UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLÓGICO EM ACADÊMICOS DE MEDICINA VETERINÁRIA DE DUAS UNIVERSIDADES DO OESTE DO PARANÁ PARA A OCORRÊNCIA DE TOXOPLASMOSE E LEPTOSPIROSE.

VANESSA YURI DE LIMA

BOTUCATU - SP
2008

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLÓGICO EM ACADÊMICOS DE MEDICINA VETERINÁRIA DE DUAS UNIVERSIDADES DO OESTE DO PARANÁ PARA A OCORRÊNCIA DE TOXOPLASMOSE E LEPTOSPIROSE.

VANESSA YURI DE LIMA

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Doutor.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Luiz Carlos de Souza

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO DA INFORMAÇÃO DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: Selma Maria de Jesus

Lima, Vanessa Yuri de.

Inquérito soro-epidemiológico em acadêmicos de medicina veterinária de duas universidades do Oeste do Paraná para a ocorrência de toxoplasmose e leptospirose / Vanessa Yuri de Lima. – Botucatu [s.n.], 2008.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2008.

Orientador: Luiz Carlos de Souza

Assunto CAPES: 50502050

1. Toxoplasmose 2. Leptospirose 3. Zoonoses 4. Doenças transmissíveis em animais

CDD 636.08969

Palavras-chave: Acadêmicos; *Leptospira* spp; Sorologia; *Toxoplasma gondii*; Zoonoses

Nome do autor: Vanessa Yuri de Lima

Título: INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLÓGICO EM ACADÊMICOS DE MEDICINA VETERINÁRIA DE DUAS UNIVERSIDADES DO OESTE DO PARANÁ PARA A OCORRÊNCIA DE TOXOPLASMOSE E LEPTOSPIROSE.

COMISSÃO EXAMINADORA

_____
Prof. Adj. Luiz Carlos de Souza
Presidente e Orientador
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ – UNESP – Botucatu/SP

_____
Prof. Titular Helio Langoni
Membro
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ – UNESP – Botucatu/SP

_____
Prof. Ass. Dr. Paulo Francisco Domingues
Membro
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ – UNESP – Botucatu/SP

_____
Prof. Dr. Alexander W. Biondo
Membro
Departamento de Medicina Veterinária
UFPR – Curitiba/PR

_____
Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva
Membro
Coordenador do Mestrado em Ciência Animal
UNIPAR – Umuarama/PR

Data da Defesa: 01 de setembro de 2008.

Dedico esta pesquisa aos meus queridos alunos, que voluntariamente contribuíram para que o trabalho fosse realizado, com compreensão me ajudaram e principalmente torceram pra que desse certo. Muito obrigada “crianças”

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar à minha família que sempre em todos os momentos da minha vida estiveram presente, com amor, carinho, preocupação e cuidado, amo muito vocês.

Ao meu orientador Profº Luiz Carlos (Tenten), que sempre me deu autonomia em todas as minhas decisões, me apoiando e principalmente acreditando nos meus objetivos de vida. Muito obrigada.

Ao Profº Hélio que mais uma vez fez parte do meu crescimento, sempre deixando as portas abertas para que eu realizasse o trabalho, e não esquecer da Cidinha sempre generosa com sua simpatia, obrigada.

Ao Aristeu (Aristas) que serei grata a vida toda, pelos anos de convivência que tive o prazer de ter. Mesmo "adulta" ainda me sinto como no departamento "Aristêêêu". Obrigada e beijo a Anastácia.

À todos (Denise, Maria e José Roberto) da pós-graduação que sempre com muita paciência me atenderam, obrigada.

Aos meus queridíssimos amigos do coração, que não sei o que seria de mim se não os tivessem nas horas difíceis e fáceis também... rsrs. Tenho certeza de que muitas coisas boas estão reservadas a vocês, pessoas competentes, amáveis e divertidas; Rodrigo, muito obrigada, sei que você vai muito longe e tem um coração gigantesco. André, muito obrigada, você sempre me dando força moral, sem falar das horas "relex", que nos momentos de tensão ajudavam sempre, obrigada.

As minhas amigas verdadeiras que mesmo distantes, com a correria da vida que cada uma escolheu, torcem por mim e eu as amo de verdade: Carla (Borto), Julia (Juquinha), Karina (Ma), Sandia (Berga).

Ao Erick (BB), pessoa ímpar que sempre vai ocupar um espação no meu coração, mais uma vez na hora mais complicada da minha vida, estava do meu lado me ajudando muito.

Ao Camilo por acreditar em mim...

Aos residentes da zoonoses e agregados, muito obrigada, principalmente a Leila, que se dispôs a me ajudar.

Agora em especial a todos, que me ajudaram Jaciane e todos da enfermagem (professores e alunos), Fernanda e Rodrigo, que tentaram e se colocaram a disposição, ao Wadilson, que contribuiu com suas "críticas" em relação à tese e a todos docentes e funcionários da PUC/Toledo/PR que estava torcendo por mim, muito obrigada.

Aos meus amigos Cecília e Beto, por não me deixarem sozinha, principalmente na hora de comer, afinal eu "Lenir", estarei sempre presente, obrigada.

E a minha família quadrúpede Bonifácio, Sofia e Abgail, que sempre me deixa muito feliz.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO..... 10
2. REVISÃO DE LITERATURA..... 11
2.1. Toxoplasmose..... 11
2.2. Leptospirose..... 13
3. MATERIAL E MÉTODOS..... 17
3.1. Delineamento experimental..... 17
3.2. Amostras..... 17
3.3. Locais de estudo..... 18
3.4. Colheita de material..... 18
3.5. Detecção de anticorpos séricos anti-*Toxoplasma gondii*..... 18
3.5.1. Método de aglutinação direta (MAD)..... 18
3.6. Detecção de anticorpos séricos anti-*Leptospira* spp..... 19
3.6.1. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)..... 19
3.7. Inquérito epidemiológico segundo EPUSP (2004) modificado..... 19
3.8. Análise estatística..... 20
3.9. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido..... 20
4. RESULTADOS..... 20
5. DISCUSSÃO..... 29
6. CONCLUSÕES..... 38
7. REFERÊNCIAS..... 39
Anexos..... 47
ARTIGO CIENTÍFICO..... 61

LIMA, V.Y. **Inquérito soro-epidemiológico em acadêmicos de medicina veterinária de duas universidades do oeste do Paraná para a ocorrência de toxoplasmose e leptospirose.** Botucatu, 2008, 62p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

As zoonoses são "doenças e infecções naturalmente transmissíveis entre os hospedeiros vertebrados e o homem". Dentre estas enfermidades está à toxoplasmose, zoonose de distribuição mundial que em diversos inquéritos soroepidemiológicos observa-se uma infecção de 70 a 90% das populações. E à leptospirose, atualmente estão disponíveis dados que sugerem que é a enfermidade mais comum dos animais domésticos. O presente estudo verificou hábitos alimentares e de costumes com as zoonoses por meio de levantamento soro-epidemiológico e da ocorrência de infecção na população acadêmica de medicina veterinária de duas universidades localizadas no oeste do estado do Paraná. Foi observado uma porcentagem de 25,5% (73/286) e de 3,8% (11/286) de positividade para a toxoplasmose e leptospirose, respectivamente. Os dados epidemiológicos referentes aos questionários aplicados aos alunos foram analisados, isoladamente para ambas as enfermidades. A associação entre os resultados sorológicos e as variáveis epidemiológicas foi verificada pelos testes de Qui-quadrado ou Exato de Fischer, adotando-se um nível de significância (α) de 5%. Observou-se diferença estatística entre as variáveis conviver com animais dentro de casa, deixar a ração exposta, beber leite cru, área onde a família mora urbana ou rural, ingerir carne crua para a toxoplasmose e somente a variável conviver com animais dentro de casa para a leptospirose. Concluiu-se que a ingestão de alimentos crus, continua sendo um dos principais fatores de risco de infecção pelo *Toxoplasma gondii* entre a população adulta e que a convivência destes acadêmicos com as várias espécies animais, foi o fator de risco principal na população estudada em relação à leptospirose.

Palavras-chave: Acadêmicos; *Leptospira* spp; Sorologia; *Toxoplasma gondii*; Zoonoses

LIMA, V.Y. **Seroepidemiologic inquire in medical veterinary academics of two universities on the west region of Parana state for incidence of toxoplasmosis and leptospirosis.** Botucatu, 2008, 62p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

The zoonoses are diseases and infections naturally transmissible between the vertebrate hosts and humans. Toxoplasmosis is a worldwide distribution zoonosis, that in many seroepidemiologic inquires had infections rates of 70% to 90% of the population. Actual data shows that leptospirosis is the most common disease of the domestic animals. This project correlated behavioral aspects of the veterinary academic population on the west region of Paraná state with the incidence and/or prevalence of toxoplasmosis and leptospirosis using a seroepidemiologic approach. There were total of 25.5% (73/286) and 3.8% (11/286) positive cases for toxoplasmosis and leptospirosis respectively. The epidemiologic data from the students' behavior inquiry were analyzed separately. The association between the serologic results and the epidemiologic data were verified by Chi-square and Fisher exact test, using a significance level (α) of 5%. There were statistical significance between the inquiry variables "live with indoor animals"; "the pet's food is exposed"; "drink raw milk"; "the family lives in urban or country areas"; "ingestion of raw meat" and toxoplasmosis. Living with indoors pets was the only variable with statistical significance for leptospirosis infections. In conclusion, ingestion of raw food continues to be one of the most important risk factors for *Toxoplasma gondii* infections in adult population; and living with various animal species is the main risk factor for leptospirosis.

Key words: Veterinary academic; *Leptospira* spp; Sorologic; *Toxoplasma gondii*; Zoonosis

1. INTRODUÇÃO

Zoonoses são enfermidades compartilhadas entre os homens e os animais, algumas destas doenças, apresentam-se como ocupacionais, despertando nos estudantes e profissionais médicos veterinários e de áreas afins, grande preocupação, por estarem constantemente expostos a várias espécies de animais, com potencial risco de infecção. Mesmo sendo importante em Saúde Pública as zoonoses não são muito estudadas no Brasil. Isso está diretamente associado a vários fatores como a grande extensão territorial, a falta de serviços de saúde em muitas regiões, o deficiente saneamento básico e a falta de educação sanitária. O conhecimento da freqüência das enfermidades, dos fatores que condicionam sua presença, disseminação e manutenção, é de fundamental importância na região oeste do Paraná.

Em relação as zoonoses a leptospirose representa ser uma enfermidade importante no que tange a saúde pública, ocupando em alguns países o primeiro lugar entre as doenças humanas transmitidas por animais (FONTAINE e GANIERE, 1982). A toxoplasmose, outra enfermidade relevante, pois é considerada uma das infecções parasitárias de maior importância médica e veterinária e comum no mundo (MEIRELES, 2005).

Diante destas observações este estudo teve como objetivos verificar hábitos alimentares e de costumes com as zoonoses por meio de levantamento soro-epidemiológico, elaborar hipóteses sobre os meios de infecção da população estudada, em relação às enfermidades leptospirose e toxoplasmose e levantar a ocorrência da infecção na população acadêmica de medicina veterinária de duas universidades localizadas nos municípios de Toledo e Palotina, Paraná.

2. REVISÃO DE LITERATURA

O conceito zoonoses foi introduzido na literatura pelo médico Rudolf Wirchow, no século XIX, para caracterizar as doenças de animais que podiam ser transmitidas ao homem. O termo gerou inúmeras discussões, devido a sua amplitude. Assim, em 1966, conseguiu-se chegar a um consenso, definindo-a como "doenças e infecções naturalmente transmissíveis entre os hospedeiros vertebrados e o homem" (OMS, l966).

Dentre as enfermidades compartilhadas entre os homens e os animais, está à leptospirose, considerada uma infecção emergente (BOLIN, 1996), que acarreta grandes prejuízos a saúde (ACHA e SZYFRES, 1986) e a toxoplasmose enfermidade de distribuição mundial que infecta cerca de 500 milhões de indivíduos no mundo (CASTRO e REZENDE, 1994).

2.1. TOXOPLASMOSE

A toxoplamose é causada pelo *T. gondii*, parasita intracelular obrigatório, com ciclo de vida complexo, que infecta praticamente todos os animais homeotérmicos (MARTINS e VIANA, 1998). Protozoário coccídio intestinal de felídeos, o *T. gondii* é a única espécie do gênero *Toxoplasma* (TENTER e JOHNSON, 1997).

Os felídeos, hospedeiros definitivos nos quais se completa o ciclo entero-epitelial (fase sexuada) do parasita (MARTINS e VIANA, 1998), após ingerirem tecidos de hospedeiros intermediários contendo cistos, liberam os bradizoítos que se diferenciam em micro e macrogametas nos enterócitos. A fusão dos gametas resulta na formação dos oocistos, que são excretados para o ambiente pelas fezes, sob a forma não esporulada (WONG e REMINGTON, 1993). Após a exposição ao ar, há esporulação e então, passam a conter dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos. A esporulação leva, em média, três dias após a excreção no ambiente e depende de condições favoráveis para sua ocorrência (MARTINS e VIANA, 1998).

Seu ciclo de vida é considerado complexo, apresentando quatro estágios de desenvolvimento: os taquizoítos ou forma proliferativa; bradizoítos presentes em

cistos teciduais; merozoítos e esporozoítos presentes em oocistos esporulados (SCHWARZ J. A. et al., 2005). Essas três fases são infecciosas para hospedeiros intermediários e definitivos, que podem adquirir a infecção por ingestão de oocistos ou de cistos teciduais presentes em carne crua ou mal cozida de hospedeiros intermediários, ou verticalmente pela transmissão transplacentária (TENTER, 1998).

O homem se infecta pela ingestão acidental de qualquer uma das formas de desenvolvimento, sendo o risco de infecção no homem, diretamente relacionado aos seus costumes e hábitos de higiene alimentar (CASTRO e REZENDE, 1994). Cerca de 80% da população deve estar infectada, dependendo dos seus hábitos alimentares e sua exposição a gatos (TENTER et al*.,* 2000).

Han et al. (2008) pesquisaram a soroprevalência de infecção com o *T. gondii* e os fatores de risco associados com mulheres grávidas soropositivas na Korea, observaram que o único fator que foi diferente significativamente foi o fato de comer carne crua, isso comparado também em outros estudos na Europa, concluíram que o consumo de carne crua ou mal passada parece ser a principal forma de infecção na Korea.

A toxoplamose também é uma enfermidade oportunista freqüente em pacientes com AIDS ou naqueles que apresentem imunodeficiência severa. É igualmente uma causa importante de abortos ou enfermidade congênita conseqüente à infecção materna durante a gravidez (DEROUIN et al., 1995).

A toxoplasmose pode ser dividida em duas fases: a aguda, onde o parasito se dissemina pelos tecidos do hospedeiro e a fase crônica que se caracteriza pela presença de cistos em cérebro e musculatura de animais infectados (ZENNER et al., 1998).

A infecção em humanos é geralmente assintomática, mas algumas pessoas infectadas podem apresentar linfadenopatia cervical ou doença ocular (LIESENFELD e JANITSCHKE, 2005).

No Brasil, vários inquéritos soro-epidemiológicos mostram níveis elevados de prevalência, atingindo valores variáveis em diferentes populações humanas, chegando a 90,0% em indivíduos adultos (TENTER et al., 2000). Estima-se que

ocorram 1.437.500 novos casos por ano nos EUA, cerca de 300 mortes/ano por toxoplasmose congênita ou em indivíduos imunodeprimidos (SMITH, 1993). No Brasil, estudos indicam índices de prevalência de 81% (DUBEY e BEATTIE, 1988).

