MIRIAM DE SOUZA MACRE

**PADRONIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ENSAIO
IMUNOENZIMÁTICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS
IgG CONTRA *Toxoplasma gondii* NA SALIVA DE
ESCOLARES**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências
(Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro).

São Paulo

2008

MIRIAM DE SOUZA MACRE

**PADRONIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE ENSAIO
IMUNOENZIMÁTICO PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS
IgG CONTRA *Toxoplasma gondii* NA SALIVA DE
ESCOLARES**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências
Biomédicas da Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Biologia da Relação
Patógeno-Hospedeiro

Orientador: Prof. Dr. Heitor Franco de Andrade Jr

São Paulo

2008

DADOS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e Informação Biomédica do
Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

© reprodução total

Macre, Miriam de Souza.

Padronização e aplicação de ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpo IgG contra *Toxoplasma gondii* na saliva de escolares / Miriam de Souza Macre. -- São Paulo, 2008.

Orientador: Heitor Franco de Andrade Júnior.

Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Departamento de Parasitologia. Área de concentração: Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro. Linha de pesquisa: Educação em saúde, sorologia.

Versão do título para o inglês: Standardization and application of immunoenzymatic test for detection of IgG antibodies against *Toxoplasma gondii* in saliva of school.

Descritores: 1. Anticorpos 2. *Toxoplasma gondii* 3. Ensino fundamental 4. ELISA 5. Intervenção educativa 6. Toxoplasmose I. Andrade Júnior, Heitor Franco de II. Universidade de São Paulo. Instituto de Ciências Biomédicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro. III. Título.

ICB/SBIB142/2008

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Instituto de Ciências Biomédicas

Candidato (a): Miriam de Souza Macre

Tese: Padronização e aplicação de ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos IgG contra *Toxoplasma gondii* na saliva de escolares.

Orientador (a): Prof. Dr. Heitor Franco de Andrade Jr.

A Comissão julgadora dos trabalhos de Defesa da Tese de Doutorado, em sessão pública realizada a/...../.....considerou o (a)

() Aprovado (a)

() Reprovado (a)

Examinador (a) Assinatura:.....
Nome:.....
Instituição:.....

Examinador (a) Assinatura:.....
Nome:.....
Instituição:.....

Examinador (a) Assinatura:.....
Nome:.....
Instituição:.....

Examinador (a) Assinatura:.....
Nome:.....
Instituição:.....

Presidente: Assinatura:.....
Nome:.....
Instituição:.....

Aos meus pais Ermita (*in memorian*) e
Moizéis (*in memorian*), que me
ensinaram os princípios da ética e sabedoria
que vem de Deus.
Ao meu marido Davi pela compreensão,
E ao meu filho Tiago, pelas horas que lhe foram roubadas
para o término desse trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Heitor Franco de Andrade Jr, pelos ensinamentos, pela paciência e pela grande sabedoria.

À Direção e coordenação da E.E. Antonio de Pádua Vieira, que tão prontamente nos abriram as portas.

Aos alunos e seus pais que participaram do projeto.

As professoras que permitiram a nossa entrada em suas salas para aplicação do projeto.

Aos colegas do Laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical, pela amizade e pela paciência nas várias coletas de saliva e sangue.

À Dra. Luciana Regina Meireles e Roselaine Pereira Alvin Cardoso, pelo auxílio nas coletas e processamento da saliva.

Ao CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao Laboratório de Investigação Médica (LIM 49) pelo suporte financeiro.

Aos membros da Banca de Exame de Qualificação: Prof. DR. Marcelo Urbano Ferreira, Profa. Dra. Teresinha Tizu Sato Schumaker e a Dra. Edna Maria de Albuquerque Diniz, pelas críticas e sugestões pertinentes ao trabalho.

**“Há três coisas que não voltam atrás: a flecha lançada; a palavra
pronunciada e a oportunidade perdida.”
(Provérbio chinês).**

RESUMO

MACRE, M.S. **Padronização e aplicação de ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos IgG contra *Toxoplasma gondii* na saliva de escolares.** 2008. 76 f. Tese - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

As zoonoses urbanas, doenças que afetam muitos indivíduos em países tropicais, especialmente crianças, são infecções que podem ser adquiridas pelo homem através do contato com animais de estimação, pela ingestão de carne ou água contaminada. Para sua prevenção, é fundamental a educação para medidas de higiene e profilaxia com relação ao manuseio dos alimentos, animais de estimação e higiene pessoal. Isto poderia ser feito através de ensino intensivo, ministrado por profissionais treinados durante o primeiro ciclo do Ensino Fundamental. No presente trabalho, estudamos este tipo de ensino e a prevalência destas doenças, usando a toxoplasmose como modelo, em 164 alunos do primeiro ciclo do ensino fundamental da Escola Estadual Antonio de Pádua Vieira, com coleta de saliva. Foi desenvolvido ELISA de alta sensibilidade em saliva concentrada por etanol. Após 12 (doze) meses, a fixação do conteúdo foi avaliada por questionário. Havia uma prevalência de 50% de contato com *Toxoplasma gondii* nessa população, mostrando a relevância do problema. As crianças sob intervenção mostraram fixação do conhecimento, para ambas as fontes principais de contaminação mostrando a importância da intervenção, em comparação com crianças sem intervenção. As crianças sem toxoplasmose mostraram uma melhor eficiência na fixação da informação. Nossos dados sugerem que intervenções curtas têm um grande efeito de fixação de informações em escolares e que a saliva pode ser um material para a detecção de contato com a toxoplasmose.

Palavras-chave: Toxoplasmose; Educação; Ensino Fundamental; intervenção educativa.

ABSTRACT

MACRE, M.S. **Standardization and application of immunoenzimatic test for detection of IgG antibodies against *Toxoplasma gondii* in saliva of school.** Thesis - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

Urban zoonoses affect large proportion of the population in tropical countries, specially school children. Those infections could be acquired by contact with pets, or ingestion of water or meat contaminated by agents. Education in preventive hygiene measures, as adequate cleaning and cooking are essential in this age group. Intensive teaching during short interventions by trained personal could be effective. Here, we study this type of educational intervention, using toxoplasmosis as a model, in 164 school children in the first years of elementary grades in a public São Paulo school, E.E.P.G. Antonio de Pádua Vieira, with saliva sampling. We had standardize a specific anti *T. gondii* IgG assay in ethanol concentrade saliva. After 12 months, the knowledge of this population was tested by questionnaire. There are a 50% prevalence of contact with *T.gondii* during the intervention, showing the importance of zoonosis in this group. After one year, most children who assisted the intervention recalled correctly the main transmission ways of the zoonosis, showing fixation by short intervention, as compared to non-intervened shoolchildren of the same age group. Children who had no contact with *T.gondii* show higher recall proportion. Our data suggest that shorts interventions are effective in the knowledge fixation in schoolchildren and that saliva, a non invasive sampling, could be an alternative material for detection of contact with toxoplasmosis.

Key words: Toxoplasmosis; Education; Elementary school; Educational intervention.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS/SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

DNA – Ácido desoxirribonucleico

D.O – Densidade Ótica

ELISA - Enzyme Linked Immunossorbent Assay

FMUSP – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

HCl – Ácido Clorídrico

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

IFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

IFN γ - interferon gama

LDB – Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional.

ug/ml – Microgramas por ml

Nm - nanômetro

OMS - Organização Mundial da Saúde

OPD – Orto-fenilenodiamina

PBS – Salina Tamponada com fosfato

PBST - Salina Tamponada com fosfato contendo Tween 20

PCR - Polymerase Chain Reaction

PubMed – Publicações Médicas

UNESCO - Organização Científica e Cultural das Nações Unidas para a Educação

UNICEF - Fundo Internacional das Nações Unidas de Emergência para a Infância.

SUMARIO

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA.....	12
2 OBJETIVOS.....	15
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	16
3.1 Transmissão.....	17
3.2 Formas Clínicas.....	18
3.3 Diagnóstico.....	21
3.4 Prevenção.....	24
3.5 Tratamento.....	25
3.6 Imunidade do <i>Toxoplasma gondii</i>	26
3.7 Utilização da saliva como amostra em diagnóstico.....	27
3.8 Educação em Saúde.....	28
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	33
4.1 Parte Educacional.....	33
4.1.1 Descrição geral da localidade.....	33
4.1.2 História do Bairro.....	34
4.1.3 População estudada.....	34
4.1.4 A intervenção.....	35
4.2 Organização e elaboração do material didático.....	36
4.2.1 Folder.....	36
4.2.2 Atividades de fixação do conteúdo.....	37
4.2.3 Desenhos.....	37
4.3 Medida da intervenção.....	37
4.4 Parte Laboratorial.....	37
5 RESULTADOS.....	40
5.1 Parte Educacional.....	40
5.1.1 A intervenção.....	40
5.1.2 A avaliação da intervenção.....	41
5.2 Parte Laboratorial.....	46
5.2.1 Desenvolvimento de ELISA para a detecção de IgG específica para <i>T.gondii</i>	46

6 DISCUSSÃO.....	54
7 CONCLUSÕES.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
ANEXO A.....	70
ANEXO B.....	71
ANEXO C.....	73
ANEXO D.....	75
ANEXO E.....	76

1 INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

A idéia de realizar esta pesquisa surgiu quando terminei meu mestrado no Instituto de Ciências Biomédicas - ICB da USP, cujo título era “Avaliação da quantificação da avidéz dos anticorpos maternos na abordagem laboratorial da Toxoplasmose congênita”, e desejava aliar o meu trabalho de pesquisa biomédica com uma área na qual eu trabalho há mais de 10 anos que é a Educação. Assim nasceu esse projeto que culminou na minha tese de doutorado. O caminho percorrido foi árduo, mas valeu a pena, pois poderá trazer contribuições tanto na busca de um método diagnóstico menos invasivo que a coleta de sangue em crianças, quanto nas reflexões sobre a vertente educacional que o trabalho seguiu durante o processo.

As ações de prevenção de doenças no Brasil, geralmente, são deixadas em segundo plano, pois não há essa cultura em nosso país (DIAS, 1998). Se essas ações fossem uma prioridade e se tornassem rotineiras, a toxoplasmose, bem como outras doenças de infecção oral, poderiam ser prevenidas através de programas eficientes de educação, especialmente em crianças em idade escolar (GOMES-NETO, 1997). Além disso, com as crianças como multiplicadores, as perspectivas de melhoria poderiam ser asseguradas através de ações em órgãos públicos, como por exemplo, a exigência da qualidade da água distribuída à população menos favorecida, como a que foi alvo de nosso estudo.

Assim, a nossa intenção, através desse projeto, foi a de atuar tanto na educação para a prevenção, quanto na padronização de uma técnica que envolva um procedimento menos invasivo, que é a coleta de saliva em crianças.

Atualmente, o ensino de Ciências voltado à prevenção de doenças como a toxoplasmose e outras parasitoses não tem tido evidência no primeiro ciclo do Ensino Fundamental. A utilização de um modelo de ensino que estimule os alunos a pensar de maneira não fragmentária supõe uma profunda reflexão do papel da universidade e do tipo de profissional que se está formando. Os cursos de magistério e Pedagogia poderiam conduzir esse trabalho sob a forma de projetos que teriam por objetivo propiciar ao estudante a abertura de horizontes e a prática

da reflexão. A análise dos problemas de forma global, considerando os pontos de vista de outros ramos do conhecimento para a abordagem de problemas de saúde, conduz a uma flexibilidade maior da maneira de pensar, integrando e articulando diferentes formas de resolução. Somente uma visão mais ampla e não fragmentada propiciará ao profissional identificar e compreender os problemas de saúde da população, agindo como um mediador entre o senso comum e o conhecimento científico, e trabalhando para promover a mudança de atitude por parte dos alunos. Porém, a mudança de atitude deve atingir principalmente o profissional, que, além de possuir as habilidades próprias da carreira, deve atuar como um intermediário entre o conhecimento científico e o popular. É sua tarefa efetuar a psicanálise do conhecimento popular (BACHELARD, 1996), ou seja, favorecer a passagem da ideologia científica para o verdadeiro conhecimento científico, refinando o saber e transformando-o (PFUETZENREITER, 2001).

Ações neste grupo etário são complexas e eivadas de preconceitos, pois a diminuição do número de filhos por casal levou a uma maior preocupação com este grupo etário, não necessariamente produtiva, diminuindo a capacidade de intervenção de saúde pública nestes grupos, protegidos como necessário pela sociedade e seus pais. Procedimentos invasivos, como a coleta de sangue, devem ser evitados neste grupo etário, o que diminui o potencial diagnóstico já que os testes para detecção de contacto com infecções são geralmente feitos por sorologia. A saliva é um material que contém pequena proporção de soro, pela saída através das mucosas e do líquido crevicular da gengiva na fronteira com os dentes e poderia ser um material alternativo como fonte de IgG para uso nos testes convencionais. Isto permitiria uma abordagem sorológica convencional em uma fonte não invasiva de coleta, mais aceitável para este grupo etário, que é suficientemente cooperativo para a própria coleta.

Devido à enorme quantidade de proprietários de animais domésticos em algumas regiões da área urbana, ocorrem muitas zoonoses nas mesmas, e este problema tem se tornado uma questão de saúde pública. A Medicina Tropical compreende particularmente as doenças infecciosas e parasitárias cuja incidência é maior nas áreas tropicais e sua transmissão é facilitada pelas baixas condições

sócio-econômicas. Mais rotineiramente, as enfermidades ditas tropicais se sobressaem nas áreas rurais, onde ao lado do pauperismo e da precariedade de saneamento, proliferam os agentes, os vetores e os reservatórios dependentes dos respectivos ecossistemas (TAUIL, 2006), com isso, essas doenças têm se tornado um desafio à modernidade, pois podem ocorrer em áreas urbanas, particularmente nos últimos anos, com o intenso fluxo populacional rural-urbano (DIAS, 1998). Em última análise, o hospital continua sendo o lugar mais adequado para se estudar o doente, mas, em Medicina Tropical, o campo reunindo os elementos desencadeadores e mantenedores da doença, permite estudá-la e compreendê-la em todos os seus determinantes e variantes (SANTOS, 2002). No Brasil, inexistiu um conceito uniforme para o estabelecimento do que seja zona rural.

No entanto, a prevenção dessas doenças se torna relativamente fácil, se for feito um programa eficaz de educação, especialmente em crianças no início da idade escolar (GOMES-NETO, 1997), pois a falta de perspicácia técnica e os desencontros institucionais por parte dos governos geram desencontros e frustrações nos educadores que, apesar das dificuldades, tentam implantar aulas que direcionam saúde e educação em uma mesma vertente (L'ABBATE, 1994). Na América Latina, a iniciativa de desenvolver e fortalecer a promoção e a educação em saúde no âmbito escolar, com uma perspectiva integral, tem início em 1995. Enquanto no Brasil, particularmente desde 1997-98, a reforma curricular indicou uma série de conteúdos sobre saúde nas disciplinas básicas, com a sua incorporação como um tema transversal (LDB 9394/96).

