SANCHEZ, R. M.; CASTILLO, F. C.; GRANA, J. P. Comparación de ELISA con las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y fijación del complemento para el diagnóstico de la toxoplasmosis. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, Havana, v.37, n.3, p.269-277, 1985.

SANGER, V. L.; CHAMBERLAIN, D. M.; CHAMBERLAIN, K. W.; COLE, C. R.; FARRELL, R. L. Toxoplasmosis. V. Isolation of *Toxoplasma* from cattle. **Journal of American Veterinary Medical Association**, Chicago, v.123, p.87-91, 1953.

SILVA, N. R. S.; ARAÚJO, F. A. P.; CHAPLIN, E. L. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de bovinos de corte, abatidos em matadouros, no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, Porto Alegre, v.13, p.43-49, 1985.

SILVEIRA, C., BELFORT JUNIOR, R.; BURNIER JUNIOR, M.; NUSSENBLATT, R. Acquired toxoplasmic infection as the cause of toxoplasmic retinochoroiditis in families. **American Journal of Ophthalmology**, Chicago, v.106, p.362-364, 1988.

SLIFKO, T. R.; SMITH, H. V.; ROSE, J. B. Emerging parasite zoonoses associated with water and food. **International Journal for Parasitology**, New York, v.30, p.1379-1393, 2000.

SOUZA, W. J. S.; COUTINHO, S. G.; LOPES, C. W. G.; 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**, Rio de Janeiro, v.82, n.4, p.475-482, 1987.

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

SPALDING, S. M. **Acompanhamento de gestantes com risco de transmissão de infecção congênita por *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) na região do Alto Uruguai, RS, Brasil – Diagnóstico e aspectos epidemiológicos**. Rio de Janeiro, 2000. 129f. Tese (Doutorado em Biologia Parasitária). Fundação Oswaldo Cruz.

SPEER, C. A.; CLARK, S.; DUBEY, J. P. Ultrastructure of the oocysts, sporocysts and sporozoites of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.84, n.3, p.505-512, 1998.

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

UCHOA, C. M. A.; DUARTE, R.; SILVA, V. L.; ALEXANDRE, G. M. C.; FERREIRA, H. G.; AMENDOEIRA, M. R. R. Padronização de ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de imunofluorescência indireta. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v.32, n.6, p.661-669, 1999.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990. p. 247-251.

VAN KNAPEN, F. V. **Immunodiagnosis of Toxoplasmosis**. Wagenigen: Academisch Proefschrift, Drukkerij Veenman, B. V., 1984. 125p.

VOLLER, A.; BIDWELL, D. E.; BARTLETT, A. Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. **Bulletin of the World Health Organization**, Geneve, v.53, n.1, p.55-65, 1976.

WARNEKULASURIYA, M. R.; JOHNSON, J. D.; HOLLIMAN, R. E. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.45, p.211-215, 1998.

WENDEL, S. Current concepts on transmission of bacteria and parasites by blood components. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, Lawrence, v.41, n.5, p.161-174, 1994.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmosis in pregnancy. **Clinical Infectious Diseases**, Chicago, v.18, p.853-862, 1994.

YAMAMOTO, J.; VALLOCHI, A. L.; SILVEIRA, C.; KALIL FILHO, J.; NUSSENBLATT, R. B.; CUNHA-NETO, E.; GAZZINELLI, R. T.; BELFORT JUNIOR, R.; RIZZO, L. V. Discrimination between patients with acquired toxoplasmosis and congenital toxoplasmosis on the basis of the immune response to parasite antigens. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v.181, p.2018-2022, 2000.

ANEXO 1**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA EXAME SOROLÓGICO DE TOXOPLASMOSE EM FUNCIONÁRIOS DE ABATEDOUROS**

Instituição: Laboratório de Toxoplasmose, Departamento de Protozoologia, Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ.

Pesquisa: Ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1909) em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, PR, Brasil.

Investigadores: Heitor Daguer; Maria Regina Reis Amendoeira.

Eu, _____, fui informado(a) que este estudo visa obter mais conhecimentos sobre a toxoplasmose. A minha participação será fornecer amostras de meu sangue para avaliação sorológica, assim como fornecer dados sobre alguns dos meus hábitos e costumes. Estou ciente de que os resultados deste estudo poderão não me beneficiar diretamente, mas poderão, no futuro, vir a beneficiar outras pessoas.