De acordo com Meenken et al. (1995) aproximadamente 80% das crianças diagnosticadas com infecção subclínica toxoplásmica apresentaram seqüelas oculares em algum momento da sua vida. Lesões na retina são as mais frequentes e pode ser detectada precocemente por exames oftálmicos. Esse sinal indica que há possibilidade de envolvimento do sistema nervoso.

Dentre as provas sorológicas para a detecção de anticorpos específicos anti-*T. gondii* têm-se a método de aglutinação direta (MAD), que consiste em um teste simples, não espécie-específico e pode ser usado tanto em humanos quanto em soros de animais (WILSON et al., 1990).

2. 2. LEPTOSPIROSE

A leptospirose é uma enfermidade infecciosa aguda que acomete os humanos e os animais em todo mundo, causada por uma bactéria espiroquetídea da família Leptospiraceae, gênero *Leptospira* (*L.*) (ELLIS, 1998; GREENE et al*.,* 1998).

Inicialmente, o gênero *Leptospira* era dividido em duas espécies, sendo as patogênicas classificadas como *L. interrogans* “latu sensu”, composta por mais de 200 sorovares (variantes), de acordo com métodos sorológicos e as saprófitas *L. biflexa*, compreendendo cerca de 60 sorovares. Atualmente, por processo de genotipagem as *Lepstospiras* foram reclassificadas em 16 genomespécies, não mais em duas como anteriormente, já que sorovares patogênicos e não patogênicos podem estar dentro de uma mesma espécie. As principais genomespécies são *L. interrogans* “stricto sensu”, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. meyeri*, *L. wolbachii*, *L. biflexa*, *L. fainei*, *L. borgpetersenii*, *L. kirschneri*, *L. weilli*, *L. inadai*, *L. parva*, *L. alexanderi* (LEVETT, 2001).

São bactérias que medem de 0,1µm de largura por seis a 20µm de comprimento. Aeróbias obrigatórias, com crescimento em temperatura ótima de 28

a 30ºC, em meio enriquecido. Produzem catalase e oxidase, não são coradas por corantes usuais em microbiologia, somente por impregnação pela prata e são visualizadas em microscopia de campo escuro (ELLIS, 1998).

No ambiente, as *Leptospiras* sobrevivem bem em terrenos úmidos, pântanos, córregos, lagos e estábulos com excesso de detritos e umidade. Multiplicam-se bem em pH 7,2 a 7,4 e em temperaturas de 10 a 34 ºC. São muito sensíveis ao pH ácido e a dessecação (SCANZIANI et al*.,* 2002).

Atualmente estão disponíveis dados que sugerem que a leptospirose é a zoonose mais comum dos animais domésticos. Entretanto, a doença é endêmica na área rural em todo o mundo, a transmissão continua ocorrendo, por exemplo nos EUA, especialmente na área tropical, Havaí (KATZ e EFFLER, 2003), mas também no interior das cidades (VINETZ, 1996), na Irlanda (PATE et al., 2000) e na Alemanha (JANSEN et al., 2005).

Os reservatórios da *Leptospira* são animais domésticos e silvestres, mas cabe ressaltar que os roedores desempenham o papel de principais reservatórios da doença, pois a albergam nos rins, eliminando-as vivas no meio ambiente, e contaminando água, solo e alimentos (BRASIL, 1998). Os suscetíveis adquirem a infecção, principalmente, em contato com a bactéria no meio ambiente (SCANZIANI et al., 2002).

O homem adquire a infecção quando se expõe no trabalho, recreação ou lazer. A profissão é um fator de risco para o humano (WAITKINS, 1986). O risco pelo contato direto ou indireto com animais infectados é maior para fazendeiros, veterinários, trabalhadores de frigoríficos (CAMPAGNOLO et al., 2000; TERRY et al., 2000), trabalhadores de controle de roedores e outras ocupações que requerem contato com animais (LOOKE, 1986).

Inalação de partículas de água ou aerossóis também pode resultar em infecção pelas mucosas do trato respiratório. Raramente, pode ocorrer infecção por mordedura (GOLLOP et al., 1993). Transmissão direta entre humanos é de rara demonstração. Entretanto, foi relatado que o homem excreta *Leptospira* na urina por meses após o término dos sintomas (BAL et al., 1994). Isto pode ser

limitado pelo pH ácido da urina humana. Transmissão por relação sexual durante a convalescença foi relatada (HARRISON e FITZGERALD, 1988).

A sua distribuição geográfica é fortemente favorecida pelas condições ambientais das regiões de clima tropical e subtropical, onde a elevada temperatura e os períodos do ano com altos índices pluviométricos favorecem o aparecimento de surtos epidêmicos de caráter sazonal (LEVETT, 2001).

Áreas com elevada população de ratos e sujeitas à ocorrência de enchentes não devem ser consideradas como as únicas de risco de leptospirose, mas também aquelas destinadas ao depósito de lixo, ou as que apresentam condições sanitárias e de infra-estrutura precárias (GENOVEZ, 1996).

A baixa condição financeira é um fator importante e pode possibilitar o desconhecimento desta enfermidade, já que se reconhece que a ocorrência da leptospirose é subestimada e a doença subdiagnosticada em regiões endêmicas (SMYTHE, 2001).

A primeira observação dos sinais clínicos em humanos foi feita no Cairo, em 1800, por Larrey (CORRÊA & CORRÊA, 1992). No homem a leptospirose pode se manifestar com quadros subclínicos, semelhante a resfriado, entretanto, pode assumir quadros graves, o que está relacionado com o sorovar envolvido. O início é súbito com febre, cefaléia, mialgia (lombar, membros inferiores e parede abdominal), calafrios e/ou sudorese, anorexia, náuseas, vômitos, obstipação, mas a diarréia é mais freqüente. Esta fase inicial é denominada septice, que dura em torno de três a sete dias. O período de estado dura mais de duas semanas, e advêm outros sintomas como sangramento cutâneo, púrpura, epistaxe, hemoptise, hemorragia gastrointestinal, hemotórax, icterícia, alterações urinárias com oligúria, anúria ou poliúria, entretanto, com a insuficiência renal a maioria dos casos desenvolve oligúria ou anúria. Pode ocorrer insônia, confusão mental e ainda evolução para forma de meningite que é sempre grave (LOMAR et al., 1997).

A leptospirose no Brasil ocorre todos os meses do ano, atingindo níveis epidêmicos nos meses em que se registram índices pluviométricos elevados. Além do contato do homem com a urina do roedor, vários fatores interagem para que ocorra doença no homem (BRASIL, 2002). As epidemias ocorrem mais nos

grandes centros urbanos, como São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador e Recife, durante os períodos sazonais de chuvas fortes e alagamentos (BARCELLOS e SABROZA, 2001).

Ocorreram surtos mundiais de leptospirose onde se observou que um dos principais fatores de risco eram as viagens para locais de clima tropical (EVERARD et al., 1992; BOVET et al., 1999;). Além disto, notaram-se fatores de risco, que incluíam o uso de água de poço ou de rio, presença de animais domésticos como ratos e gatos dentro de casa e realização de caminhadas com os pés descalços, apresentando associação com a exposição à *Leptospira* (SETHI et al., 2003). A transmissão parece coincidir com o clima quente e a ocorrência de inundação, solo e fonte de água contaminada com urina de animal para uso humano (KO et al., 1999; SANDERS et al., 1999; RUSSELL et al., 2003).

Os animais domésticos (companhia ou produção), particularmente cães, peridomésticos (roedores), tendo como principais os ratos e animais de vida livre, são disseminadores e reservatórios da leptospirose (BUNNELL et al., 2000; MATTHIAS et al., 2005).

Nos bovinos (OLIVEIRA et al., 2000), ela é considerada enfermidade endêmica. A infecção pode ocorrer pelo contato direto com sangue, urina, tecidos e órgãos de animais infectados. No meio rural, os próprios animais são os principais reservatórios, servindo como fontes de infecção para os suscetíveis (VASCONCELLOS et al., 1996), bem como para o homem (ACHA e SZYFRES, 1986), o que mantém a doença endêmica na propriedade.

No meio rural, a prevalência da leptospirose tem variado de 45,6% a 75% em vacas leiteiras (LANGONI et al., 1998; RODRIGUES et al., 1999), valores preocupantes uma vez que já houve o isolamento deste agente no leite bovino no Brasil (CABRAL et al., 1999).

O conhecimento da prevalência de sorovares e sua manutenção no meio ambiente são essenciais para o entendimento epidemiológico da doença em uma região (LEVETT, 2001).

Anualmente, dez milhões de casos humanos ocorrem no mundo todo, com casos fatais que chegam a 20 – 25% em algumas regiões (WHO, 2001).

Durante o período de 1987 a 2001, foram notificados 46.180 casos humanos da doença, com 3.821 óbitos e taxa de letalidade de 6,5% a 20,7%, segundo a Fundação Nacional de Saúde (BRASIL,1995). A região norte apresentou 7.509 casos, a nordeste 12.573, a sudeste 17.394, a sul 8.178 e a centro-oeste com 526 casos notificados. Dentre as regiões citadas, o Estado de São Paulo notificou 8.976 casos durante o referido período (BRASIL, 2002).

Para a determinação da ocorrência da leptospirose infecção ou doença indica-se o teste de soroaglutinação microscópica (SAM), que é o de eleição para o diagnóstico sorológico em todo o mundo (OLIVEIRA et al., 1995), sendo considerado como padrão de referência no Brasil (BRASIL, 1995).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Delineamento experimental

O delineamento desta pesquisa foi realizado de forma que se obteve um estudo observacional, transversal e descritivo (ROUQUAYROL, 2003). Dessa maneira, pesquisou-se por meio de um inquérito soro-epidemiológico. O inquérito foi realizado pelos estudos em populações especiais e para a pesquisa sorológica pelos métodos de aglutinação direta (MAD) a presença de infecção pelo *Toxoplasma gondii* e para *Leptospira* spp, realizada por meio do método de soroaglutinação microscópica (SAM), na população acadêmica.

3.2. Amostras

Foram coletadas amostras de sangue dos acadêmicos de duas universidades do Paraná: A (120/190) e B (166/320). Perfazendo um total de 286 amostras.

3.3. Locais de estudo

Foram coletadas amostras sanguíneas de alunos de duas universidades: A localizada no município de Toledo-PR e B localizada no município de Palotina-PR (Latitude 24S4249, 24S1702 e Longitude 53W4435, 53W5024, respectivamente).

3.4. Colheita de material

No Anexo 2. o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As coletas foram realizadas somente de alunos voluntários maiores de dezoito (18) anos de idade, que autorizaram a utilização do material para a realização da pesquisa. Que segue

Foram colhidos 5mL de sangue, em tudo de vidro estéril (Vacutainer®), pela punção da veia cefálica e em seguida encaminhada ao laboratório de Microbiologia da PUC – PR, onde foram dessorados, em seguida acondicionados em microtubos de plástico de 1,5mL e mantidos sob a temperatura de -20ºC, até o momento da realização da técnica de soroaglutinação microscópica (SAM) para a pesquisa da leptospirose e o método de aglutinação direta (MAD) para a toxoplasmose, que foram realizados no laboratório de Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu – SP.

3.5. Detecção de anticorpos séricos anti-*Toxoplasma gondii*

3.5.1. Método de aglutinação direta (MAD)

A MAD foi realizado segundo o proposto por Desmonts e Remington (1980), usando como antígeno taquizoítos da cepa RH fixados em formalina, o protocolo encontra-se no Anexo 3.

3.6. Detecção de ainticorpos séricos anti-*Leptospira* spp

3.6.1. Técnica de soroaglutinação microscópica (SAM)

Esta técnica foi realizada de acordo com as normas do Ministério da Saúde (BRASIL, 1995). De acordo com Babudieri (1961) sendo testados 28 sorovares de *Leptospira* (Quadro 1). As amostras de *Leptospiras* foram mantidas em meio semi-sólido de Fletcher a temperatura ambiente, onde se realizou repiques de manutenção a cada três meses. A prova de SAM é constituída de duas fases, triagem e titulação, que segue no Anexo 4.

Amostras de sorovares utilizados na pesquisa					
Código					
1A	AUS	*australis*	12	JAV	*javanica*
1B	BRA	*bratislava**	13	PAN	*panama*
2A	AUT	*autumnalis*	14A	POM	*pomona*
2B	BUT	*butembo*	15	PYR	*pyrogenes*
3	CAS	*castellonis*	16A	HAR	*hardjo*
4A	BAT	*bataviae*	16B	WOL	*wolffi*
5	CAN	*canicola*	17	SHE	*shermani*
6B	WHI	*whitcombi*	18	TAR	*tarassovi*
7	CYN	*cynopteri*	19	AND	*andamana*
8A	DJA	*djasiman*	21	PAT	*Patoc*
8B	SEN	*sentot*	P		*Hardjo-prajitno*
9	GRY	*gryppotyphosa*	M		*Hardjo-miniswajezak*
10	HEB	*hebdomadis*	C		*Hardjo-C.T.G.*
11A	COP	*copenhageni*	B		*Hardjo-bovis*
11B	ICT	*icterohaemorraghiae*			

***** Sorovar não testado

Quadro 1. Sorovares testados na pesquisa para detecção de anticorpos séricos anti-*Leptospira*, LDZ/FMVZ/UNESP/Botucatu, 2008.

3.7. Inquérito epidemiológico tendo como indicadores: saneamento básico, destino de resíduos sólidos domiciliar, limpeza pública, informação, vetores, animais domésticos e hábitos alimentares segundo Escola

Politécnica Universidade de São Paulo (EPUSP) (2004) modificado. O inquérito epidemiológico está apresentado no Anexo 1.

3.8. Análise estatística

Os dados epidemiológicos referente aos questionários aplicados aos alunos de ambas universidades foram analisados, isoladamente uma da outra, para se comparar a distribuição de anticorpos para ambas as infecções estudadas. As taxas de infecção para *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. foram analisadas por estatística descritiva. A associação entre os resultados da SAM e MAD, em ambas as universidades isoladamente, e as variáveis epidemiológicas foi verificada pelos testes de Qui-quadrado ou Exato de Fischer, adotando-se um nível de significância (α) de 5% (CURI, 1997). Para a mesma infecção, quando na presença de mais de uma variável com diferença significativa, realizou-se a análise multivariada para a confirmação das mesmas diferenças relacionando todas as variáveis. Todas as análises foram realizadas no programa Epiinfo 3.5.

3.9. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Está apresentado no Anexo 2.

4. RESULTADOS

Foi observado um total de 25,5% (73/286) de positividade e 74,4% (213/286) de negatividade para o *Toxoplasma gondii*, sendo que entre os acadêmicos da universidade A foram 34,1% (41/120) e na universidade B 19,2% (32/166) de positividade, como pode ser observado na Tabela 1.

Na Tabela 2. Verifica-se a porcentagem dos títulos de positividade para a toxoplasmose, entre os acadêmicos das universidades. Nos acadêmicos positivos para a toxoplasmose da universidade A, 29,2% (12/41) com título 64; 58,5% (24/41) com 256; 2,4% (1/41) com 1024 e 9,7% (4/41) com 4096. Os estudantes da universidade B apresentaram títulos: 34,3% (11/32) com título 64; 59,3% (19/32) com 256 e 6,2% (2/32) com 1024.

