Claudio Cesar Jaguaribe Ekman

Influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana:
revisão sistemática de surtos epidêmicos

Dissertação apresentada ao Instituto de
Medicina Tropical de São Paulo da
Universidade de São Paulo para a obtenção do
título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Doenças Tropicais e
Saúde Internacional

Orientador: Prof. Dr. Expedito José de
Albuquerque Luna

São Paulo
2012

Ficha catalográfica
Preparada pela Biblioteca do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da
Universidade de São Paulo
© Reprodução autorizada pelo autor

Ekman, Claudio Cesar Jaguaribe

Influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana: revisão sistemática de surtos epidêmicos / Claudio Cesar Jaguaribe Ekman. – São Paulo, 2012.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Doenças Tropicais e Saúde Internacional
Orientador: Expedito José de Albuquerque Luna

Descritores: 1. TOXOPLASMOSE. 2. *TOXOPLASMA GONDII*. 3. SURTO EPIDÊMICO. 4. DOENÇAS TRANSMITIDAS POR ALIMENTOS. 5. DOENÇAS TRANSMITIDAS PELA ÁGUA. 6. REVISÃO SISTEMÁTICA.

USP/IMTSP/BIB-10/2012.

Universidade de São Paulo
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

Candidato: **Claudio Cesar Jaguaribe Ekman**

Titulo da Dissertação: “Influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana: revisão sistemática de surtos epidêmicos”

Orientador: **Prof. Dr. Expedito José de Albuquerque Luna**

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da **Dissertação de Mestrado**, em sessão pública realizada em/...../....., considerou

(☐) **APROVADO(A)** (☐) **REPROVADO(A)**

Examinador(a) Assinatura_____

Nome_____

Instituição_____

Examinador(b) Assinatura_____

Nome_____

Instituição_____

Presidente Assinatura_____

Nome_____

Instituição_____

Dedico este trabalho
à minha esposa Luciana.

Aos meus pais, Blenda e Domingos, pelo carinho, apoio e incentivo.

À minha família, especialmente aos meus avós Lucy e Claudio, Hercilia e Olavo, que com suas histórias, animais e plantas estimularam meu interesse pela ciência e Medicina Veterinária.

À Luciana, minha esposa, pelo seu amor...

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Expedito José de Albuquerque Luna pelo respeito, apoio e dedicação na orientação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Heitor Franco de Andrade Jr. pelo apoio, incentivo e sugestões que possibilitaram a execução deste trabalho.

À Profa. Dra. Luciana Regina Meireles Jaguaribe Ekman pelo incentivo e apoio em todas as etapas deste trabalho.

Aos membros da banca do Exame de Qualificação, Prof. Dr. Francisco Chiaravalloti Neto e Prof. Dr. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza pelas sugestões ao presente trabalho.

Aos Professores Dra. Solange Maria Gennari e Dr. Fumio Honma Ito, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, pela orientação em disciplinas da Pós-Graduação.

Ao Dr. Walter Manso Figueiredo e à Dra. Maria Fernanda do Valle Chiossi, do Serviço especial de Saúde de Araraquara da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, pelo apoio durante investigação de surto epidêmico de toxoplasmose na região de Araraquara - SP.

Aos funcionários da Indústria na região de Araraquara - SP, que vivenciaram um surto epidêmico de toxoplasmose, pelo apoio e colaboração durante a investigação do surto feita pela nossa equipe.

À Sônia Pedrozo Gomes e Carlos José Quinteiro, pelo auxílio na formatação desta Dissertação e à Eliane Araújo pela ajuda na Secretaria da Pós-Graduação.

À Solange Fernandes Ferreira dos Santos e Luciano Monteiro da Silva, pelo auxílio na Secretaria de Pós-Graduação e apoio logístico para este trabalho.

Às amigas Juliana Nunes Mecca e Maria Aparecida Moraes Marciano, companheiras das disciplinas da Pós-Graduação, pelo apoio e incentivo.

O Guardador de Rebanhos

XXXIX - O Mistério das Coisas

O mistério das coisas, onde está ele?
Onde está ele que não aparece
Pelo menos a mostrar-nos que é mistério?
Que sabe o rio disso e que sabe a árvore?
E eu, que não sou mais do que eles, que sei disso?
Sempre que olho para as coisas e penso no que os homens pensam delas,
Rio como um regato que soa fresco numa pedra.

Porque o único sentido oculto das coisas
É elas não terem sentido oculto nenhum,
É mais estranho do que todas as estranhezas
E do que os sonhos de todos os poetas
E os pensamentos de todos os filósofos,
Que as coisas sejam realmente o que parecem ser
E não haja nada que compreender.

Sim, eis o que os meus sentidos aprenderam sozinhos: —
As coisas não têm significação: têm existência.
As coisas são o único sentido oculto das coisas.

Alberto Caeiro (Fernando Pessoa)

RESUMO

Ekman CCJ. Influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana: revisão sistemática de surtos epidêmicos (dissertação). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, altamente prevalente na população humana e animal. A doença é geralmente benigna e autolimitada, mas pode ocasionar déficits visuais graves em cerca de 2 a 3% dos indivíduos acometidos, e ainda, assumir formas graves e letais em pacientes imunossuprimidos e em fetos de gestantes com infecção aguda. As principais formas de transmissão da doença são o consumo de água e alimentos crus contaminados com oocistos e a ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais do *Toxoplasma gondii*. Na literatura há relatos de vários surtos epidêmicos de toxoplasmose humana, porém a análise descritiva destes surtos é pontual e restrita, com informações isoladas em relação período de incubação e gravidade dos sintomas que poderiam estar relacionados à forma infectante do agente. No presente trabalho analisamos a influência da forma infectante do *T. gondii* no quadro da doença aguda humana, através de revisão sistemática das principais bases de dados bibliográficos na área de Saúde Pública (Cochrane, Embase, Food Sciences & Tech Abstracts, Lilacs, PubMed, Scopus e Web of Science), além de publicações em boletins epidemiológicos (Boletim Epidemiológico Paulista, Boletim Eletrônico Epidemiológico – SVS) e anais de congressos nacionais e internacionais de áreas correlatas. As pesquisas nas bases de dados bibliográficos foram realizadas utilizando idiomas em português e inglês para os termos: surtos de toxoplasmose humana (human toxoplasmosis outbreak). Os critérios de inclusão dos estudos levaram em consideração artigos e resumos que relatassem surtos epidêmicos de toxoplasmose humana com descrição da forma infectante do agente e quadro clínico da doença. Na busca eletrônica inicial, foram obtidos 431 artigos referentes a surtos mundiais e nacionais de toxoplasmose humana, provenientes de diferentes formas de transmissão da doença, porém foram elegíveis para o trabalho somente 33 artigos, incluindo um surto ocorrido recentemente na região de Araraquara, Estado de São Paulo, cuja investigação epidemiológica foi conduzida por nossa equipe. A análise da revisão sistemática sugere que o número de casos confirmados nos surtos é maior quando a transmissão ocorre por oocistos, sendo o solo e a água associados a esta forma de transmissão. Quanto aos achados clínicos, a infecção por cistos parece induzir um período de incubação menor do que o observado para oocistos. Não houve relação da forma infectante com o sexo predominante e faixa etária nas populações amostrais. Os surtos foram descritos mais frequentemente nas Américas que em outros continentes. Estes dados sugerem que a forma infectante do *T. gondii* interfere no quadro da toxoplasmose aguda.

Descritores: Toxoplasmose. *Toxoplasma gondii*. Surto epidêmico. Doenças transmitidas por alimentos. Doenças transmitidas pela água. Revisão sistemática.

ABSTRACT

Ekman CCJ. Influence of infective form of *Toxoplasma gondii* in human acute illness: systematic review of outbreaks (Dissertation). São Paulo: Instituto de Medicina Tropical de São Paulo da Universidade de São Paulo; 2012.

Toxoplasmosis is a zoonosis of worldwide distribution, highly prevalent in the human and animal population. The disease is usually benign and self-limiting but can cause severe visual deficits in about 2 to 3% of affected individuals, and also take serious and lethal in immunosuppressed patients and in fetuses of pregnant women with acute infection. The most important modes of transmission are consumption of water and uncooked food contaminated with oocysts and the ingestion of raw or undercooked meat containing tissue cysts of *Toxoplasma gondii*. In literature there are reports of several human toxoplasmosis outbreaks, but the descriptive analysis of these outbreaks is punctual and restricted, with isolated information regarding the incubation period and severity of symptoms that could be related to the infective form of the agent. In this study we analyze the influence of infective form of *T. gondii* in the context of acute human disease, through a systematic review of the major bibliographic databases in the area of Public Health (Cochrane, Embase, Food Sciences & Tech Abstracts, Lilacs, PubMed, Scopus e Web of Science), as well as publications in epidemiological bulletins (Boletim Epidemiológico Paulista, Boletim Eletrônico Epidemiológico – SVS) and annals of national and international conferences in related areas. This research on bibliographic databases was performed using English and Portuguese languages for the terms: human toxoplasmosis outbreak (*surtos de toxoplasmose humana*). The inclusion criteria of the studies took into consideration articles and abstracts that reported outbreaks of human toxoplasmosis with description of the infective form of the agent and the clinical disease. In the initial electronic search, 431 articles were obtained regarding global and national outbreaks of human toxoplasmosis from different main forms of disease transmission, but were eligible to work only 33 articles, including a recent outbreak in the region of Araraquara – State of São Paulo, which epidemiological investigation was conducted by our team. The analysis of systematic review suggests that the number of confirmed cases in outbreaks is greater when the transmission occurs by oocysts, and the soil and water are associated with this form of transmission. Regarding clinical findings, cysts infection seems to induce an incubation period less than that observed for oocysts. No relationship between the infective form with the predominant sex and age group in the sample populations. Outbreaks were reported more frequently in the Americas than in other continents. These data suggest that the infective form of *T. gondii* interferes in the context of acute toxoplasmosis.

Descriptors: Toxoplasmosis. *Toxoplasma gondii*. Outbreak. Foodborne disease. Waterborne disease. Systematic review.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Ciclo de vida do <i>T. gondii</i> com as várias fontes de infecção humana e animal.....	19
Figura 2 -	Distribuição do número de casos confirmados obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de <i>T.gondii</i> envolvida na transmissão no surto.....	114
Figura 3 -	Distribuição da proporção de casos confirmados sintomáticos obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de <i>T.gondii</i> envolvida na transmissão no surto.....	115
Figura 4 -	Distribuição do tamanho da população em risco nos surtos obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de <i>T.gondii</i> envolvida na transmissão no surto.....	115
Figura 5 -	Distribuição da proporção de infectados nos surtos obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de <i>T.gondii</i> envolvida na transmissão no surto.....	116
Figura 6 -	Distribuição dos valores do período de incubação médio (dias) da doença aguda obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de <i>T.gondii</i> envolvida na transmissão no surto.....	117
Quadro 1 -	Etapas do processo de seleção dos estudos obtidos de bases eletrônicas. São Paulo, 2012.....	82

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Relação dos artigos incluídos na revisão sistemática. São Paulo, 2012.....	84
Tabela 2 -	Dados extraídos dos artigos da revisão sistemática. São Paulo, 2012.....	107
Tabela 3 -	Distribuição das variáveis categóricas extraídas dos artigos da revisão sistemática. São Paulo, 2012.....	110
Tabela 4 -	Frequência das formas de transmissão do <i>T.gondii</i> dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.....	111
Tabela 5 -	Frequência das fontes de transmissão por oocistos dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.....	112
Tabela 6 -	Frequência dos tipos de carne relatadas nos surtos epidêmicos de transmissão por cistos, São Paulo 2012.....	112
Tabela 7 -	Frequência da distribuição geográfica dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.....	113
Tabela 8 -	Frequência da distribuição temporal dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.....	113