O procedimento consistirá na obtenção de 5 mL de sangue por punção da veia do antebraço, podendo, em algum outro momento da pesquisa, ser solicitada uma nova coleta de material. A retirada do sangue será feita por um médico, enfermeiro ou técnico habilitado e em local adequado a este tipo de trabalho. Os possíveis desconfortos e riscos, se ocorrerem, são relacionados com a retirada do sangue, como dor local e/ou hematoma no local da punção, com duração de 3 a 5 dias. Todos os cuidados apropriados serão tomados, com uso de seringa, agulha e gaze descartáveis e álcool para assepsia local, entre outros.

Os resultados deste estudo serão relatados à minha pessoa e considerados confidenciais, podendo os mesmos serem divulgados na comunidade científica, entretanto, não será permitida a minha identificação, garantindo a minha privacidade.

O pesquisador responsável esclareceu todas as informações citadas neste termo, estando à disposição para atender minhas perguntas sempre que eu tiver novas dúvidas. Também tenho toda a liberdade para contatar os demais pesquisadores envolvidos neste estudo.

Minha participação neste estudo é inteiramente voluntária e sou livre para recusar participação ou retirar-me em qualquer fase da pesquisa.

Recebi uma cópia deste termo de consentimento e, pelo presente, consinto voluntariamente em participar deste estudo, permitindo que os procedimentos descritos acima sejam realizados.

Data: ____/____/____

Assinatura: _____ **RG:** _____

Testemunha: _____ **RG:** _____

Pesquisador responsável: _____

ANEXO 2**AVALIAÇÃO DA INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* EM FUNCIONÁRIOS DE MATADOUROS DE BOVINOS DA MICRORREGIÃO DE PATO BRANCO, PR, BRASIL**

Nome do funcionário: _____

Apelido: _____

Sexo: () M () F

Data de nascimento: ____/____/____

Naturalidade: _____

Local de trabalho: _____ SIP: _____

Função(ões): _____

Data de admissão: ____/____/____

Endereço: _____

Localidade: _____ Cidade: _____

Ingere carne crua ou mal cozida? () SIM () NÃO

Possui contato com felinos? () SIM () NÃO

Data da coleta de sangue: ____/____/____

RESULTADOS DOS EXAMES SOROLÓGICOS:Legenda: (+) POSITIVO
(-) NEGATIVO

- Reação de imunofluorescência indireta (RIFI): () IgM- títulos: _____
() IgG - títulos: _____
Data: ____/____/____
- Imunoensaio enzimático (ELISA-IgG): () _____
Data: ____/____/____

OBSERVAÇÕES:

ANEXO 3**REAGENTES E SOLUÇÕES UTILIZADOS EM RIFI****1 SOLUÇÃO TAMPÃO**

- Solução salina tamponada com fosfatos 0,01M, pH 7,2 (PBS):
Cloreto de sódio (NaCl) 8,18 g
- Para uso de um desses fosfatos monobásicos, pesar:
Fosfato de sódio monobásico hidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) 0,357 g
Fosfato de sódio monobásico anidro (NaH_2PO_4) 0,310 g
- Para uso de um desses fosfatos dibásicos, pesar:
Fosfato de sódio dibásico anidro (Na_2HPO_4) 1,051 g
Fosfato de sódio dibásico bi-hidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 1,318 g
Fosfato de sódio dibásico hepta-hidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 1,984 g
- Adicionar aos sais água destilada (H_2O), q.s.p. 1.000 mL

2 SOLUÇÃO DE AZUL DE EVANS

- Solução mãe (1 parte)
- PBS (9 partes)

3 GLICERINA TAMPONADA

- Glicerina (90 mL)
- Tampão para glicerina (10 mL)

ANEXO 4**REAGENTES E SOLUÇÕES UTILIZADOS EM ELISA****1 SOLUÇÃO SALINA TAMPONADA COM FOSFATO 0,01M, pH 7,2 (PBS) q.s.p. 1.000mL**

- | | |
|--|---------|
| ▪ Cloreto de sódio (NaCl) | 8,18 g |
| ▪ Fosfato de sódio dibásico anidro (Na ₂ HPO ₄) | 1,051 g |
| ▪ Fosfato de sódio monobásico anidro (NaH ₂ PO ₄) | 0,357 g |