Em relação ao inquérito epidemiológico as Tabelas 3. e 4. Mostram a associação epidemiológica com os resultados para pesquisa de anticorpos para *Toxoplasma gondii* dos alunos das universidades A e B, respectivamente. Nas Tabelas 5. e 6. Observa-se a análise multivariada [sorologia da toxoplasmose x (convive com animais x ração fica exposta x bebe leite cru)] para a universidade A e Análise multivariada [sorologia da toxoplasmose x (local em que a família mora x come carne crua)] para a universidade B, respectivamente.

Observou-se em 286 amostras de soro, uma porcentagem de reagentes de 3,8% (11/286) para a *Leptospira* spp entre os acadêmicos, sendo 0% (0/120) na universidade A e 6,6% (11/166) na universidade B. O Quadro 1. Verifica-se a porcentagem de reagentes por sorovares entre os acadêmicos da universidade B.

Na Tabela 7. Observa-se a associação epidemiológica com os resultados para pesquisa de anticorpos para *Leptospira* spp. da universidade B, já que somente os alunos desta instituição apresentaram ser reagente a sorologia para alguns sorovares.

Na Figura 1. Pode-se verificar a freqüência absoluta de acertos dos alunos após questionário aplicado, avaliando o grau de informação sobre as doenças estudadas, de cada universidade.

Tabela 1. Resultados positivos e negativos em porcentagem da pesquisa, para a toxoplasmose, distribuídos entre os acadêmicos das universidades A e B, Toledo/PR, 2008.

	TOXOPLASMOSE	
	POSITIVO %	**NEGATIVO %**
Universidade A	34,1	65,8
Universidade B	19,2	80,7

Tabela 2. Distribuição de títulos de positividade para a toxoplasmose entre os acadêmicos das universidades A e B, Toledo/PR, 2008.

	Toxoplamose				
	Positivo %				
	64	256	1024	4096	Total
Universidade A	29,2	58,5	2,4	9,7	120
Universidade B	34,3	59,3	6,2	-	166

Tabela 3. Associação epidemiológica com os resultados para pesquisa de anticorpos para *Toxoplasma gondii* da universidade A, Toledo/PR, 2008.

Variável	**Número de alunos**	**% positivos a MAD**	χ^2	***P***	**OR (IC 95%)**	**Interpretação**
Morar com a família						
Não	45	31,11	-	0,40*	1,20 (0,54-2,65)	NS
Sim	74	35,13				
Local onde mora com a família						
Área urbana	98	32,65	-	0,46*	1,20 (0,43-3,35)	NS
Área rural	19	36,84				
Tipo de contato						
Sem contato	0	00,41				
Trabalho	17	29,41	2,52	0,28	-	NS
Lazer	48	27,08				
Trab / Lazer	53	41,51				
Convive com outros animais						
Não	55	43,63	-	0,02*	0,43 (0,20-0,94)	S
Sim	64	25,00				
Espécies animais que convive						
Não	55	43,64				
Cão	41	26,83				
Gato	7	28,57				
Silvestre	1	00,00	6,95	0,43	-	NS
Outros animais	3	00,00				
Cão/gato	9	33,33				
Cão/outros	2	00,00				
Gato/outros	1	00,00				
Ração fica exposta						
Não	79	40,51	-	0,03*	0,21 (0,07-0,66)	S
Sim	32	12,50				
Fonte de água						
Torneira	47	34,04				
Mineral	5	00,00				
Poço	17	35,29	6,48	0,17	-	NS
Filtrada	2	100,00				
Duas ou mais	47	34,04				
Armazenamento de água						
Não	89	31,46	-	0,47*	1,16 (0,44-3,06)	NS
Sim	23	34,78				

Conhece a toxoplasmose						
Não	6	16,67	-	0,34*	2,63 (0,30-23,35)	NS
Sim	113	34,51				
Sabe com se infecta por *T. gondii*						
Não	33	42,42	-	0,15*	0,59 (0,26-1,35)	NS
Sim	86	30,23				
Como se infecta						
Não	66	33,33	-	0,55*	0,97 (0,44-2,13)	NS
Sim	49	32,65				
Informações sobre toxoplasmose						
Não	72	30,55	-	0,25*	1,41 (0,65-3,05)	NS
Sim	47	38,30				
Há problema para a gestante						
Não	116	32,76	-	0,55*	2,05 (0,12-33,72)	NS
Sim	2	50,00				
Possui gato						
Não	92	32,61	-	0,37*	1,29 (0,52-3,18)	NS
Sim	26	38,46				
Onde o gato defeca						
Jardim	20	35,00	-	0,61*	1,24 (0,17-9,27)	NS
Caixa de areia	5	40,00				
Onde manipula terra ou areia						
Trabalho	21	38,09				
Lazer	2	50,00				
Trab / lazer	1	00,00	0,98	0,81	-	NS
Não manipula	95	32,63				
Come carne crua						
Não	85	36,47	-	0,20*	0,63 (0,26-1,51)	NS
Sim	34	26,47				
Come carne crua (espécie)						
Não come	85	36,47				
Bovina	22	36,36				
Suína	0	00,00				
Ave	0	00,00				
Ovina	0	00,00	5,99	0,20	-	NS
Peixe	3	00,00				
Bov/Peixe	6	00,00				
Bov/Sui	2	00,00				
Como prepara a carne						
Na hora	9	44,44				
Refrigera	6	50,00				
Congela	77	31,17	1,53	0,67	-	NS
Duas ou mais	21	38,09				
Come verduras						
Não	12	25,00	-	0,38*	1,59 (0,40-6,22)	NS
Sim	107	34,58				
Bebe leite cru						
Não	95	37,89	-	0,05*	0,34 (0,11-1,09)	S
Sim	23	17,39				
Bebe leite fervido						
Não	25	24,00	-	0,20*	1,76 (0,63-4,88)	NS
Sim	84	35,71				
Bebe leite pasteurizado						
Não	17	41,18	-	0,28*	0,63 (0,22-1,81)	NS
Sim	95	30,53				

Come queijo fresco						
Não	24	25,00	-	0,27*	1,60 (0,58-4,43)	NS
Sim	92	34,78				
Almoça em restaurante						
Não	16	43,75	-	0,56*	0,95 (0,33-2,75)	NS
Sim	99	42,42				

χ^2=valor de qui-quadrado com correção de Pearson (α=0.05); *P*=valor de *P*; OR=*odds ratio*; IC=intervalo de confiança; NS=sem diferença significativa; S= diferença significativa; *quando o valor de *P* não for fornecido pelo valor de qui-quadrado, ele foi calculado pelo teste de Fischer.

Tabela 4. Análise epidemiológica dos resultados para pesquisa de anticorpos para *Toxoplasma gondii* da universidade B, Toledo/PR, 2008.

Variável	**Number de alunos**	**% positivos a MAD**	χ^2	***P***	**OR (IC 95%)**	**Interpretação**
Morar com a família						
Não	143	19,58	-	0,61*	0,97 (0,30-3,10)	NS
Sim	21	19,04				
Local onde mora com a família						
Área urbana	142	16,90	-	0,02*	3,44 (1,19-9,94)	S
Área rural	17	41,18				
Tipo de contato						
Sem contato	3	00,00	0,78	0,85	-	NS
Trabalho	40	20,00				
Lazer	47	19,15				
Trab / Lazer	73	20,55				
Convive com outros animais						
Não	53	20,75	-	0,47*	0,89 (0,39-2,01)	NS
Sim	111	18,92				
Espécies animais que convive						
Não	55	21,82	0,39	0,94	-	NS
Cão	58	18,96				
Gato	25	16,00				
Silvestre	0	00,00				
Outros animais	0	00,00				
Cão/gato	26	19,23				
Cão/outros	0	00,00				
Gato/outros	0	00,00				
Ração fica exposta						
Não	123	19,51	-	0,56*	1,03 (0,38-2,80)	NS
Sim	30	20,00				
Fonte de água						
Torneira	136	17,65	4,57	0,33	-	NS
Mineral	7	28,57				
Poço	6	50,00				
Filtrada	3	33,33				
Duas ou mais	11	18,18				
Armazenamento de água						
Não	140	18,57	-	0,28*	1,55 (0,56-4,31)	NS
Sim	23	26,09				
Conhece a toxoplasmose						
Não	11	09,09	-	0,33*	2,54 (0,31-20,61)	NS
Sim	153	20,26				

Sabe com se infecta por *T. gondii*						
Não	39	12,82	-	0,15*	1,91 (0,68-5,36)	NS
Sim	123	21,95				
Como se infecta						
Não	107	16,82	-	0,11*	1,77 (0,80-3,92)	NS
Sim	53	26,41				
Informações sobre toxoplasmose						
Não	140	19,29	-	0,49*	1,16 (0,40-3,41)	NS
Sim	23	21,74				
Há problema para a gestante						
Não	160	18,75	-	0,10*	8,67 (0,76-98,75)	NS
Sim	3	66,67				
Possui gato						
Não	109	20,18	-	0,49*	0,90 (0,39-2,06)	NS
Sim	54	18,51				
Onde o gato defeca						
Jardim	23	21,74	-	0,47*	0,75 (0,19-2,99)	NS
Caixa de areia	29	17,24				
Onde manipula terra ou areia						
Trabalho	24	20,80				
Lazer	10	20,00	0,35	0,98	-	NS
Trab / lazer	0	00,00				
Não manipula	130	19,23				
Come carne crua						
Não	124	15,32	-	0,02*	2,66 (1,17-6,06)	S
Sim	40	32,50				
Come carne crua (espécie)[a]						
Não come	124	15,32				
Bovina	30	33,33				
Suína	0	00,00				
Ave	0	00,00	14,64	0,01	-	S
Ovina	1	00,00				
Peixe	3	00,00				
Bov/Peixe	2	100,00				
Bov/Sui	1	00,00				
Como prepara a carne						
Na hora	5	40,00				
Refrigera	33	18,18	4,08	0,25	-	NS
Congela	79	15,19				
Duas ou mais	27	29,63				
Come verduras						
Não	13	15,38	-	0,52*	1,36 (0,29-6,48)	NS
Sim	151	19,87				
Bebe leite cru						
Não	118	21,19	-	0,20*	0,59 (0,22-1,55)	NS
Sim	44	13,64				
Bebe leite fervido						
Não	43	18,60	-	0,51*	1,11 (0,44-2,78)	NS
Sim	94	20,21				
Bebe leite pasteurizado						
Não	13	30,77	-	0,23*	0,50 (0,14-1,76)	NS
Sim	142	18,31				
Come queijo fresco						
Não	42	19,05	-	0,50*	1,12 (0,46-2,73)	NS
Sim	115	20,87				

Almoça em restaurante						
Não	4	00,00	-	0,41*	-[b]	NS
Sim	160	20,00				

χ^2=valor de qui-quadrado com correção de Pearson (α=0.05); *P*=valor de *P*; OR=*odds ratio*; IC=intervalo de confiança; NS=sem diferença significativa; S= diferença significativa; *quando o valor de *P* não for fornecido pelo valor de qui-quadrado, ele foi calculado pelo teste de Fischer.

[a] observou-se diferença significativa entre os indivíduos que não comem carne crua (IC = 0,70 a 0,83) e os que comem carne bovina crua (IC = 0,13 a 0,25), entre os que não comem carne crua e os que comem carne crua das demais espécies citadas (IC ≅ 0,00 a 0,04), e entre os que comem carne bovina crua e carne das demais espécies. Entre as demais espécies estudadas não houve diferença significativa.

[b] não foi possível o cálculo

Tabela 5. A análise multivariada da universidade A [título da toxoplasmose x (convive com animais x ração fica exposta x bebe leite cru)], Toledo/PR, 2008.

Termo	Odds Ratio	95%	C.I.	Coeficiente	S. E.	Z-Estatística	P-Valor
Convive com animais	0,4906	0,2037	1,1817	-0,7121	0,4485	-1,5877	0,1124
Ingerem leite cru	0,1661	0,0343	0,8037	-1,7954	0,8046	-2,2315	0,0256
Ração fica exposta	0,2317	0,0713	0,7527	-1,4623	0,6012	-2,4324	0,0150
CONSTANTE	*	*	*	0,2241	0,3397	0,6596	0,5095

Tabela 6. A análise multivariada da universidade B [título da toxoplasmose x (local em que a família mora x come carne crua)], Toledo/PR, 2008

Termo	Odds Ratio	95%	C.I.	Coeficiente	S. E.	Z-Estatística	P-Valor
Ingerem carne crua	2,3405	0,9950	5,5058	0,8504	0,4364	1,9484	0,0514
Local em que a família mora	3,4034	1,1556	10,0237	1,2248	0,5511	2,2224	0,0263
CONSTANTE	*	*	*	-3,0656	0,6963	-4,4028	0,0000

SOROVARES											
	123	**141**	**144**	**154**	**159**	**179**	**184**	**204**	**209**	**272**	**275**
L.butembo						**100**	**200**				
L.djasiman									**200**		
L.grippotyphosa									**6400**		
L.pomona							**100**				
L.pyrogenes					**100**						
L.hardjo				**100**							
L.andamana		**100**									
L.patoc	**100**								**200**		
L.hardjo-prajitno								**100**			
L.hardjo miniswajezak			**100**					**100**		**100**	**100**

Quadro 1. Acadêmicos da universidade B reagentes para os sorovares de *Leptospira*, Toledo/PR, 2008.

Tabela 7. Associação epidemiológica com os resultados para pesquisa de anticorpos para *Leptospira* spp. da universidade B, Toledo/PR, 2008.

Variável	**Number de alunos**	**% positivos a SAM**	χ^2	***P***	**OR (IC 95%)**	**Interpretação**
Morar com a família						
Não	143	5,59	-	0,15	2,81 (0,68-11,58)	NS
Sim	21	14,29				
Local onde mora com a família						
Área urbana	142	6,34	-	0,33	1,97 (0,39-9,98)	NS
Área rural	17	11,76				
Convive com outros animais						
Não	53	13,21	-	0,03	0,25 (0,07-0,88)	S
Sim	111	3,60				
Ração fica em casa						
Não	90	7,78	-	0,39	0,68 (0,19-2,41)	NS
Sim	74	5,40				
Ração fica exposta						
Não	123	7,32	-	0,63	0,90 (0,18-4,42)	NS
Sim	30	6,67				
Conhece a leptospirose						
Não	4	0,00	-	0,75	-[a]	NS
Sim	160	6,87				
Informação sobre leptospirose						
Não	138	7,25	-	0,19	-[a]	NS
Sim	24	00,00				

Alteração na água						
Não	153	6,54	-	0,51	1,59 (0,18-13,82)	NS
Sim	10	10,00				
Armazenamento de água						
Não	140	7,14	-	0,52	0,59 (0,07-4,85)	NS
Sim	23	4,35				
Local de armazenamento						
Não armazena	140	7,14				
Caixa d'água	1	00,00	0,28	0,87	-	NS
Reservatório	22	4,54				
Esgoto é problema onde mora						
Não	149	6,71	-	0,61	1,16 (0,14-9,83)	NS
Sim	13	7,69				
Esgoto tem cheiro						
Não	143	6,29	-	0,42	1,57 (0,31-7,81)	NS
Sim	21	9,52				
Para o esgoto, a chuva é problema						
Não	157	6,37	-	0,39	2,45 (0,27-22,37)	NS
Sim	7	14,29				
Coleta de lixo						
Não	2	0,00	-	0,87	-[a]	NS
Sim	161	6,83				
Proteção do lixo						
Não	94	5,32	-	0,30	1,67 (0,49-5,71)	NS
Sim	70	8,57				
Exposição ao alimento						
Não	139	6,47	-	0,52	1,26 (0,25-6,19)	NS
Sim	25	8,00				
Varição na rua						
Não	28	3,57	-	0,41	2,14 (0,26-17,45)	NS
Sim	136	7,35				
Chuva entra em casa						
Não	151	7,28	-	0,39	-[a]	NS
Sim	13	0,00				
Chuva entra no quintal						
Não	140	7,86	-	0,16	-[a]	NS
Sim	24	0,00				
Chuva alaga o bairro						
Não	156	7,05	-	0,57	-[a]	NS
Sim	8	0,00				
Chuva atrai animais sinantrópicos						
Não	141	6,38	-	0,47	1,40 (0,28-6,92)	NS
Sim	23	8,70				
Chuva interfere na coleta de lixo						
Não	10	10,00	-	0,49	0,58 (0,07-5,08)	NS
Sim	149	6,04				
Já viu roedores em casa						
Não	90	7,78	-	0,39	0,68 (0,19-2,41)	NS
Sim	74	5,40				
Roedor em casa. Qual?						
Sem roedor	90	7,8				
Camundongos	46	4,3				
Ratazana	9	22,2	5,40	0,25	-	NS
Silvestre	3	00,00				
Duas espécies	16	00,00				

χ^2=valor de qui-quadrado com correção de Pearson (α=0.05); *P*=valor de *P*; OR=*odds ratio*; IC=intervalo de confiança; NS=sem diferença significativa; S= diferença significativa; *quando o valor de *P* não for fornecido pelo valor de qui-quadrado, ele foi calculado pelo teste de Fischer.