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	Histórico.....	16
1.2	O agente.....	17
1.2.1	Taxonomia.....	17
1.2.2	Ciclo de vida e características biológicas.....	18
1.2.2.1	Oocistos.....	19
1.2.2.2	Taquizoítos.....	20
1.2.2.3	Bradizoítos e cistos teciduais.....	21
1.2.3	Diversidade genética.....	22
1.3	Aspectos Epidemiológicos.....	24
1.3.1	Formas de transmissão.....	24
1.3.1.1	Transmissão por oocistos.....	27
1.3.1.2	Transmissão por cistos.....	30
1.3.1.2.1	Prevalência de infecção por <i>T.gondii</i> em animais de produção.....	31
1.3.1.2.2	Risco de transmissão de <i>T.gondii</i> em diferentes tipos de carne.....	34
1.4	Aspectos Clínicos.....	38
1.4.1	Toxoplasmose humana.....	38
1.4.1.1	Toxoplasmose congênita.....	40
1.4.1.2	Toxoplasma em indivíduos imunocompetentes.....	48
1.4.1.3	Toxoplasmose ocular.....	49
1.4.1.4	Toxoplasmose em pacientes infectados pelo HIV.....	53
1.4.2	Toxoplasmose animal.....	56
1.4.2.1	Cães.....	56
1.4.2.2	Ovinos e caprinos.....	57
1.4.2.3	Suínos.....	57

1.4.2.4	Primatas não humanos.....	58
1.4.2.5	Aves.....	59
1.4.2.6	Roedores.....	59
1.4.2.7	Mamíferos marinhos.....	60
1.5	Aspectos gerais da imunidade.....	60
1.6	Prevenção.....	64
2	OBJETIVOS.....	71
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	72
3.1	Tipo de estudo.....	72
3.2	Critérios de inclusão de estudos.....	77
3.3	Identificação de dados utilizáveis e criação de tabela comparativa	78
4	RESULTADOS.....	80
4.1	Busca e seleção dos artigos científicos.....	80
4.2	Descrição dos surtos relatados nos artigos selecionados.....	87
4.3	Análise dos dados.....	106
4.3.1	Análise dos dados categóricos.....	106
4.3.2	Análise dos dados quantitativos.....	114
5	DISCUSSÃO.....	118
6	CONCLUSÕES.....	126
	REFERÊNCIAS.....	127
	APÊNDICES.....	187
	ANEXOS.....	189

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma das infecções parasitárias sistêmicas mais prevalentes no mundo, atingindo pelo menos um bilhão de pessoas e certamente, parcela significativa dos rebanhos de criação animal destinados ao consumo humano (Tenter et al., 2000; Kijlstra e Jongert, 2008). A doença tem como agente etiológico o *Toxoplasma gondii*, protozoário intracelular obrigatório, que apresenta como hospedeiro definitivo, os felinos, e como hospedeiros intermediários, todos os animais de sangue quente, incluindo o homem (Dubey, 1998).

A doença é geralmente benigna e autolimitada, mas pode ocasionar déficits visuais graves em cerca de 2 a 3% dos indivíduos acometidos, e ainda, assumir formas graves e letais em pacientes imunossuprimidos e em fetos de gestantes com infecção aguda (Remington et al., 2011).

A ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos de *T. gondii* e o consumo de água e alimentos contaminados com oocistos do parasita eliminados nas fezes do gato são as principais formas de transmissão da toxoplasmose, caracterizando a doença como uma das principais zoonoses transmitidas por alimentos (Kijlstra e Jongert, 2008).

A prevalência da infecção em humanos é alta, com estimativas de infecção crônica em indivíduos adultos variando de 10% a 90%, dependendo da região geográfica e do hábito alimentar da população (Tenter et al., 2000). No Brasil, a prevalência varia entre 50 e 80% (Kompalic-Cristo et al., 2005; Dubey et al., 2012).

Nas últimas décadas, vários surtos mundiais de toxoplasmose humana têm sido descritos na literatura. Estes surtos estão geralmente relacionados a pequenos grupos de indivíduos ou a famílias, sendo pouco freqüente o envolvimento de grandes grupos populacionais. Além disso, alguns estudos têm demonstrado que

as fontes de infecção e vias de transmissão, envolvidas nos surtos, variam nas diferentes populações estudadas (Bowie et al., 1997; Tenter et al., 2000). A predominância da forma de transmissão está na dependência dos hábitos alimentares da população e do grau de contaminação do solo por fezes de gatos. Em algumas comunidades, a abundância de oocistos presentes no solo parece ser o fator responsável pela maior prevalência da infecção em crianças. Por outro lado, o hábito da ingestão de carne crua ou mal cozida, parece estar relacionado com a infecção em adultos (Tenter et al., 2000).

Em países, como os EUA, a via alimentar é a principal forma de transmissão da infecção pelo *T.gondii*, já no Brasil, existem relatos de transmissão tanto por alimentos como pela água, sendo esta última via de transmissão de grande relevância, já que o maior surto de veiculação hídrica notificado mundialmente ocorreu na cidade de Santa Isabel do Ivaí, no Estado do Paraná (Bahia-Oliveira et al., 2003). Outro surto nacional de grande repercussão, porém de transmissão alimentar, ocorreu na cidade de Erechim, no Estado do Rio Grande do Sul, com alta prevalência de toxoplasmose ocular (Silveira et al., 2001).

Na literatura nacional é possível, ainda, analisar surtos esporádicos ocorridos em diferentes estados como Minas Gerais (Coutinho et al., 1982; Chiari e Neves, 1984), Paraná (Bonametti et al., 1997), Rio Grande do Sul (Silveira et al., 2001; de Almeida et al., 2006), Santa Catarina (Madeira e Búrigo, 2005), Goiás (Renoier et al., 2007), Pará (Carmo et al., 2010), Rio Grande do Norte (Costa et al., 2010) e em diversas cidades do Estado de São Paulo, como Bragança Paulista (Magaldi et al., 1967), São José dos Campos (Magaldi et al., 1969), São Carlos (Gattás et al., 2000), Guarujá e São Paulo (Eduardo et al., 2007) e Araraquara (Ekman et al., 2012).

Contudo, a análise descritiva destes surtos epidêmicos é pontual e restrita, com informações isoladas em relação à forma infectante do agente, tempo de aparecimento do primeiro caso e a gravidade dos sintomas encontrados em indivíduos infectados. Não houve até o momento, nenhuma tentativa de associar os dados dos vários surtos para identificar padrões relacionados à forma infectante que possam preconizar intervenções mais precisas de Saúde Pública. Assim, propomos uma revisão sistemática para identificar a produção científica relacionada ao tema e avaliar a influência da forma infectante de *T. gondii* no quadro clínico da toxoplasmose humana.

1.1 Histórico

Toxoplasma gondii foi descrito pela primeira vez em 1908, simultaneamente em um roedor *Ctenodactylus gundii*, na Tunísia, por Nicolle e Mancaeux (1908), e em coelho doméstico (*Oryctolagus cuniculus*), no Brasil, por Splendore (1908). Na ocasião, os dois grupos de pesquisadores atribuíram os achados à infecção por *Leishmania*, sendo que somente em 1909 o parasita foi chamado *Toxoplasma gondii* por Nicolle e Manceaux (1909).

A toxoplasmose congênita foi provavelmente reconhecida pela primeira vez, no Brasil, no Rio de Janeiro, em 1927, por Torres (1927) ao realizar a autópsia de uma menina de 2 dias de idade que apresentava meningoencefalomielite, miocardite e miosite, com grande número de parasitas em secções histológicas do sistema nervoso central, coração, músculos esqueléticos e tecido subcutâneo. O autor nomeou o agente como *Encephalitozoon chagasi* (Torres, 1927), sendo que a retrospectiva das lesões e a morfologia do parasita são indicativas de toxoplasmose (Dubey et al., 2012).

O primeiro caso comprovado de toxoplasmose congênita foi descrito por Wolf et al. (1939) em uma criança nascida em 1938, em Nova Iorque, EUA. Guimarães (1943) revisou extensivamente relatórios mundiais de toxoplasmose em seres humanos e relatou que o primeiro caso de toxoplasmose congênita fatal foi descrito em uma menina brasileira de 14 meses de idade que nasceu com hidrocefalia e calcificação intracerebral apresentando convulsões e tremor ocular. O diagnóstico foi confirmado por bioensaio em camundongos e cobaias inoculadas com o fluido cerebro-espinal da criança. A cepa de *T. gondii* isolada da criança foi virulenta para cães, pombos, camundongos, coelhos e cobaias. Guimarães (1943) também relatou toxoplasmose aguda fatal em um homem brasileiro de 18 anos de idade do meio rural do Rio de Janeiro. Este indivíduo tinha febre, mononucleose, dor de cabeça, paresia dos membros inferiores, disfasia, dispnéia, e morreu após uma doença de 37 dias de evolução. O exame *post-mortem* revelou pericardite, hepatite, esplenite, nefrite, e broncopneumonia. Estágios de *Toxoplasma gondii* foram vistos em cortes de vários órgãos, incluindo o cérebro, com quadro histológico típico de toxoplasmose aguda recém adquirida. Alencar e Schäffer (1971) também confirmaram histologicamente toxoplasmose congênita fatal em 2 crianças no Rio de Janeiro.

1.2 O agente

1.2.1 Taxonomia

Toxoplasma gondii é um parasita intracelular obrigatório, cosmopolita, capaz de infectar aves e mamíferos (Frenkel, 1970; Dubey e Beattie, 1988; Hill et al., 2005). O agente pertence ao Reino Protista, Subreino Protozoa, Filo Apicomplexa,

Classe Sporozoa, Subclasse Coccidia, Ordem Eucoccidiida, sendo a única espécie do gênero *Toxoplasma* (Tenter e Johnson, 1997).

1.2.2 Ciclo de vida e características biológicas

O ciclo vital do *T. gondii* (Figura 1) foi elucidado em 1970 por Dubey e Frenkel (1972) e compreende uma fase sexual, que se dá no tecido enteroepitelial dos felídeos e resulta na produção de oocistos, e uma assexual, que pode ocorrer tanto nos tecidos de felídeos como de outros hospedeiros considerados intermediários, como aves e mamíferos (inclusive o homem), resultando na produção de cistos teciduais (Dubey, 1994). O parasita multiplica-se por endodiogenia sob as forma de taquizoítos e bradizoítos, nos hospedeiros intermediários. Apresenta as mesmas formas evolutivas nos hospedeiros definitivos, observando-se ainda, a multiplicação sexuada, na qual após cinco estágios entéricos (A -E) há diferenciação de gametas, fecundação e formação de um oocisto que será eliminado não esporulado. A esporulação ocorrerá no meio externo dando origem, no interior do oocisto, a dois esporocistos contendo quatro esporozoítos cada um. Tanto os taquizoítos como os bradizoítos e esporozoítos são infectantes para os animais susceptíveis (Dubey, 1994).

Figura 1 - Ciclo de vida do *T. gondii* com as várias fontes de infecção humana e animal. Fonte: Meireles, 2005.

1.2.2.1 Oocistos

O oocisto é a forma infectante proveniente da reprodução sexuada do parasita (gametogonia) no interior das células do epitélio intestinal dos felídeos. São esféricos com aproximadamente 12 μm de diâmetro, sendo a forma de resistência ambiental. Possui parede dupla e alberga, em seu interior, 8 esporozoítos infectantes (Dubey, 1993). Após processamento gástrico, os oocistos rompem-se no intestino, liberando os esporozoítos que se dividem rapidamente nas células intestinais e nos linfonodos associados, gerando taquizoítos. Os taquizoítos, através da circulação sanguínea e linfática, atingem todos os tecidos do hospedeiro

podendo eventualmente, gerar cistos no tecido cerebral, musculatura esquelética e cardíaca, e no tecido hepático, persistindo nas células dos hospedeiros por longos períodos (Wong e Remington, 1993).

Segundo Dubey e Frenkel (1972), bilhões de oocistos imaturos podem ser liberados por dia nas fezes do gato após 5 a 10 dias da infecção inicial, podendo esta fase de liberação durar semanas. Felinos jovens são mais susceptíveis à infecção toxoplásmica e também são os principais eliminadores de oocistos nas fezes.

Após a sua maturação entre 1 a 5 dias, os oocistos podem permanecer por meses e até anos viáveis no ambiente numa temperatura entre - 20°C e + 37°C (Dubey e Frenkel, 1972), desde que não expostos à luz solar direta e sob condições razoáveis de umidade relativa (Yilmaz e Hopkins, 1972; Azevedo et al., 1983). Isolamentos ambientais de oocistos têm sido relatados principalmente em locais sombreados e/ou úmidos, não expostos ao sol (Jones e Dubey et al., 2010).