Assim, para que isso ocorra, outro ponto importante é assegurar, através de órgãos públicos, a qualidade da água distribuída à população menos favorecida financeiramente. Por outro lado, apesar dos programas de prevenção, esporadicamente, algumas antigas infecções têm reemergido, dentre elas podemos citar: a tuberculose e a malária (TAUIL, 2006).

Dentre as zoonoses de infecção oral, podemos citar: a cisticercose, a tênia do cão, a tênia do boi, a tênia anã (KYVSGAARD, 2007), sendo que a toxoplasmose é uma das mais importantes delas (FUX *et al.*, 2007).

2 OBJETIVOS

Neste estudo pretendemos:

Estudar a prevalência da toxoplasmose em escolares, através de pesquisa de IgG específica em saliva, e avaliar a capacidade de fixação de conceitos na doença, após um ano de intervenção educacional curta.

Especificamente:

- a) proceder a uma intervenção educacional curta sobre a toxoplasmose em escolares, com coleta de saliva;
- b) padronizar um ELISA para IgG anti *T.gondii* de alta sensibilidade para uso em saliva pura ou concentrada;
- c) determinar a prevalência da toxoplasmose em escolares;
- d) determinar a fixação de conceitos sobre a transmissão da doença um ano após a intervenção, para avaliar sua eficiência, usando população naive como controle;
- e) comparar a eficiência de transmissão do conhecimento de acordo com o contacto prévio com o agente.

3 REVISÃO DE LITERATURA

A Toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, que é um parasita intracelular obrigatório, pertencente ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccidia e ordem Eucoccidia. Esse protozoário pode infectar tanto o homem quanto animais domésticos e selvagens (DUBEY e THULLIEZ, 1993); mas os seus únicos hospedeiros definitivos são os felinos, que podem se infectar pela predação de animais que contenham taquizoítos ou cistos em seus tecidos (FRENKEL *et al.*, 1970; AMATO NETO *et al.*, 1995).

O *T.gondii* foi descrito pela primeira vez em 1908 simultaneamente por Splendore no Brasil e por Nicolle e Manceaux no Instituto Pasteur na Tunísia, tendo sua identificação subsequente em vários animais homeotérmicos, até que, em 1923, foi detectado como sendo o causador da doença humana (JANKU, 1923). Entretanto, a freqüência da infecção humana só pôde ser detectada a partir do advento do teste do corante de S.F. (SABIN e FELDMAN, 1948), tornando possível, assim, a introdução da realização de inquéritos epidemiológicos da doença.

O *T.gondii* tem um complexo ciclo com diversos hospedeiros, apresentando-se em três estágios infecciosos: os taquizoítos, os bradizoítos e os esporozoítos (DUBEY *et al.*, 1998). Os taquizoítos são conhecidos por sua forma livre e proliferativa, se multiplicam rapidamente em algumas células do hospedeiro intermediário e também no epitélio peritoneal de seus hospedeiros definitivos na fase aguda da infecção. Outra particularidade dessa forma é que ela pode ser encontrada na maioria das células e tecidos do hospedeiro, bem como em líquidos biológicos, facilitando assim, a sua manutenção tanto em culturas celulares como em passagens por animais (PARK *et al.*, 1993). Quando observados sob microscopia eletrônica, visualiza-se um complexo apical anterior, constituído por um anel conóide de fibras espiraladas, roptrias e micronemas que podem ter alguma função na penetração celular (SOLDATI *et al.*, 2001).

Os bradizoítos, que são formas assexuadas e com metabolismo lento, estão localizados dentro do cisto tecidual, especialmente durante a fase crônica da infecção, podendo permanecer durante toda a vida dentro do hospedeiro, sem mesmo causar danos ou morte do mesmo; essa forma costuma estar presente com maior frequência no cérebro, na retina e nos músculos esqueléticos e cardíacos. Por sua grande persistência, os cistos teciduais variam de peso e tamanho que vão de 10 e 100 μm aproximadamente, sendo que os jovens podem ser pequenos e conter somente dois bradizoítos em seu interior, enquanto os mais velhos podem conter centenas deles. O seu tamanho também pode variar de acordo com a sua localização, sendo que, geralmente os encontrados no cérebro são menores do que os encontrados intramuscularmente (DUBEY *et al.*, 1998).

Os esporozoítos são estruturas liberadas por animais de sangue quente que ingerem alimentos ou água contaminados com oocistos, após processamento gástrico e rompimento dos oocistos no intestino com liberação dos esporozoítos, que se dividem rapidamente nas células intestinais, gerando taquizoítos com subsequente liberação nas fezes do hospedeiro definitivo. Os oocistos, por sua vez, são estruturas muito resistentes, chegando a sobreviver meses ou até um ano em condições ambientais severas ou resistir a agentes químicos (DUBEY, 1991; WONG e REMINGTON, 1993).

3.1 Transmissão

A infecção em humanos se dá através do contato com cistos em alimentos ou oocistos em água contaminada por fezes de felinos (hospedeiros definitivos do *T.gondii*) (SANCHEZ *et al.*, 1994), ocorrendo da seguinte forma: após a ingestão do oocisto por animais de sangue quente, o mesmo rompe-se no interior do intestino do animal, liberando os esporozoítos, esses multiplicam-se formando os taquizoítos. Os taquizoítos, por sua vez, espalham-se pela corrente sangüínea e linfa, e eventualmente se encistam em órgãos considerados estáveis, formando os bradizoítos. Após a ingestão de alimentos contaminados, as enzimas proteolíticas digerem a parede do cisto, liberando os bradizoítos, que infectam o hospedeiro (DUBEY, 1991). Os oocistos são excretados pelos gatos, que eliminam milhões

deles em suas fezes, e isso é um dado muito importante, pois os oocistos podem se manter viáveis por muito tempo (DUBEY, 1991). Além disso, é importante salientar que o tempo para eliminação de oocistos nas fezes dos gatos parece estar associado à forma infectante do parasita, assim, quando a infecção é decorrente da ingestão de oocistos, os gatos os eliminam em um período de 3 a 10 dias pós-infecção, já no caso de ingestão de taquizoítos, essa eliminação inicia-se num período superior ou igual a 15 dias, e no caso de bradizoítos ela ocorre acima de 18 dias (DUBEY, 1998).

Outras formas de infecção de humanos são: consumo de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais, frutas e verduras mal lavadas (ORRISS, 1997), consumo de leite (DUBEY, 1991) ou de queijo fresco produzido com leite não pasteurizado (HIRAMOTO *et al.*, 2001), transmissão vertical ou acidentes de laboratório (HERWALDT e JURANEK, 1993). Embora existem vários meios de infecção no homem, a maioria se dá por via oral; pelo menos metade dos casos de toxoplasmose nos Estados Unidos são causados por ingestão de alimentos contaminados (JONES *et al.*, 2001). No Brasil, estima-se que aproximadamente 60% da população adulta tenha entrado em contato com o parasita em algum momento da vida (GUIMARÃES *et al.*, 1993), no entanto, o *T.gondii* raramente causa distúrbios em indivíduos imunocompetentes, e quando os causam, os mesmos são leves e temporários (MONTROYA, 2004).

3.2 Formas Clínicas

A toxoplasmose apresenta-se sobre várias formas clínicas, dentre elas, uma das mais importantes é que acomete os indivíduos imunodeprimidos, isso ocorre pois a resposta imune à infecção por *T. gondii* é individual, complexa e compartimentada; por sua grande variabilidade genética, o toxoplasma apresenta grande variação individual (FILISSETTI, 2004). Quando acomete indivíduos imunocompetentes, a infecção é geralmente assintomática; segundo relatos, aproximadamente 80% dos indivíduos infectados pelo *T.gondii* são assintomáticos (MONTROYA, 2004). A principal manifestação clínica nesses indivíduos pode ser

uma linfadenomegalia, geralmente cervical, febre, dores musculares e dores de cabeça (HILL e DUBEY, 2002), sem quaisquer outros sinais ou sintomas. Em alguns casos a linfadenomegalia pode vir acompanhada de hepatoesplenomegalia. Com exceção do acometimento ocular, a evolução clínica da toxoplasmose aguda é favorável, embora os seus sintomas possam permanecer por meses e até anos (FRENKEL, 1991).

A Toxoplasmose ocular geralmente culmina na retinocoroidite, que é uma das principais formas clínicas nos indivíduos acometidos pela toxoplasmose (ROBERTS e McLEOD, 1999), e é decorrente do tropismo que o *T.gondii* tem pela retina. Dois tipos de lesões podem ser observados na retina; a primeira é a retinite com intensa inflamação de início súbito, que desaparece após um curto período; nesse caso, a liberação dos antígenos pela ruptura dos cistos e a presença da hipersensibilidade dão origem à inflamação; a segunda é a retinite crônica, que é progressiva e pode levar até à perda da visão. As conseqüências mais comuns da toxoplasmose ocular aumentam com o número e severidade das crises e incluem organização vítrea com opacificação permanente, glaucoma, deslocamento de retina, catarata, hiperemia conjuntiva, dor e fotofobia (DINIZ *et al.*, 1991; AMATO NETO *et al.*, 1995; REMINGTON *et al.*, 1995).

Os problemas supracitados inevitavelmente vêm a culminar no impacto social da toxoplasmose ocular, que pode levar o indivíduo à perda acentuada da visão em cerca de 40% dos casos, com clínica evidente e de acometimento principalmente de indivíduos nos trinta primeiros anos de vida, justamente o período em que se inicia a atividade profissional do indivíduo (AMATO NETO *et al.*, 1995).

Em indivíduos imunodeprimidos, principalmente após o surgimento da epidemia do HIV no início dos anos 80, tanto a toxoplasmose quanto outras doenças antigas reinstalaram-se nessas populações, modificando assim a história natural dessas doenças (DIAS, 1998), e a toxoplasmose ressurgiu como uma das mais comuns infecções oportunistas em pacientes soropositivos (AMBROISE-THOMAS, 2000). Tanto nesses pacientes, quanto em transplantados, a toxoplasmose tem sido bastante comum. Como os cistos do *T.gondii* persistem no

organismo por um período prolongado, qualquer imunossupressão progressiva significativa, como em pacientes HIV positivos, pode ser seguida por uma recrudescência da toxoplasmose. Em um estudo realizado por Wainstein e colaboradores com pacientes soropositivos, as infecções oportunistas foram responsáveis pelo maior número de casos, e dentre estas, a mais prevalente foi a toxoplasmose cerebral, presente em 21% dos casos (WAINSTEIN, 1992). Em pacientes com AIDS a doença geralmente ocorre pela reativação de cistos latentes em órgãos considerados estáveis, causando uma das mais comuns consequências em pacientes soropositivos, que é a encefalite causada pelo *T.gondii*. A encefalite tem sinais clínicos variáveis como: febre, exantema, dores de cabeça, confusão, alterações dos reflexos, tonturas, paralisias focais, podendo progredir para hemiparesia e para coma (WAINSTEIN *et al.*, 1992; KASPER *et al.*, 1998). Em suma, o risco de doença aguda em pacientes HIV positivos com sorologia negativa para toxoplasmose é muito grande (LUFT *et al.*, 1984). Nos Estados Unidos, estima-se que 3 a 10% dos pacientes com AIDS desenvolvam a encefalite por toxoplasma, e na Europa e na África a estimativa vai de 25 a 50% (LUFT *et al.*, 1993).

Já nos transplantados a doença ocorre devido à imunossupressão intensa a que os receptores estão submetidos. A infecção decorre tanto pela reativação de cistos pré-existente no receptor, como pela infecção aguda causada pelos cistos de órgãos de doadores infectados (THOMAS e PELLOUX, 1993; BOTERREL *et al.*, 2002).

Outro indivíduo considerado imunossuprimido é o feto, e a sua infecção culmina na Toxoplasmose congênita, que se dá quando a mãe se infecta durante a gestação e o feto é contaminado por taquizoítos, que são as formas responsáveis pela infecção congênita, via placenta (JONES *et al.*, 2001). Embora a infecção transplacentária possa ocorrer em qualquer estágio da gestação, o feto é afetado mais severamente se ela ocorrer durante a sua primeira metade, com maior risco especificamente entre a 10^a e a 24^a semana de gestação, com a ameaça de severa infecção fetal (SPALDING *et al.*, 2003), em contrapartida, a contaminação nesse período é menos freqüente (AMATO NETO *et al.*, 1995); se o

feto conseguir controlar a infecção os cistos persistem nos tecidos, e os mesmos permanecem viáveis por muitos anos, podendo gerar retinocoroidite bilateral e cegueira. Entretanto, o tempo entre a infecção inicial e a infecção fetal depende de diversos fatores como virulência da cepa do *T.gondii* e estágio de desenvolvimento da placenta. A infecção intra-uterina pode ser muito grave, culminando até em abortamento, natimortos, doença neonatal grave ou prematuridade, além de manifestações tardias (DUBEY, 1991; PIRES, 1999).

Ao nascer, a criança pode não apresentar sinais clínicos, mas apresenta seqüelas no decorrer de sua vida, como por exemplo: hidrocefalia ou microcefalia, corio-retinite, calcificações intracranianas e retardamento mental, que consistem na tríade de Sabin (DUBEY, 1991; SABIN, 1941). Muitas dessas crianças podem desenvolver retinocoroidite bilateral durante a adolescência ou na fase adulta, quando lesões oculares e desordens de neurodesenvolvimento podem acontecer (FRENKEL, 1990; FOULON *et al.*, 1999). Nos Estados Unidos, por exemplo, a infecção por toxoplasmose congênita tem acometido cerca de 3.000 recém-nascidos por ano (ROBERTS e FRENKEL, 1990), e na região metropolitana de São Paulo, no Brasil, estima-se que devam nascer cerca de 230 a 300 crianças infectadas por ano (GUIMARÃES *et al.*, 1993). No entanto, com os recentes progressos da medicina fetal e aprovação do aborto em alguns países, as expectativas de diagnósticos mais precisos são grandes, diminuindo esses números, como foi demonstrado recentemente por Roberts e colaboradores, no qual eles estudaram 12 fetos abortados entre 18 e 32 semanas de gestação por causa da toxoplasmose congênita com hidrocefalia (ROBERTS e McLEOD, 1999).

3.3 Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose pode ser feito através de diversos métodos de sorologia como: reação de Sabin-Feldman (1948), reação de Imunofluorescência Indireta (IFI), reações de aglutinação e Hemaglutinação Indireta, reação de Fixação de Complemento, reação Imunoenzimática ("Enzyme Linked Immunosorbent Assay"- ELISA); e a imuno-marcação em proteínas

isoladas em membranas ou Western Blot; ou por métodos identificando parasitológicamente o agente como: isolamento e manutenção do parasita infectante, a partir de materiais biológicos do paciente; diagnóstico histológico com colorações imuno-histoquímicas; ou por métodos mais práticos e recentes, como a reação de polimerase em cadeia por iniciadores específicos (PCR “Polymerase Chain Reaction”), que na realidade identifica ácidos nucleicos do agente.