[a] não possível o cálculo

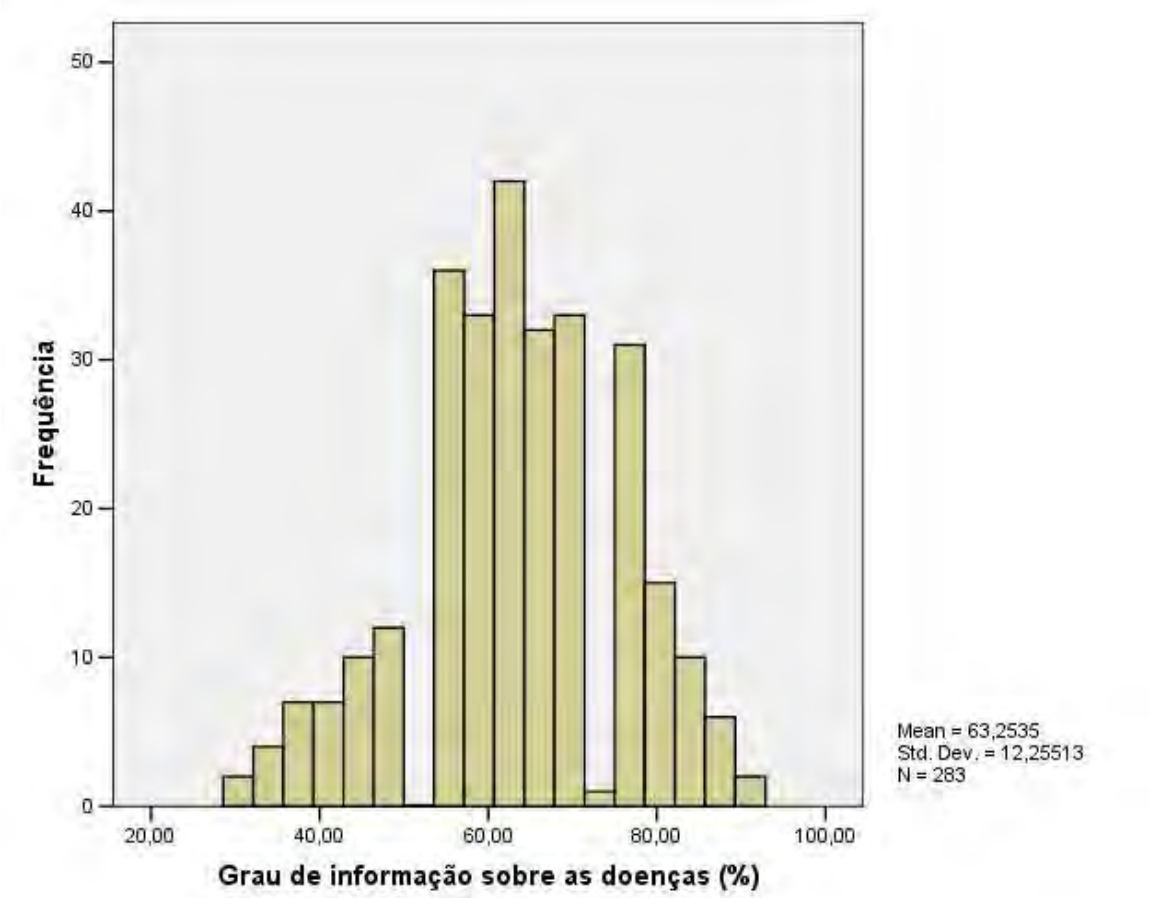


Figura 1. Freqüência absoluta de acertos dos alunos após questionário aplicado, avaliando o grau de informação sobre a leptospirose e a toxoplasmose, nas universidades A e B, Toledo/PR, 2008.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na sorologia demonstram um percentual de positividade de 25,5% (73/286) para o *Toxoplasma gondii* nas duas universidades. Dado que se comparado ao estudo realizado por Vasconcelos (2003), que observou 7,5% de soropositividade indica uma porcentagem de infecção muito menor a encontrada neste trabalho. Essa diferença entre as duas pesquisas é

sugestiva, de comportamentos e hábitos diferentes, entre as populações avaliadas. Entretanto, corrobora com Digiacomo et al. (1990) os quais obtiveram 25,0% de positividade e Araújo et al. (2001) com 30,3% em estudantes de medicina veterinária no Mato Grosso.

Neste estudo foram comparadas as variáveis obtidas mediante as respostas ao questionário aplicado aos acadêmicos do curso de medicina veterinária, que se submeteram voluntariamente a pesquisa. O questionário foi elaborado para permitir avaliar a associação entre a positividade da sorologia para a leptospirose e toxoplasmose e alguns comportamentos com os hábitos alimentares.

Em relação à toxoplasmose, quando comparadas às duas universidades (A e B) houve diferença significativa na porcentagem de sorologia positiva, sendo que a universidade A, apresentou 33,6% e a B 19,5%. Utilizando o teste estatístico qui-quadrado, correção de Pearson (CURI, 1997), analisou-se todas às variáveis de relevância que constavam no questionário, pôde-se afirmar com isso, que as diferenças significativas observadas em relação à universidade A e B não são de relevância epidemiológica para a enfermidade em questão, mas permitiu que se elaborassem hipóteses sobre as possíveis origens de infecção entre os acadêmicos.

Na universidade A dentre as variáveis com diferença estatística, está o hábito de se manter a ração de animais exposta dentro de casa e a positividade para toxoplasmose o que epidemiologicamente não possui correlação. Entretanto, ressalta-se que algumas residências possuem gatos e que a ração animal é um atrativo para roedores, o que associado ao hábito de caça pode acarretar a infecção dos animais soronegativos, tornando-os fontes de infecção para os moradores do domicílio.

Murphy et al. (2008), concluíram que a proximidade dos roedores urbanos com o homem é importante devido às implicações em saúde pública, pois na pesquisa realizada com a captura de 200 roedores urbanos, revelou que 59% de positividade para o *T. gondii*.

Kijlstra et al. (2008) observaram uma soroprevalência para anticorpo anti-*T. gondii* de 10,3% em *Rattus norvegicus*, 6,5% em *Mus musculus*, 14,3% em *Apodemus sylvaticus* e 13,6% em *Crocidura russula*, e estudo para avaliar o papel dos roedores como transmissores de *T. gondii* para suínos.

Entretanto, na pesquisa de Dabritz et al. (2008), foram testados 523 soros de roedores de vida livre para a busca de anticorpo anti-*T. gondii*. Observaram uma porcentagem de soropositividade de 17% (88/523) entre roedores domésticos e silvestres com diferença significativa entre positividade e a distância destes das habitações humanas, sendo significativa para os animais que foram capturados a uma distância maior ou igual a 200 metros.

Outra variável que teve diferença estatística, na universidade A, foi o dado de que alguns alunos bebem leite cru bovino, segundo Dubey e Beattie (1988), existe risco, porém pequeno, de infecção por ingestão deste alimento e em alguns casos de leite pasteurizado ou fervido contaminado pelo protozoário. Este perigo aumenta em se tratando da ingestão de leite de cabra não fervido (CHIARI e NEVES, 1984). Esse hábito de ingestão de leite cabra não foi relatado entre a população acadêmica estudada.

Os acadêmicos da universidade B, que apresentaram uma menor soroprevalência em relação à universidade A, são na grande maioria consumidores de água de torneira, sem nenhum tratamento prévio após a distribuição na rede pública. Este dado não revela diferença estatística significativa em relação à sorologia e na pesquisa, deve ser avaliado, como uma possível fonte de contaminação.

No sul do Brasil relataram a ocorrência de infecções pela ingestão de água não filtrada contaminada com oocistos (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; DE MOURA et al., 2006). Fontes de água que não recebem tratamento ou não são filtradas, pode constituir um sério risco de saúde pública, devido a possibilidade presença de oocisto do parasito (SROKA et al., 2006). Atualmente, o número de epidemias veiculadas a água contaminada com protozoários: giardíase, criptosporidíase e toxoplasmose, são relatados no mundo todo (KOURENTI et al.,2003; DAWSON, 2005).

Dubey et al. (2004), relataram um surto em Santa Isabel do Ivai, Paraná/Brasil, de toxoplasmose onde a água estava associada ao surto que desenvolveu infecção aguda na população. No Canadá a epidemiologia da enfermidade foi associada à água de bebida e a população estudada desenvolveu a forma clínica da infecção (ISAAC-RENTON et al., 1998).

Na infecção por *T. gondii* pode ser concomitante ainda a ingestão de outros alimentos crus ou mal cozidos. Autores relatam em um grande estudo tipo caso-controle realizado em seis países europeus, que entre 30% a 63% das infecções pelo *Toxoplasma gondii* foram atribuídas ao consumo de carne crua ou mal cozidas que representou o principal fator de risco para a infecção em todos os centros estudados (COOK et al., 2000).

Na universidade B o inquérito sobre a toxoplasmose após análise estatística, utilizando o teste do qui-quadrado, a variável ingerir carne crua apresentou diferença significativa com os que não ingerem 32,5% e 15,32%, respectivamente. Entretanto, quando se realiza o teste das multivariadas, ela se mostrou não significante, o que corrobora com outros autores descritos na literatura (BONAMETTI et al., 1996; FAN et al., 2001; ERTUG et al., 2005; PORTO et al., 2008).

Mesmo não observando diferença estatisticamente significativa sabe-se que o hábito de ingerir carne crua ou mal cozida, principalmente de suíno, ovino ou caprino (REMINGTON et al., 1995; TENTER et al., 2000) é de extrema relevância em se tratando da toxoplasmose, pois são os mais suscetíveis à formação de cistos teciduais. A maior parte da população acadêmica pesquisada não tem o hábito de ingerir carne crua e entre os alunos com este hábito é a espécie bovina a mais consumida, sendo esta espécie a menos envolvida na epidemiologia da enfermidade (DUBEY e THULLIEZ, 1993; HORIO et al., 2001).

Na região norte do Paraná observa-se uma soroprevalência nesta espécie, que varia entre 25 a pouco menos de 50% (MARANA et al., 1995; GARCIA et al.,1999a), com titulação baixa, sugestivo de infecção crônica com formação de cisto tecidual (GARCIA et al.,1999a). Jones et al. (2006) realizaram um estudo no

sul do Brasil e sugerem o consume de carne mal cozida, como via de transmissão para a toxoplasmose.

Vale ressaltar, que no inquérito não se questiona sobre a ingestão de carne mal passada, o que para a enfermidade é importante, pois os cistos teciduais são destruídos à exposição ao calor e / ou ao frio (TENTER et al., 2000). Isso pode explicar a falta de associação entre ingestão de carne crua neste estudo.

Diversos estudos apontam os hábitos alimentares como um dos principais fatores de risco para a infecção pelo *T. gondii* (PORTO et al., 2008). E o hábito cultural de comer carne crua ou mal cozida potencialmente infectada pode possibilitar a contaminação com conseqüente aumento do número de infectados pelo *T. gondii* (DUBEY e BEATTIE, 1988).

A variável que apresentou diferença estatística significativa para os testes sorológicos anti-*T. gondii* e anti-*Leptospira* spp na universidade B, foi a que relaciona o local onde reside a família, se é área urbana ou rural. Esta variável precisa ser melhor avaliada uma vez que não foi questionado aos acadêmicos que moram sozinhos, sendo a grande maioria, se residem em área urbana ou rural.

Também não foi questionado aos acadêmicos sobre os hábitos familiares, se estes trabalham na agricultura ou na jardinagem e se os acadêmicos na infância conviveram em contato direto com terra e ou areia. Diversos autores relatam que a contaminação do solo com oocisto de *T. gondii* está entre os principais fatores de risco para a infecção (LAFFERTY, 2006; ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2006; HEUKELBACH et al., 2007; CARRUTHERS e SUZUK, 2007).

O inquérito aplicado à população acadêmica juntamente com a avaliação da soroprevalência, procurou por meio do questionamento avaliaram alguns dos principais fatores de risco em relação à enfermidade. Entretanto, as relações de importância epidemiológica não apresentaram significância estatística. Em relação a variável morar com a família infere-se que a partir do momento em que o acadêmico se ausenta da residência original, tende a modificar seus hábitos. Incluem-se nessas mudanças alterações em padrões alimentares e cuidados coma a higiene pessoal, o que proporciona uma readequação dos hábitos deste

indíviduo. De fato, esses eventos sugerem uma maior exposição a agentes infecciosos.

A variável possuir gato em casa, também não apresentou significância estatística como alguns autores citados na literatura (ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2006; HEUKELBACH et al., 2007). Entretanto, contradiz com os pesquisadores Rey *et al.* (1999); Jones et al. (2001); Hill e Dubey (2002); Francisco et al. (2006) e Flegr (2007) que obtiveram diferença estatística significativa. A presença de felinos em casa é importante por serem os únicos disseminadores do protozoário, principalmente, se esses animais forem soronegativos, pois após infecção eles eliminam oocisto por um período de aproximadamente 15 dias, uma única vez na vida, desempenhando neste momento seu papel de mantenedor da enfermidade.

Ainda dentro das variáveis está o risco em se ingerir verdura mal lavada, se questiona como ela é preparada antes de ser ingerida (dado não demonstrado anteriormente), 84,8% (201/237) dos alunos que comem verdura, somente lavam em água corrente. Este alimento pode estar contaminado por fezes de gatos com oocisto de *T. gondii*. Já que na maioria das vezes compra-se esta hortaliça no comércio sem saber a sua procedência.

Entre os positivos da universidade A, quatro apresentaram titulação elevada (4.096), sugestivo de infecção aguda, segundo o Guia de Vigilância Epidemiológica do Ministério da Saúde (BRASIL, 2006). Essas pessoas foram orientadas a procurar um médico para acompanhamento.

Como teste diagnóstico optou-se pela MAD, pelo fato de ser simples, rápido e de baixo custo, mostrando-se segundo Silva (2006) maior sensibilidade que a prova de imunofluorescência indireta, o que permite sua utilização a campo em inquéritos soroepidemiológicos e em diagnósticos de rotina de pacientes que necessitam de maiores cuidados.