1.2.2.2 Taquizoítos

O taquizoíto é a forma de multiplicação com metabolismo mais rápido produzida pelo ciclo assexuado do parasita em hospedeiros intermediários e definitivos. Também conhecido como forma livre ou proliferativa, é encontrado na fase aguda da infecção no interior das células infectadas, sendo responsável pela sintomatologia. Apresenta forma de arco com uma extremidade afilada e outra arredondada, medindo aproximadamente, 4 a 9 µm de comprimento por 2 a 4 µm de diâmetro. Constitui a forma menos resistente do parasita, sendo facilmente destruída pelas condições ambientais adversas, pelo suco gástrico, pela

desidratação ou variações osmóticas (Dubey, 2008). Os taquizoítos se dividem por um processo denominado endodiogenia (Dubey, 2010a).

1.2.2.3 Bradizoítos e cistos teciduais

O termo bradizoíto foi proposto por Frenkel (1973) para descrever as fases encistadas nos tecidos. Dubey e Beattie (1988) propuseram que os cistos devem ser chamados cistos teciduais para evitar confusão com oocistos e pseudocistos. Jacobs et al. (1960a) realizaram a primeira caracterização biológica dos cistos, demonstrando que a parede do cisto é destruída por pepsina ou tripsina, mas os organismos císticos eram resistentes à digestão por pepsina (sucos gástricos-HCl), enquanto que os taquizoítos são destruídos imediatamente. Os cistos teciduais são importantes no ciclo de vida do *T. gondii*, porque hospedeiros carnívoros podem se infectar através da ingestão de carne contaminada. Jacobs et al. (1960b) utilizaram o procedimento de digestão por pepsina para isolar *T. gondii* viável a partir de tecidos de animais cronicamente infectados. Dubey e Frenkel (1976) realizaram um estudo mostrando o desenvolvimento e a morfologia dos cistos teciduais e bradizoítos. Os cistos teciduais são formados em camundongos cerca de 3 dias após a sua inoculação com taquizoítos. Gatos excretam oocistos com um curto período pré-patente (3 -10 dias) após a ingestão de cistos teciduais ou bradizoítos, enquanto que o período pré-patente para ingestão de taquizoítos ou oocistos é mais longo (≥ 18 dias), independentemente do número de organismos no inóculo (Dubey e Frenkel, 1976; Dubey 2001, 2006). Períodos pré-patentes de 11-17 dias são propostos para ingestão de fases de transição entre taquizoíto e bradizoitos (Dubey, 2005). Até 1976, acreditava-se que a formação de cisto tecidual era um processo mediado pela imunidade do hospedeiro. O estudo realizado por Dubey e

Frenkel (1976) indicou que os bradizoítos contidos nos cistos teciduais são uma parte integrante do ciclo de vida do *T. gondii*, independente da imunidade do hospedeiro. Estudos ultra-estruturais demonstram que os cistos teciduais são intracelulares e que os bradizoítos diferem dos taquizoítos com relação à localização do núcleo (central em taquizoítos, terminal em bradizoítos) e grânulos de amilopectina (numerosos em bradizoítos, ausência ou poucos em taquizoítos)(Dubey, 2010a).

1.2.3 Diversidade genética

Existe uma intensa discussão quanto ao fato da virulência dos isolados de *T.gondii* influenciarem na gravidade da doença em seres humanos e nos animais (Dubey, 2010a; Dubey et al., 2012). Antes do desenvolvimento de marcadores genéticos, os isolados de *T. gondii* eram agrupadas com base na virulência que causavam em camundongos.

Durante as décadas de 80 e 90, foram desenvolvidos métodos que permitiram a identificação da diversidade genética de *T. gondii* em isolados de humanos e animais. Com base no polimorfismo dos comprimentos de fragmentos de restrição (RFLP), Howe e Sibley (1995) classificaram o *T. gondii* em 3 tipos distintos (I, II, III), com a virulência em camundongos relacionada ao tipo genético. Assim, isolados do tipo I eram considerados 100% letais para camundongos, independentemente da dose, já os isolados dos tipos II e III eram geralmente não virulentos para os camundongos. Lehmann et al. (2006), utilizando marcadores microssatélites, demonstraram diferenças geográficas entre isolados de *T. gondii*, com alguns isolados restritos ao Brasil, enquanto outros estão presentes em todo o mundo.

Em 2002, iniciou-se um estudo sobre a estrutura populacional do *T. gondii* no Brasil, a partir de isolamentos do parasita em uma variedade de animais de diferentes áreas geográficas do país (Dubey e Su, 2009), detectando uma alta diversidade genética entre os isolados brasileiros. Os três genótipos mais freqüentes no Brasil são Brl, BrII e BrIII (Pena et al., 2008). Isolados do tipo II (incluindo tipo II variante) que são dominantes na Europa, América do Norte e África foram identificados no Brasil, com uma frequência relativamente baixa. Cepas do tipo III também foram poucos freqüentes, mostrando que a maioria das cepas do Brasil é diferente daquelas encontradas em outros países.

Em geral, não há preferência de um determinado genótipo do parasita por um hospedeiro específico, já que muitos genótipos podem infectar diferentes hospedeiros animais. Informações relativas à diversidade de cepas de *T. gondii* a partir de isolados de infecções humanas no Brasil são muito limitadas. Há poucos estudos utilizando métodos moleculares com marcadores *multilocus* e os dados são fragmentados devido ao uso de diferentes marcadores (Ferreira et al., 2004, 2006, 2011; Khan et al., 2006; Belfort-Neto et al., 2007; Vaudaux et al., 2010; Frazão-Teixeira et al., 2011).

Analisando 62 amostras de tecido de pacientes com toxoplasmose em São Paulo, Ferreira et al. (2011) determinaram o genótipo de 20 amostras por PCR RFLP, utilizando vários marcadores moleculares. As amostras foram caracterizadas em 3 genótipos específicos, e curiosamente, 18 delas apresentaram o mesmo genótipo, sugerindo uma possível associação deste genótipo com a toxoplasmose humana. No entanto, como a genotipagem foi realizada diretamente das amostras dos pacientes, sem isolamento prévio por biensaio em camundongos, esse resultado é apenas sugestivo, e um estudo mais aprofundado das cepas isoladas em pacientes humanos é necessário para confirmar o resultado (Dubey et al., 2012).

Atualmente, uma questão importante para a área da saúde pública no Brasil é a toxoplasmose em crianças infectadas congenitamente, mas não há até o momento a definição do genótipo prevalente nestes pacientes. Quadros graves de toxoplasmose aguda por cepas altamente virulentas em adultos imunocompetentes tem sido relatado na Guiana Francesa, país vizinho ao Brasil (Demar et al., 2011), mas sem episódios semelhantes em nosso país. Assim, a questão de interesse é saber se os genótipos de *T. gondii* estão associados com fenótipos da doença em seres humanos.

1.3 Aspectos Epidemiológicos

A prevalência da infecção em humanos é alta, com estimativas de infecção crônica em indivíduos adultos variando de 10% a 90%, dependendo da região geográfica e hábito alimentar (Tenter et al., 2000; Remington et al., 2011). Aproximadamente um terço da população adulta dos Estados Unidos e mais de 85% dos franceses apresentam sorologia positiva. A prevalência também é significativamente alta na América Latina, variando de 51% a 72% na Argentina, Brasil, Cuba, Jamaica e Venezuela. No continente africano, varia de 54% a 77%. No sul da Ásia, China e Coréia a soroprevalência observada em mulheres e crianças é relativamente baixa, onde os casos positivos variam entre 4% e 39%. Na Escandinávia, região de clima frio, varia de 11% a 28% (Tenter et al., 2000).

1.3.1 Formas de transmissão

O mecanismo de transmissão de *T. gondii* permaneceu um mistério até o seu ciclo de vida ser elucidado em 1970. Basicamente, a transmissão da infecção pelo *T.gondii* no homem ocorre pela ingestão de água e alimentos contaminados

com oocistos e pela ingestão de cistos presentes na carne crua ou mal cozida. Entretanto, tem sido relatada transmissão por transplantes de órgãos, em especial, o de coração, medula óssea, rins e fígado; por transfusões de sangue e derivados e por acidentes laboratoriais (Remington et al., 2011). Merece grande destaque ainda, a transmissão transplacentária, que ocorre durante a primoinfecção aguda materna, responsável pela gama de problemas físicos, psico-motores e seqüelas, característicos da toxoplasmose congênita que atinge fetos e neonatos (Remington et al., 2011).

O carnivorismo é considerado uma das principais formas de transmissão do *T. gondii* na natureza, sendo responsável pelas altas taxas de infecção no homem e animais em todo o mundo (Dubey, 2008). Os primeiros relatos da importância da carne na transmissão da toxoplasmose foram feitos por Weinman e Chandler (1954). Jacobs et al. (1960) forneceram evidências para apoiar esta hipótese, demonstrando a resistência dos cistos de *T. gondii* às enzimas proteolíticas. Estes autores demonstraram que a parede do cisto era imediatamente dissolvida por tais enzimas, mas os bradizoítos liberados sobreviviam o suficiente para infectar o hospedeiro. A hipótese de transmissão através da ingestão de carne contaminada foi testada experimentalmente por Desmonts et al. (1965) em um experimento com crianças em um sanatório em Paris. Estes autores compararam as taxas de aquisição de infecção por *T. gondii* em crianças antes e após a admissão no sanatório. A taxa de 10% de infecção anual de *T. gondii* aumentou para 50% após a adição de carne bovina ou carne de cavalo mal cozidas na dieta diária. A taxa de infecção anual alcançou 100% após a adição de costeletas de cordeiro mal cozidas na dieta. Como a prevalência de *T. gondii* é muito maior em ovinos do que em equinos ou bovinos, este fato ilustrou a importância do carnivorismo na transmissão de *T. gondii*. Esta forma de transmissão é comum em humanos em algumas localidades, onde a carne crua é rotineiramente consumida (Desmonts et al., 1965;

Dubey, 2008). Kean et al. (1969) descreveram a toxoplasmose em um grupo de estudantes de medicina que consumiram hambúrgueres mal cozidos.

A transmissão congênita e o carnivorismo podem explicar alguns modos de transmissão de *T. gondii*, mas não explicam a infecção generalizada em vegetarianos e herbívoros. A infecciosidade de *T. gondii* associada a fezes de gato foi descoberta pela primeira vez por Hutchison (1965), mas somente em 1970 foi elucidado o ciclo de vida do *T. gondii* pela descoberta da fase sexual do parasita no intestino delgado do gato (Dubey e Frenkel, 1972). Das muitas espécies de animais infectados experimentalmente com *T. gondii*, só os felinos excretam oocistos do agente (Dubey e Frenkel, 1972). Os oocistos no meio ambiente têm causado vários surtos da doença em seres humanos pela transmissão fecal-oral (Teutsch et al. 1979; Benenson et al., 1982.; Bowie et al., 1997; de Moura et al., 2006). Estudos soro-epidemiológicos em ilhas isoladas no Pacífico (Wallace, 1969), Austrália (Munday, 1972), e nos Estados Unidos (Dubey et al., 1997) demonstraram uma ausência de *T. gondii* em ilhas sem gatos, confirmando o importante papel do gato na transmissão natural de *T. gondii*. A vacinação de gatos com uma cepa mutante viva de *T. gondii* em granjas de suínos nos Estados Unidos reduziu a transmissão da infecção pelo *T. gondii* em camundongos e porcos (Mateus- Pinilla et al., 1999), apoiando assim, o papel do gato na transmissão natural de *T. gondii*.

Contudo, a determinação das fontes de infecção é tecnicamente difícil, porque no momento em que a infecção pelo *T. gondii* é diagnosticada, a fonte original da infecção pode não estar mais presente. Além disso, a maioria das informações contidas nos estudos é dependente do tipo de pergunta e resposta obtidas no inquérito epidemiológico. É interessante notar que o ambiente, em muitas áreas no Brasil, é altamente contaminado por oocistos, e, portanto, é difícil localizar todas as fontes de infecção.