A clássica reação de Sabin-Feldman é sensível e específica, só que traz a desvantagem de ser trabalhosa e demorada, requerendo taquizoítos vivos como antígeno, o que aumenta o risco do operador e o custo do teste (CAMARGO, 1991). A reação de Imunofluorescência Indireta (IFI) têm a eficiência comparável à reação de Sabin-Feldman, com a vantagem de maior rapidez de execução, reprodutibilidade e preservação dos reagentes (SANCHEZ, 1996). A reação de Hemaglutinação Indireta baseia-se no revestimento por antígenos do parasita em hemácias taninizadas usualmente não aglutinantes com soro humano, como as de ave. Ao reagirem com anticorpos específicos, estas hemácias apresentam uma aglutinação visível, que pode ser quantificada pela diluição seriada do soro, mas depende muito do tipo de reagente utilizado e das condições experimentais, incluindo-se a leitura subjetiva da reação, o mesmo valendo para partículas de látex revestidas com antígenos (SANCHEZ, 1996). A reação de Fixação de Complemento é um método que caiu em desuso por ser muito trabalhosa e necessitar de um grande número de reagentes de difícil padronização, já que depende do consumo de complemento exógeno em sistemas padronizados (SANCHEZ, 1996). Os ensaios imunoenzimáticos (ELISA), utilizam antígenos solúveis do parasita, ligados a superfícies adsorventes em placas, que permitem a adesão dos anticorpos específicos a um substrato sólido. Após lavagens, estes anticorpos podem reagir com anticorpos específicos ligados a uma enzima, que permite, pela sua reação a substratos coloridos, quantificar os anticorpos aderidos, o que têm se mostrado muito específico (VENKATESAN e WAKELIN, 1993). Pela sua praticidade, este método permite variações, como por exemplo, a captura de classes específicas de imunoglobulinas ou uso de substratos fluorescentes de alta sensibilidade (VENKATESAN e WAKELIN, 1993). Apesar de muito sensíveis,

estes métodos sofisticados apresentam baixa eficiência no diagnóstico temporal da toxoplasmose humana. Existem ainda, outras variações com o uso de antígenos recombinantes, com uma sensibilidade variável, em geral alta (96%) (LECORDIER *et al.*, 2000).

Os métodos parasitológicos de isolamento e manutenção do agente podem ser aplicados em amostras de material biológico do feto, como sangue fetal ou líquido amniótico. Eles baseiam-se no crescimento do patógeno, que é um parasita intracelular obrigatório, em células, culturas ou em animais susceptíveis, como camundongos, o que implica em seguimento por um longo período, com sensibilidade relativamente baixa.

A PCR baseia-se na amplificação das seqüências específicas de DNA, apresentando-se muito sensível. A demonstração de taquizoítos ou cistos teciduais é feita geralmente através de diagnóstico histológico em cortes de tecidos, utilizando-se técnicas imuno-histoquímicas com uso de anticorpos reveladores específicos para o agente.

Já o diagnóstico pré-natal para detecção de toxoplasmose congênita faz-se através da pesquisa de anticorpos IgM no sangue da mãe; e, após o advento da cordocentese, através da análise do sangue do cordão e do líquido amniótico (DESMONTS *et al.*, 1985). A técnica de PCR também tem sido muito utilizada ultimamente por se tratar de uma técnica muito sensível (HOLLIMAN, 1994), e a mesma baseia-se na detecção de DNA do *T.gondii* em fluidos corporais ou fragmentos de tecidos; e as suas frações mais investigadas têm sido o gene B1 e o SAG1 (HOWE *et al.*, 1997); essa técnica têm sido extremamente útil para o diagnóstico da toxoplasmose, onde apenas um pequeno número de parasitas pode ser encontrado nas amostras, sendo de difícil identificação morfológica ou com restrições temporais graves, como nos processos de isolamento.

O teste de avidéz dos anticorpos IgG é um teste capaz de distinguir infecções recentes de infecções antigas (PAUL, 1999; ASHBURN *et al.*, 1998; COZON *et al.*, 1998). Os anticorpos de alta avidéz são aqueles que permanecem ligados ao antígeno após tratamento da amostra com uréia ou outro agente caotrópico, e são característicos de infecção antiga. Já os anticorpos de baixa

avidez, indicam infecção aguda ou recente e são eliminados após a ação da uréia (CAMARGO *et al.*, 1991; BERTOZZI *et al.*, 1999) ou Tiocianato de Amônia (FERREIRA e KATZIN, 1995). Vários relatos têm mostrado que a avidez dos anticorpos IgG é um bom índice da época da infecção, definindo-a como tendo ocorrido até entre um período de 6 a 8 meses da coleta, tempo em que os anticorpos de baixa avidez ainda não foram substituídos pelos de alta avidez (JONES *et al.*, 2001). Após este período da infecção é atingida a produção de anticorpos de alta avidez, que é mantida pelo restante da vida onde a presença de IgG pode ser detectada (SOUZA *et al.*, 1997). Em nosso meio, a determinação da avidez de anticorpos em gestantes suspeitas de infecção aguda pela presença de IgM sérica, mostrou que este teste é melhor que a determinação de IgM na previsão da infecção recente, embora com problemas metodológicos que implicam em sua melhor padronização (SUZUKI *et al.*, 2001).

Apesar da grande importância do diagnóstico laboratorial da toxoplasmose, o mesmo deverá sempre estar aliado à avaliação clínica e, no caso da gestante acompanhamento ultrassonográfico.

3.4 Prevenção

No Brasil, ainda existe a ênfase na medicina curativa, deixando exíguo espaço às ações preventivas, como a Educação e a exigência de melhorias como o saneamento básico (DIAS, 1998).

Obstante a isso, é sabido que uma das únicas formas de se evitar os efeitos da doença é a prevenção (HOLLIMAN, 1995). Nesse aspecto, as orientações higiênico-dietéticas sobre como evitar a toxoplasmose são de suma importância (WILSON, 1980), incluindo cuidados com gatos, cuidados no cozimento adequado de carnes e na ingestão de queijo fresco e leite pasteurizado (HIRAMOTO *et al.*, 2001), no tratamento da água e na lavagem de frutas e verduras. Essas orientações deveriam ser introduzidas desde os primeiros anos do ensino fundamental, com acompanhamento sorológico e especial atenção as adolescentes que apresentassem sorologia negativa. Isso seria de suma

importância nessa idade pré-natal, pois segundo estudos realizados na Europa, foi diagnosticado que a ingestão de carne crua ou mal cozida é o principal fator de risco para adquirir a infecção; esses estudos mostraram que de 30 a 63% das infecções agudas em gestantes foram atribuídas devido ao consumo de carne e derivados, crus ou mal cozidos (COOK, 2000).

Ainda no aspecto de prevenção as ações do Sistema Único de Saúde deveriam ser direcionadas para a orientação de moradores de áreas com saneamento básico e fornecimento de água deficiente (SANTOS, 1993). Essa orientação teria múltiplas funções, além de formar cidadãos mais conscientes quanto aos seus deveres e direitos, os mesmos conhecimentos poderiam ser utilizados para todas as doenças transmitidas pela água e por alimentos. Além disso, os conhecimentos seriam multiplicados em seu próprio meio para os familiares.

3.5 Tratamento

Os esquemas terapêuticos para a toxoplasmose aguda têm sido os mesmos há 30 anos (DEROUIN, 2001). O número de recém-nascidos infectados de mães tratadas com Espiramicina foi reduzido significativamente em relação aos de não tratadas (STRAY-PEDERSEN e JENUN, 1992), mas isso não elimina totalmente o risco de transmissão para o feto (BADER *et al.*, 1997). Um clássico estudo mostrou a eficácia da associação de outras drogas como a Sulfadiazina e Pirimetamina para minimizar o efeito da infecção no recém-nascido (HOLLFELD *et al.*, 1989). Segundo um estudo retrospectivo, o tratamento realizado durante a gravidez pode reduzir sintomas clínicos em crianças infectadas (FOULON *et al.*, 1999). Apesar de não haver, ainda, um esquema de excelência para o tratamento pré e pós-natal da toxoplasmose congênita, a terapia pré-natal parece, de fato minimizar os efeitos da infecção, tornando-se uma alternativa prática e real para as gestantes (STRAY-PEDERSEN e JENUN, 1992).

Apesar de o tratamento conseguir controlar as formas de rápida proliferação, não existe nenhuma droga capaz de eliminar os cistos teciduais

latentes em humanos e animais, que se mantêm viáveis por longo período, podendo reativar a infecção (BEAMAN, 1995). No caso de infecção fetal, preconiza-se terapia específica para o feto, através da associação da Pirimetamina a Sulfadiazina, acompanhado de Ácido Folínico, alternado com a Espiramicina, que segundo alguns estudos, geralmente não atravessa a placenta (DAFFOS *et al.*, 1988; JONES *et al.*, 2001). A Pirimetamina é uma substância antagonista do ácido fólico, e em situações normais não é recomendada para gestantes, pois pode produzir depressão gradual e reversível na medula fetal com leucopenia, anemia e plaquetopenia (DINIZ *et al.*, 1991). Já os pacientes imunocompetentes habitualmente são tratados quando com sintomatologia extensa e prolongada ou com comprometimento ocular ou visceral significativo.

Apesar de existir tratamento, o ideal de medida profilática seria o uso de uma vacina, no entanto, até o momento, não existe nenhuma vacina comercial para a toxoplasmose humana que seja capaz de impedir a infecção congênita ou a formação e reativação de cistos teciduais (GOTTSTEIN, 1995). A vacina que existe é usada em veterinária, e a mesma apresenta uma eficiência parcial de proteção de 80% dos fetos em ovinos vacinados (BUXTON *et al.*, 1995).

3.6 Imunidade do *Toxoplasma gondii*

O *T. gondii* tem uma resposta imune muito eficiente. Essa resposta gera mecanismos celulares e humorais, sendo que a imunidade celular é o principal mecanismo para controlar a infecção. Apesar dessa resposta imune celular ser a maior defesa contra o *T.gondii*, as células B e anticorpos são componentes importantes da resistência adquirida, podendo bloquear a infecção das células hospedeiras pelos taquizoítos. Segundo relatos, o interferon gama (IFN γ) é, provavelmente, o maior mediador de resistência contra o *T.gondii* (LIESENFELD, 1999).

3.7 Utilização da saliva como amostra em diagnóstico

O uso da saliva em diagnóstico já foi preconizado em muitos casos. Inicialmente foi utilizado para o monitoramento de drogas e hormônios (HAECKEL, 1989), em seguida, com o aumento do número de soropositivos, no diagnóstico de HIV (MORTIMER *et al.*, 1994; BORGES, 2004), e anteriormente para o diagnóstico de Fungos (JEGANATHAN *et al.*, 1987), bactérias (GRANSTROM *et al.*, 1988) e alguns parasitos como os causadores da amebíase, da neurocisticercose (FELDMAN *et al.*, 1990 e da *Esquistossomose japônica* (WANG *et al.*, 2002). Nesses estudos, pôde ser constatado que a saliva pode ser um ótimo material para diagnóstico não invasivo para a detecção de anticorpos IgG (WANG *et al.*, 2002), com mensuração da prevalência e da eficácia de intervenções de educação preventiva.

Segundo esses estudos, existem fortes razões para o uso da saliva como fluido diagnóstico, pois corresponde às exigências de criação de métodos de diagnóstico acessíveis, não-invasivos e de fácil utilização (WONG, 2006). Como ferramenta clínica, a saliva oferece muitas vantagens relativamente ao sangue, incluindo a facilidade de coleta, o baixo custo e o conforto ao paciente (principalmente crianças e gestantes). Ainda existe a vantagem de ser um material de fácil manuseio nos procedimentos diagnósticos, uma vez que não coagula, diminuindo assim as manipulações necessárias (WONG, 2006).

Pesquisas na área odontológica também relatam a importância da presença de Imunoglobulinas na saliva, sendo um marcador importante, apesar de algumas variações em suas concentrações por alguns motivos, dentre eles: falta de dentes, diabetes, idade, medicação e fumo (MIGLIARE e MARCUCCI, 1993; MacENTEE *et al.*, 1998).

Para efeito de classificação, existem, na literatura três tipos usuais de coleta de saliva: saliva total, saliva do ducto glandular e transudatos da mucosa oral (MALAMUD *et al.*, 1998). A saliva total é o líquido obtido da boca pela expectoração e inclui secreções das glândulas salivares, parótidas, submandibulares, sublingual, bem como os transudatos da mucosa oral; ela contém bastante IgA secretora e baixos níveis de IgG. A presença de bactérias,

leucócitos, mucina, células epiteliais e restos de alimento podem conduzir a degradação da IgG por proteases bacterianas e salivares, podendo também dificultar o processamento do material, pela sua viscosidade (MALAMUD *et al.*, 1997). A saliva do ducto glandular é obtida com coletores especialmente projetados para esse fim; é uma saliva rica em IgA secretora, assim como a saliva total. Os transudatos da mucosa oral são líquidos dos capilares abaixo da mucosa oral e na base da fenda entre os dentes e a gengiva; além de IgA secretora, são ricos em IgG e IgM, que se origina no plasma e é passivamente transferidas pela boca através da mucosa e das fendas gengivais.

3.8 Educação em Saúde

Desde a década de 50, o desenvolvimento de programas para a promoção da saúde escolar tem sido uma das preocupações da Organização Mundial da Saúde (OMS), do Fundo Internacional das Nações Unidas de Emergência para a Infância (UNICEF) e da Organização Científica e Cultural das Nações Unidas para a Educação (UNESCO). Os programas destas instituições têm como meta a saúde das crianças através da escola. Para que isto se transforme objetivamente em ações efetivas, têm desenvolvido iniciativas tais como a realização de diversas reuniões técnicas, em vários Comitês de Especialistas das áreas de Educação e Saúde, no período compreendido entre 1950 a 1978.

A Organização Mundial da Saúde, em setembro de 1975, convocou para uma reunião o Comitê de Especialistas em Educação e Promoção Integrais em matéria de Saúde Escolar para que, junto às instituições de educação, saúde e outros organismos, desenvolvessem a promoção da saúde através das escolas. As recomendações desse Comitê foram pautadas nos parâmetros do respeito às variações de países, regiões e escolas, e de que uma escola que promove a saúde pode ser definida como um "centro que reforça continuamente seus recursos para o alcance de um contexto saudável para se viver, aprender e trabalhar" (OMS, 1975).

A partir do texto da 1ª Conferência Internacional de Atenção Primária e Promoção da Saúde, denominada Carta de Ottawa, 1986, inicia-se no setor saúde a concepção de um novo paradigma no qual "a saúde deve ser vista como um recurso para a vida e não como objetivo de viver" (OTTAWA, 1986). Neste contexto, "a paz, a habitação, a educação, a alimentação, a renda, um ecossistema estável, recursos sustentáveis, justiça social e equidade" (OTTAWA, 1986) são condições e recursos fundamentais para a saúde. Os demais documentos (Adelaide, Sundsvall, Santa Fé de Bogotá, Jacarta, Megapaíses e México) reforçam o posicionamento expresso na Carta de Ottawa, ampliando-o na busca de mecanismos adequados que promovam a saúde e o bem-estar. Observa-se que saúde não é um setor isolado no contexto global e que para promovê-la, mantê-la e prevenir a doença faz-se necessário um esforço integrado de parceiros comprometidos com a mudança em direção a um novo patamar de qualidade de vida para todos. A Declaração de Adelaide (1988) identifica cinco campos de ação para a promoção da saúde: "construção de políticas públicas saudáveis, criação de ambientes favoráveis à saúde, desenvolvimento de habilidades, reforço da ação comunitária e a reorientação dos serviços de saúde". Neste contexto, a saúde do escolar vem sendo o centro da atenção de especialistas internacionais (L'ABBATE, 1994).