Azab et al. (1993), compararam três testes: hemaglutinação indireta (THAI), aglutinação direta modificada (MAD) e imunofluorescência indireta (RIFI), para detecção de anticorpo para *T. gondii* em mulheres grávidas no Egito. Soros de 600 mulheres sem sintomatologia foram testados. A prevalência de anticorpo para toxoplasmose foi de 27,3% na THAI, 58,5% na RIFI e 51,5% na MAD. Os autores

concluíram que a RIFI apresentou maior sensibilidade que os outros testes. Entretanto, Johnson et al. (1989), utilizando 400 amostras de soro estocadas, encontraram uma sensibilidade de 99% para o teste de aglutinação em látex (LAT), superior à MAD (96%), porém com especificidade de 81%, inferior à MAD, que foi de 98%. Com isso, concluíram que os dois métodos podem ser utilizados conjuntamente, com a finalidade de se obter um resultado altamente sensível e específico.

Em relação à leptospirose observou-se em 286 amostras de soro, uma porcentagem de reagentes de 3,84% (11/286) para a *Leptospira* spp entre os acadêmicos, sendo 0% (0/120) na universidade A e 6,62% (11/166) na universidade B. A sorologia para leptospirose mostrou ausência de anticorpos anti-*Leptospira* na universidade A, apesar do constante contato com várias espécies de animais. Os hábitos higiênicos podem estar relacionados o que contribui para a prevenção da infecção pela *Leptospira* spp, bem como a origem dos participantes, as condições de moradia, a qualidade de vida e o nível sócio-cultural dos mesmos. Este perfil de aluno do curso de Medicina Veterinária, nos aspectos de saúde pública, repercutirá posteriormente para a valorização do profissional, em equipes multidisciplinares, atuando em Saúde Pública.

A leptospirose é enfermidade de notificação compulsória (BRASIL, 2006). O resultado da pesquisa na universidade B, mesmo apresentando reagentes em baixa titulação (100 e 200), exceto um acadêmico que reagiu para três sorovares, sendo que para o Gryppotiphosa apresentou reação na diluição (1:6400), foram encaminhados para os órgãos responsáveis do município. Observou-se que entre os acadêmicos acometidos houve uma grande variação de sorovares, 10 no total. Para estudantes de medicina veterinária, trabalhadores envolvidos com água parada e criadores de animais de um modo geral, a constante exposição aumenta o risco de infecção pela *Leptospira* spp. Segundo Brown e Prescott (2008) o envolvimento com atividades como natação, caminhada descalço em solo ou barro contaminado com a bactéria e mesmo a ingestão de água contaminada, são possibilidades para a infecção.

Simon et al. (1999) ao analisarem os fatores de risco para leptospirose associados à soroprevalência, em estudantes de medicina veterinária da Universidade de Zaragoza, encontraram 8,14% de prevalência para os estudantes ingressantes e 11,4% ao terminarem o curso. Os fatores de risco associados à leptospirose neste estudo foram: contato com pequenos animais (especialmente cães), trabalhos em fazendas, contato com baias e gaiolas e os sorovares estudados foram: bratislava, canicola, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae e pomona.

O inquérito epidemiológico para esta enfermidade não abordou questionamentos sobre atividades extras universidade e sim sobre as condições de moradia dos acadêmicos, como o sistema de abastecimento de água e rede de esgoto e a coleta de lixo. Após análise dos dados coletados observou-se dificuldade em conduzir um estudo epidemiológico referente à exposição.

Dos alunos acometidos 36,4% (4/11) reagiram para o sorovar Hardjo variedade Min, sendo este o mais frenquente entre estas amostras. Segundo Bolin (2000) animais domésticos são hospedeiros mantenedores da *Leptospira* no meio; o gado pode abrigar os sorovares hardjo, pomona e grippotyphosa; suínos pomona, tarassovi e bratislava; ovinos hardjo e pomona e cães o canicola. Distintos hospedeiros fazem à manutenção e os sorovares são por eles carreados, ocorrendo no mundo todo (HARTSKEERL e TERPSTRA, 1996).

A causa mais comum de leptospirose no rebanho bovino é a infecção com a *Leptospira* sorovar Hardjo (BOLIN e ALT, 2001). Mas alguns outros grupos incluindo Pomona, Tarassovi e Gryppotiphosa são frequentemente mantidos na população bovina (BLACK et al., 2001; GUITTAN et al., 2001). A doença clínica do rebanho de animais de fazenda com serovar hardjo foram associados a casos de infecções humanas (HART et al., 1984). No Texas (EUA) um terço do gado testado para a *Leptospira* foi reagente, com 15% infectado com o sorovar Hardjo (TALPADA et al., 2003). O que pode ser explicado quanto a maior prevalência deste sorovar no presente estudo e também a exposição do acadêmico ao Gryppotiphosa, com desenvolvimento de alta titulação, tendo talvez a mesma fonte de infecção, os animais de rebanho, pois segundo Brown e Prescott (2008),

podem ocorrer infecção por contato direto com a urina contaminada de animais de vida livre, de fazenda ou até mesmo dos domésticos sem vacinação.

Analisando-se por meio do teste estatístico qui-quadrado, correção de Pearson (CURI, 1997) dentre as variáveis do inquérito para a leptospirose, observou-se somente um fator de risco com diferença estatística significativa, a que relaciona a convivência com animais dentro de casa. Essa variável indica que conviver com os animais ou próximo deles é um indicativo de maior exposição dos acadêmicos de medicina veterinária, evidenciando o risco potencial de infecção aos vários sorovares.

A leptospirose tem grande importância em saúde pública e o meio urbano é um dos lugares com transmissão de leptospirose severa. Em Salvador a predominância desta zoonose como doença endêmica é descrita na área urbana (KO et al., 1999). Cães têm sido infectados não por sorovares conhecidos nas vacinas comerciais, mas particularmente pelo sorovar Grippotyphosa (WARD et al., 2004).

As demais variáveis não apresentaram relação estatística significante com a presença de reagentes na sorologia. Entretanto, vale ressaltar que muitas variáveis contidas no inquérito tem relação epidemiológica com a enfermidade. Os dados levantados sobre a exposição da ração, já discutido anteriormente e cuidados com o lixo, tem o agravo não somente de se ter a presença do roedor, mas o de cumprir seu papel como disseminador da *Leptospira* spp, por meio da contaminação da ração animal e dos alimentos expostos com urina contaminada, hábito este de deixar alimentos em locais abertos, como relatado por alguns acadêmicos.

Segundo Dias et al. (2007) nas cidades existe frequente exposição ao *Rattus norvegicus* (ratazana), que são os principais reservatórios da leptospirose no meio urbano. Nos dados analisados da pesquisa a maioria dos acadêmicos que já viram roedor em casa relataram ser o camundongo seguido da ratazana os mais freqüentemente encontrados. Nos dados analisados após aplicação do inquérito, as questões ligadas à rede pública de abastecimento de água e esgoto e o serviço de coleta de lixo, estão dentro de padrões de sanidade pública.

Observou-se que a universidade A apresentou maior positividade para a pesquisa de anticorpo anti-*T. gondii* que a B, dentre os 34,1% que foram positivos da universidade A, 5% dos acadêmicos infectados encontram-se no 1º ano e nenhum acadêmico do 5º ano apresentou infecção, indicativo de que os alunos ingressaram na universidade já com o protozoário e o fato de serem estudante de medicina veterinária talvez melhore seus hábitos, devido ao conhecimento dos fatores de risco a que estão expostos. A maioria dos acadêmicos reagentes a pesquisa de anticorpo anti-*Leptospira* na universidade B, se encontrava no início do curso.

Isso corrobora com a análise do questionário aplicado aos acadêmicos sobre as enfermidades desta pesquisa, os alunos possuem um bom grau de conhecimento das zoonoses nas duas instituições. O que contraria as expectativas em relação a um alto índice de alunos infectados por microrganismos eliminados por animais, pois durante a graduação eles aprendem sobre as doenças o que diminui a infecção.

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que os fatores de riscos analisados para a toxoplasmose, mesmo não observando diferença estatística significativa, o fato de se consumir alimentos crus pareceu ser a principal variável para suposta infecção pelo *T. gondii*, e a convivência dos acadêmicos com as várias espécies animais, apresentando significância estatística para a leptospirose, foi o fator de risco principal na população estudada para a infecção pela *Leptospira*.

O grau de informação dos acadêmicos das duas universidades em relação às enfermidades estudadas se concentra acima da média, sendo considerado como um bom índice de conhecimento. O que mostra ser importante para uma completa formação de profissionais conscientes da importância das zoonoses na saúde pública.

7. REFERÊNCIAS

ACHA P.N., SZYFRES B. Brucellosis. **Publ. Cient. Org. Panam. Salud.**, n.503, p.14-36, 1986.

ALVARADO-ESQUIVEL, C. et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in a public hospital in northern México. **BMC Infectious Diseases,** v.6, n.113, 2006.

ARAÚJO F.R. Antibodies to Toxoplasma gondii in veterinary medicine students of Campo Grande, MS, Brazil. **Rev UFSM**, n.306, p.1017-9, 2001.

AZAB, M.E., et al. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v.23, p.471-6, 1993.

BABUDIERI B. Laboratory diagnosis of leptospirosis. **Boletim da OMS**, n. 254, v.45, 1961.

BAHIA-OLIVEIRA L.M., et al. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. **Emerg Infect Dis**., n.9, p.55-62, 2003.

BAL, A. E. et al. Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. **J. Clin. Microbiol.**, n.32, p.1894–8, 1994.

BLACK, P.F., et al. Prevalence of antibodies to *Leptospira* sorovars in beef cattle in central Queensland. **Aust. Vet. J.**, n.79, p.344-8, 2001.

BARCELLOS C., SABROZA P.C. The place venid the case: leptospirosis risk and associated environmental conditions in a flood-related outbreak in Rio de Janeiro. **Cadernos de Saúde Pública**, n.17, p.59-67, 2001.

BOLIN, C. Leptospirosis. *In* C. Brown and C. Bolin (ed.), Emerging diseases of animals. **ASM Press, Washington, D.C.**, p.185-200, 2000.

BOLIN, C.A. Diagnosis of leptospirosis: A reermerging deseases of companion animals. Semin. **Vet. Méd. Surg. Small Anim.**, Philadelphia, v.11, p.166-71, 1996.

BOLIN, C.A., ALT, D.P. Use of a monovalent leptospiral vaccine to prevent renal colonization and urinary shedding in cattle exposed to *Leptospira borgpetersenii* sorovar Hardjo. **Am. J. Vet. Res.**, v.62, p.995-1000, 2001.

BONAMETTI A.M., et al. Outbreak of acute toxoplasmosis transmitted thru the ingestion of ovine raw meat. **Rev Soc Bras Med Trop.**, v.30, p.21-5, 1996.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.

BIOSIS. Serial sources for the BIOSIS preview database. Philadelphia, 1996. 468p.

BOVET P, et al. Factors associated with clinical leptospirosis: A population-based case-control study in the Seychelles (Indian Ocean). **Int J Epidemiol.**, v.28, p.583–90, 1999.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Boletim eletrônico epidemiológico.** Surto de toxoplasmose no município de Santa Izabel do Ivaí-PR., v.3, p.2-3, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. 2 ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, p.98, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças Infecciosas e Parasitárias. **O Guia de Bolso**, 6 ed., Brasília, p.320, 2006.

BROWN, K., PRESCOTT, J. Leptospirosis in the family dog: a public health perspective **CMAJ,** v.178, n. 4, 2008.

BUNNELL J.E., et al. Detection of pathogenic Leptospira spp. Infections among mammals captured in the Peruvian Amazon basin region. **Am J Trop Med Hyg**, v.63, p.255-8, 2000.

CABRAL K.G., et al. Pesquisa de leptospira spp em leite de vacas normais e mastíticas. Botucatu, 1999. **Dissertação (Mestrado). Fac. Méd. Vet. Zootec. UNESP**, p.99, 1999.

CAMPAGNOLO, E. R., et al. Analysis of the 1998 outbreak of leptospirosis in Missouri in humans exposed to infected swine. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.216, p.676–82, 2000.

CARRUTHERS, V.B., SUZUK, Y. Effects of Toxoplasma gondii Infection on the Brain Schizophrenia Bulletin, v.33, n.3, p.745–51, 2007.

CASTRO, L. P., REZENDE, A. S. C. F. M. Protozooses humanas. Toxoplasmose. **In: MACEDO, V. (Ed). BYK**, p.226, 1994.

CHIARA, C. A., NEVES, D. P. Toxoplasmose adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, n.3, v.79, p.337-40, 1984.

COOK A.J.C., et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: Europeanmulticentre case-control study. **BMJ**, v.321, p.142-7, 2000.

CORRÊA, W.M., CORRÊA, C.N.M. Leptospira canina. In: Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos. 2.ed. Rio de Janeiro: **MEDSI,** p.233-40, 1992.

CURI, P.R. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. Botucatu:

Tipomic, p.240, 1997.

DABRITZ, H., et al. Risk factors for Toxoplasma gondii infection in wild rodents from central coastal California and a review of T. gondii prevalence in rodents. **J. Parasitol.**, n.11, v.1, 2008.

DAWSON D: Foodborne protozoan parasites. **Int J Food Microbiol**., v.103, p.207-227, 2005.

DE MOURA L, et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. **Emerg Infect Dis.**, v.12, p.326-9, 2006.

DEROUIN, F., et al. Modèles expérimentaux de toxoplasmose: applications pharmacologique. **Parasite**, v.2, p.243-56, 1995.

DESMONTS, G., REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of Toxoplasma infection: method for increasing sensitivity and specificity. **J. Clin. Microbiol.**, v.11, p.562-8, 1980.

DIAS, J.P., et al. Factors associated with *Leptospira sp* infection in a large urban center in northeastern Brazil **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.5, p.499-504, 2007.

DIGIACOMO, R.F., et al. Animal exposures and antibodies to Toxoplasma gondii in a university population. **Am. J. Epidemiol.**, v.131, n.4, p.729-33, 1990.

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

DUBEY, J.P., THULLIEZ, P. Persistence of tissue cystis inedible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocystis. **American Journal of Veterinay Research**, v.54, n.2, p.270-3, 1993.

DUBEY J.P., et al. Toxoplasma gondii infections in cats from Paraná, Brazil: seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. **J Parasitol.**, v.90, n.4, 2004.

ELLIS, W.A. Leptospirosis. In: PALMER, S.R.; SOULSBY, L.; SIMPSON, D.I.H. Zoonoses. **New York: Oxford University Press**, p.115-26, 1998.

EPUSP. Programa cidades saudáveis e sustentáveis – **Relatório Final**, São Paulo, p.72, 2004.

ERTUG S, OKYAY P, TURKMEN M, YUKSEL H. Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. **BMC Public Health.**, v.5, n.66, 2005.

EVERARD C.O., et al. An investigation of some risk factors for severe leptospirosis

on Barbados. **J Trop Med Hyg**, v.95, p. 13–22, 1992.

FAN, C.K., et al. *Toxoplasma gondii* infection relationship between soroprevalence and risck factors among inhabitants in two offshore islands from Taiwan. **Acta Med. Okayama**, v.55, n.5, p.301-8, 2001.

FLEGR, J. Effects of Toxoplasma on Human Behavior Schizophrenia Bulletin, v. 33, n.3, p.757–60, 2007.

FONTAINE, G.A., GANIERE, J.P. News topic in leptospirosis. **Comp. Fac. M.ed. Vet. Zootec. Univ. São Paulo**, v.1, n.4, p.21-34, 1982.