1.3.1.1 Transmissão por oocistos

Os felinos (domésticos e selvagens) são os únicos animais que podem excretar oocistos de *T. gondi* nas fezes. Um gato pode excretar milhões de oocistos, que podem sobreviver no meio ambiente por meses, dependendo da umidade e temperatura (Dubey, 2010a). Gatos peridomiciliados são abundantes em locais públicos no Brasil, mas se sabe relativamente pouco sobre a prevalência de *T. gondii* em gatos no Brasil, sendo que a maioria dos inquéritos descritos na literatura foi realizada no Estado de São Paulo (Sorgob et al., 1972; Lucas et al., 1999; Santos et al., 1983; da Silva et al., 2002; Silva et al., 2002; Meireles et al., 2004; Ortolani et al., 2005; Pena et al., 2006; Bresciani et al., 2007; Coelho et al., 2011). Estes estudos mostram que a soroprevalência é baixa em gatos amostrados em clínicas, já que são, provavelmente, animais de estimação que recebem alimentos processados, sem exposição a fatores de risco (Dubey et al., 2012). No estudo relatado por Pena et al. (2006) foram avaliados 237 gatos errantes, capturados em 15 municípios do Estado de São Paulo em 2003, com um número equivalente de machos e fêmeas (118 machos, 119 fêmeas). Anticorpos contra *T. gondii* foram encontrados em 84 (35,4%) de 237 gatos. Tecidos de 71 gatos soropositivos foram inoculados em camundongos para bioensaio e *T. gondii* viável foi isolado em 66,2% (47 gatos).

Durante o estudo epidemiológico de um surto de transmissão hídrica em Santa Isabel do Ivaí, Paraná, amostras de 58 gatos adultos foram obtidas de 51 casas naquela cidade (Dubey et al., 2004). Todos os gatos foram testados sorologicamente, bem como por bioensaio, independentemente da sua resposta sorológica. Anticorpos contra *T. gondii* foram encontrados em 49 (84,4%) dos 58 gatos e *T. gondii* viável foi isolado em 37 de 54 (68,5%) gatos. Este estudo indicou que mais de 80% das casas nesta área tinham um gato infectado por *T. gondii*. Os

gatos começam a excretar oocistos de *T.gondii* nas fezes cerca de 10 dias após a ingestão de cistos teciduais e eliminam o parasita durante 1-2 semanas (Dubey e Frenkel, 1972). Durante o período de excreção de oocistos, os gatos raramente adoecem e não possuem anticorpos contra *T.gondii* (Meireles et al., 2008; Dubey et al., 2012). Assim, é uma suposição razoável de que a maioria dos gatos soropositivos já excretou oocistos (Meireles et al., 2008; Dubey et al., 2012), portanto, para estudos epidemiológicos, os dados de soroprevalência são mais significativos do que a detecção de oocistos nas fezes. Além disso, alguns autores relatam que somente em 1% das fezes de gatos examinadas são encontrados oocistos de *T.gondii* (Jones e Dubey, 2010). Este baixo índice de positividade fecal de oocistos também foi exemplificado no trabalho de Pena et al. (2006), no qual oocistos de *T. gondii* foram encontrados nas fezes de apenas 3 (1,2%) dos 237 gatos. Os primeiros relatos de toxoplasmose em felinos no Brasil, também indicam uma baixa prevalência de oocistos de *T. gondii* em fezes de gato (Barbosa et al., 1973; Nery-Guimarães e Lage, 1973; do Amaral et al., 1976b; Ogassawara et al., 1980; Chaplin et al., 1991). Além dos gatos domésticos, os felinos selvagens também podem excretar oocistos (Dubey et al., 2012).

Oocistos de *Toxoplasma gondii* foram demonstrados em fezes de várias espécies de felídeos selvagens, natural e experimentalmente infectados (Jones e Dubey, 2010). Levantamentos epidemiológicos, especialmente em crianças na pré-adolescência, demonstram que o ambiente é altamente contaminado com oocistos, especialmente em comunidades com piores condições sócio-econômicas (Dubey et al., 2012). Dos Santos et al. (2010) encontraram oocistos de *T. gondii* em 7 de 31 amostras de solo de *playgrounds* de escolas públicas da região noroeste do Estado de São Paulo. Esta é uma taxa alta de contaminação do solo por oocistos de *T. gondii*. Coutinho et al. (1982a) também encontraram *T. gondii* em amostras de solo de uma fazenda, onde um surto de *T. gondii* havia ocorrido. Em estudos anteriores,

em Porto Alegre, RS, Chaplin et al. (1991) detectaram oocistos de *Toxoplasma* em fezes de 13 dos 15 gatos jovens examinados e Braccini et al. (1992) relataram oocistos em fezes de 5 de 25 animais. No entanto, o diagnóstico microscópico não foi confirmado por bioensaios em camundongos. A água potável pode ser facilmente contaminada com oocistos (Bahia-Oliveira et al., 2003). Tecnicamente, é difícil encontrar oocistos de *T. gondii* em água, porque o número de oocistos em água é baixo devido ao fator de diluição (de Moura et al., 2006). Outra abordagem epidemiológica para avaliar a contaminação solo por oocistos consiste na determinação da prevalência de *T. gondii* em animais que se alimentam no solo. Assim, vários autores têm utilizado galinhas de criação extensiva (*Gallus domesticus*) para esta finalidade. Os objetivos são determinar a prevalência de infecção por *T. gondii* em galinhas e isolar formas viáveis do parasita para avaliação da diversidade genética dos isolados. Estes estudos também têm sido realizados em animais selvagens (Dubey et al., 2012). Além de indicadores de contaminação do solo os frangos infectados representam também uma fonte de infecção para gatos e possivelmente para humanos, já que estes animais são freqüentemente abatidos em casa e as vísceras, muitas vezes, não são devidamente eliminadas. A carne de frango, geralmente, é consumida bem cozida, porém os hábitos de higiene durante o processamento culinário podem interferir diretamente na qualidade do alimento que pode ser uma fonte de infecção humana (Dubey et al., 2012).

Um grande número de felinos selvagens, procedentes de parques zoológicos e centros de melhoramento no Brasil apresentou anticorpos para *T. gondii* (Dubey et al., 2012). Pena et al. (2011) isolaram formas viáveis de *T. gondii* em musculatura esquelética de um jaguarundi de cativeiro que morreu de trauma. Não há nenhuma informação sobre a prevalência do *T. gondii* em felinos selvagens de vida livre no Brasil (Dubey et al., 2012). A alta soropositividade em felinos

selvagens em cativeiro sugere que eles já tenham eliminado oocistos nas fezes e contaminado o ambiente do zoológico. Em ameríndios isolados no Mato Grosso, 80,4% dos 148 indivíduos pesquisados apresentaram anticorpos contra *T. gondii* (Amendoeira et al., 2003). Esses indivíduos viviam em uma grande área com pouco contato com não índios. Além disso, não possuíam gatos de estimação, e também não comiam carne. Esta população se alimentava de insetos e produtos hortícolas, incluindo cogumelos. Os autores sugerem que a excreção de oocistos de *T. gondii* por felinos selvagens poderia ser o fator responsável pela contaminação do solo e da vegetação da área. Um estudo realizado com 95 botos do rio Amazonas mostrou que 86,3% dos animais foram soropositivos para *T. gondii*. Como estes animais são piscívoros a fonte mais provável de infecção seria a ingestão de águas contaminadas do rio com oocistos de felinos selvagens, já que gatos domésticos não estão presentes neste ambiente (Dubey et al., 2012).

1.3.1.2 Transmissão por cistos

Milhões de animais são abatidos anualmente para consumo humano no Brasil e inquéritos sorológicos indicam que até 90% dos animais domésticos e selvagens apresentam anticorpos contra *T. gondii* (Dubey et al., 2012). Além de causar prejuízos à pecuária, a toxoplasmose nestes animais, tem grande impacto também sobre a saúde humana, visto que o animal infectado pode manter cistos teciduais durante longos períodos e que desta forma, o consumo da carne crua ou mal cozida pode levar à infecção humana. Formas viáveis de *T. gondii* já foram isoladas em uma ampla variedade de animais no Brasil (Dubey et al., 2012), mas estes estudos, ainda são restritos, devido ao fato de envolverem técnicas moleculares onerosas e/ou métodos de bioensaio com longo tempo de execução. Recentemente, foi proposta a utilização do exsudato cárneo como material

biológico para detecção de anticorpos IgG anti-*T.gondii* por ELISA em cortes comerciais de carne. Esta abordagem é uma ferramenta importante para controle e monitoramento da carne destinada ao consumo humano, já que permite automação e aplicação em larga escala (Mecca et al., 2011).

1.3.1.2.1 Prevalência de infecção por *T.gondii* em animais de produção

1.3.1.2.1.1 Suínos

A taxa de soroprevalência em suínos no Brasil é de até 90% (Dubey et al., 2012) e parasitas viáveis têm sido isolados a partir de tecidos de suínos em diferentes regiões do Brasil (Dubey et al., 2012). Jamra et al. (1969) testou 83 amostras de carne de porco obtidas em açougues e supermercados na cidade de São Paulo, sendo que 5 amostras apresentaram formas viáveis de *T. gondii*. Na mesma época, Amaral e Macruz (1968) detectou *T. gondii* viável em 8 de 25 diafragmas de animais de São Paulo. Frazão-Teixeira et al. (2006, 2011) isolaram *T. gondii* viável a partir de amostras de cérebro e coração de suínos comercializados em açougues em Campos dos Goytacazes, RJ. Bezerra et al. (2012) isolaram, por bioensaio, formas viáveis de *T. gondii* em cérebro e língua de 5 em um total de 20 cabeças de suínos provenientes de pequenas granjas e açougues em Ilhéus, Bahia. Dos Santos et al. (2005) testaram 286 porcos com 6-8 meses de idade, provenientes de 17 fazendas em Jaboticabal, SP. Destes, 49 (17%) foram seropositivos por MAT. Os tecidos foram coletados para bioensaio quando os animais foram abatidos. *T. gondii* viável foi isolado de tecidos de 7 suínos.

1.3.1.2.1.2 Ovinos

A taxa de soroprevalência em ovinos no Brasil é de até 59% (Dubey et al., 2012) e parasitas viáveis foram isolados em tecidos de animais abatidos para consumo humano (Dubey et al., 2012). Spósito Filha et al. (1992) relataram o isolamento de *T. gondii* em diafragmas de 20 em um total de 136 ovelhas no Estado do Rio Grande do Sul. A identificação de 5 destes isolados foi baseada na busca de cistos teciduais em esfregaços de cérebros de camundongos inoculados com tecidos de ovinos. Nos 15 casos restantes, cistos teciduais foram identificados apenas por hematoxilina – eosina em cortes histológicos de cérebros de camundongos. Da Silva e Langoni (2001) isolaram *T. gondii* a partir de tecidos de 34 de 40 ovelhas soropositivas. No entanto, a maioria dos dados foi baseada na detecção de anticorpos anti - *T. gondii* em soros de camundongos inoculados com tecidos dos ovinos. Ragozo et al. (2008) avaliaram sorologicamente 495 ovelhas de 36 municípios do Estado de São Paulo e anticorpos contra *T. gondii* foram encontrados em 24,2% das ovelhas, sendo que soropositividade estava presente em ovinos de todos os municípios. *T. gondii* viável foi isolado por bioensaio em 16 de 82 ovinos soropositivos. Recentemente, da Silva et al. (2011) detectaram anticorpos anti - *T. gondii* em 66 (11%) de 602 ovelhas no Estado de São Paulo. Estes ovinos eram provenientes do RS e SP, sendo que 51 (11,8%) de 430 ovinos de RS e 15 (8,7%) de 172 ovinos de SP foram soropositivos. *T. gondii* foi isolado por bioensaios em camundongos em 20 de 66 ovinos soropositivos (15 de 51 do RS e 5 de 15 de SP). Quinze destes 20 isolados eram de ovinos do Estado do Rio Grande do Sul e 5 eram de ovinos do Estado de São Paulo.