Experiências isoladas sobre escolas promotoras de saúde foram iniciadas no mundo, principalmente no continente europeu, sendo organizada, em 1991, através da Oficina Regional da OMS para a Europa e a Comissão das Comunidades Européias, a primeira rede dessas escolas que, em cinco anos, apresentou uma abrangência em 34 países, sendo 500 delas consideradas principais e 1.600 afiliadas.

Na América Latina, a iniciativa de desenvolver e fortalecer a promoção e a educação em saúde no âmbito escolar, com uma perspectiva integral, tem início em 1995. Enquanto no Brasil, particularmente desde 1997-98 (LDB 9394/96), a reforma curricular indicou uma série de conteúdos sobre saúde nas disciplinas básicas, com a sua incorporação como um tema transversal. Formar um cidadão

consciente de seus direitos e deveres, com auto-estima, sendo crítico, que seja solidário e tenha capacidade para o trabalho são atribuições da saúde e da educação que buscam, igualmente, atuar de forma intersetorial, mediante o envolvimento de parcerias comprometidas com as questões sociais (L'ABBATE, 1994).

Apesar de todo o exposto, a educação e a saúde são espaços distintos de produção e aplicação de saberes destinados ao desenvolvimento humano; há um encontro entre esses dois campos, tanto em qualquer nível de atenção à saúde quanto na aquisição contínua de conhecimentos pelos profissionais de saúde (PEREIRA, 2003). Já a educação em saúde tem sido um importante instrumento da saúde pública (GREENE, 1984). Ultimamente, para se tentar solucionar os problemas relacionados à saúde animal e, conseqüentemente, à saúde pública têm sido aplicados os conhecimentos que se têm de educação em saúde. Teoricamente, tomando como princípio norteador a saúde integral, a Carta de Ottawa reza que o referencial de promoção da saúde visa elaborar e implementar políticas públicas saudáveis; criar ambientes favoráveis à saúde; reforçar ação comunitária; desenvolver habilidades pessoais e reorientar os sistemas de saúde (OMS, 1986).

De acordo com o Ministério da Saúde (1980), Educação em saúde é definida como “uma atividade planejada que objetiva criar condições para produzir as mudanças de comportamento desejadas em relação à saúde”. Esta atividade geralmente ocorre na forma de intervenções educacionais, que, por sua vez, são voltados para as populações desfavorecidas sócio, econômica e culturalmente. Historicamente, os Programas de Educação em Saúde no Brasil foram introduzidos por Sá e Ferreira (1924), através do primeiro Pelotão de Saúde em uma escola estadual. Em 1925, Horácio de Paula Souza criou a Inspetoria de Educação Sanitária e Centros de Saúde do Estado de São Paulo, com a finalidade de “promover a formação da consciência sanitária da população e dos serviços de profilaxia geral e específica”. Na ocasião foi pronunciado pela primeira vez o termo “educador sanitário”, preparado pelo Instituto de Higiene do Estado, o qual tinha a responsabilidade de “divulgar” as noções de higiene para alunos das escolas

primárias estaduais. Portanto, a mais importante transformação nessa área ocorreu em 1942, com a criação do Serviço Especial de Saúde Pública, instituição que começou a preparar as professoras da rede pública de ensino como agentes educacionais da saúde (LEVY *et al.*, 1996). Com a publicação da Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional - LDB, em 1971, foi proposta a inclusão de "programas de saúde" no núcleo comum do currículo, tornando-os obrigatórios em todo o país. Tais programas tinham como objetivo "levar a criança e o adolescente ao desenvolvimento de hábitos saudáveis quanto à higiene pessoal, alimentação, prática desportiva, ao trabalho e ao lazer, permitindo-lhes a sua utilização imediata no sentido de preservar a sua saúde e a dos outros" (CFE, 1974). Em 1996, a nova LDB definiu a educação como abrangendo "processos formativos que se desenvolvem na vida familiar, na convivência humana, no trabalho, nas instituições de ensino e pesquisa, nos movimentos sociais e organizações da sociedade civil e nas manifestações culturais", devendo estar vinculada ao mundo do trabalho e da prática social, o que sugere uma dimensão ampliada do conceito de educação. Embora não apresente de forma explícita a área de saúde - como ocorreu na ocasião em que os "Programas de Saúde" foram incluídos no currículo nacional, essa Lei previu a elaboração de uma parte diversificada do currículo de ensino fundamental, a ser definida em cada sistema de ensino e estabelecimento escolar, em conformidade com as características regionais e locais da sociedade, da cultura, da economia e da clientela. Tal abertura apontava para a necessidade de integração, extensão e aprofundamento da discussão sobre saúde, o que possibilitaria a mobilização de ações e o desenvolvimento de um trabalho sistemático e contínuo de promoção da saúde no contexto escolar (L'ABBATE, 1994).

Seguindo uma diretriz moderna, a escola como espaço educativo está sendo instigada a ultrapassar duma prática educacional tradicional, instrumental, preocupada somente com a aquisição de conceitos e obtenção de resultados, para uma educação mais global e cuidadosa no que se relaciona com a formação do ser humano consciente, crítico, reflexivo, feliz e saudável. Esse estudo tem como objetivo investigar o retorno de ações pedagógicas que interferem no

desenvolvimento da conscientização dos alunos das primeiras séries do ensino Fundamental, identificando na prática docente os elementos que favorecem e os que dificultam tal desenvolvimento, para posteriormente, construir propostas de ações educativas que subsidiem programas de educação em saúde na escola. A pesquisa foi realizada em uma escola Pública Estadual da Zona Leste de São Paulo com alunos selecionados e participantes do projeto, com coleta prévia de saliva e alunos utilizados como controle não participantes do projeto, em duas fases. Nesse ano, alunos seriam submetidos a coleta de saliva e intervenção educacional. Após um ano, a fixação de conhecimento seria avaliada na população sob intervenção, comparando-se com a população que não participou da intervenção.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Para um melhor entendimento, o nosso trabalho foi dividido em duas partes: educacional e laboratorial. Na parte educacional, primeiramente fizemos um levantamento de dados referente à clientela do Bairro Jardim das Oliveiras, no subdistrito de Itaim Paulista – São Paulo. Em seguida, após conversa com a equipe pedagógica e administrativa da escola, distribuímos os consentimentos para que os alunos da 3ª e 4ª série levassem para os seus pais, associado ao folheto explicativo. Destes consentimentos, cerca de 55% foram devolvidos assinados com a devida autorização. Após marcarmos os dias das coletas, fomos à escola em algumas ocasiões para aplicar a aula e proceder a coleta da saliva dos alunos, para realizar a sorologia. Após doze (12) meses, voltamos à escola para aplicar o questionário como forma de avaliação.

4.1 Parte Educacional

4.1.1 Descrição geral da localidade

O Bairro de Itaim Paulista é um distrito situado no extremo leste da cidade de São Paulo, com aproximadamente 194.671 habitantes (censo 2000). Tem saídas para o município de Itaquaquecetuba, através da Avenida Marechal Tito, Ferraz de Vasconcelos pela Av. Tibúrcio de Sousa ou Rua Itajuibe, Guarulhos via Jardim Helena pela Avenida Braz da Rocha Cardoso e Poá por uma ponte que passa sobre o córrego Três Pontes. É habitado essencialmente por migrantes nordestinos, com inúmeras lojas, bancos, varejos, atacados, shopping, supermercados, hospitais e postos de saúde, e um total de 650 estabelecimentos comerciais. Apresenta divergências sócio-econômicas, com ruas asfaltadas, e com um bom saneamento básico. Nos últimos anos, houveram algumas melhorias com a inauguração do Shopping Itaim Paulista e do Hospital Geral do Itaim Paulista (230 leitos). No aspecto hídrico, a Região é cortada por três córregos em sentido norte-sul que deságuam no Rio Tietê. São eles: Itaim, Tijuco Preto e Três

Pontes. Estes córregos já foram fontes de renda para os moradores da região, hoje estão poluídos como o rio onde eles deságuam, sendo mais uma fonte de infecção para os moradores do bairro.

4.1.2 História do Bairro

A emancipação do distrito de Itaim Paulista aconteceu no ano de 1980, pois a prefeitura tinha necessidade de descentralizar a sua administração, com isso, foram criadas as administrações regionais. A administração regional de São Miguel era responsável também pelo Itaim Paulista, só que a prioridade era o bairro de São Miguel e regiões próximas ao centro comercial. Na distribuição de orçamento das administrações regionais pela prefeitura era considerado o montante populacional da região. Como o bairro do Itaim Paulista engrossava a população da administração regional de São Miguel Paulista, a verba era sempre a terceira maior de toda a cidade. Os investimentos ficavam sempre no bairro vizinho, o Itaim Paulista era considerado apenas um número favorável a esse bairro. No dia 19 de maio de 1980, o Itaim Paulista foi emancipado, e a verba da prefeitura passou a vir diretamente para o Itaim Paulista, beneficiando a população local.

4.1.3 População estudada

Os alunos que participaram de todas as etapas do processo foram selecionados de acordo com o consentimento, devidamente assinado pelos pais ou responsáveis (Consentimento no Anexo 1). Todos eram alunos da Escola Estadual Antonio de Pádua Vieira, localizada no Jardim das Oliveiras, subdistrito de Itaim Paulista. A nossa amostra definida contou com 164 amostras de saliva, 164 desenhos após a intervenção. Numa segunda fase, 12 meses após a intervenção foram entrevistados por questionário, todos os alunos da 4ª e 5ª série da mesma escola, com 192 questionários preenchidos, sendo que 45 questionários foram de alunos que participaram da intervenção e tinham sua

história de toxoplasmose definida e 147 questionários de alunos sem participação na intervenção e sem conhecimento de história de toxoplasmose, utilizados como população geral na determinação de conhecimentos sobre a toxoplasmose.

4.1.4 A intervenção

Para a ação educacional elaboramos diversas ações integradas. A intervenção constava de folhetos, aula e material educativo para ações participativas. O folheto mestre, elaborado pela equipe do Laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, foi o veículo de instrução simplificada ao alcance dos alunos de ensino fundamental, seus familiares e professores da escola Antonio de Pádua Vieira. O conteúdo foi abordado resumidamente, com ilustrações didáticas e esclarecedoras e pode ser visto no Anexo 2. Esse folheto tinha por objetivo facilitar a orientação e coordenação da aula aplicada aos escolares e foi previamente distribuído aos alunos e as suas famílias, para inclusive orientar no consentimento informado. O folheto continha informações curtas e concretas, cujo objetivo era que a comunicação alcançasse toda a população envolvida (alunos e pais), articulada à noção do valor e da importância do tema.

A intervenção foi feita em grupos de 30-40 alunos de cada vez, da 3ª ou 4ª série do ciclo fundamental, sem distinção entre autorizados a coleta de saliva ou não, sendo que participavam da coleta de saliva apenas os alunos cujos pais consentiram por escrito na participação. Os professores conduziam os alunos a sala de intervenção. A aula foi aplicada durante 20 minutos, com materiais audiovisuais e numa proporção de pelo menos 03 docentes para cada 40 alunos, permitindo-se a interrupção e com perguntas para esclarecimentos, além de questões provocativas para aumentar a participação das crianças. Após a aula, a ação de intervenção continuava pela distribuição de material para desenhos e outras atividades (Anexo 3), onde era sempre estimulada a participação individual de cada criança, chamada pelo próprio nome e estimulada a dar sua opinião sobre o tema em questão, basicamente higiene e toxoplasmose. Todos os alunos foram

igualmente premiados independente de qualquer atividade produtiva ou doação de saliva.

Após a intervenção na sala, os alunos autorizados a participar eram conduzidos ao pátio, onde por supervisão de professores e pesquisadores, procediam a coleta de saliva, de uma forma leve e organizada. Sempre era feita a higiene da cavidade oral, por uso de 25-40 ml de enxaguante oral (Listerine®), de uso comercial, bochechos e 03 lavagens da cavidade com água potável sem aditivos. Após as lavagens, os alunos abriam o tubo de 45 ml e cuspiam, sem qualquer outro estímulo, saliva para completar a marca de 05 ou mais ml de saliva, na dependência da produção individual de cada um. Nenhum aluno foi instado a coletar mais saliva do que o necessário para o teste, e quando um deles não conseguia nenhum tipo de coerção ou estímulo era utilizado. Os tubos coletados contendo a saliva eram colocados em banho de gelo para evitar perdas e mantidos assim até seu transporte e processamento no Laboratório de Protozoologia, no mesmo dia.

4.2 Organização e elaboração do material didático

A organização e a elaboração do material didático compreendeu a confecção de ilustrações, mensagens e conteúdos informativos. Os recursos utilizados para tal fim foram os seguintes:

4.2.1 Folder

Focalizando o objetivo do projeto e esclarecendo, na linguagem dos alunos, a definição da Toxoplasmose, as formas de transmissão e prevenção, e explicando a o objetivo da coleta de saliva (Anexo 2).

4.2.2 Atividades de fixação do conteúdo

Foram elaboradas atividades ilustradas para que os alunos fixassem seu aprendizado e levassem para casa, multiplicando assim o conhecimento (Anexo 3).

4.2.3 Desenhos

Em uma folha em branco, as crianças reproduziram o que entenderam da aula (Anexo 4).

4.3 Medida da intervenção

Para avaliar a importância da intervenção, foi elaborado um questionário simples, de fácil e rápido preenchimento, cuja cópia está constante no anexo 5. Composto de 10 perguntas iniciais específicas sobre a cadeia de transmissão da toxoplasmose e zoonoses em perguntas rápidas e objetivas com desenhos, era seguido de um questionário socioeconômico optativo também de rápida compreensão e preenchimento. Não foi feito nenhum tipo de intervenção durante o processo nem pela pesquisadora nem pela professora, que pudesse ressaltar a importância do tema. O dia do preenchimento não era conhecido pela professora responsável e pela sua curta duração foi feito no mesmo dia em todas as classes. O preenchimento era opcional mas identificado, permitindo definir o aluno que havia participado da intervenção prévia do ano anterior. O sigilo do processo foi mantido em todas as fases, sendo responsável a pesquisadora pela guarda de questionários e demais produtos da intervenção.