FRANCISCO, F. M., et al. Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo,** v.48, n.3, p.167-70, 2006.

GARCIA, J.L. et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.28, n.1, p.91-7, 1999a.

GENOVEZ, M.E. Leptospirose em cães. **Pet. Vet.**, v.1, n.1, p.6-9, 1996.

GOLLOP, J.H., et al. Rat-bite leptospirosis. **West. J. Med.**, v.159, p.76–77, 1993.

GREENE, C.E.; MILLER, M.A., BROW, C.A. Leptospirose. **In: GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat**, 2.ed. Philadelphia: W.B.Saunders, p.273-81, 1998.

GUITTAN, F.J., et al. Sorological study of the frequency of leptospiral infections among dairy cows in farms with suboptimal reproductive efficiency in Galicia Spain. **Vet. Microbiol.**, v.80, p.275-84, 2001.

HAN, K., et al. Soroprevalence of Toxoplasma gondii infection and risk factors associated with soropositivity of pregnant women in Korea. **J. Parasitol.**, v.11, n.1, 2008.

HARRISON, N.A., FITZGERALD, W.R. Leptospirosis—can it be a sexually transmitted disease? **Postgrad. Med. J.**, v.64, p.163–4, 1988.

HART, R.J.C., GALLAGHER, J., WAITKINS, S. An outbreak of leptospirosis in cattle and man. **BMJ**, v.288, 1984.

HARTSKEERL, R.A., TERPSTRA, W.J. Leptospirosis in wild animals. **Vet. Q.**, n.18, v. 3, p.149-50, 1996.

HEUKELBACH, J., et al. Waterborne Toxoplasmosis, Northeastern Brazil Emerging Infectious Diseases. **www.cdc.gov/eid**, v. 13, n. 2, 2007.

HILL, D., DUBEY, J.P. Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention. **European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, 2002.

HORIO, M., NAKAMURA, K., SHIMADA, M. Risck of *Toxoplasma gondii* infection slaughtrhaouse workes in Kitakyushu City. **Journal of University of Occupation and Environmental Health**, Kitakyushu, v.23, n.3, p.233-43, 2001.

ISAAC-RENTON J., et al. Detection of Toxoplasma gondii oocysts in drinking water. **Appl Environ.**, v.64, p.2278-80, 1998.

JANSEN A., et al. Leptospirosis in Germany, 1962– 2003. **Emerging Infect Dis**., v.11, p.1048-54, 2005.

JOHNSON, J., et al. Direct agglutination test and other assays for measuring antibodies to Toxoplasma gondii. J. Clin. Pathol., v.42, p.536-41, 1989.

JONES J.L., et al. Recently acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil. **Emerg Infect Dis.**, v.12, p.582-7, 2006.

JONES, J., et al. Toxoplasma gondii infection in the United States: seroprevalence and risk factors. Am. **J. Epidemiol.**, v.154, p.357–65, 2001.

KATZ, A.R., EFFLER, P.V. "Probable" versus "Confirmed" leptospirosis" An epidemiologic and clinical comparison utilizing a surveillance case classification. **Ann Epidemiol.**, v.13, p.196-203, 2003.

KIJLSTRA A., et al. The role of rodents and shrews in the transmission of Toxoplasma gondii to pigs. **Vet Parasitol.**, 2008.

KO A.L., et al. Urban epidemic of severe leptospirosis in Brazil. Salvador Leptospirosis Study Group. **Lancet**, v.354, p.820–5, 1999.

KOURENTI C., et al. Development and application of different methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in water. Appl Environ Microbiol., v.69, p.102-6, 2003.

LAFFERTY, K.D. Can thecommonbrain parasite, Toxoplasma gondii, influencehuman culture? **Proc. R. Soc. B**, v.273, p.2749–55, 2006.

LANGONI H., et al. Serological profile of bovine leptospirosis. **In: Proceedings of Panamerican Congress of Veterinary Sciences**. Santa Crus de la Sierra, p.155, 1998.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. Clin. Microbiol.Rev., **Washington**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LIESENFELD, O., JANITSCHKE, K. *Toxoplasma*. In **Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie. Auflage.** Edited by: Hahn H, Falke D, Kaufmann SHE, Ullmann

U. Springer Medizin-Verlag. Berlin, v.5, p.750-3, 2005.

LOMAR, A.V., et al. Leptospiroses. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia.** São Paulo: Atheneu, v.2, p.987-1003, 1997.

LOOKE, D. F. M. Weil's syndrome in a zoologist. **Med. J. Aust.**, v.144, p.597–601, 1986.

MARANA, E.R.M. et al. Ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em rebanhos de leite do norte do Paraná – Brasil. **Semina**, Londrina, v.16, n.1, p.40-2, 1995.

MARTINS, C.S., VIANA, J.A. Toxoplasmose - o que todo profissional de saúde deve saber. Revisão. **Clínica Veterinária, ano 3**, n.15, p.33-7, 1998.

MATTHIAS M.A., et al. Diversity of bat-associated Leptospira in the Peruvian Amazon inferred by Bayesian phylogenetic analysis of 16S ribosomal DNA sequences. **Am J Trop Med Hyg.**, 2005.

MEENKEN C., et al. Long term ocular and neurological involvement in severe congenital toxoplasmosis. **Br J Ophthalmol,** v.79, p.581-4, 1995.

MEIRELES, L.R. Padronização e aplicações da avidez de anticorpos IgG no diagnóstico laboratorial da toxoplasmose animal. 2005. 117p. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MURPHY, R.G., et al. The urban house mouse (Mus domesticus) as a reservoir of infection for the human parasite Toxoplasma gondii: an unrecognized public health issue? **Int.J. Environ Health Res.,** n.18, v.3, p.177-85, 2008.

OLIVEIRA AAF, MOTA RA, SÁ MEP. Leptospirose bovina: Aspectos epidemiológicos, clínicos e de diagnóstico. **Revista do Conselho Federal de Med. Vet.,** v.20, 2000.

OLIVEIRA, S.J., et al. Sorologia para diagnóstico de leptospirose em suínos no Rio Grande do Sul: Resultados obtidos de granjas com e sem problemas de reprodução. **Pesquisa Agropecuária Gaúcha**, Porto Alegre, v.1, n.4, p.263-67, 1995.

OMS: Organizacion Mundial de La Salud. Expert Comittee on zoonosis third report. Genebra : **OMS**, l966. (OMS-Informes Técnicos, 378,1967).

PATE G.E., et al. A review of the epidemiology of leptospirosis in the Republic of Ireland. **Ir Med J**., v.93, p.114-7, 2000.

PORTO, A. M. F. et al. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes. **Rev Assoc Med Brás**. v.54, n.3, p.242-8, 2008.

REMINGTON, J.S., MCLEOD R., DESMONTS G. Toxoplasmosis. In: Remington

JS, Klein JO, eds. **Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 140-267, 1995.

REY, L.C., RAMALHO, I.L.C. Soroprevalência da toxoplasmose em Fortaleza, Ceará, Brasil. **Rev Inst Med Trop**, São Paulo, v.41, p.171-4, 1999.

RODRIGUES, G.G., MULLER, E.E., FREITAS, J.C. Leptospirose bovina: sorologia na bacia leiteira da região de Londrina-PR, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, p.309-14, 1999.

ROUQUAYROL, M.Z. e ALMEIDA FILHO, N. Epidemiologia e Saúde. 6.ed.; Rio de Janeiro: **Medsi**, p.708, 2003.

RUSSELL, K.L., et al. An outbreak of leptospirosis among Peruvian military recruits. **Am J Trop Med Hyg**, v.69 p.53–7, 2003.

SANDERS, E.J., et al. Increase of leptospirosis in dengue-negative patients after a hurricane in Puerto Rico in 1996 [correction of 1966]. **Am J Trop Med Hyg**, v.61, p.399–404, 1999.

SCANZIANI, E., et al. Serological survey of leptospiral infection in kennelled dogs in Italy. **Journal of Small Animal Practice,** v. 43, p. 154-157, 2002.

SCHWARZ, J.A., et al. A novel rhoptry protein in Toxoplasma gondii bradyzoites and merozoites. **Mol Biochem Parasitol.**, v.144, n.2, p.159-66, 2005.

SILVA, R.C. Diferenciação entre os estágios agudo e crônico na infecção toxoplásmica pela técnica de aglutinação direta modificada. **Dissertação (Mestrado)** defendida em 2006 pela FMVZ/UNESP/Botucatu.

SETHI, S., et al. Leptospirosis in northern India: A clinical and serological study. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, v.34, p.822–5, 2003.

SIMON, M.C., et al. Risk factors associated with the seroprevalence of leptospirosis among students at the veterinary school of zaragoza University. **Vet Rec.**, v.144, n.287-91, 1999.

SMITH, J.C. Documented outbreak of toxoplasmosis: Transmission of T. gondii to humans. **J. Food Protect**., v.56, p.630-9, 1993.

SMYTHE, L.D. Leptospirosis worldwide, 1999. **Wkly Epidemiol Rec**., v.76, p.109-16, 2001.

SROKA, J., WÓJCIK-FATLA, A., DUTKIEWICZ. Occurrence of *Toxoplasma gondii* in water from wells located on farms. **J. Ann Agric Environ Med**., v.13, p.169-75, 2006.

TALPADA, M.D., et al. Prevalence of leptospiral infection in Texas cattle:

implications for transmission to humans. **Vector Borne Zoonotic Dis**., v.3, p.141–7, 2003.

TENTER, A.M. Epidemiological importance of animals in the transmission of *Toxoplasma*. **Parasitology International**, v.47 p.82, 1998.

TENTER, A.M., HECKEROTH, A.R., WEISS, L.M. Toxoplasma gondii: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v.30, n.12-13, p.1217-58, 2000.

TENTER, A.M., JOHNSON, A.M. Phylogeny of the tissue cist-forming coccidia. **Advances in Parasitology**, v. 39, p. 70-139, 1997.

TERRY, J., TRENT, M., BARTLETT, M. A cluster of leptospirosis among abattoir workers. **Commun. Dis. Intell.**, v.24, p.158–60, 2000.

VASCONCELOS, C.G.C. Zoonoses Ocupacionais: Inquérito soro-epidemiológico em estudantes de Medicina Veterinária e Análise de risco para a Leptospirose, Brucelose e Toxoplasmose. **Tese (Doutorado)** defendida em 2003, FMVZ/UNESP/Botucatu.

VASCONCELLOS, S.A., et al. Leptospirose bovina: Níveis de ocorrência e sorotipos predominantes em rebanhos dos estados de Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, e Mato Grosso do Sul. 1996. **Reunião Anual do Instituto Biológico RAIB** – São Paulo

VINETZ, J.M. Sporadic urban leptospirosis. **Ann Intern Med**., v.125, p.794-8, 1996.

ZENNER, L., et al. Toxoplasma gondii: Kinetics of the dissemination in the host tissues during the acute phase of infection of mice and rats. **Exp. Parasitol.**, v.90, p.86-94, 1998.

WAITKINS, S. A. Leptospirosis as an occupational disease. **Br. J. Ind. Med**., v.43, p.721–5, 1986.

WARD, M.P., et al. Serovar-specific prevalence and risk factors for leptospirosis among dogs: 90 cases (1997–2002). **J Am Vet Med Assoc.,** v.224, p.1958-63, 2004.

WILSON, M.; WARE, D.; JURANEK, D. Serologic aspects of toxoplasmosis. **J. Am. Vet. Med. Assoc**., v.196, n.2, p.277-281, 1990.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. **AIDS**. v.7, p.299-316, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leptospirosis worldwide, 1999. **Wkly Epidemiol Rec**., v.76, p.109–16, 2001.

Anexo 1 – INQUÉRITO EPIDEMIOLÓGICO

1.1. Ficha de dados:

Protocolo nº _____

Data: ___/___/___

Nome: _____

Curso: _____Ano: _____

Data Nascimento: ___/___/___

Endereço contato: _____

Fone: (___) _____-_____

E-mail: _____

Protocolo nº _____

1.2. Leptospirose e toxoplasmose:

01) Mora com a família? ( ) Sim; ( ) Não.

Cidade onde reside a família: ( ) Área urbana; ( ) Área rural.

02) Possui contato com animais? ( ) Sim; ( ) Não.

Qual (is) animal (is)?:_____

Se sim, qual o tipo de contato? ( ) Trabalho; ( ) Diversão.

03) Convive com animais dentro de casa? ( ) Sim; ( ) Não.

Qual (is):_____

04) Tem hábito de dormir com algum animal de estimação? ( ) Sim; ( ) Não.

Qual (is):_____

05) Tem ração para animais em casa? ( ) Sim; ( ) Não.

06) A ração fica exposta? ( ) Sim; ( ) Não

07) A ração é guardada em recipiente fechado? ( ) Sim; ( ) Não.

08) Você já ouviu falar de leptospirose? ( ) Sim; ( ) Não.

Sim, _____

09) De onde vem a água que você usa em casa?R:_____

10) A água que você recebe tem cheiro ou gosto ruim? ( ) Sim; ( ) Não.

11) Falta água na sua casa, quantas vezes por semana? ( ) Não; ( ) Às vezes; ( ) Sempre. Usa água de onde quando isso acontece?R:_____

12) Você armazena água em casa, se sim, onde?R:_____

13) O seu esgoto costuma entupir ou tem vazamento? ( ) Sim; ( ) Não.

14) Existe cheiro ruim de esgoto na sua casa? ( ) Sim; ( ) Não.

15) Quando chove o esgoto tem problema? ( ) Sim; ( ) Não.

16) Existe serviço de coleta de lixo na sua rua? ( ) Sim; ( ) Não.

17) Quantas vezes / semana o caminhão de lixo faz a coleta? ( )1; ( )2; ( )3.

18) O lixo na sua casa fica coberto? ( ) Sim; ( ) Não.

19) Os alimentos ficam estocados em locais abertos? ( ) Sim; ( ) Não.

20) Existe serviço de varrição na sua rua?( ) Sim; ( ) Não.

21) Quando chove entra água na sua casa? ( ) Sim; ( ) Não.

22) Quando chove seu quintal fica alagado? ( ) Sim; ( ) Não.

23) Quando chove dá para andar pelas ruas do seu bairro? ( ) Sim; ( ) Não.

24) Quando chove aparece baratas ou ratos na sua rua? ( ) Sim; ( ) Não.

25) Quando chove o caminhão de coleta de lixo passa? ( ) Sim; ( ) Não.

26) Você já observou roedores no quintal da sua casa, ou seu animal trouxe um? ( ) Camundongo; ( ) Ratazana; ( ) Roedor silvestre.

27) Já ouviu falar da toxoplasmose? ( ) Sim; ( ) Não.

Sim, _____

28) Sabe como se pega? ( ) Sim; ( ) Não.

Sim,_____

29) Tem gestante na sua casa? ( ) Sim; ( ) Não.

30) Tem gato em casa? ( ) Sim; ( ) Não.

Quantos? ( )1; ( )2; ( )3 ou +.

O que ele come?_____

Onde faz xixi e cocô?_____

31) Tem atividades relacionadas á manipulação de terra, areia?

Qual (is):_____

32) Tem criança em casa? ( ) Sim; ( ) Não.

Quantas? ( )1; ( )2; ( )3 ou +.

33) Tem hábito de comer carne crua? ( ) Sim; ( ) Não.

Sim, de que espécie? _____

34) Que você faz com a carne que compra no mercado ou açougue, quando chega em casa?_____

35) Come verdura? ( ) Sim; ( ) Não.

36) Como prepara as verduras, legumes e frutas para comer? _____

37) Tem o hábito de ingerir leite cru? ( ) Não; ( ) Às vezes; ( ) Sempre.