1.3.1.2.1.3 Caprinos

A taxa de soroprevalência em caprinos no Brasil é de até 92% (Dubey et al., 2012) e parasitas viáveis foram isolados em tecidos de animais abatidos para consumo humano (Dubey et al., 2012). Spósito Filha et al. (1983) isolaram *T. gondii* em diafragma de 3 em um total de 95 cabras de São Paulo. Cavalcante et al. (2007) isolaram *T. gondii* de amostras de coração de 2 em um total de 169 caprinos do Ceará. Silva et al. (2009) detectaram DNA de *T. gondii* em 8 de 102 tecidos de caprinos da Bahia. Ragozo et al. (2009) tiveram melhor sucesso no isolamento de formas viáveis de *T. gondii*. Neste estudo foram testados 143 caprinos e anticorpos contra *T. gondii* foram detectados em 41 (35,9%) de 114 caprinos do Estado de São Paulo, 5 (26,3%) de 19 caprinos do estado do Rio Grande do Norte, mas não foram detectados anticorpos em 10 caprinos do Estado da Bahia. Tecidos de 26 desses 46 caprinos soropositivos foram bioensaios em camundongos e *T. gondii* foi isolado em 12 amostras.

1.3.1.2.1.4 Bovinos

A taxa de infecção nos bovinos no Brasil é de até 49,4% (Frazão-Teixeira et al., 2011). Segundo Dubey et al. (2012), a alta soroprevalência de *T. gondii* em bovinos no Brasil é intrigante, já que formas viáveis de *T. gondii* têm sido raramente isoladas em amostras de carne bovina em todo o mundo, incluindo o Brasil. *T. gondii* não foi isolado em 98 amostras de carne bovina de São Paulo (Jamra et al., 1969), e 98 diafragmas de Belo Horizonte, MG (Passos et al., 1984). Recentemente, Costa et al. (2011) isolaram *T. gondii* em 3 de 50 fetos (cérebros de 2 e retina de 1) de 50 vacas abatidas em Jaboticabal, SP.

1.3.1.2.1.5 Equinos

T. gondii não foi isolado em diafragmas de 23 cavalos no RS e SP, porém 4 destes animais foram soropositivos (Spósito Filha et al., 1986). Em geral, os cavalos não são um bom hospedeiro para *T. gondii* e a soropositividade é baixa em todo mundo (Dubey et al., 2012), entretanto Vidotto et al. (1997) detectaram uma taxa de soropositividade de 31,6% em 561 abatidos em Apucarana, Paraná.

1.3.1.2.1.7 Roedores

A prevalência de formas viáveis de *T. gondii* nestes animais é importante, pois servem como fontes de infecção para os seres humanos e outros animais (Dubey et al., 2012).

A capivara (*Hydrochoeris hydrochaeris*) é um grande roedor herbívoro muito prevalente no Brasil e sua carne é consumida pela população. Estes animais têm sido domesticados, mas também são comuns na natureza. Estudos brasileiros mostram que as taxas de anticorpos anti - *T. gondii* em capivaras variam entre 42-75% (Dubey et al., 2012) e o agente já foi isolado em uma percentagem elevada de animais soropositivos (Dubey et al., 2012).

1.3.1.2.2 Risco de transmissão de *T. gondii* em diferentes tipos de carnes

1.3.1.2.2.1 Carne suína

Entre os alimentos de origem animal, a carne suína, proveniente de animais infectados, é a fonte de carne mais provável de transmissão do *T. gondii* para o homem em muitos países, incluindo o Brasil (Dubey 2009b; da Silva et al., 2010). A

ingestão de embutidos caseiros tem sido considerada uma fonte de infecção pelo *T. gondii* no sul Brasil, particularmente em Erechim (Glasner et al., 1992b). Além de relatos de isolamento de formas viáveis de *T. gondii*, o DNA do agente tem sido freqüentemente demonstrado na carne de porco no Brasil. Belfort-Neto et al. (2007) detectaram DNA de *T. gondii* em 34% de 50 diafragmas e 66% de 50 línguas de suínos de matadouros em Erechim. Da Silva et al. (2005a) detectaram por PCR DNA de *T. gondii* em 19 de 70 salsichas de 55 estabelecimentos de São Paulo e Bezerra et al. (2012) detectaram DNA de *T. gondii* em amostras de cérebro de 11 e de língua de 9 suínos em um total de 20 animais de um açougue em Ilhéus, Bahia. Fernandes et al. (2012) encontraram DNA de *T. gondii* em 21 de 38 suínos soropositivos em Pernambuco. No entanto, a detecção de DNA não distingue parasitas vivos e mortos. Além disso, procedimentos como salga e cura, usados na fabricação de salsichas e outras preparações, nem sempre inativam os cistos teciduais, já que não há um procedimento universalmente padronizado (Dubey, 2010a). Anualmente, são produzidos cerca de 32 milhões de suínos no Brasil, com um consumo de 2.220.000 toneladas de carne suína. Alguns autores sugerem que cortes comerciais de carne suína poderiam estar contaminados com *T. gondii* representando uma fonte importante de transmissão da toxoplasmose para muitas pessoas (Dubey et al., 1986; Tsutsui et al., 2007). Isto pode ser confirmado pelo surto que ocorreu em Santa Vitória do Palmar, RS, onde todos os membros de uma mesma família desenvolveram toxoplasmose clínica após o consumo de lingüiça suína crua em uma festa (de Almeida et al., 2006). As altas taxas de soroprevalência de *T. gondii* em suínos de pequenas propriedades do Brasil representam um sério problema de saúde pública (Dubey et al., 2012). da Silva et al. (2008) relataram uma taxa elevada de anticorpos anti - *T. gondii* (86% de 115 suínos) criados em pequenas propriedades da região oeste do Paraná. É importante ressaltar que medidas adequadas de higiene e controle de roedores e

gatos em sistemas de criação intensiva de suínos reduzem consideravelmente as taxas de infecção por *T.gondii*, como descrito nos EUA por Dubey e Jones (2008). Em um estudo recente, anticorpos anti - *T. gondii* foram encontrados em 48% de 200 porcos de criação extensiva, sendo que esta taxa diminuiu acentuadamente chegando a zero em 300 amostras de suínos de criação intensiva, utilizando métodos idênticos de detecção (Villalobos et al., 2011).

1.3.1.2.2.2 Carnes ovina e caprina

Não existem dados sobre a frequência do consumo de carne ovina mal cozida no Brasil. No entanto, um surto de toxoplasmose humana foi relacionado à ingestão de carne de cordeiro mal passada no Paraná (Bonametti et al., 1997a,b). Os rebanhos ovinos e caprinos aumentaram consideravelmente nas últimas décadas no Brasil, e outra questão que deve ser ressaltada é a possibilidade de transmissão do *T.gondii* para o homem através da ingestão do leite cru de cabras lactentes infectadas. Chiari e Neves (1984) reportaram um surto de toxoplasmose adquirida através da ingestão de leite cru de cabra, envolvendo três membros de uma mesma família em Belo Horizonte, MG. Em um estudo com 72 cabras leiteiras, 25% foram soropositivas para *T.gondii* (Cavalcante et al., 2008).

1.3.1.2.2.3 Carne bovina

O papel dos bovinos e búfalos na transmissão de *T. gondii* é incerto porque parasitas viáveis raramente foram demonstrados em cortes comerciais de carne bovina (Santos et al., 2010b). Bovinos e bubalinos são naturalmente resistente à infecção por *T. gondii* e há evidências de que alguns bovinos tornam-se soronegativos após infecção aparentemente bem sucedida (Dubey, 2010a). Pouco

se sabe sobre a especificidade e sensibilidade do diagnóstico sorológico da infecção pelo *T. gondii* em bovinos porque vários testes que são utilizados para diagnóstico da toxoplasmose em outras espécies animais dão resultados controversos com amostras de soro bovino, e é difícil verificar a especificidade utilizando bovinos naturalmente infectados. A maior parte das pesquisas sorológicas em bovinos no Brasil foi realizada com IFA e nada se sabe sobre sua especificidade para detecção de anticorpos de *T. gondii* em bovinos cronicamente infectados (Dubey et al., 2012). Assim, não podemos afirmar com exatidão o significado zoonótico da soropositividade de 71% (IFA título 1:40) em 1420 bovinos relatado por Santos et al. (2009). Entre todos os testes sorológicos avaliados, um título de 1:100 no MAT parece ser indicativo de infecção por *T. gondii* em bovinos (Dubey, 2010a).

1.3.1.2.2.4 Carne de aves e ovos

Ovos crus de galinha não são susceptíveis de ser uma fonte de infecção para os seres humanos (Dubey, 2010b). Ovos crus não devem ser consumidos por seres humanos, não pelo risco de infecção por *T. gondii*, mas sim pela transmissão de salmonelose (Dubey et al., 2012). Em muitos casos, os frangos são abatidos em casa ou instalações sem serviços de inspeção veterinária de abate e as vísceras são deixadas para catadores ou são indevidamente descartadas. Infecção por *Toxoplasma gondii* pode ser transmitida caso as mãos não sejam lavadas após a manipulação da carne durante o seu preparo para consumo, no entanto, estudos de avaliação de risco não foram realizados. No Brasil, 12.000.000 toneladas de aves de corte são produzidas anualmente, mas há pouca informação sobre a prevalência de *T. gondii* em galinhas de granjas de criação intensiva. Em pequenas amostras de galinhas criadas comercialmente, *T. gondii* não foi detectado em 185 frangos

nos estados de São Paulo (Meireles et al., 2003) e em 80 frangos no Espírito Santo (Beltrame et al., 2012).

1.3.1.2.2.5 Transmissão pela ingestão de carne de outros animais

A ingestão de carne mal cozida de coelhos, cavalo, capivaras, e animais de caça pode ser uma fonte de infecção (Kijlstra e Jongert, 2008). Anticorpos anti - *T. gondii* foram encontrados em muitas espécies de animais silvestres no Brasil (Dubey et al., 2012) e formas viáveis de *T. gondii* foram isoladas em alguns destes animais (Dubey et al., 2012). Toxoplasmose congênita foi diagnosticada em uma criança francesa que consumiu carne de cavalo crua importada do Brasil (Pomares et al., 2011).

1.4 Aspectos Clínicos

1.4.1 Toxoplasmose humana

Com a descoberta do teste do corante (*Dye test*), por Sabin e Feldman (1948), foi possível a realização de inquéritos de base populacional para o estudo da prevalência da infecção por *T.gondii* em humanos. Dentre os vários estudos soroepidemiológicos que utilizaram esta metodologia, merecem destaque os trabalhos com recrutas militares brasileiros, já que os dados foram comparados com os resultados obtidos para militares americanos (Feldman, 1965; Lamb e Feldman, 1968). Neste levantamento, os soros foram colhidos de homens adultos jovens (18-21 anos) no Brasil e nos EUA e as amostras de ambos os países foram depositados na Organização Mundial da Saúde (OMS) nos EUA, onde foram testadas de forma idêntica em dois laboratórios americanos, o laboratório do Dr.

Feldman, co-inventor do teste do corante, e o Centro de Controle de Doenças (CDC), em Atlanta, Geórgia. Os resultados indicaram que a soroprevalência de *T. gondii* foi quatro vezes maior no Brasil (56%) do que nos EUA (13%), e a magnitude dos títulos de anticorpos foram também mais elevadas no Brasil do que nos EUA (Feldman, 1965; Lamb e Feldman, 1968; Dubey et al., 2012).