4.4 Parte Laboratorial

Métodos:

Recepção das amostras e precipitação de IgG: As amostras foram colhidas em um volume de aproximadamente 5 ml, e processadas no Laboratório de

Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical da FMUSP. Brevemente, foi adicionado 0,5 ml de solução Borato em cada amostra e centrifugadas à 3.000 rpm a 4 °C por 15 minutos. Em seguida foi coletado o sobrenadante e adicionado o mesmo volume (até 5 ml) de Etanol ou Sulfato de Amônio ao mesmo. A solução foi mantida a 4°C em banho de gelo por 1 (uma) hora, e centrifugada novamente como descrito anteriormente. O sobrenadante foi então desprezado por inversão sob toalhas de papel filtro. O pellet foi suspenso em um volume equivalente a um décimo do volume original de saliva, em torno de 0.25 a 0.5 ml de tampão Borato.

Padronização: Para a padronização dos ensaios, utilizamos a saliva de 11 voluntários adultos com sorologia conhecida, colhida após higiene bucal, clarificada e precipitada por Etanol ou sulfato de Amônio 100% 1/1 v/v, em gelo por 1 hora. Após centrifugação, o pellet era suspenso em 0.1 vol e utilizado em ELISA com cromógenos de diferentes sensibilidades (OPD ou TMB).

Caracterização dos anticorpos IgG no soro dos voluntários e na saliva dos alunos

Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA (VENKATESAN & WAKELIN, 1993).

As placas de 96 poços de poliestireno (CORNING®) foram sensibilizadas com extrato antigênico de *T.gondii*, (10 µg/ml), diluído em tampão carbonato de Sódio 0,1M pH 9,5, e logo após incubadas durante 20 horas à temperatura de 4 °C em câmara úmida. No dia seguinte a placa foi lavada 4 vezes, por 5 minutos com PBS contendo 0,02% de Tween 20 (PBST) e bloqueadas com essa mesma solução durante 1 hora em estufa à 37 °C. Após a incubação, as placas foram lavadas como descrito anteriormente. Logo após, as amostras (saliva ou soro diluídos) foram aplicadas e incubadas à 37 °C por uma hora. Em seguida, após mais 4 lavagens, foi adicionado o conjugado anti-IgG humana marcada com peroxidase, e novamente incubadas como descrito anteriormente. Após mais 4 lavagens, a reação foi revelada com a adição de solução Citrato de Sódio 0,05M pH 5,8, contendo OPD 0,4mg/ml e H₂O₂ 0,03% ou TMB e permaneceu por 30

minutos em câmara escura à temperatura ambiente. A reação foi interrompida pela adição de HCl 4N, seguida da leitura das densidades ópticas (D.O.) em leitor de microplacas automático em comprimento de onda de 492 nm (Labsystem Multiskan MS).

Análise estatística

As populações foram agrupadas pelo teste exato de Fischer ou Chi-quadrado, bicaudal, com força do teste de 90%. Foram consideradas diferentes populações que a probabilidade de igualdade era maior que 0.05 ($p < 0.05$).

5 RESULTADOS

5.1 Parte Educacional

5.1.1 A intervenção

A intervenção inicial educacional foi feita como descrita em Métodos durante 05 períodos na escola, resultando numa coleta de 164 amostras de saliva a serem utilizadas para ensaios sorológicos e 164 desenhos de alunos.

O material produzido na aula por estes alunos foi recolhido e avaliado no seu conjunto. Verificou-se, durante a elaboração desses desenhos e atividades, que o prazer de escrever e desenhar foi maior do que os impedimentos de alfabetização e o saber desenhar. Verificou-se também, que a maioria das crianças reportou a presença do gato em seus desenhos (Anexo 4), esta figura estando esboçada em 121 dos 164 questionários (74%). As informações básicas sobre o saneamento local e os gatos desenhados constituíram-se em estímulos para o reconhecimento do problema da doença e para o sentimento de aversão à possibilidade de contaminação. Assim a sujeira, a falta de higiene com os alimentos e a água, a falta de cuidado com as fezes de gatos, passaram a ter significado de perigo de doença.

Utilizando-se a saliva com fonte de IgG no diagnóstico da história de toxoplasmose, foi possível identificar uma frequência de positividade nessa população de 50%, utilizando-se um limiar de 0.33, com distribuição característica que pode ser vista na figura 1. O valor limiar foi calculado utilizando-se saliva de pacientes soronegativos para toxoplasmose que concordaram em participar da pesquisa e que forneceram saliva e soro em diversas ocasiões, perfazendo um total de 38 amostras de 8 indivíduos, utilizando-se o limiar 99% (média + 3 desvios padrões).

Figura 1 – Distribuição dos resultados de ELISA obtidos em saliva de alunos submetidos a intervenção. A área sombreada representa a área considerada positiva, utilizando a reatividade de saliva de pacientes com sorologia negativa para *T.gondii* como Cut-off.

5.1.2 A avaliação da intervenção

Após 12 meses, a pesquisadora retornou em dia aleatório, mas no mesmo período do ano e submeteu as crianças da 4ª e 5ª séries da mesma escola a um questionário descrito em Métodos. O processo já havia sido aprovado pela direção e professores quando da intervenção e transcorreu sem problemas. O questionário foi aplicado de forma identificada aos alunos que haviam participado da intervenção e apenas o sexo e a idade foram anotados nos demais alunos. O resultado do questionário foi analisado de duas formas. Comparou-se resultados das populações submetidas a intervenção com os resultados da população geral dos demais alunos e subsequente, os resultados da população com intervenção foi subdividido quanto a história de toxoplasmose.

Verificamos que os alunos que participaram da intervenção demonstraram melhor conhecimento sobre a transmissão da toxoplasmose que o grupo controle (figura 2).

Figura 2. Distribuição de respostas quanto ao conhecimento da toxoplasmose 12 meses após a intervenção comparada com a população geral de mesma faixa etária e extrato social. $P < 0.001$.

Os questionários aplicados 12 meses após a coleta tiveram o seguinte perfil: os alunos foram divididos em dois grupos: 1- expostos, e 2- não-expostos. No grupo exposto os pais de 46% eram analfabetos ou não souberam informar a escolaridade, enquanto que do grupo não exposto 57% eram analfabetos. Dos expostos 65% conheciam a forma de transmissão da toxoplasmose, e dos não expostos apenas 28% tinham esse conhecimento.

O modelo de informação publicitária utilizada para convocar a comunidade foi representado por uma linguagem gráfica e falada, baseada nos resultados obtidos da pesquisa em que foi aplicado o questionário já mencionado, sobre os conhecimentos, atitudes e percepções da população-alvo (alunos). Os resultados dessas pesquisas resgataram o estágio de valores e a capacidade da linguagem falada e perceptiva. Com esses dados, foi possível verificar, também, a importância que a manifestação gráfica, através do desenho, representava para a compreensão da população-alvo. É importante, ainda, destacar que, neste mesmo

questionário, o gato foi identificado como a figura principal (anexo 4), sendo o elo de ligação mais importante na associação com a toxoplasmose.

Quanto aos aspectos sócio-econômicos do questionário pudemos observar que as respostas do questionário não tiveram qualquer diferença significativa entre os grupos expostos a intervenção e a população geral de mesma faixa etária.

Quando os grupos são distribuídos de acordo com a história de toxoplasmose identificada pela presença de IgG na saliva, mostra claramente que as crianças que foram treinadas tem um conhecimento maior sobre toxoplasmose do que as crianças que não foram submetidas ao treinamento anterior. Interessante notar que as crianças treinadas que eram soronegativas na saliva apresentavam maior frequência conhecimento fixado que as crianças que já eram contaminadas na época da coleta, como pode ser observado nas figuras 3, 4 e 5.

Figura 3. Distribuição da frequência do conhecimento sobre a toxoplasmose na população geral (c) ou nos grupos expostos com historia de toxoplasmose (1) ou livres da doença (0). $P < 0.001$ entre os 03 grupos.

Quando comparamos os grupos que tiveram treinamento, notamos que, mesmo neste grupo há uma diferença entre os que já haviam adquirido toxoplasmose e os que não tinham tido contato, detectados pela presença de IgG específica em saliva, com maior fixação da informação no grupo que não tinha tido a infecção (21/21) em comparação com o grupo com história de toxoplasmose (18/24) ($p < 0.05$, Teste exato de Fisher).

Um segundo quesito do teste foi o conhecimento sobre o animal envolvido na toxoplasmose e houve uma distribuição semelhante ao quesito anterior, que pode ser vista na figura 4. Os alunos da população normal apresentavam um alto grau de desconhecimento sobre o animal envolvido na transmissão da toxoplasmose (29/147), quando comparados à população exposta a intervenção (28/45).

Figura 4. Distribuição do conhecimento sobre o gato como agente transmissor da toxoplasmose em escolares de São Paulo após um ano da exposição a intervenção e a população geral de mesma faixa etária e extrato social ($p < 0.001$).

Dentro do grupo educado, a fixação do conhecimento para animais de risco mostrou que não havia diferenças entre os que tinham ou não infecção, sendo semelhantes os resultados entre os que apresentavam história de toxoplasmose (17/24) e os que não tinham história (11/21).

Figura 5. Distribuição da frequência do conhecimento sobre o gato como animal transmissor da toxoplasmose na população geral (c) ou nos grupos expostos com história de toxoplasmose (1) ou livres da doença (0). $P < 0.001$ entre os 03 grupos e não significativo entre os grupos expostos.

Analisando a importância do alimento na transmissão da toxoplasmose, visto na Figura 6, não houve diferenças entre os grupos sob intervenção, comportando-se tanto os expostos a intervenção (20/45) como a população geral (49/147) quanto ao conhecimento sobre esta forma de transmissão, com a maioria como desconhecedores desta forma de transmissão.

Conhecimento sobre a importância de alimentos na transmissão da toxoplasmose

Figura 6. Distribuição da frequência do conhecimento sobre o alimento como fonte de infecção da toxoplasmose na população geral (c) ou nos grupos expostos com história de toxoplasmose (1) ou livres da doença (0). $P < 0.001$ entre os 03 grupos e não significativo entre os grupos expostos.

Os questionários aplicados 12 meses após a coleta tiveram o seguinte perfil: os alunos foram divididos em dois grupos: 1- expostos, e 2- não-expostos. No grupo exposto os pais de 46% eram analfabetos ou não souberam informar a escolaridade, enquanto que do grupo não exposto 57% eram analfabetos. Quanto aos aspectos sócio-econômicos do questionário não observamos diferenças quanto aos critérios analisados, como eletrodomésticos (televisores, computadores, geladeira) e número de compartimentos na residência.

5.2 Parte Laboratorial

5.2.1 Desenvolvimento de ELISA para a detecção de IgG específica para *T.gondii*

Um teste de ELISA para pequenas concentrações de IgG como as esperadas para achados em saliva, necessita de padronização cuidadosa. Para tanta apresentamos os resultados segmentados de acordo com cada fator do ensaio.

A. Concentração de antígeno na placa

A concentração de antígeno adsorvido na fase sólida foi testada nas condições iniciais padronizadas no laboratório de Protozoologia e utilizadas em nossa dissertação de Mestrado (Macre, 2002), utilizando saliva total centrifugada, obtida de voluntários com sorologia conhecida para Toxoplasmose. Os resultados de 03 diferentes concentrações de antígenos adsorvidos na placa podem ser vistos na figura 7. Apesar da reação ser de baixa sensibilidade, havia uma clara separação entre salivas positivas e negativas, sem diferenças entre as concentrações de 10 e 1 ug/ml de adsorvente. Já na menor concentração de adsorvente, 0.1 ug/ml, houve uma menor discriminação, mostrando que a quantidade adsorvida era insuficiente para a completa detecção dos anticorpos na saliva. Como definição inicial, decidimos que a concentração de adsorvente para a fase sólida seria a de 1 ug/ml, utilizada em todos os ensaios subsequentes.

Figura 7. Padronização da diluição do antígeno.

B. Definição do sistema de conjugado a ser utilizado

Nos ensaios iniciais, foi utilizado um conjugado anti IgG humano, produzido contra IgG total, comercial, com uma diluição de 1/10000, que mostrava sinais fracos, com resposta pouco discriminativa e baixos valores de índices colorimétricos. Para aprimorar o teste, foi utilizado a seguir um conjugado de maior eficiência, dirigido contra a fração Fc da IgG humana, de maior atividade específica, cuja triagem inicial pode ser vista na figura 8. O ensaio foi feito com a concentração de 1ug/ml de adsorvente e com a diluição 1/5000 do conjugado, utilizando como fonte de anticorpos a saliva de voluntários com sorologia e sua intensidade conhecida, utilizando reatores fortes (título > 800 no ELISA de soro) e reatores fracos (título de 40 no ELISA de soro). Como pode ser observado, conseguimos aumentar a intensidade da reação com resultados confiáveis e reprodutíveis (figura 8), e, embora a reação sempre fosse mais forte na saliva podemos verificar que a reação com saliva total era discriminante apenas para soros positivos fortes (Figura 8), implicando em necessidade de aprimoramento do ensaio.

Figura 8. Comparação entre saliva e soro dos mesmos doadores na diluição adequada de antígeno, com novo conjugado.

C. Concentração de IgG de saliva

Em virtude da existência de ampla discussão em torno da presença de poucas moléculas de IgG na saliva (MALAMUD *et al.*, 1998), tentamos sanar esse impasse concentrando a IgG em saliva, através de métodos que causassem sua precipitação sem perda da atividade específica. Dois métodos foram utilizados como descritos em métodos, resultando em uma concentração de 10 vezes o volume original de saliva. Utilizamos novamente as amostras de reatores fortes e fracos como descrito na fase de definição do conjugado e os resultados podem ser vistos na figura 9, utilizando duas diluições da saliva concentrada em Etanol e Sulfato de Amônio, comparativamente, para verificar se havia significativo aumento. Como pode ser observada a precipitação com Etanol mostrou maior eficiência em relação ao Sulfato de Amônio (figura 9), aumentando a reatividade da saliva de reatores fracos e aumentando a discriminação do método.

Figura 9. Avaliação da concentração de IgG de saliva por diferentes métodos de precipitação

D. Avaliação de cromógenos e conjugados por curvas dose resposta

Diante dos resultados acima, havia a necessidade de estabelecer melhor os critérios da reação e passamos a analisar uma população maior de salivas de voluntários para avaliação do teste. Foram testados diluições progressivas de 14 voluntários com sorologia conhecida, através de curvas doses resposta de IgG de saliva concentrada por etanol, em diferentes conjugados e em diferentes cromógenos, estabelecendo curvas doses resposta para cada IgG, de forma a confirmar o efeitos dose resposta de cada uma delas, permitindo qualificar a reação como tipo de um receptor ligante, característica de anticorpos, como pode ser observada nos gráficos superiores da figura 10. Os dois conjugados disponíveis anti IgG total e anti Fc de IgG foram diluídos 5000 ou 10000 vezes e utilizados em reações com TMB, OPD e ABTS. Podemos também observar nas partes inferiores, onde é analisando o índice de reatividade, obtido pela divisão dos valores obtidos em relação a reação basal de soros negativos que a reação com o TMB e o conjugado anti Fc foi a de maior poder discriminante sendo utilizado a seguir para comparação de maior numero de amostras.