Sim, de que espécie? _____

Leite fervido? ( ) Não; ( ) Ás vezes; ( ) Sempre.

Leite pasteurizado? ( ) Não; ( ) Ás vezes; ( ) Sempre.

Queijo fresco (queijo minas)? ( ) Não; ( ) Ás vezes; ( ) Sempre.

38) Qual a origem da água de bebida da residência? ( ) Torneira; ( ) Mineral; ( ) Poço; ( ) Filtrada; ( ) Outro.

39) Tem o hábito de almoçar fora de casa, em restaurantes? ( ) Não; ( ) Às vezes; ( ) Sempre.

40) Assinale com um (X) a associação da enfermidade com a contaminação por meio da manipulação:

	Enfermidade			**Enfermidade**	
Manipulação	**LEPTO**	**TOXO**	**Manipulação**	**LEPTO**	**TOXO**
Fezes de cão			Ingestão água contaminada		
Fezes de gato			Ingestão alimentos crus		
Outros animais			Manipulação terra/areia		
Urina de gato			Manter animais dentro de casa		
Urina de cão			Dormir com animais		
Outros animais			Abrir para consumo enlatados e garrafas sem prévia lavagem		

Anexo 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Protocolo nº _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu,_____,
nacionalidade:_____; ____de idade; estado civil:_____;
profissão:_____; endereço:_____
e RG:_____, estou sendo convidado a participar de um estudo denominado "Inquérito soro-epidemiológico dos acadêmicos de Medicina Veterinária das Universidades: Federal e Pontifícia Universidade Católica do Paraná para a prevalência de Leptospirose e Toxoplasmose", cujos objetivos e justificativas são: correlacionar hábitos alimentares e de higiene com as zoonoses por meio do levantamento soro-epidemiológico. Elaborar algumas hipóteses sobre os meios de infecção da população acadêmica e de funcionários, em relação as enfermidades leptospirose e toxoplasmose. Levantar a prevalência e/ou a incidência da infecção pela *Leptospira* spp e pelo *Toxoplasma gondii*. Este estudo buscará fatores de risco, em relação a leptospirose e toxoplasmose, por meio de um inquérito soro-epidemiológico de Universidades localizadas no Oeste do Paraná. A minha participação no referido estudo será no sentido de pesquisar a infecção na população acadêmica.

Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: serem informados sobre os resultados em relação a sorologias de leptospirose e toxoplasmose, importantes zoonoses.

Recebi, por outro lado, os esclarecimentos necessários sobre os possíveis desconfortos e riscos decorrentes do estudo, levando-se em conta que é uma pesquisa, e os resultados positivos ou negativos somente serão obtidos após a sua realização. Assim, o voluntário terá desconforto na hora da coleta, mas serão realizados por profissionais da área (enfermeiros) e não haverá nenhum risco, pois todo material é descartável.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar, será mantido em sigilo.

Também fui informado de que posso me recusar a participar do estudo, ou retirar meu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, não sofrerei qualquer prejuízo à assistência que venho recebendo.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são Vanessa Yuri de Lima da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e Universidade Estadual Paulista, com auxílio do(a)s aluno(a)s do segundo ano do curso de Enfermagem, devidamente assistid(o)as pela seus docentes Prof. Jaciane C. Klassmann e Prof. Janaína V. Lahm da Pontifícia Universidade Católica do Paraná e com eles poderei manter contato pelos telefones (45) 3277-8600.

É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas conseqüências, enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação.

Enfim, tendo sido orientado quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre

consentimento em participar, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação. No entanto, caso eu tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, haverá ressarcimento na forma seguinte: em dinheiro, ou mediante depósito em conta-corrente, cheque, etc). De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado, conforme determina a lei.

_____, ___de _____ de 2008.

_____

Nome e assinatura do sujeito da pesquisa

_____

Nome(s) e assinatura(s) do(s) pesquisador(es) responsável(responsáveis)

Anexo 3 – MÉTODO DE AGLUTINAÇÃO DIRETA (MAD)

O MAD iniciou-se com a produção de antígeno, inoculando-se 1mL de lavado peritoneal, rico em taquizoítos da cepa RH de *Toxoplasma gondii*, em 10 camundongos Swiss (Grupo 1), com 30 dias de idade, pela via peritoneal, no dia zero. O lavado peritoneal dos camundongos do Grupo 1, foi realizado no dia 3, inoculando-se 5mL de solução fisiológica 0,85%. Aspirando-se a seguir para obtenção do lavado, se avaliou os lavados peritoneais, descartando-se aqueles que estavam hemorrágicos e com contaminação. Foram aproveitados somente os lavados ricos em taquizoítos.

Os lavados peritoneais pobres em taquizoítos, foram centrifugados a 1000g por 10 minutos, vertendo-se e descartando-se o sobrenadante, e ressuspendendo. O sedimento foi resuspendido em volume menor que o inicial de solução fisiológica 0,85%. No mesmo dia 3, inoculou-se 1mL dos lavados peritoneais do Grupo 1, em 20 camundongos Swiss (Grupo 2), com 30 dias de idade, pela via peritoneal. O lavado peritoneal do camundongos do Grupo 2, foi realizado no dia 6, com 5mL de solução fisiológica 0,85%. Avaliou-se os lavados peritoneais, descartando aqueles que estiverem hemorrágicos e com contaminação. Foram aproveitados somente os lavados ricos em taquizoítos.

Os lavados peritoneais pobres em taquizoítos, foram centrifugados a 1000g por 10 minutos, vertido o sobrenadante, descartando-o e ressuspendendo o sedimento foi ressuspendido em volume menor que o inicial de solução fisiológica 0,85%. No mesmo dia 6, realizou-se a passagem de células sarcomatosas tumorais TG180, misturando parte deste com os lavados peritoneais ricos em taquizoítos, provenientes do Grupo 2.

Foi diluída, previamente, a suspensão de sarcoma TG180 na proporção de 1:8 em solução fisiológica 0,85% (solução A). Misturou-se volume/volume desta solução de sarcoma+solução fisiológica com a suspensão antigênica de taquizoítos, provenientes do Grupo 2 (solução B)*. Ainda no dia 6, inoculou-se 2mL da solução B, em 60 camundongos Swiss (Grupo 3), com 30 dias de idade, pela via peritoneal.

No dia 8, foi feito o lavado peritoneal dos camundongos do Grupo 3, com 5mL de solução fisiológica 0,85%, e avaliado em microscópio óptico. Separou

somente os lavados ricos em taquizoítos. Quanto àqueles que se apresentaram ricos em células, mas com taquizoítos presentes procedeu-se da seguinte forma:

1) Centrifugou a suspensão de células e taquizoítos a 30g por 5 minutos;

2) Recolheu-se o sobrenadante (onde estavam os taquizoítos) em outro tubo de centrífuga, mas reservou-se o sedimento, pois pode tentar separar depois;

3) Centrifugou-se o sobrenadante a 440g por 20 minutos;

4) Reservou-se o sobrenadante e ressuspendeu o sedimento em solução fisiológica 0,85%;

5) Centrifugou-se a 260g por 10 minutos;

6) Recolheu-se o sobrenadante (onde se estaram os taquizoítos) em outro tubo de centrífuga;

7) Quando necessário voltou ao passo 3, e assim sucessivamente.

As mesmas foram diluídas em microplacas de fundo em U, onde foi adicionado 150µl de SST 0,01M pH7,2 em todas as cavidades que foram utilizadas. Na primeira cavidade, foi adicionado 10µl de soro (diluição 1:16) e, após homogeneização com micropipeta, foi transferido 50µl para outra cavidade, equivalendo a diluição 1:64, procedeu-se assim até a diluição 1:8192. A seguir, 25µl de cada diluição do soro foi transferida para as respectivas cavidades de microplacas com fundo em “V”, e 25µl de 2-mercaptoetanol 0,2 M, diluído em solução salina tamponada 0,01M pH 7,2 (MAD) e, 50 µl do antígeno, diluído em solução tampão borato pH 8,7 (MAD) foram adicionados às cavidades. As placas foram seladas com papel alumínio, homogeneizadas por um minuto e incubadas a temperatura de 37ºC, por 24 horas ou *overnight*, procedeu-se a leitura com interpretação dos resultados. Foi considerado positivo, quando houve a formação de uma malha cobrindo pelo menos metade do fundo da cavidade, e negativo quando formou botão ou anel no fundo da mesma.

Anexo 4 – AGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM)

1. Triagem

O soro foi diluído colocando-se 0,1mL deste para 4,9mL de solução salina tamponada (SST) 0,01M pH 7,6 em um tubo de ensaio tipo Wasserman, correspondendo a diluição 1:50. Em microplaca, devidamente identificada pipetou-se 50µL do soro diluído nos poços, formando uma fileira. O mesmo ocorreu para o controle, onde ao invés de soro foi pipetado SST 0,01M pH 7,6; A seguir foi acrescentado nos respectivos poços, inclusive nos controles, 50µL das correspondentes suspensões antigênicas, passando a diluição final em cada pocinho para 1:100. Agitou-se levemente a microplaca, incubando-se em estufa a 37^{o} C, por 1 hora.

Com alça bacteriológica de aproximadamente 2mm de diâmetro, colocou-se uma gota do conteúdo de cada pocinho em fileiras sobre uma lâmina; o material foi examinado, sem lamínula, em microscópio de campo escuro, com óleo de imersão colocado entre a lâmina e o condensador, observando na objetiva de 10X e ocular de 10X. Ao final foi anotado o grau de aglutinação para cada sorovar, considerando positivos aqueles que Apresentavam 50% ou mais de aglutinação, ou seja 50% de *Leptospiras* aglutinadas e 50% livres, tendo como referência os respectivos controles.

2. Titulação

O soro que na prova de triagem, mostrou 50% de aglutinação, ou mais, foi submetido à titulação, realizando-se a mesma técnica somente para os sorovares reagentes. A partir da diluição 1:50 utilizada na prova de triagem, foram preparados mais 6 diluições do soro ou quantas forem necessárias, consecutivas e ao dobro (títulos de 100 a 3.200). Foi preparada uma microplaca com fileiras com 6 poços, que corresponderam à titulação de um determinado sorovar ou antígeno. A parte, preparou-se também, um poço para controle de cada antígeno; pipetando-se 100µL de soro diluído a 1:50 no primeiro poço de reação do sorovar testado, pipetando 50µL de SST 0,01M pH 7,6 nos demais poços para esse

antígeno. Foi feito o mesmo para as demais amostras de soro que estavam sendo testadas. Para se obter a diluição desejada, pipetou-se 50µL da primeira diluição, após homogeneização, pipetando-se 50µL desta, para o seguinte assim sucessivamente, desprezando 50µL da última diluição. No final todos os poços apresentaram 50µL de mistura, na diluição de 1:50, 1:100, 1:200, ... , etc., em cada fileira, correspondendo-se aos títulos 50, 100, 200, assim por diante. Foi pipetado 50µL do antígeno (sorovar) correspondente a cada poço da respectiva fileira e ao controle. (Nessa etapa, as diluições de soro passaram a ser de 1:100 a 1:3200); Após homogeneização, incubou-se e realizou-se a leitura conforme descrito para a prova de triagem. Foi considerado como título a maior diluição do soro capaz de aglutinar 50% ou mais das *Leptospiras*, em relação ao controle. No laudo de resultados, foram mencionados todos os antígenos utilizados na reação, assim como os respectivos títulos obtidos.

TRABALHO A SER ENVIADO PARA A REVISTA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

Inquérito Soro-epidemiológico em Acadêmicos de Medicina Veterinária de duas Universidades do Oeste do Paraná para a Ocorrência de Toxoplasmose e Leptospirose.

Seroepidemiologic Inquire in Medical Veterinary Academics of two Universities on the West Region of Parana State for Incidence of Toxoplasmosis and Leptospirosis.

Investigación Suero epidemiological em Académicos de Medicina Veterinaria de dos Universidad de la Oeste del Parana por Ocurrencia de Toxoplasmose Leptospirose.

Vanessa Yuri de Lima[1], Luiz Carlos de Souza[2]

[1]Prof. Ass. do Centro de Ciência, Tecnologia e Produção - Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR - Rua da União, 500 - Jardim Coopagro - CEP 85902-560 - Toledo/PR. (vanessa.yuri@pucpr.br)

[2]Prof. Adj. do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública – FMVZ/UNESP – Distrito de Rubião Jr., s/n - CEP 18618-000 - Botucatu/SP. (souza@fmvz.unesp.br)

LIMA, V.Y. tel (45) 3277-8600 - FAX (45) 3277-8644

INQUÉRITO SORO-EPIDEMIOLÓGICO EM ACADÊMICOS DE MEDICINA VETERINÁRIA DE DUAS UNIVERSIDADES DO OESTE DO PARANÁ PARA A OCORRÊNCIA DE TOXOPLASMOSE E LEPTOSPIROSE.

Vanessa Yuri de Lima[1]
Luiz Carlos de Souza[2]

RESUMO

As zoonoses são "doenças e infecções naturalmente transmissíveis entre os hospedeiros vertebrados e o homem". Dentre estas enfermidades está à toxoplasmose, zoonose de distribuição mundial que em diversos inquéritos soroepidemiológicos observa-se uma infecção de 70 a 90% das populações. E à leptospirose, atualmente estão disponíveis dados que sugerem que é a enfermidade mais comum dos animais domésticos. O presente estudo verificou hábitos alimentares e de costumes com as zoonoses por meio de levantamento soro-epidemiológico e da ocorrência de infecção na população acadêmica de medicina veterinária de duas universidades localizadas no oeste do estado do Paraná. Foi observado uma porcentagem de 25,5% (73/286) e de 3,8% (11/286) de positividade para a toxoplasmose e leptospirose, respectivamente. Os dados epidemiológicos referentes aos questionários aplicados aos alunos foram analisados, isoladamente para ambas as enfermidades. A associação entre os resultados sorológicos e as variáveis epidemiológicas foi verificada pelos testes de Qui-quadrado ou Exato de Fischer, adotando-se um nível de significância (α) de 5%. Observou-se diferença estatística entre as variáveis conviver com animais dentro de casa, deixar a ração exposta, beber leite cru, área onde a família mora urbana ou rural, ingerir carne crua para a toxoplasmose e somente a variável conviver com animais dentro de casa para a leptospirose. Concluiu-se que a ingestão de alimentos crus, continua sendo um dos principais fatores de risco de infecção pelo *Toxoplasma gondii* entre a população adulta e que a convivência destes acadêmicos com as várias espécies animais, foi o fator de risco principal na população estudada em relação à leptospirose.

Palavras-chave: Acadêmicos; *Leptospira* spp; Sorologia; *Toxoplasma gondii*; Zoonoses

Seroepidemiologic inquire in medical veterinary academics of two universities on the west region of Parana state for incidence of toxoplasmosis and leptospirosis.

ABSTRACT

The zoonoses are diseases and infections naturally transmissible between the vertebrate hosts and humans. Toxoplasmosis is a worldwide distribution zoonosis, that in many seroepidemiologic inquires had infections rates of 70% to 90% of the population. Actual data shows that leptospirosis is the most common disease of the domestic animals. This project correlated behavioral aspects of the veterinary academic population on the west region of Paraná state with the incidence and/or prevalence of toxoplasmosis and leptospirosis using a seroepidemiologic approach. There were total of 25.5% (73/286) and 3.8% (11/286) positive cases for toxoplasmosis and leptospirosis respectively. The epidemiologic data from the students' behavior inquiry were analyzed separately. The association between the serologic results and the epidemiologic data were verified by Chi-square and Fisher exact test, using a significance level (α) of 5%. There were statistical significance between the inquiry variables "live with indoor animals"; "the pet's food is exposed"; "drink raw milk"; "the family lives in urban or country areas"; "ingestion of raw meat" and toxoplasmosis. Living with indoors pets was the only variable with statistical significance for leptospirosis infections. In conclusion, ingestion of raw food continues to be one of the most important risk factors for *Toxoplasma gondii* infections in adult population; and living with various animal species is the main risk factor for leptospirosis.