Os dados de prevalência sorológica em crianças no Brasil mostram uma positividade de 32% na faixa etária de 0-5 anos, 19,5% - 59% na faixa de 6-10 anos de idade, e 28,4 -84,5% em crianças com 11-15 anos (Dubey et al., 2012). Os dados indicam que em certas áreas do Brasil aproximadamente 50% dos adolescentes e das crianças têm sido expostos ao parasita (Dubey et al., 2012). Entre estes estudos, Jamra e Guimarães (1981) relataram dados de soroprevalência em 450 crianças, com idade entre 0-15 anos, a partir de um centro de saúde em São Paulo. As porcentagens de soropositivos foram: 53,3% em crianças <1 ano de idade, 0% em 2-3 anos de idade, 13,3% em 3-4 anos de idade, e 10% em 4-5 anos de idade, chegando a 43,3% com 15 anos de idade. Soropositividade em lactentes <1 ano de idade foi atribuída a anticorpos transferidos a partir da mãe infectada. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* foram encontrados em 4 de 30 crianças (13,3%) com idade de 3-4 anos, mas não em crianças com idade de 2-3anos. Em ameríndios isolados de Mato Grosso, 6 de 12 crianças com 6-9 anos foram sororreagentes (Amendoeira et al., 2003). Altas taxas de soroprevalência (36 – 92%) têm sido descritas em mulheres grávidas. Estes dados indicam que a infecção por *T.gondii* em gestantes no Brasil é uma das maiores do mundo (Dubey et al., 2012).

1.4.1.1 Toxoplasmose congênita

Alguns estudos mostram que a toxoplasmose ocular em crianças com infecção congênita no Brasil é mais grave do que em crianças na Europa (Gilbert et al., 2008). Esta conclusão foi baseada na comparação das lesões oculares em 30 crianças, no Brasil, com 281 crianças na Europa, usando metodologia semelhante. As lesões nos olhos das 30 crianças brasileiras foram mais extensas e com maior chance de atingir a área da retina que afeta a visão central do que as lesões das crianças européias, apesar do fato da maioria das crianças brasileiras terem sido tratadas para a toxoplasmose durante 12 meses (Gilbert et al., 2008). Este estudo concluiu que as crianças brasileiras apresentaram um risco cinco vezes maior de apresentarem toxoplasmose grave do que as crianças européias. Em outro estudo, foi demonstrado que o risco de lesões intracranianas, detectado por tomografia computadorizada (TC), foi muito maior em crianças brasileiras do que em crianças na Europa (The Syrocot, 2007). Algumas destas diferenças são atribuídas às características genéticas das cepas de *T. gondii* isoladas em humanos no Brasil, mas é necessário o desenvolvimento de estudos mais abrangentes, com uma amostragem maior para melhor avaliação da patogênese das infecções causada por diferentes isolados (Dubey et al., 2012).

Em relação ao diagnóstico sorológico, existem informações limitadas sobre a validade dos kits comerciais em todo o mundo, especialmente para a detecção de IgM (Wilson et al., 1997; Calderaro et al., 2008; Remington et al., 2011). Alguns destes kits foram utilizados para testar soros de mulheres brasileiras e crianças, entretanto, nas últimas duas décadas, muitos reagentes e fabricantes de produtos comerciais foram alterados, dificultando a uniformização e interpretação dos resultados. Além disso, o desempenho dos kits utilizados para o diagnóstico de infecções com cepas brasileiras do parasita não tem sido avaliado, e poderia ser

muito diferente dos resultados obtidos em outros países em termos de sensibilidade, especificidade, e valor preditivo positivo. A precisão de alguns kits comerciais de diagnóstico, especialmente para a detecção de anticorpos IgM, não é satisfatória (Remington et al., 2011). Não há um laboratório nacional de referência para testes de *T. gondii* no Brasil, dificultando a validação de kits e interpretação dos resultados obtidos em diferentes laboratórios.

Há poucos relatos utilizando os dados de triagem pré-natal no Brasil para detecção da toxoplasmose congênita. Em um estudo envolvendo 2513 mulheres em Porto Alegre, RS, a toxoplasmose congênita foi diagnosticada em quatro crianças (Lago et al., 2009b).

Toxoplasmose fetal foi diagnosticada através da reação em cadeia pela polimerase (PCR) em líquido amniótico de 12 mulheres de um total de 72 gestantes com toxoplasmose aguda que foram seguidas durante a gestação em um hospital em Belo Horizonte (de Faria Couto e Leite, 2004). A ultra-sonografia foi realizada quinzenalmente e as crianças foram seguidas clinicamente por até um ano. Oito fetos apresentaram sinais de toxoplasmose com alargamento ventricular bilateral, alguns acompanhados por lesões em outros órgãos, dos quais quatro eram fetos natimortos e três tiveram retinocoroidite com anormalidades neurológicas. Os quatro fetos que sobreviveram sem lesões ventriculares permaneceram assintomáticos na infância (de Faria Couto e Leite, 2004), indicando o valor prognóstico do ultrassom fetal. Em outro estudo semelhante, toxoplasmose grave com hidrocefalia foi descrita em um recém-nascido de um total de 75 mulheres que adquiriram toxoplasmose durante a gravidez (Higa et al., 2010).

Varella et al. (2009) reportaram uma taxa de toxoplasmose aguda de 41 em 10.000 em gestações, em um total de 44.112 mulheres grávidas submetidas à triagem pré-natal para toxoplasmose em Porto Alegre, RS. Toxoplasmose aguda foi identificada pelos critérios recomendados pela rede europeia de investigação sobre

toxoplasmose congênita (Lebech et al., 1996), com teste sorológico de avidéz de IgG e PCR no líquido amniótico. As taxas de toxoplasmose aguda diminuíram de 66 por 10.000 gestações em 2001 para 21 por 10.000 gestações em 2005. Vinte e cinco casos de toxoplasmose congênita foram diagnosticados no nascimento, e 12 casos adicionais foram diagnosticados no acompanhamento durante o primeiro ano de vida, resultando em uma prevalência de toxoplasmose congênita de nove por 10.000 nascidos vivos (Varella et al., 2009).

A maioria dos trabalhos nacionais em toxoplasmose congênita diagnosticada no pré-natal é baseada na determinação de anticorpos IgM em sangue colhido em papel de filtro, sendo que as prevalências descritas variam entre 5-23 casos por 10.000 nascidos vivos. Na maior amostragem envolvendo 800.164 crianças de 27 estados brasileiros, foram identificados 496 casos (Neto et al., 2010). A variação na taxa de toxoplasmose congênita em diferentes estudos está relacionada, em parte, com a soroprevalência de *T. gondii* em mulheres grávidas, sendo que em algumas regiões mais de 90% das mulheres em idade fértil são soropositivas antes da gravidez e, portanto, não são suscetíveis à infecção congênita. No entanto, na maioria das regiões do Brasil, a soroprevalência de *T. gondii* em mulheres grávidas é de 50 a 80% e, embora a proporção de mulheres suscetíveis seja pequena, estas mulheres apresentam um risco elevado de se infectarem, já que vivem em ambientes altamente contaminados.

A infecção concomitante da mãe por HIV pode alterar o curso da toxoplasmose durante a gravidez. De Azevedo et al. (2010a) e Fernandes et al. (2009) relataram a transmissão congênita em 4 recém-nascidos de mulheres infectadas pelo HIV no Brasil, mas indicaram que este evento é raro. Em geral, as taxas de soroprevalência em mulheres com ou sem HIV são semelhantes no Brasil (Neto e Meira, 2004). Soroprevalência de *T. gondii* em mulheres HIV-positivas (72% de 168) foi apenas ligeiramente maior do que nas mulheres sem o HIV (67% de

1624) e nenhuma mulher HIV-positiva previamente infectada por *T. gondii* apresentou recém-nascido infectado com *T. gondii* como documentado por Lago et al. (2009a). No entanto, já foi demonstrada a transmissão do *T. gondii* de mulheres infectadas pelo HIV e com infecção crônica para seus filhos (de Azevedo et al., 2010a). Recentemente, Delicio et al. (2011) relataram transmissão congênita do HIV e outras infecções simultâneas em 15 (13 mulheres não estavam recebendo terapia anti-retroviral - HAART) de 452 mulheres infectadas pelo HIV, sendo que infecção por *T. gondii* foi encontrada em 6 crianças. Embora pareça uma taxa elevada de transmissão de *T. gondii*, os métodos utilizados para diagnóstico não foram esclarecidos (Dubey et al., 2012).

Em mulheres imunocompetentes, a transmissão de *T. gondii*, geralmente ocorre quando a mãe adquire infecção durante a gravidez. Raramente, a transmissão congênita tem sido documentada de mães infectadas nos meses que antecedem a gravidez. Silveira et al. (2003) relataram toxoplasmose congênita em um bebê, cuja mãe tinha evidência de infecção antes da gravidez atual, já que tinha sido diagnosticada sorologicamente com toxoplasmose ocular há 20 anos atrás. Além disso, a gestante não tinha imunocomprometimento conhecido, embora os detalhes dos métodos utilizados para avaliar a imunossupressão não tenham sido fornecidos (Remington et al., 2011). Elbez-Rubinstein et al. (2009) relataram um caso de toxoplasmose grave como resultado de re-infecção durante gravidez, e reportaram 5 casos prévios de transmissão congênita em mulheres cronicamente infectadas. Uma das hipóteses para este evento raro é a re-infecção com um genótipo atípico de *T. gondii* altamente virulento (Lindsay e Dubey, 2011). Nesta questão, o Brasil merece atenção especial (Kodjikian et al., 2004; Anand et al., 2012), já que as linhagens brasileiras de *T. gondii* são geneticamente diferentes daquelas prevalentes na Europa e Norte América (Lehmann et al., 2006). No caso descrito por Kodjikian et al. (2004) a mãe morava na Suíça há 6 anos, mas era

brasileira, e tinha viajado para o Brasil durante o quinto mês de gestação. Recentemente, Andrade et al. (2010) descreveram um caso raro de toxoplasmose ocular em uma mãe e seu bebê. A criança nasceu assintomática, mas tinha retinocoroidite bilateral e anticorpos IgM e IgG contra *T. gondii*. A mãe teve retinocoroidite clínica e anticorpos contra *T. gondii*, 10 anos antes da gravidez que deu origem à criança infectada. Durante a gestação, a mãe teve retinocoroidite clínica e título de IgG estável, sem detecção de IgM para *T. gondii* (Dubey et al., 2012).

A maioria das crianças infectadas congenitamente é assintomática ao nascimento e algumas não manifestam sintomas na infância ou até mesmo na vida adulta (McLeod et al., 2009; Delair et al., 2011; Remington et al., 2011). A manifestação mais comum de toxoplasmose congênita é a doença ocular, com retinocoroidite, catarata, estrabismo ou nistagmo e cegueira total. Este padrão tem sido observado em estudos brasileiros, mas a maioria das crianças não tem acompanhamento após 12 meses de idade. Na dependência da amostragem, alguns estudos são mais úteis para demonstrar a prevalência de toxoplasmose congênita, já outros caracterizados epidemiologicamente como série de casos relatam os sintomas, demonstrando a ampla gama e gravidade das manifestações clínicas. As informações mais precisas com respeito à doença clínica durante o período neonatal foi fornecida por estudos realizados por Vasconcelos-Santos et al. (2009). Diferentemente de outros estudos no Brasil, 178 (93,7%) de 190 crianças com 56 dias de idade foram examinadas oftalmologicamente no estado de Minas Gerais, sendo que a maioria 79,8% (142/178) teve alguma evidência de doença ocular. Os autores afirmam que algumas lesões oculares periféricas poderiam ter sido perdidas devido às crianças não serem sedadas durante os exames oculares. *T. gondii* foi isolado do sangue de 27 crianças. A audição foi avaliada em 106 destas crianças (de Resende et al., 2010), sendo que 46 crianças tiveram disfunção

auditiva; 13 tiveram perda auditiva condutiva, 4 tinham perda auditiva neurossensorial e 29 apresentaram disfunção central auditiva. Além disso, houve uma associação entre problemas de audição e alterações de linguagem. A porcentagem de crianças com perda de audição neste estudo foi muito maior do que a descrita em crianças infectadas congenitamente na América do Norte ou na Europa (Olariu et al., 2011; Remington et al., 2011). Melamed et al. (2001, 2009) examinando sob sedação os olhos de 44 crianças com menos de 1 ano de idade, infectadas congenitamente, observaram que 31 de 44 (70,4%) crianças tinha doença ocular e retinocoroidite foi a lesão mais comum (65,9%). A retinocoroidite foi bilateral em 22 casos, sendo que as lesões estavam ativas em oito olhos e curadas em 43 crianças. Este estudo e o de Minas Gerais indicaram que uma alta proporção de crianças com doença ocular foi observada mais precocemente que em outros países (McLeod et al., 2009; Remington et al., 2011). Estes achados são contraditórios aos observados em crianças tratadas na Europa e na América do Norte e poderiam estar relacionados ao tratamento (McLeod et al., 2006, 2009). Estimativas de toxoplasmose congênita no Brasil indicam uma taxa de 5-23 infecções congênitas por 10000 nascimentos.