Figura 10. Aprimoramento do cromógeno utilizando OPD, TMB E ABTS.

E. Avaliação do cromógeno utilizado e da reprodutibilidade nos ensaios

Quanto ao revelador, poderíamos aprimorar o método caso utilizássemos cromógenos ainda mais sensíveis que o OPD, como o TMB, que apresenta maior densidade óptica para uma mesma quantidade de peroxidase. Como podemos notar a reação utilizando TMB foi muito mais discriminante que a reação utilizando OPD, de baixa sensibilidade. Os índices sorológicos convencionais mostram que o TMB foi mais sensível que OPD (Figuras 10 e 11), com alta sensibilidade (79 %), especificidade (100%) e valor preditivo positivo (100%), o que permite seu uso em saliva obtida de escolares.

Figura 11. Comparação da eficiência dos diversos cromógenos.

6 DISCUSSÃO

Na proposta sobre a intervenção em Toxoplasmose, no subdistrito de Itaim Paulista (São Paulo), houve um processo de comunicação com o objetivo de ilustrar, demonstrar e consolidar as informações junto à comunidade escolar. Como foi descrito, essa comunicação desenvolveu-se através de todo um conjunto de informações traduzido em uma aula expositiva realizada em grupos de no máximo 40 alunos com a distribuição de um Kit contendo: folder, atividades de caça palavras, caneta e giz de cera, dando uma ênfase à promoção de Saúde, abordando questões relativas à higiene pessoal e do ambiente, doenças transmitidas pelo contato com água e alimentos contaminados. Este conjunto foi elaborado na seqüência dos eventos que ocorreram durante o desenvolvimento do projeto de intervenção.

Não obstante alguns acontecimentos que tiveram interferência no andamento dos trabalhos (demora na autorização da coleta pelo conselho de ética, demora na assinatura do consentimento pelos pais, feriados escolares, etc), verificou-se que o significado de Saúde relacionado a Toxoplasmose, como objetivo do projeto e veiculado através das fontes de informação descritas acima, foi compreendido de forma eficiente e satisfatória. Esse aspecto foi comprovado através dos resultados, da mobilização e da participação da comunidade escolar, ao analisarem o programa de Educação e Saúde implementado durante o projeto. A produção do material pedagógico de comunicação foi de claro entendimento por parte da comunidade escolar. Essa produção, somada às ilustrações ofertadas pela equipe, harmonizou-se em um programa onde o desenho, como símbolo de mensagem, foi permanente. As ilustrações do folder apresentaram-se como fonte de informação para os participantes e foram vivenciados durante experiências educacionais sobre o tema abordado.

Um dos motivos de os escolares serem alvo do nosso estudo é que os hábitos da população dificilmente mudam, mesmo quando se trabalha intensamente com uma equipe de educação sanitária (HOLLANDA, 1992). Entretanto, essas dificuldades podem ser parcialmente contornadas e vencidas

pelo envolvimento de crianças em atividades que têm como fim mudanças comportamentais, por serem elas mais receptivas, podendo funcionar como agentes multiplicadores dentro da própria família (HOLLANDA, 1992). O envolvimento de professores do ensino fundamental garantiu a possibilidade da repetição do assunto em trabalhos em sala de aula. Garcia-zapata e Marsden (1993) relataram sucesso com a inclusão de escolares em um programa de controle da transmissão vetorial em Mambai, Goiás. A opção por atividades lúdicas para promoção de aprendizagem em saúde entre os escolares seguiu as evidências de autores que mostraram a efetividade dessa estratégia (SCHALL *et al.*, 1993).

Os valores adquiridos pelos alunos foram representados pelos desenhos feitos pelos mesmos. Os desenhos foram respostas do percebido e vivenciado durante a aula, mostrando-se eficaz no processo. Por exemplo, os alunos que participaram da aula foram muito bem no questionário aplicado 1 (um) ano depois, mostrando assimilação sobre as fontes de infecção da toxoplasmose. O desenho foi, também, um reforço de conteúdo, pois as imagens que simbolizavam completaram o pensamento e as mensagens ganharam efeitos de impacto, por exemplo: o gato, que foi a figura mais representada pelos desenhos dos alunos. As imagens reprodutoras das cenas, atos ou fatos objetivaram e treinaram o conhecimento.

As professoras também tiveram uma expressiva participação no projeto, não apenas observando a disseminação de conteúdo, como destacando a importância de se trabalhar com materiais e métodos facilitadores, que permitam a intervenção em níveis diferenciados, estreitando a participação ativa da população e dos profissionais nos programas de saúde. No contexto escolar, a promoção da saúde poderá estar incluída na proposta político-pedagógica das escolas, envolvendo a estrutura escolar e as parcerias comprometidas com a proposta de trabalho elaborada. Isso nos leva a crer que a promoção da saúde no âmbito escolar requer o desenvolvimento de ações integradas com os diversos assuntos que envolvem educação, saúde, meio ambiente, trabalho, cultura, música, educação física, alimentação saudável, moradia e outros, considerando que "a

saúde se cria e se vive na vida cotidiana, nos centros de ensino, de trabalho e de lazer "(MS Promoção da Saúde, 1999) e, ainda, que a "escola tem um papel relevante em relação à educação da personalidade e, como consequência, no estilo de vida das pessoas para que tenham saúde" (MARTINEZ, 1996).

O nosso estudo foi planejado como uma linha de base para avaliação de crianças de 09 a 12 anos de uma região de São Paulo, assim, não foi delineado para constituir uma amostra representativa da população adulta de São Paulo, embora uma semelhança com esta fosse buscada. Mas acreditamos que esses dados não mudem muito com o decorrer da adolescência, pelo fato de já terem passado da idade em que os hábitos de higiene são precários. Por isso, as prevalências ajustadas com o padrão adulto de São Paulo são muito semelhantes às da amostra (COELHO, 2003). Não havendo razão específica para suspeitar que os dados deste estudo não sejam comparáveis aos da população adulta de São Paulo, sendo possível generalizá-los para a área urbana de São Paulo, usando os coeficientes específicos para cada sexo, causando as altas prevalências aqui encontradas, que são motivo de preocupação para os planejadores de saúde.

As prevalências aqui relatadas são também compatíveis quando comparadas com dados internacionais (ZARKOVIC *et al.*, 2007). Considerando a idade da população estudada, a presença desses resultados demanda programas de prevenção comunitários e clínicos para a toxoplasmose e outras doenças tropicais - o que vem sendo adotado, de uma forma ou de outra, em vários outros países (GOLLUB *et al.*, 2008). Nesse sentido, é lastimável a dificuldade em se reconhecer a crescente importância dessas doenças no Brasil, e a baixa prioridade, no setor de saúde, atribuída para os programas comunitários visando sua prevenção.

Os resultados do nosso estudo também são consistentes com outros relacionados a Educação e saúde (FALAVIGNA-GUILHERME *et al.*, 2002), confirmando que a Saúde preventiva é a alternativa para o futuro. Além disso, esperamos que os conhecimentos adquiridos pelos profissionais da escola

possam ser traduzidos em uma melhor perspectiva em relação a prevenção da Toxoplasmose e a hábitos de higiene.

Nosso trabalho vem ainda, reforçar alguns estudos que dão ênfase à Promoção de Saúde (OTTAWA, 1987) onde o caráter interdisciplinar é imprescindível, unindo profissionais de vários setores em um mesmo projeto que vise o bem da população. A partir da Conferência de Ottawa, programas específicos em Promoção de Saúde têm sido conduzidos com êxito em vários países desenvolvidos (PAHO, 1996), no entanto, na América Latina, esses programas têm sido isolados e marcados pela descontinuidade (MELLO *et al.*, 1998).

Apesar de nosso trabalho ter sido uma experiência isolada envolvendo diferentes extratos da comunidade escolar, é importante destacar que devem ser valorizadas todas as ações educativas que incentivem o desenvolvimento de autocuidado e responsabilidade na promoção da saúde, lembrando a necessidade de se realizar, posteriormente, pesquisa de avaliação da percepção das mensagens educativas do projeto, como foi feito no presente trabalho.

O uso da saliva como fonte de IgG específica para detecção imunoenzimática mostrou-se eficiente, desde que a metodologia fosse adequadamente preparada e planejada. O uso de saliva total não processada mostrou-se de baixa eficiência em nossos dados, dada a baixa sensibilidade do ELISA inicial utilizado. Isto pode estar relacionada a baixa concentração de IgG nestes fluidos, em geral em torno de 5 mg/l, equivalente a uma diluição 1/1000 de soro (GRONBLAD e LINDHOLM, 1987).

Para aumentar a concentração relativa de IgG na amostra testável, utilizamos várias técnicas de concentração de IgG, descritas na literatura (HUDSON e HAY, 1989), procurando por alternativas mais baratas que as colunas cromatográficas de afinidade de Proteína A ou semelhantes geralmente recomendadas (BOSCHETTI, 2002). Estas técnicas são complexas e envolvem equipamentos e nossa abordagem epidemiológica deveria resultar em concentração e não purificação da IgG, pelo que optamos por testar os métodos de precipitação convencionais. Nestes métodos, a concentração pode ser feita por

salting-out, como no caso da precipitação com sulfato de amônio (HUDSON e HAY, 1989), mas mesmo com excelente centrifugação do precipitado, este resulta imerso em uma solução salina concentrada, que podem interferir no ELISA. Assim, avaliamos também a precipitação por etanol, que resulta em contaminante menos interferente na reação, por ser não iônico e que pode ser retirado por evaporação leve, utilizada em nosso sistema. Esta purificação foi tentada por comparação com sistemas de concentrações de proteínas plasmáticas utilizadas na produção industrial de proteínas para uso humano, descritas nos primórdios da bioquímica de proteínas (COHN *et al.*, 1944) e menos utilizadas hoje em dia. Os resultados mostram que a precipitação com etanol foi muito eficiente e resultou em concentração efetiva de IgG reagente, atingindo uma concentração semelhante a uma diluição 1/100 de soro, com resultados reprodutíveis, embora com sinal fraco.

Outra forma por nós utilizada para aprimorar a sensibilidade do ensaio foi a utilização de diferentes conjugados e cromógenos. Esta abordagem resultou em aprimoramento do ensaio e discriminação do sinal muito mais clara. O uso de diferentes cromógenos em ensaios utilizando enzimas mostra diferentes sensibilidades, já que depende tanto da enzima utilizada, como a peroxidase de nosso estudo, como do poder cromogênico do substrato processado. Nesse aspecto, autores anteriores tinham utilizado radioimunoensaios ou ensaios após complexa purificação, mas houve pouco avanço porque os estudos eram conduzidos em poucas amostras e voltados para a quantificação de proteínas e não a ensaios da qualidade das imunoglobulinas (GRÖNBLAD e LINDHOLM, 1987).

Em relação à elevada prevalência da toxoplasmose em escolares, que corresponde a uma incidência de 5 a 7,5% ao ano que poderia antever uma população adulta com alta proporção (>80%) de toxoplasmose (FRENKEL, 1973), o que não é encontrado em adultos em geral em São Paulo (GUIMARÃES *et al.*, 1993), ela é semelhante a dados recentes descritos em populações equivalentes da mesma cidade (FRANCISCO *et al.*, 2006). Existem descrições de variações de incidência dentro desta mesma região geográfica (GUIMARÃES *et al.*, 1993), o que poderia explicar esta discrepância, mas nestes estudos não foram

encontradas diferenças em relação ao saneamento das regiões estudadas. Outros dados de outras regiões mundiais mostram resultados semelhantes (REMINGTON *et al.*, 2006), com prevalências variáveis entre 20 e 100% dos adultos. Esta discrepância também poderia ser explicada por diferentes taxas de transmissão em diferentes grupos etários. Em estudo anterior foi vista uma transmissão em adultos menor que a que ocorre em crianças, atribuída à implantação de hábitos de higiene por educação ou mudança de hábitos de exposição (GUIMARÃES *et al.*, 1993), devido à menor exposição ambiental de adultos a brincadeiras desprotegidas ao ar livre, como ainda é muito comum das crianças da periferia de São Paulo, região estudada de morada dos escolares. Outro fator descrito por alguns autores seria o consumo de carnes de origem não controlada pelas autoridades sanitárias, já que estes autores também não encontraram variações de saneamento relacionadas a toxoplasmose e atribuíram a alta incidência ao fato de carnes de abates clandestinos estarem disponíveis para estas populações (FRANCISCO *et al.*, 2006).

Um outro dado interessante, que confirma que a coleta de saliva em crianças é válida, foi descrito por Smith e colaboradores quando pesquisavam o efeito da idade na concentração de IgG, IgA e IgM na saliva, concluindo que a concentração de IgA da saliva foi menor nos indivíduos de mais idade, não havendo diferenças significativas em IgG e IgM da saliva labial e parotídea (SMITH *et al.*, 1992).

Um fato complexo que poderia estar relacionado a toxoplasmose foi a menor resposta a fixação de conhecimentos dos estudantes com contacto prévio a toxoplasmose (FLEGR *et al.*, 1996). A toxoplasmose tem sido implicada por vários autores como causa de alterações de comportamento sem perda de desempenho escolar ou social. Uma busca na base de dados médica (PubMed) para os termos “*Toxoplasma* e comportamento” revelou 189 artigos, incluindo 22 revisões. Um recente interesse tem sido visto sobre infecções como causa de alterações de comportamento ou psicoses (YOLKEN e TOREY, 2008). Vários estudos experimentais têm confirmado que a infecção crônica por *Toxoplasma* pode afetar o comportamento de eventuais presas de felinos (WEBSTER, 2001).

Independente de qualquer relação causa–efeito, nossos dados não foram planejados para obter qualquer tipo de informação que não a mera fixação do conhecimento. Não consideramos adequado acompanhar o desenvolvimento escolar de cada aluno pela evidência de contacto com o *Toxoplasma*. Este tipo de estudo depende de muitas variáveis que não queríamos controlar ou não podemos controlar durante o estudo. Não sabemos se o contacto com o *Toxoplasma* não é apenas um indicador de um comportamento mais exploratório de algumas crianças e não sua causa. Mesmo estudos em gestantes adultas sobre a educação para a toxoplasmose não conseguem controlar adequadamente seus efeitos (GOLLUB *et al.*, 2008) e sugerem “*Existe uma evidencia sugestiva de que a educação em saúde pode ajudar os riscos de toxoplasmose “congenita” mas este problema requer mais estudos usando desenho e metodologias rigorosos*”, frase que acreditamos justificaria uma pesquisa futura sobre o tema, de forma muito mais planejada e abrangente, provavelmente utilizando coleta não invasiva de material biológico, como a que apresentamos neste trabalho.

As intervenções de curta duração em escolares, ministrada por pessoal treinado, são uma forma eficiente e barata de levar informações de uma forma rápida, e alterar comportamentos que levam a incidência de doenças, multiplicando a transferência de informação e, de certa forma, aumentando a integração de cada escola dentro do seu contexto social, quer seja pela facilitação de informações entre escolas como pelo respaldo social que os alunos geram na sociedade futura. A toxoplasmose aqui foi um exemplo de como uma interação Universidade, Escola Pública e Sociedade pode trabalhar integrada para estudar e encontrar soluções para problemas em Parasitologia, podendo futuramente ser extrapolada para outras fronteiras que aliem saúde e educação, que foram os anseios iniciais desse trabalho.