2 PBS 0,01 M, pH 7,2 COM TWEEN 0,05%

- | | |
|--|---------|
| ▪ Cloreto de sódio (NaCl) | 8,18 g |
| ▪ Fosfato de sódio dibásico anidro (Na ₂ HPO ₄) | 1,051 g |
| ▪ Fosfato de sódio monobásico anidro (NaH ₂ PO ₄) | 0,357 g |
| ▪ Tween 20 | 0,5 mL |

3 TAMPÃO FOSFATO-CITRATO PARA DILUIÇÃO DO OPD

- | | |
|---|--------|
| ▪ Solução A: H ₂ O q.s.p. 1.000 mL | |
| Na ₂ HPO ₄ | 11,9 g |
| ▪ Solução B: H ₂ O q.s.p. 1.000 mL | |
| Ácido cítrico (C ₆ H ₈ O ₇) | 7,0 g |
| ▪ Titular solução B com A para pH 4,9 a 5,0 (colocar 1 litro da solução B – ácida – e ajustar com a solução A – fosfato –). | |

4 SOLUÇÃO REVELADORA COM SUBSTRATO PARA ELISA

- | | |
|---|---------|
| ▪ Ortofenilenodiamina | 0,01 g |
| ▪ Tampão citrato-fosfato | 25 mL |
| ▪ Água oxigenada (H ₂ O ₂) 30% | 0,01 mL |

5 TAMPÃO CARBONATO-BICARBONATO 0,06 M, pH 9,6

- | | |
|--|----------|
| ▪ Solução A: H ₂ O q.s.p. 1.000 mL | |
| Bicarbonato de sódio (NaHCO ₃) | 5,0406 g |
| ▪ Solução B: H ₂ O q.s.p. 1.000 mL | |
| Carbonato de sódio (Na ₂ CO ₃) | 6,359 g |
| ▪ Colocar 1 parte da solução B e 4 partes da solução A. ajustar o pH para 9,6 (se estiver mais alto, ajustar com bicarbonato). | |

ANEXO 5

PREVALÊNCIAS DE ANTICORPOS ANTI-*T. gondii* EM BOVINOS REGISTRADAS EM DIVERSOS INQUÉRITOS SOROLÓGICOS NO PERÍODO DE 1978 A 2003

1 BRASIL

Estado	Teste sorológico	Número de animais	% de reagentes	Referência
São Paulo	RIFI	204	32,3	COSTA <i>et al.</i> , 1978
Minas Gerais	RIFI	350	12,0	COSTA & COSTA, 1978
Amazonas	HAI	25	60,0	FERRARONI & MARZOCHI, 1980
Rio Grande do Sul	HAI	112	5,4	CHAPLIN <i>et al.</i> , 1984
Rio Grande do Sul	HAI	1.100	3,7	SILVA <i>et al.</i> , 1985
Paraná	RIFI	334	32,3	MARANA <i>et al.</i> , 1994
Paraná	RIFI	503	48,5	MARANA <i>et al.</i> , 1995
Bahia	LAT	194	1,03	PITA-GONDIM <i>et al.</i> , 1999
Paraná	RIFI	400	25,8	GARCIA <i>et al.</i> , 1999
Paraná	RIFI	348	41,4	Presente trabalho

2 MUNDO

País	Teste sorológico	Número de animais	% de reagentes	Referência
Colômbia	HAI	371	24	MONTOYA <i>et al.</i> , 1981
EUA	MAT	2.539	15,9	DUBEY, 1985
Espanha	RIFI	304	40,1	MORENO <i>et al.</i> , 1991
Ilha da Reunião	ELISA	780	54,2	ROGER <i>et al.</i> , 1991
México	ELISA	397	11,9	GARCIA-VAZQUEZ <i>et al.</i> , 1993
Costa Rica	RIFI	601	34,4	ARIAS <i>et al.</i> , 1994b
Indonésia	LAT	200	9,0	MATSUO & HUSIN, 1996
Suíça	ELISA	148	14,0	BUSATO <i>et al.</i> , 1997
Arábia Saudita	HAI	60	1,7	EL-METENAWY, 2000