Key words: Veterinary academic; *Leptospira* spp; Sorologic; *Toxoplasma gondii*; Zoonosis

Investigación Suero epidemiological em Académicos de Medicina Veterinaria de dos Universidad de la Oeste del Parana por Ocurrencia de Toxoplasmose Leptospirose.

RESUMEM

El zoonoses são "enfermedades y infecções naturalmente transmisión entre el anfitriones vertebrado y el hombre". En medio de estos indisposiciones es en el toxoplasmose zoonose de distribución mundial qué em variado investigaciones soroepidemiológicos observador - si un infección de 70 el 90% del poblaciones. Y en el leptospirose, efectivamente are disponible cortar en cuadritos qué sugerir qué es el indisposición mais común del animales sirviente. El regalo Estudio verifies hábitos Seré alimentación y de modales con el zoonoses por medio de elevación suero epidemiological y de ocurrencia de infectar en población académico de veterinario medicina de dos universidad localizado a el oeste de la estado de la Parana. Estado observador un porcentaje de 25,5% (73/286) y de 3,8% (11/286) de seguridad por toxoplasmose leptospirose, respectivamente. El cortar en cuadritos epidemiological acerca de aos cuestionarios aplicado aos partidarias haber estado analizado , separadamente a punto de ambos el indisposiciones. El asociación entre el resultados sorológicos y el variable epidemiological estado cajero cerda pruebas de Qui - plaza o Exacto de Inspector, adoptando - si un nivel de importancia (α) de 5%. Observador - si diferencia estadística entre el variable cohabitar con animales adentro, arrendar el ración revelada, beber leite cru, área dónde el familia retraso urbano o rústico alimentacion carne crua por toxoplasmose y único el variable cohabitar con animales adentro por leptospirose. Completo - si qué el ingerir de comestibles cruzada, continua siendo un de la principal factores de riesgo de infectar a Toxoplasma góndola entre el población adulador y ese el conocida de estas académicos con el alguna especie animales, estuvo el factor de riesgo principal en población estudiado con relación a en el leptospirose.

Palabras-clave: Académicos; *Leptospira* spp; Sorologia; *Toxoplasma gondii*; Zoonoses

INTRODUÇÃO

Zoonoses são enfermidades compartilhadas entre os homens e os animais, algumas destas doenças, apresentam-se como ocupacionais, despertando nos estudantes e profissionais médicos veterinários e de áreas afins, grande preocupação, por estarem constantemente expostos a várias espécies de animais, com potencial risco de infecção. Mesmo sendo importante em Saúde Pública as zoonoses não são muito estudadas no Brasil. Isso está diretamente associado a vários fatores como a grande extensão territorial, a falta de serviços de saúde em muitas regiões, o deficiente saneamento básico e a falta de educação sanitária. O conhecimento da freqüência das enfermidades, dos fatores que condicionam sua presença, disseminação e manutenção, é de fundamental importância na região oeste do Paraná.

Em relação as zoonoses a leptospirose representa ser uma enfermidade importante no que tange a saúde pública, ocupando em alguns países o primeiro lugar entre as doenças humanas transmitidas por animais (FONTAINE e GANIERE, 1982). A toxoplasmose, outra enfermidade relevante, pois é considerada uma das infecções parasitárias de maior importância médica e veterinária e comum no mundo (MEIRELES, 2005).

Diante destas observações este estudo teve como objetivos verificar hábitos alimentares e de costumes com as zoonoses por meio de levantamento soro-epidemiológico, elaborar hipóteses sobre os meios de infecção da população estudada, em relação às enfermidades leptospirose e toxoplasmose e levantar a ocorrência da infecção na população acadêmica de medicina veterinária de duas universidades localizadas nos municípios de Toledo e Palotina, Paraná.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas amostras de sangue dos acadêmicos de duas universidades do Paraná: A (120/190) e B (166/320). Perfazendo um total de 286 amostras. Universidade A localizada no município de Toledo-PR e B no município de Palotina-PR (Latitude 24S4249, 24S1702 e Longitude 53W4435, 53W5024, respectivamente). As coletas foram realizadas somente em alunos voluntários maiores de dezoito (18) anos de idade, que autorizaram por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido a utilização do material para a realização da pesquisa. Foram utilizadas as técnicas de soroaglutinação microscópica (SAM) para a pesquisa da leptospirose e o método de aglutinação direta (MAD) para a toxoplasmose, que foram realizados no laboratório de Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu – SP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na sorologia demonstram um percentual de positividade de 25,5% (73/286) para o *Toxoplasma gondii* nas duas universidades. Dado que se comparado ao estudo realizado por Vasconcelos (2003), que observou 7,5% de soropositividade indica uma porcentagem de infecção muito menor a encontrada neste trabalho. Entretanto, corrobora com Digiacomo et al. (1990) os quais obtiveram 25,0% de positividade e Araújo et al. (2001) com 30,3% em estudantes de medicina veterinária no Mato Grosso.

Neste estudo foram comparadas as variáveis obtidas mediante as respostas ao questionário aplicado aos acadêmicos do curso de medicina veterinária, que se submeteram voluntariamente a pesquisa. O questionário foi elaborado para permitir avaliar a associação entre a positividade da sorologia para a leptospirose e toxoplasmose e alguns comportamentos com os hábitos alimentares.

Em relação à toxoplasmose, quando comparadas às duas universidades (A e B) houve diferença significativa na porcentagem de sorologia positiva, sendo que

a universidade A, apresentou 33,6% e a B 19,5%. Utilizando o teste estatístico qui-quadrado, correlação de Pearson (CURI, 1997), analisou-se todas às variáveis de relevância que constavam no questionário, pôde-se afirmar com isso, que as diferenças significativas observadas em relação à universidade A e B não são de relevância epidemiológica para a enfermidade em questão, mas permitiu que se elaborassem hipóteses sobre as possíveis origens de infecção entre os acadêmicos.

Na universidade A dentre as variáveis com diferença estatística, a infecção por *T. gondii* pode ser concomitante ainda a ingestão de alimentos crus ou mal cozidos. Autores relatam em um grande estudo tipo caso-controle realizado em seis países europeus, que entre 30% a 63% das infecções pelo *T. gondii* foram atribuídas ao consumo de carne crua ou mal cozidas que representou o principal fator de risco para a infecção em todos os centros estudados (COOK et al., 2000).

Na universidade B o inquérito sobre a toxoplasmose após análise estatística, utilizando o teste do qui-quadrado, a variável ingerir carne crua apresentou diferença significativa com os que não ingerem 32,5% e 15,32%, respectivamente. Entretanto, quando se realiza o teste das multivariadas, ela se mostrou não significante, o que corrobora com outros autores descritos na literatura (BONAMETTI et al., 1996; FAN et al., 2001; ERTUG et al., 2005; PORTO et al., 2008).

Mesmo não observando diferença estatisticamente significativa sabe-se que o hábito de ingerir carne crua ou mal cozida, principalmente de suíno, ovino ou caprino (REMINGTON et al., 1995; TENTER et al., 2000) é de extrema relevância em se tratando da toxoplasmose, pois são os mais suscetíveis à formação de cistos teciduais. A maior parte da população acadêmica pesquisada não tem o hábito de ingerir carne crua e entre os alunos com este hábito é a espécie bovina a mais consumida, sendo esta espécie a menos envolvida na epidemiologia da enfermidade (DUBEY e THULLIEZ, 1993; HORIO et al., 2001).

Diversos estudos apontam os hábitos alimentares como um dos principais fatores de risco para a infecção pelo *T. gondii* (PORTO et al., 2008). E o hábito cultural de comer carne crua ou mal cozida potencialmente infectada pode

possibilitar a contaminação com conseqüente aumento do número de infectados pelo *T. gondii* (DUBEY e BEATTIE, 1988).

A variável que apresentou diferença estatística significativa para os testes sorológicos anti-*T. gondii* e anti-*Leptospira* spp na universidade B, foi a que relaciona o local onde reside a família, se é área urbana ou rural. Esta variável precisa ser melhor avaliada uma vez que não foi questionado aos acadêmicos que moram sozinhos, sendo a grande maioria, se residem em área urbana ou rural.

Como teste diagnóstico optou-se pela MAD, pelo fato de ser simples, rápido e de baixo custo, mostrando-se segundo Silva (2006) maior sensibilidade que a prova de imunofluorescência indireta, o que permite sua utilização a campo em inquéritos soroepidemiológicos e em diagnósticos de rotina de pacientes que necessitam de maiores cuidados.

Em relação à leptospirose observou-se em 286 amostras de soro, uma porcentagem de reagentes de 3,84% (11/286) para a *Leptospira* spp entre os acadêmicos, sendo 0% (0/120) na universidade A e 6,62% (11/166) na universidade B. A sorologia para leptospirose mostrou ausência de anticorpos anti-*Leptospira* na universidade A, apesar do constante contato com várias espécies de animais. Os hábitos higiênicos podem estar relacionados o que contribui para a prevenção da infecção pela *Leptospira* spp, bem como a origem dos participantes, as condições de moradia, a qualidade de vida e o nível sócio-cultural dos mesmos. Este perfil de aluno do curso de Medicina Veterinária, nos aspectos de saúde pública, repercutirá posteriormente para a valorização do profissional, em equipes multidisciplinares, atuando em Saúde Pública.

SIMON et al. (1999) ao analisarem os fatores de risco para leptospirose associados à soroprevalência, em estudantes de medicina veterinária da Universidade de Zaragoza, encontraram 8,14% de prevalência para os estudantes ingressantes e 11,4% ao terminarem o curso. Os fatores de risco associados à leptospirose neste estudo foram: contato com pequenos animais (especialmente cães), trabalhos em fazendas, contato com baias e gaiolas e os sorovares estudados foram: bratislava, canicola, grippotyphosa, hardjo, icterohaemorrhagiae e pomona.

Analisando-se por meio do teste estatístico qui-quadrado, correção de Pearson (CURI, 1997) dentre as variáveis do inquérito para a leptospirose, observou-se somente um fator de risco com diferença estatística significativa, a que relaciona a convivência com animais dentro de casa. Essa variável indica que conviver com os animais ou próximo deles é um indicativo de maior exposição dos acadêmicos de medicina veterinária, evidenciando o risco potencial de infecção aos vários sorovares.

Observou-se que a universidade A apresentou maior positividade para a pesquisa de anticorpo anti-*T. gondii* que a B, dentre os 34,1% que foram positivos da universidade A, 5% dos acadêmicos infectados encontram-se no 1º ano e nenhum acadêmico do 5º ano apresentou infecção, indicativo de que os alunos ingressaram na universidade já com o protozoário e o fato de serem estudante de medicina veterinária talvez melhore seus hábitos, devido ao conhecimento dos fatores de risco a que estão expostos. A maioria dos acadêmicos reagentes a pesquisa de anticorpo anti-*Leptospira* na universidade B, se encontrava no início do curso.

Isso corrobora com a análise do questionário aplicado aos acadêmicos sobre as enfermidades desta pesquisa, os alunos possuem um bom grau de conhecimento das zoonoses nas duas instituições. O que contraria as expectativas em relação a um alto índice de alunos infectados por microrganismos eliminados por animais, pois durante a graduação eles aprendem sobre as doenças o que diminui a infecção.

CONCLUSÕES

Conclui-se que os fatores de riscos analisados para a toxoplasmose, mesmo não observando diferença estatística significativa, o fato de se consumir alimentos crus pareceu ser a principal variável para suposta infecção pelo *T. gondii*, e a convivência dos acadêmicos com as várias espécies animais, apresentando significância estatística para a leptospirose, foi o fator de risco principal na população estudada para a infecção pela *Leptospira*.

O grau de informação dos acadêmicos das duas universidades em relação às enfermidades estudadas se concentra acima da média, sendo considerado como um bom índice de conhecimento. O que mostra ser importante para uma completa formação de profissionais conscientes da importância das zoonoses na saúde pública.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO F.R. Antibodies to Toxoplasma gondii in veterinary medicine students of Campo Grande, MS, Brazil. **Rev UFSM**, n.306, p.1017-9, 2001.

BONAMETTI A.M., et al. Outbreak of acute toxoplasmosis transmitted thru the ingestion of ovine raw meat. **Rev Soc Bras Med Trop.**, v.30, p.21-5, 1996.

COOK A.J.C., et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: Europeanmulticentre case-control study. **BMJ**, v.321, p.142-7, 2000.

CURI, P.R. Metodologia e análise da pesquisa em ciências biológicas. Botucatu: **Tipomic**, p.240, 1997.

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

DUBEY, J.P., THULLIEZ, P. Persistence of tissue cystis inedible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocystis. **American Journal of Veterinay Research**, v.54, n.2, p.270-3, 1993.

ERTUG S, OKYAY P, TURKMEN M, YUKSEL H. Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. **BMC Public Health.**, v.5, n.66, 2005.

FAN, C.K., et al. *Toxoplasma gondii* infection relationship between soroprevalence and risck factors among inhabitants in two offshore islands from Taiwan. **Acta Med. Okayama**, v.55, n.5, p.301-8, 2001.

FONTAINE, G.A., GANIERE, J.P. News topic in leptospirosis. **Comp. Fac. M.ed. Vet. Zootec. Univ. São Paulo**, v.1, n.4, p.21-34, 1982.

HORIO, M., NAKAMURA, K., SHIMADA, M. Risck of *Toxoplasma gondii* infection slaughtrhaouse workes in Kitakyushu City. **Journal of University of Occupation and Environmental Health**, Kitakyushu, v.23, n.3, p.233-43, 2001.

MEIRELES, L.R. Padronização e aplicações da avidez de anticorpos IgG no diagnóstico laboratorial da toxoplasmose animal. 2005. 117p. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

PORTO, A. M. F. et al. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes. **Rev Assoc Med Brás**. v.54, n.3, p.242-8, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 6023: informação e documentação Referências – Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.

BIOSIS. Serial sources for the BIOSIS preview database. Philadelphia, 1996. 468p.

REMINGTON, J.S., MCLEOD R., DESMONTS G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, eds. **Infectious Disease of the Fetus and Newborn Infant**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, p. 140-267, 1995.

SILVA, R.C. Diferenciação entre os estágios agudo e crônico na infecção toxoplásmica pela técnica de aglutinação direta modificada. **Dissertação (Mestrado)** defendida em 2006 pela FMVZ/UNESP/Botucatu.

SIMON, M.C., et al. Risk factors associated with the seroprevalence of leptospirosis among students at the veterinary school of zaragoza University. **Vet Rec.**, v.144, n.287-91, 1999.

TENTER, A.M., HECKEROTH, A.R., WEISS, L.M. Toxoplasma gondii: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v.30, n.12-13, p.1217-58, 2000.

VASCONCELOS, C.G.C. Zoonoses Ocupacionais: Inquérito soro-epidemiológico em estudantes de Medicina Veterinária e Análise de risco para a Leptospirose, Brucelose e Toxoplasmose. **Tese (Doutorado)** defendida em 2003, FMVZ/UNESP/Botucatu.