7 CONCLUSÕES

Foi possível determinar uma prevalência de 50% de contacto com a toxoplasmose em escolares de São Paulo, que foram capazes de identificar fontes de transmissão da doença de forma muito superior que a população normal, um ano após uma intervenção educacional rápida.

Especificamente:

- Foi padronizado um ELISA para detecção de IgG em saliva concentrada de escolares de São Paulo, de alta eficiência.
- Foi feita uma intervenção educacional curta sobre a toxoplasmose, que se mostrou eficaz na fixação de conhecimentos sobre a transmissão da doença após um ano da intervenção.
- A prevalência do contacto com a toxoplasmose foi de 50% nestes escolares.
- A fixação de conceitos foi maior nos alunos que não tinham tido contacto com a toxoplasmose.
- A grande maioria dos escolares sem intervenção desconhecia a toxoplasmose e suas formas de transmissão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

AMATO NETO, V.; MEDEIROS, E.A.S.; LEVI, G.C.; DUARTE, M.I.S. **Toxoplasmose**. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 1995. p 154.

AMBROISE-THOMAS, P. Emerging parasite zoonoses: the role of host-parasite relationship. **Int. J. Parasitol.**, v. 30, p. 1361-1367, 2000.

ASHBURN, D.; JOSS, A.W.; PENNINGTON, T.H.; Ho-Yen, D.O. Do IgA, IgE, and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of toxoplasma infection in pregnancy? **J. Clin. Pathol.**, v. 51, n. 4, p. 312-315, 1998.

BACHELARD, O.; SANTOS-EGGIMANN, B.; PACCAUD, F. Prenatal care of women delivering in the Vaud canton: retrospective study of 854 cases. **Soz. Präventivmed.**, v. 41, n. 5, p. 270-9, 1996.

BADER, T.J.; MACONES, G.A.; ASCH, D.A. Prenatal Screening for Toxoplasmosis. **Obstet. Gynecol.**, v. 90, n 3, p. 457-64, 1997.

BEAMAN, M.H. Toxoplasmosis. In: MANDELL, G.L.; BENNETT, J.E.; DULIN, R. **Principles and practice of infectious diseases**. 4. ed. New York: Churchill Livingstone, 1995. p. 2455-2475.

BERTOZZI, L.C.; SUZUKI, L.A.; ROSSI, C.L. Serological diagnosis of toxoplasmosis: usefulness of IgA detection and IgG avidity determination in a patient with a persistent IgM antibody response to *toxoplasma gondii*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.4,n.3, p. 175-177, 1999.

BOSCHETTI E. Antibody separation by hydrophobic charge induction chromatography. **Trends Biotechnol.**, v. 20, n. 8, p. 333-7, 2002.

BOTERREL, F.; ICHAI, P.; FERAY, C.; BOUREE, P.; SALIBA, F.; TUR RASPA, R.; SAMUEL, D.; ROMAND, S.; Disseminated toxoplasmosis, resulting from infection of allograft, after orthotopic liver transplantation: usefulness of quantitative PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 5, 1648-1650, 2002.

BUXTON, D.; INNES, EA.; A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. **Parasitology**, v. 110, n.110, p.11-6, 1995.

CAMARGO, M.; SILVA, S.M.; LESER, P.G.; GRANATO, C.H. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 33, p. 213-218, 1991.

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002

COELHO, R.A.; KOBAYASHI, M.; CARVALHO, L.B Jr. Prevalence of IgG antibodies to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo**, v. 45, p. 229–31, 2003.

COOK, R. Promoting women's health. **Nurs. Stand.**, v. 14, n. 21, p. 38-42, 2000.

COZON, G.; FERRANDIZ, J.; NEBBI, H.; WALLON, M.; PEYRON, F. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 17, n. 1, p. 32-36, 1998.

DAFFOS, F.; FORESIER, F.; CAPELLA-PAVLOVSKY, M.; THULLIEZ, P.; AUFRANT, C.; VALENTI, D.; COX, WL. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. **N. Engl. J. Med.**, v. 318, p. 271-275, 1988.

DEROUIN, F. Anti-toxoplasmosis Drugs. **Curr. Opin. Investig. Drugs**, v. 2, n. 10, p. 1368-74, 2001.

DESMONTS, G.; FORESTIER, F.; THULLIEZ, P.H.; DAFFOS, F.; CAPELLA-PAVLOVSKY, M.; CHARTIER, M. Prenatal Diagnosis of congenital toxoplasmosis. **Lancet**, v. 2, p. 500-504, 1985.

DIAS, J.C. Community participation and control of endemic diseases in Brazil: problems and possibilities. **Cad. Saúde Pública**, v. 14, n. 2, p. 19-37, 1998.

DINIZ, E.M.A.; CAMARGO, M.E.; COSTA VAZ, F.A. Toxoplasmose congênita. In: Diniz EMA, Costa Vaz FA. **Infecções congênitas e perinatais**. São Paulo: Atheneu, 1991. p. 31-72.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – an overview. **Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health**, v. 22, p. 88-119, 1991.

DUBEY, J.P.; THULLIEZ, P. Persistence of tissue cysts in edible tissues of cattle fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Am. J. Vet. Res.**, v. 54, n. 2, p. 270-273, 1993.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 11, n. 2, p. 267-299, 1998.

FERREIRA, M.U.; KATZIN, A.M. The assessment of antibody affinity distribution by thiocyanate elution: a simple dose-response approach. **J. Immunol. Methods**, v. 187, p. 297-305, 1995.

FILISSETTI, D.; CANDOLFI, E. Immune response to *Toxoplasma gondii*.: **Ann. Ist. Super. Sanita**, v. 40, n. 1, p. 71-80, 2004.

FLEGR, J.; ZITKOVÁ, S.; KODYM, P.; FRYNTA, D. Induction of changes in human behaviour by the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii*. **Parasitology**, v. 113, n. 1, p. 49-54, 1996.

FOULON, W.; VILLENA, I.; STRAY-PEDERSEN, B.; DECOSTER, A.; LAPPALAINEN, M.; PINON, J.M.; JENUN, P.A.; HEDMAN, K.; NAESSENS, A. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: A multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. **Am. J. Obstet. Gynaecol.**, v. 180, p. 410-415, 1999.

FRANCISCO, F. M.; DE SOUZA, S.L.; GENNARI, S.M.; PINHEIRO, S.R.; MURADIAN, V.; SOARES, R.M. 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.

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

FRENKEL, J.K. Toxoplasma in and around us. **BioScience**, v. 23, p. 343-352, 1973.

FRENKEL, J.K. Diagnosis, incidence and prevention of congenital toxoplasmosis. **Am. J. Dis. Child.**, v. 144, p. 957-59, 1990.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis testing during pregnancy. **JAMA**, v. 265, n. 2, p. 211, 1991.

FUX, B.; NAWAS, J.; KHAN, A.; GILL, D.B.; SU, C.; SIBLEY, L.D. *Toxoplasma gondii* strains defective in oral transmission are also defective in developmental stage differentiation. **Infect. Immun.**, v. 75, n. 5, p. 2580-90, 2007.

GOMES-NETO, J.B.; HANUSHEK, E.A.; LEITE, R.H.; FROTA, R.C. Health and schooling: Evidence and policy implications for developing countries. **Econ. Educ. Rev.**, v. 16, n. 3, p. 271-282, 1997.

GOTTSTEIN, B. Cyst-forming Coccidia: *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*. **Schweiz. Med. Wochenschr.**, v. 6, n. 18, p. 890-8, 1995.

GREENE, W.H.; SIMONS-MORTON, B.G. Health education. In: GREENE, W.H. **Introduction to health education**. New York: MacMillan Publishing, 1984. p. 24-50.

GRANSTROM, G.; WRETLIND, B.; SALENSTEDT, C.R.; GRANSTROM, M. Evaluation of serologic assays for diagnosis of whooping cough. **J. Clin. Microbiol.**, v. 26, n. 9, p. 1818-23, 1988.

GUIMARÃES, A.C.S.; KAWARABAY, M.; BORGES, M.M.; TOLEZANO, J.E.; ANDRADE Jr, H.F. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo metropolitan Region. **Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo**, v. 35, n. 6, p. 479-483, 1993.

HERWALDT, B.L.; JURANEK, D.D. Laboratory-acquired malaria, leishmaniasis, trypanosomiasis and toxoplasmosis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 48, n. 3, p. 313-323, 1993.

HAECKEL, R. Procedures for saliva sampling. **J. Clin. Chem. Clin. Biochem.**, v. 27, n. 4, p. 246-247, 1989.

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

HIRAMOTO, R.M.; MAYRBAURL-BORGES, M.; GALISTEO, Jr A.J.; MEIRELES, L.R.; MACRE, M.S.; ANDRADE Jr, H.F. Infectivity of cysts of the ME49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. **Rev. Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 113-118, 2001.

HOHLFELD, P.; DAFFOS, F.; THULLIEZ, P.; AUFRANT, C.; COUVREUR, J.; MacALEESE, J.; DESCOMBEY, D.; FORESTIER, F. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. **J. Pediatr.**, v. 115, n. 5, p. 765-9, 1989.

HOLLANDA, H.H. **Saúde como Compreensão de Vida: um Manual de Educação para a Saúde**. Brasília, D.F.: Divisão Nacional de Educação Sanitária, Ministério da Saúde, 1992.

HOLLIMAN, R.E. Recent developments in the diagnosis of toxoplasmosis. **Serodiagn. Immunother. Infect. Dis.**, v. 6, p. 5-16, 1994.

HOLLIMAN, R.E. Congenital toxoplasmosis: prevention, screening and treatment. **J. Hosp. Infect.**, v. 30, p.179-90, 1995.

HOWE, D.K.; HONORÉ, S.; DEROUIN, F.; SIBLEY, L.D. Determination of Genotypes of *Toxoplasma gondii* Strains Isolated from Patients with Toxoplasmosis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, n. 6, p. 1411-1414, 1997.

HUDSON, L.; HAY, F.C. **Practical immunology**. 3rd ed. Oxford: Blackwell, 1989.

JANKU, J. Pathogenesis and pathologic anatomy of coloboma of macula lutea in eye of normal dimensions, and in microphthalmic eye, with parasites in the retina. **Cas. Lek. Cesk**, v. 62, p. 1021-1027, 1923.

JEGANATHAN, S.; UFOMATA, D.; HOBKIRK, J.A.; IVANYI, L. Immunoglobulin A1 and A2 subclass of salivary antibodies to *Candida albicans* in patients with oral candidosis. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 70, n. 2, p. 316-21, 1987.

JONES, J.L.; LOPEZ, A.; WILSON, M.; SCHULKIN, J.; GIBBS, R. Congenital Toxoplasmosis: A Review. **Obstet. Gynecol. Surv.**, v. 56, n.5, p. 296-305, 2001.

KASPER, L.H.; BUZONI-GATEL, D. Some opportunistic Parasitic Infections in AIDS: Candidiasis, Pneumocystosis, Criptosporidiosis, Toxoplasmosis. **Parasitol. Today**, v. 14, n. 4, p. 150-156, 1998.

KYVSGAARD, N.C.; JOHANSEN, M.V.; CARABIN, H. Simulating transmission and control of *Taenia solium* infections using a Reed-Frost stochastic model. **Int. J. Parasitol.**, v. 37, n. 5, p. 547-58, 2007.

L'ABBATE, S. Health education: a new approach. **Cad. Saúde Pública**, v. 10, n. 4, p. 481-90, 1994.

BRASIL. **Lei de Diretrizes e Bases da Educação Nacional**. Lei n. 9.394/96, de 20 de dezembro de 1996. Brasília, D.F., 1996.

LECORDIER, L.; FOURMAUX, M.P.; MERCIER, C.; DEHECQ, E.; MASY, E.; CESBRON-DELAUW, M.F. Enzyme-linked immunosorbent assays using the recombinant dense granule antigens GRA6 and GRA1 of *Toxoplasma gondii* for detection of immunoglobulin G antibodies. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 7, n. 4, p. 607-11, 2000.

LIESENFELD, O. Immune responses to *Toxoplasma gondii* in the gut. **Immunobiology**, v. 201, n. 2, p. 229-39, 1999.

LUFT, B.J.; BROOK, R.G.; CONLEY, J.F. Toxoplasmic encephalitis in patients with acquired immune deficiency syndrome. **JAMA**, v. 252, p. 913, 1984.

LUFT, B.J.; HAFNER, R.; KORZUN, A.H.; LEPORT, C.; ANTONISKIS, D.; BOSLER, E.M.; BOURLAND, D.; UTTAMCHANDANI, R.; FUHRER, J.; JACOBSON, J.; MORLAT, P.; VILDE, J.L.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmic Encephalitis in Patients with the acquired immunodeficiency Syndrome. **New Engl. J. Med.**, v. 329, p. 995-1000, 1993.

MacENTEE, M.I.; GLICK, N.; STOLAR, E. Age, gender, dentures and oral mucosal disorders. **Oral Dis.**, v. 4, n. 1, p. 32-36, 1998.

MACRE, M.S. **Avaliação da Quantificação da aversez dos anticorpos maternos na abordagem laboratorial da toxoplasmose congênita**. Tese (Mestrado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

MALAMUD, D.; NAGASHUNMUGAM, T.; DAVIS, C.; KENNEDY, S.; ABRAMS, W.R.; KREAM, R.; FRIEDMAN, H.M. Inhibition of HIV infectivity by human saliva. **Oral Dis.**, v. 3, n. 1, p. 58-63, 1997.

MIGLIARE, D.A.; MARCUCCI, G. Níveis da IgG secretória na saliva total não estimulada de indivíduos fumantes e não fumantes por imunodifusão radial simples. **Rev. Odontol. Univ. São Paulo**, v. 7, n. 2, p. 109-113, 1993.

MONTOYA, J.G.; HUFFMAN, H.B.; REMINGTON, J.S. Evaluation of the immunoglobulin G avidity test for diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 10, p. 4627-31, 2004.

MORTIMER, P.P.; PARRY, J.V. Detection of antibody to HIV in saliva: a brief review. **Clin. Diagn. Virol.**, v. 2, n. 4-5, p. 231-43, 1994.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Carta de Ottawa. In: BUSS, P. M. (Org.). **Promoção da Saúde e Saúde Pública**: contribuição para o debate entre as escolas de Saúde Pública na América Latina. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, 1986. p. 158-162.

ORRISS, G.D. Animal diseases of Public Health importance. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 3, n. 4, p. 487-502, 1997.

PARK, B.K.; MOON, H.R.; YU, J.R.; KOOK, J.; CHAI, J.Y.; LEE, S.H. Comparative susceptibility of different cell lines for culture of *Toxoplasma gondii* in vitro. **Korean J. Parasitol.**, v. 31, n. 3, p. 215-222, 1993.