Os dados mais precisos sobre a prevalência da toxoplasmose congênita foram fornecidos pelo estudo de Vasconcelos-Santos et al. (2009). Neste estudo, amostras de sangue foram coletadas de 146.307 recém-nascidos em 1560 centros públicos de saúde em 853 cidades do Estado de Minas Gerais. Todos os testes sorológicos foram realizados em um laboratório, utilizando inicialmente, um kit de teste de ELISA de captura para IgM (Toxo IgMQ-Preven, Simbiose, Leme, Brasil) e os resultados foram confirmados com testes para detecção de anticorpos IgA (ELISA) e IgG e IgM anti- *T. gondii* (ensaio fluorimétrico, VIDAS, BioMérieux SA, Lyon, França), utilizando amostras de sangue de bebês e suas mães. Além disso, as crianças infectadas foram seguidas clinicamente meses após o parto

(Vasconcelos-Santos et al., 2009; de Resende et al., 2010). Assumindo-se a taxa de uma criança infectada para cada 1000 nascimentos, estima-se que 2649 crianças sejam suscetíveis de nascer infectadas com toxoplasmose congênita anualmente no Brasil. A maioria destas crianças infectadas estão propensas a desenvolver alguns sintomas ou sinais de clínicos de toxoplasmose. Atualmente, não existem estimativas de custo do tratamento de crianças infectadas no Brasil, mas os gastos financeiros das famílias e do governo são altos (Dubey et al., 2012). Com base no custo de vida, as perdas em decorrência da toxoplasmose congênita foram estimadas em até 8,8 bilhões de dólares nos EUA, com base em 1 criança infectada por 1000 nascidos vivos (Roberts et al., 1994). Durante as últimas 2 décadas custos médicos têm aumentado rapidamente (Stillwaggon et al., 2011). Estudos brasileiros mostram que a taxa de morbidade por toxoplasmose congênita é muito mais elevada no Brasil do que em outras partes do mundo (Gilbert et al., 2008; Melamed et al., 2009), estimando-se que aproximadamente 35% das crianças brasileiras com toxoplasmose apresentam doença neurológica, incluindo hidrocefalia, microcefalia e retardo mental, além de lesões oculares e perda auditiva, sendo que várias mortes ocorrem logo após o nascimento. É interessante notar que em 2 estudos conduzidos em Minas Gerais, com diferença de 2 décadas, os percentuais de crianças com lesão de retina foram semelhantes (77% de 74, Bahia et al., 1992, e 80% de 178, Vasconcelos-Santos et al., 2009). Atualmente, não há estimativas econômicas com relação ao impacto da toxoplasmose clínica no Brasil. Recentemente, Stillwaggon et al. (2011) forneceram uma orientação abrangente para estimar os custos com triagem materna e preventiva decorrentes da toxoplasmose na Europa e nos EUA. Assim, para estimar estes custos, o valor de todos os recursos utilizados ou perdidos deve ser considerado, incluindo o custo dos serviços médicos, cuidados em casa, salários perdidos, custos indiretos com impactos psicológicos suportados pela família para cuidar de uma criança com

deficiência cognitiva; custo de morte fetal. Estes custos foram estimados em 5 milhões de dólares, e embora seja questionável eticamente estimar o valor da vida humana em termos de dinheiro, cada país tem que prever um custo com prevenção de doenças incapacitantes (Stillwaggon et al., 2011). O Brasil tem uma das taxas de infecção por *T. gondii* em mulheres antes de sua primeira gravidez mais elevadas do mundo (50-80%). Assim, as mulheres soropositivas são consideradas imunes, podendo ser excluídas de programas de monitoramento, já as mulheres grávidas soronegativas, apresentam risco de infecção por *T. gondii* durante a gravidez porque o ambiente é altamente contaminado com oocistos. Neste caso, medidas preventivas como educação e higiene devem ser abordadas em escolas de ensino fundamental, já que cerca de 50% das crianças com 10 anos de idade, em muitas localidades no Brasil, estão expostas ao *T. gondii*.

Segundo Avelino et al. (2003) a toxoplasmose clínica em mulheres grávidas parece ser mais grave no Brasil que na Europa. Em um estudo com gestantes durante o pré-natal, foram acompanhadas 204 mulheres que se infectaram com *T. gondii* durante a gravidez, das quais 58 (28,4%) eram sintomáticas (Castilho-Pelloso et al., 2007). Os principais sintomas descritos foram dores de cabeça constantes em 58 (100%), sintomas concomitantes em 45 (77,5%) com distúrbios visuais, mialgia em 35 (58%), e linfadenopatia com febre em 24 (41,3%). Por outro lado, em Lyon, França, onde todas as mulheres grávidas são testadas para a infecção por *T. gondii*, apenas 36 (5% de 603) recordaram quaisquer sintomas clínicos simulando toxoplasmose (Dunn et al., 1999). Na Europa, a gravidade da toxoplasmose no feto ou na criança não está relacionada ao grau de sintomas de infecção por *T. gondii* na mãe (Dunn et al., 1999; Gilbert et al., 2001), mas tais dados não estão disponíveis para o Brasil. Contudo, é fato que a gravidez induz imunossupressão e, assim, a toxoplasmose talvez seja clinicamente mais grave em mulheres grávidas do que nas não grávidas (Dubey et al., 2012).

1.4.1.2 Toxoplasmose em indivíduos imunocompetentes

Toxoplasmose clínica é raramente reconhecida em adultos imunocompetentes no Brasil, exceto em circunstâncias especiais. Silva et al. (2008) relataram toxoplasmose aguda em um grupo de 313 pacientes que foram atendidos em um hospital especializado na cidade do Rio de Janeiro, de 1992 a 2004 devido a sintomas de toxoplasmose. Os registros desses pacientes foram estudados retrospectivamente e os critérios de inclusão foram a presença de sintomas e sorologia positiva para a infecção aguda incluindo testes para IgM e IgA. A maioria dos pacientes (65,5%) eram mulheres em idade fértil (27,2% grávidas). Sinais ou sintomas clínicos foram observados em 261 indivíduos, com linfadenopatia em 59,8%, febre em 27,2%, dor de cabeça em 10,7%, fraqueza em 10,0%, perda de peso em 8,4%, mialgia em 8%, e hepatoesplenomegalia em 1,5%. Nove pacientes desenvolveram retinocoroidite, sendo que 7 apresentaram lesões oculares no momento da primeira consulta e 2 desenvolveram lesões após 2 anos da consulta inicial. Sinais clínicos semelhantes foram documentados por Neves et al. (2009) em 37 pacientes sintomáticos (22 homens, 15 mulheres) em um estudo de 30 meses de acompanhamento. Para serem incluídos na amostragem, os pacientes tiveram que apresentar pelo menos um dos seguintes sinais ou sintomas de toxoplasmose adquirida: febre, linfadenomegalia, perda de peso ou retinocoroidite. Estes pacientes foram atendidos em uma clínica no Rio de Janeiro no período de 2006-2008 e apresentavam títulos de IgM e IgG para *T. gondii*. Cerca de 94,6% dos indivíduos apresentaram linfadenopatia, 86,5% astenia, 70,3% dor de cabeça, 67,6% febre, 67,2% perda de peso, e 10,8% retinocoroidite.

Toxoplasmose aguda grave foi observada em dois homens de 41 anos, que tiveram febre, mialgia, náuseas, e dor de cabeça intensa (Leal et al., 2007; De Souza Neves et al., 2011). O primeiro paciente de São Paulo foi internado em um

hospital com uma história de 8 dias de febre, mialgia e dor de cabeça seguido por 4 dias de náuseas e vômitos (Leal et al., 2007). No segundo dia de hospitalização ele desenvolveu insuficiência pulmonar bilateral e pneumonite e foi tratado com sucesso com sulfadiazina, pirimetamina, corticosteróides e ácido folínico. O diagnóstico foi apoiado pelo achado de anticorpos IgM e IgG contra *T. gondii*. O outro paciente foi internado em uma unidade de emergência de um hospital no Rio de Janeiro, também com uma história de febre, cefaléia, mialgia e náuseas (de Souza Neves et al., 2011). O paciente desenvolveu sinais meníngeos, pneumonia e linfadenopatia cervical. O diagnóstico foi apoiado pelo aumento dos níveis de anticorpos IgG e IgM. O paciente foi tratado com sucesso com clindamicina intravenosa e pirimetamina oral.

1.4.1.3 Toxoplasmose ocular

A doença ocular é provavelmente a manifestação sintomática mais comum na toxoplasmose aguda adquirida no período pós-natal (Holland, 2009). Até os anos 80, acreditava-se que a maioria das retinocoroidites por *T. gondii* ocorria pela transmissão congênita (Holland, 2003). Oftalmologistas do Brasil relataram pela primeira vez retinocoroidite em irmãos gêmeos, e em pacientes que adquiriram infecção na vida adulta (Silveira et al., 1988, 2001). Estes resultados já foram amplamente confirmados em muitos países (Dubey et al., 2012). Atualmente, considera-se que a maioria dos casos de doença ocular é de aquisição pós-natal porque <1% da população, torna-se infectada congenitamente (Glasner et al., 1992a,b). A prevalência da toxoplasmose ocular no Brasil é considerada alta. Glasner et al. (1992b) relataram prevalência de 17,7% de toxoplasmose ocular em pacientes avaliados em Erechim, no sul do Brasil. Erechim é uma cidade predominantemente rural, de clima temperado, formada por uma população de

imigrantes italianos, alemães e poloneses. Em um levantamento, realizado porta-a-porta, 1042 indivíduos (63% da população) foram submetidos ao exame oftalmológico para detecção de lesões oculares e coleta de sangue para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*. A prevalência de lesões oculares aumentou progressivamente com a idade, sendo 4,3% na faixa etária de 9-12 anos de idade, 14,3% na faixa de 13-16 anos e 24,6% na faixa de 17-20 anos de idade. Apenas 1 paciente não apresentou anticorpos para *T. gondii* e a prevalência foi semelhante em homens e mulheres. A prevalência de toxoplasmose ocular em Erechim é 10 vezes maior do que a prevalência no EUA (Jones e Holland, 2010). Um estudo de acompanhamento realizado uma década depois avaliou fatores de risco associados com os casos de toxoplasmose ocular na mesma localidade (Jones et al., 2006). Para este estudo, 131 indivíduos infectados e 110 controles não infectados foram selecionados entre os pacientes com doença ocular atendidos em uma clínica particular por um período de 12 meses a partir de junho de 2003. Todos os pacientes infectados tiveram IgG e IgM contra *T. gondii*, indicando infecção adquirida recentemente. Os controles não tinham anticorpos contra *T. gondii* e foram acompanhados pelo mesmo tempo que os pacientes infectados. Dados de idade, sexo, raça e etnia foram registrados e todos os participantes responderam um questionário detalhado. Os fatores de risco associados com a toxoplasmose ocular foram ingestão de carne mal passada, ingestão de carne curada, seca ou defumada feita em casa, prática de jardinagem, ser do sexo masculino, e gravidez passada e presente (Jones et al. de 2006). A associação da gravidez e do número de crianças como um fator de risco para toxoplasmose é intrigante e já tinha sido relatado anteriormente no Brasil (Avelino et al. 2003). Outro estudo de prevalência da toxoplasmose ocular foi relatado por Portela et al. (2004). Em um levantamento realizado porta-a-porta na área rural de Governador Valadares, MG foi avaliado um total de 414 indivíduos. Metade (49%) tinham anticorpos contra *T. gondii*, com uma

soroprevalência muito elevada (47% de 49) em crianças com menos de 9 anos. Um total de 29 (7%) indivíduos em 414 apresentou lesões oculares, sendo que 28 eram soropositivos, e 1 era soronegativo. De uma maneira geral, 28 (12,9%) de 216 soropositivos apresentaram lesões oculares, e apenas 1 (0,5%) de 198 soronegativos desenvolveram lesões oculares sugestivas de toxoplasmose. Nenhuma das 49 crianças teve toxoplasmose ocular, embora 47% tenham sido soropositivas. Estes dados demonstram que a maioria dos casos de toxoplasmose ocular foi de aquisição pós-natal. A cicatriz da retina foi a lesão mais comum e predominante em pessoas com mais de 50 anos. Residência partilhada foi um fator de risco para a toxoplasmose ocular, sugerindo uma fonte comum de exposição entre os membros de uma mesma família.