PAUL, M. Immunoglobulin G avidity in diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy and ocular toxoplasmosis. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 6, n. 4, p. 514-518, 1999.

PFUETZENREITER, M.R. A ruptura entre o conhecimento popular e o científico em saúde. **Ensaio: Pesquisa em educação em ciências**, v. 3, n. 2, p.1-15, 2001.

PIRES, M. **Toxoplasmose e Gravidez**: Diagnóstico pré-natal pelo método de PCR e resultados pós-natais. Tese (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1999.

REMINGTON, J.S.; McLEOD, R.; THULLIEZ, P.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: REMINGTON, J.S.; KLEIN, J.O.; WILSON, C.B.; BAKER, C.J (Ed.). **Infectious diseases of the fetus & newborn infant**. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders, 2006. p. 947-1091.

ROBERTS, T.; FRENKEL, J.K. Estimating income losses and other preventable costs caused by congenital toxoplasmosis in people in the United States. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 2, p. 249-256, 1990.

ROBERTS, F.; McLEOD, R. Pathogenesis of toxoplasmic Retinochoroiditis. **Parasitol. Today**, v. 15, n. 2, p. 51-57, 1999.

SABIN, AB. Toxoplasmic encefalitis in children. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 116, p. 801-807, 1941.

SABIN, A.B.; FELDMAN, H.A. Dyes a microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (toxoplasma). **Science**, v. 108, p. 660-663, 1948.

SANCHEZ, M.C.A. Testes sorológicos. In: FERREIRA, A.W.; AVILA, S.L.M. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto Imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 7-28.

SANCHEZ, R.M.; GORDO, R.B.; AMADOR, E.A.; BERRIO, L.A. Prevalência de infecção toxoplásmica en gestantes de la provincia la Habana. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 36, n. 5, p. 445-450, 1994.

SANTOS, S.S.M. Saneamento básico. In: **Recursos Naturais e Meio Ambiente: uma visão do Brasil**. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1993. p. 101-112.

SANTOS, J.B. Field work in Tropical Medicine: objectives, planning and operational aspects. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, n. 4, p. 385-93, 2002.

SMITH, D.J.; JOSHIPURA, K.; KENT, R.; TAUBMAN, M.A. Effect of age on immunoglobulin content and volume of human labial gland saliva. **J. Dent. Res.**, v. 71, n. 12; p. 1891-1894, 1992.

SOLDATI, D.; DUBREMETZ, J.F.; LEBRUN, M. Microneme proteins: structural and functional requirements to promote adhesion and invasion by the apicomplexan parasite *Toxoplasma gondii*. **Int. J. Parasitol.**, v. 31, n. 12, p. 1293-302, 2001.

SOUZA, V.A.; PANNUTI, C.S.; SUMITA, L.M.; ANDRADE, JR H.F. Enzyme-linked immunosorbent assay-IgG antibody avidity test for single sample serologic evaluation of measles vaccines. **J. Med. Virol.**, v. 52, n. 3, p. 275-9, 1997.

SPALDING, S.M.; AMENDOEIRA, M.R.M.; RIBEIRO, L.C.; SILVEIRA, C.; GARCIA, A.P.; CAMILLO-COURA, L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. **Rev. Soc. Bras. Méd. Trop.**, v. 36, n. 4, p. 483-491, 2003.

STRAY-PEDERSEN, B.; JENUN, P. Economic evaluation of preventive programmes against congenital toxoplasmosis. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 84, p. 86-96, 1992.

SUZUKI, L.A.; ROCHA, R.J.; ROSSI, C.L. Evaluation of serological markers for the immunodiagnosis of acute acquired toxoplasmosis. **J. Med. Microbiol.**, v. 50, n. 1, p. 62-70, 2001.

TAUIL, P.L. Perspectives of vector borne diseases control in Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 39, n. 3, p. 275-7, 2006.

THOMAS, P.A.; PELLOUX, H. Toxoplasmosis congenital and in immunocompromised patients: a parallel. **Parasitol. Today**, v. 9, n. 2, p. 61-63, 1993.

VENKATESAN, P.; WAKELIN, D. Elisas for parasitologists: or lies, damned lies and Elisas. **Parasitol. Today**, v. 9, n. 6, p. 228-232, 1993.

WAINSTEIN, M.V. Achados neuropatológicos na Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA): Revisão de 138 casos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 25, n. 2, p. 95-99, 1992.

WANG, Z.; XUE, C.; LOU, W.; ZHANG, X.; ZHANG, E.; WU, W.; SHEN, G. Non-invasive immunodiagnosis of Schistosomiasis japonica: the detection of specific antibodies in saliva. **Chin. Med. J.**, v. 115, n. 10, p. 1460-4, 2002.

WEBSTER, J.P. Rats, cats, people and parasites: the impact of latent toxoplasmosis on behaviour. **Microbes Infect.**, v. 3, n. 12, p. 1037-45, 2001.

WORLD HEALTH ORGANISATION. **The Ottawa Charter for Health Promotion**. Copenhagen: WHO, 1986.

WILSON, C.B. What can be done to prevent congenital toxoplasmosis? **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 15, n. 138, p. 357-63, 1980.

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

WONG, D.T. Salivary diagnostics for oral cancer. **J. Calif. Dent. Assoc.**, v. 34, n. 4, p. 303-8, 2006.

ZARKOVIC, A.; McMURRAY, C.; DEVA, N.; GHOSH, S.; WHITLEY, D.; GUEST, S. Seropositivity rates for Bartonella henselae, Toxocara canis and Toxoplasma gondii in New Zealand blood donors. **Clin. Exp. Ophthalmol.**, v. 35, n. 2, p. 131-4, 2007.

YOLKEN, R.H.; TORREY, E.F. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. **Mol. Psychiatry**, v. 13, n. 5, p. 470-9, 2008.

ANEXO A

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO
Laboratório de Protozoologia

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470 1º andar

CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil

Telefones: 3061-7010; 30617015; 30617017 – Fax (011) 3088-5237

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(menores de 18 anos)

ESTUDO: Padronização e estudo da eficiência da detecção da Toxoplasmose através da saliva.
Seu filho está sendo convidado a participar do presente estudo. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos (ou estaremos) fazendo. Leia atentamente. Caso tenha dúvidas, teremos prazer em esclarecê-las. Se concordar, o documento será assinado e só então daremos início ao estudo. Sua colaboração será muito importante para nós. Mas, se quiser desistir a qualquer momento, isto não causará nenhum prejuízo, nem a você, nem ao (à) seu (sua) filho (a).

Eu _____, RG _____, abaixo assinado (a), concordo de livre e espontânea vontade que meu (minha) filho (a) _____, nascido (a) em ____/____/____, seja voluntário do estudo "Padronização e estudo da eficiência da detecção da Toxoplasmose através da saliva". Declaro que obtive todas as informações necessárias e que todas as minhas dúvidas foram esclarecidas.

Estou ciente de que:

I) O estudo é necessário para que se possa descobrir as possíveis causas e/ou o diagnóstico, se apropriado, da doença denominada "*Toxoplasmose*";

II) Será feita uma coleta de saliva do (a) meu (minha) filho (a);

III) Estas coletas serão feitas apenas para este estudo e em nada influenciarão na saúde de meu (minha) filho (a); e ainda, que esta coleta não apresentará desconfortos e riscos, pois é apenas saliva, e não sangue;

IV) A participação neste estudo não tem fins terapêuticos e será sem custo algum para mim;

V) Tenho a liberdade de desistir ou interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de dar qualquer explicação;

VI) A desistência não causará nenhum prejuízo a mim, nem (a) meu (minha) filho (a), nem interferirá no atendimento ou tratamento médicos a que ele (ela) estiver sendo submetido;

VII) Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo em que sejam divulgados em publicações científicas, desde que nem o meu nome, nem o de meu filho sejam mencionados;

VIII) Caso eu deseje, poderei tomar conhecimento dos resultados ao final deste estudo;

IX) Poderei contatar o Instituto de Medicina Tropical de São Paulo – IMT/USP, no Fone 3061-7010 (com Professora Miriam, Dr. Heitor ou Dra. Luciana), para recursos ou reclamações em relação ao presente estudo.

São Paulo, _____ de _____ de 2006

Responsável: _____

Responsável pelo Projeto: _____
Dr. Heitor Franco de Andrade Jr – CRM nº 24325.

ANEXO B (FRENTE DO FOLDER)

TOXOPLASMOSE
NAS ESCOLAS

Nós, do Laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo, desenvolvemos um Projeto Científico sobre Toxoplasmose nas escolas, para avaliar e prevenir a infecção em alunos do ensino fundamental. Neste projeto, recolhemos amostras de saliva para pesquisa de anticorpos, com distribuição de material educativo sobre as formas de transmissão e prevenção da doença.

O QUE É
TOXOPLASMOSE?

É uma doença causada por um parasita bem pequeno chamado *Toxoplasma gondii*, que, no microscópio, tem forma parecida com a do desenho ao lado. Todos os animais de sangue quente como os mamíferos (incluindo o homem) e as aves podem adquirir esta doença.

Os gatos têm um papel importante na transmissão da toxoplasmose, porque eliminam o parasita nas fezes. Estes parasitas, no meio

ambiente, contaminam a água, frutas, verduras, legumes e a pastagem, transmitindo a doença para o homem e outros animais. Nestes animais, o parasita fica alojado na carne.

COMO SE PEGA A
TOXOPLASMOSE?

- Através da ingestão de água, verduras, frutas e legumes contaminados com o parasita.

- Ingestão de carne crua ou mal cozida contendo o agente.

- Quando a mãe adquire a doença durante a gravidez, transmitindo o parasita para o bebê.

QUAIS SÃO OS
SINTOMAS DA
TOXOPLASMOSE?

Em pessoas saudáveis, a doença passa despercebida, porém, às vezes, dá febre, aumento dos gânglios do pescoço e problemas na visão, mas cura sozinha.

Em pacientes com outras doenças, como é o caso dos alérgicos, a toxoplasmose é grave e pode matar.

Quando adquirido durante a gravidez, o parasita pode atingir o bebê, causando cegueira e deficiência mental grave.

A TOXOPLASMOSE
TEM CURA?

Sim, existe tratamento eficiente, e quanto mais rápido for iniciado, menores serão os danos, principalmente para o bebê. Todas as gestantes devem procurar um Posto de Saúde para fazer o pré-natal e realizar exames de rotina, entre eles, o diagnóstico para toxoplasmose.

ANEXO B (VERSO DO FOLDER)

ANEXO C

ANEXO D

PARA VOCÊ DESENHAR

se sua criatividade e faça um desenho mostrando o que você aprendeu sobre toxoplasmose.

ORGANIZAÇÃO
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Laboratório de Protozoologia
Mais informações: Tel. (11) 30617010

PARA VOCÊ DESENHAR

use sua criatividade e faça um desenho mostrando o que você aprendeu sobre toxoplasmose.

Pâmela Simões de Souza

- Evitar que crianças
entrem em contato com
lanques de água
contaminados com fezes
de gato

ORGANIZAÇÃO
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
Laboratório de Protozoologia
Mais informações: Tel. (11) 30617010

ANEXO E

- NOME:** _____ **SÉRIE:** _____
- QUESTIONÁRIO:**
- 1) O que devemos fazer para evitar vermes?**
☐ lavar as mãos após as refeições;
☐ lavar as frutas, verduras e legumes antes de comê-las;
☐ Comer carne crua ou mal cozida;
- 2) Você já ouviu falar da toxoplasmose?**
☐ Sim ☐ Não
- 3) A toxoplasmose é transmitida por qual animal?**
☐ cachorro ☐ gato ☐ pombo
- 4) Essa doença pode ser transmitida por alimentos?**
☐ Sim ☐ Não ☐ Não sei
- 5) Você possui animal em casa?**
☐ Sim ☐ Não
- 6) Quais?**

☐ cachorro

☐ gato

☐ outros. Quais?

7) Quando passeamos com nosso animal na rua devemos:

☐ Deixar ele livre, sem coleira para correr bastante.

☐ Não devemos passear com nosso animal nas ruas.

☐ Levar o animal preso, com coleira de registro do animal e devemos recolher suas fezes com um saco plástico, para não sujar as ruas.

8) O lixo de nossas casas deve ficar:

☐ Fora de casa, bem tampado, longe de cachorro, gato, rato.

☐ Dentro de casa, de preferência na cozinha.

☐ Aberto, no quintal da casa.

9) Quando comemos frutas ou verduras cruas devemos:

☐ Lavar muito bem antes de comer.

☐ Limpar bem com um pano, antes de comer.

☐ Não precisa limpar se comprar em supermercado.

10) Como podemos pegar toxoplasmose?

☐ Comendo alimentos contaminados com fezes de gato ou carne crua ou mal cozida.

☐ Comendo alimentos contaminados com fezes de pombo.

☐ Respirando poeira com fezes de pombo.

Questionário sócio-econômico:

01. Quantos irmãos você tem?

(A) Nenhum.

(B) Um.

(C) Dois.

(D) Três.

(E) Quatro ou mais.

02. Qual a faixa de renda mensal das pessoas que moram em sua casa?

(A) Até 3 salários-mínimos.

(B) De 3 a 10 salários-mínimos.

(C) De 10 a 20 salários-mínimos.

(D) De 20 a 30 salários-mínimos.

(E) Mais de 30 salários-mínimos.

03. Quantas pessoas de sua família moram com você (contando seus pais, irmãos e outros parentes que moram em uma mesma casa)?

(A) Nenhum.

(B) Um ou dois.

(C) Três ou quatro.

(D) Cinco ou seis.

(E) Mais do que seis.

04. Até quando seu pai estudou?

(A) Não estudou.

(B) Da 1ª à 4ª série do ensino fundamental.

(C) Da 5ª à 8ª série do ensino fundamental.

(D) Ensino médio (2º grau) incompleto.

(E) Ensino médio (2º grau) completo.

(F) Ensino superior incompleto.

(G) Ensino superior completo.

(H) Não sei.

05. Até quando sua mãe estudou?

(A) Não estudou.

(B) Da 1ª à 4ª série do ensino fundamental.

(C) Da 5ª à 8ª série do ensino fundamental.

(D) Ensino médio (2º grau) incompleto.

(E) Ensino médio (2º grau) completo.

(F) Ensino superior incompleto.

(G) Ensino superior completo.

(H) Não sei.

06. Quais e quantos dos itens abaixo há em sua casa?

01. Tv (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

02. Videocassete e/ou DVD (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

03. Rádio (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

04. Microcomputador (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

05. Automóvel (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

06. Máquina de lavar roupa (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

07. Geladeira (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

08. Telefone fixo (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

09. Telefone celular (1) (2) (3 ou mais) (Não tem)

10. Acesso à Internet (tenho) (Não tenho)

11. Tv por assinatura (tenho) (Não tenho)

07. Das atividades artístico-culturais listadas abaixo, qual constitui sua preferência para o lazer?

(A) Cinema.

(B) Espetáculos teatrais.

(C) Shows musicais e/ou concertos.

(D) Dança.

(E) Nenhuma.