Estudos nacionais têm demonstrado que a prevalência da toxoplasmose ocular é diferente entre as regiões do Brasil e os grupos etários avaliados. Utilizando métodos semelhantes de diagnóstico, a prevalência em Erechim foi 10 vezes maior (25,5% em pacientes até 21 anos de idade, Glasner et al., 1992b) do que em Natal (1,15% em pacientes com 5-21 anos de idade, de Amorim Garcia et al., 2004). Embora os dados publicados tenham limitada abrangência geográfica, a doença é provavelmente comum no resto da população brasileira, e a toxoplasmose tem sido reconhecida como uma causa importante de uveíte no Brasil desde o final da década de 1970 (Belfort et al., 1978; De Abreu et al., 1980, 1982; Petrilli et al., 1987; Silveira et al., 1987; Pinheiro et al., 1990; Glasner et al., 1992b; Schellini et al., 1993; Reis et al., 1998ab; Sebben et al., 1995; Abreu et al., 1998; de Carvalho et al., 1998; Jorge et al., 2003; Gouveia et al., 2004; Oliveira e Reis, 2004; Alvarenga et al., 2007; Haddad et al., 2007; Nóbrega e Rosa, 2007; Lynch et al., 2008; Aleixo et al., 2009; de Souza e Casella, 2009; Lynch et al., 2009; Melamed, 2009; Diniz et al., 2011; Mattos et al., 2011). Mesmo que a toxoplasmose possa afetar qualquer parte do olho, a retinocoroidite é a sua marca (Silveira et al.,

1989;. Hayashi et al., 1997; Holland et al., 1999; Silveira et al., 2001; Silveira, 2002; Yamamoto et al., 2003; Eckert et al., 2007; Oréfice et al., 2007; Lynch et al., 2008; Commodaro et al., 2009; Melamed et al., 2009; Bottós et al., 2009; de Souza et al., 2009; Belfort et al., 2010; Arevalo et al., 2010; Delair et al., 2011). Toxoplasmose ocular é a principal causa de uveítes em todo o mundo, e no Brasil é responsável por 70% dos casos (de Amorim Garcia et al., 2004). Em estudos retrospectivos realizados há mais de 20 anos, cicatrizes bilaterais na região macular, atrofia óptica, catarata congênita por toxoplasmose foram as principais causas de redução da visão em crianças no Brasil (Kara-José et al., 1988;. Buchignani e Silva, 1991; de Carvalho et al., 1998). Na toxoplasmose ocular humana, o parasita multiplica-se na retina e a inflamação ocorre primariamente na coróide, porém as lesões iniciais de toxoplasmose adquirida são, normalmente, desconhecidas, já que os olhos, muitas vezes, não são examinados até a que infecção se torne sintomática. Holland et al. (1999) relataram vasculite retiniana sem necrose em 10 pacientes brasileiros que adquiriram recentemente toxoplasmose. Eckert et al. (2007) relataram lesões no nervo óptico em 5,3% dos casos de toxoplasmose ocular no Brasil, sendo que em 23 dos 51 olhos examinados, as lesões do nervo óptico precederam as lesões retinianas. O diagnóstico clínico da toxoplasmose ocular é complexo, na ausência de lesões da retina, e muitas vezes, é difícil distinguir clinicamente a toxoplasmose ocular congênita da adquirida, já que, em ambos os casos, as lesões oculares podem se desenvolver vários anos após a infecção. Contudo, as lesões oculares por infecção congênita são frequentemente bilaterais, com títulos baixos de IgG sérico e IgM raramente detectável. Os níveis de anticorpos séricos em pacientes com toxoplasmose ocular são diferentes de um país para outro, sendo que níveis de IgG em pacientes brasileiros são maiores em relação aos níveis descritos na Suíça (Garweg et al., 2005). Alguns autores sugerem que a gravidade da toxoplasmose ocular pode ser influenciada pela virulência do genótipo de *T. gondii*

(Vallochi et al., 2005; Bottós et al., 2009). A cura definitiva da toxoplasmose ocular, sem recorrência, não é possível, pois não há medicamentos eficazes que promovam a inativação dos cistos presentes na retina. Recorrências de retinocoroidite em pacientes brasileiros são comuns apesar do tratamento (Silveira et al., 2002). Um estudo recente mostrou que formas viáveis de *T. gondii* podem circular em pacientes com doença ocular, tanto na forma aguda, como em pacientes cronicamente infectados (Silveira et al., 2011).

1.4.1.4 Toxoplasmose em pacientes infectados pelo HIV

A epidemia de HIV na década de 1980 trouxe o reconhecimento da toxoplasmose cerebral em adultos, como resultado da reativação de cistos latentes. A porcentagem de indivíduos com AIDS e soropositivos para *T. gondii* que desenvolvem toxoplasmose clínica é bastante variável. Nos EUA, aproximadamente, 10% dos soropositivos desenvolvem toxoplasmose clínica. Na Europa este percentual é de 25-30% dos soropositivos, mas as razões para essa variabilidade são ainda desconhecidas (Luft e Remington, 1992; Dubey et al., 2012). Toxoplasmose cerebral foi diagnosticada em 8 - 34% dos pacientes com AIDS, examinados em autópsia, no Brasil (Rosemberg et al., 1986; Chimelli et al., 1992; Wainstein et al., 1992; Cury et al., 2003; de Souza et al., 2008; Silva et al., 2012). No entanto, a soroprevalência para *T. gondii* não foi determinada nas pessoas examinadas *post-mortem*. Passos et al. (2000) analisando retrospectivamente registros de 73 pacientes com AIDS, detectaram encefalite toxoplásmica em 38 pacientes em 1988 (grupo A), e 33 pacientes em 1993 (Grupo B) no principal hospital de doenças infecciosas de São Paulo. *Toxoplasma gondii* foi encontrado em 81,2% (25 de 31) indivíduos do grupo A e 61,5% (16 de 26) indivíduos do grupo B, sendo que 21,1% (8 de 38) pacientes do grupo A e 30,3%

(17 de 33) pacientes do grupo B morreram de toxoplasmose. Sinais ou sintomas neurológicos, tomografia computadorizada e terapia anti-*T. gondii* foram os critérios considerados para seleção dos casos, no entanto, a tomografia computadorizada e exame sorológico para *T. gondii* não foram realizados em todos os pacientes. É interessante notar que o diagnóstico definitivo da toxoplasmose cerebral não deve ser feito com base unicamente na tomografia computadorizada, já que linfomas e outras doenças podem ser confundidas com toxoplasmose (Mentzer et al., 2012). Existem outros relatos de toxoplasmose em pacientes com AIDS de diferentes regiões do Brasil (Nascimento et al., 2001; Nobre et al., 2003; Alves et al., 2010a,b; Correia et al., 2010). A incidência de toxoplasmose cerebral em pacientes com AIDS foi drasticamente reduzida após a instituição da terapia antirretroviral de alta potência (HAART). Em um relato com base em 1138 pacientes infectados pelo HIV admitidos em um hospital em São Paulo, 115 (10%) foram diagnosticados com toxoplasmose cerebral (Vidal et al., 2005). Em 35% destes pacientes, toxoplasmose cerebral levou ao diagnóstico da infecção por HIV, e em 75% dos casos, toxoplasmose cerebral foi a doença definidora de AIDS. Destes 115 pacientes, 55 foram acompanhados clinicamente, sendo que 40 manifestaram dor de cabeça e hemiparesia, 28 tiveram confusão, 25 apresentaram febre, 11 apresentaram alterações de nervos cranianos, 8 tiveram alterações visuais e 5 apresentaram ataxia. Destes 55 pacientes, foi diagnosticada toxoplasmose cerebral na autópsia de 2 pacientes que morreram 2 semanas após o início da HAART e terapia anti-*T. gondii*. De Oliveira et al. (2006) relataram uma prevalência alta (42,3%) de toxoplasmose cerebral entre 417 pacientes com HIV em Belo Horizonte, MG. Na maioria dos doentes com AIDS, a toxoplasmose ocorre devido à reativação da infecção latente e as lesões são restritas ao sistema nervoso central (SNC). De 92 pacientes com AIDS de um hospital de referência no Brasil, examinados *post-mortem* em 1993-2000, 8 foram diagnosticados com toxoplasmose, todos com

envolvimento do SNC (Cury et al., 2003). No cérebro, a lesão predominante é a necrose, muitas vezes, resultando em múltiplos abscessos que se misturam ao tecido normal, apresentando numerosos taquizoítos e cistos. Nestas condições, cerca de um milhão taquizoítos por ml ou grama de tecido afetado pode estar presente (Dubey, 2010a). Os cistos teciduais diferem em tamanho e normalmente estão localizados na periferia, sendo que tais lesões são raramente encontradas em pacientes tratados para toxoplasmose e HIV. Embora qualquer parte do cérebro possa estar envolvida, as lesões são mais comuns nos núcleos da base, apresentando um anel ao redor das lesões (Cota et al., 2008). Vidal et al. (2005) observaram necrose cerebral difusa em 2 pacientes que foram examinados na autópsia. Estas infecções cerebrais difusas atípicas podem ser causadas pelos genótipos atípicos de *T. gondii* (Ferreira et al., 2011). De acordo com Pereira - Chioccola et al. (2009) 20% dos pacientes com AIDS no Brasil apresentam essas lesões cerebrais atípicas. Em alguns pacientes com AIDS, a toxoplasmose é generalizada, podendo afetar múltiplos órgãos. Barbosa et al. (2007) relataram toxoplasmose disseminada na autópsia em 2 pacientes com AIDS. Miocardite grave foi encontrada em 1 paciente (Nobre et al., 2003). Toxoplasmose ocular tem sido relatada em 4-8% de pacientes com AIDS (Rehder et al., 1988; Muccioli et al., 1994; Matos et al., 1999; Arruda et al., 2004; Zajdenweber et al., 2005; Alves et al., 2010a,b), incluindo uma criança com 13 meses de idade da (Moraes, 1999).

No início da epidemia da AIDS, o diagnóstico da toxoplasmose cerebral era confirmado na autópsia ou por biópsia com agulha de lesões suspeitas através de tomografia computadorizada (Dubey et al., 2012). Atualmente, o diagnóstico baseia-se na detecção de parasitas viáveis, anticorpos, antígenos ou DNA de *T. gondii* no sangue, líquido cefalorraquidiano, ou mesmo na saliva de casos suspeitos (Borges e Figueiredo, 2004; Vidal et al., 2004; Colombo et al., 2005; Meira et al., 2008; Nogui et al., 2009; Correia et al., 2010; Mesquita et al., 2010a,b; Meira et al., 2011). A

utilização de sangue periférico para o diagnóstico da toxoplasmose cerebral é o procedimento mais empregado, já que é menos invasivo e tem apresentado bons resultados tanto na sorologia quantitativa como na detecção de DNA (Vidal et al., 2011).

1.4.2 Toxoplasmose animal

Com relação à toxoplasmose animal, nem sempre a protozoose causa sintomatologia evidente ou morte, mas muitas vezes ocorre de forma inaparente, dependendo dessas situações de muitos fatores, como a idade do animal, a via de inoculação, a espécie considerada e a virulência intrínseca da cepa (Tenter et al., 2000).

Entre os animais domésticos, esta doença ganha particular importância nas espécies suína, ovina e caprina, já que são mais suscetíveis à infecção que as demais espécies estudadas (Dubey e Kirkbride, 1989). O *T. gondii* é a principal causa de abortos em ovelhas e cabras (Dubey e Kirkbride, 1989; Buxton et al., 1991), sendo responsável por grandes perdas econômicas (Dubey e Beattie, 1988).

1.4.2.1 Cães

Toxoplasmose clínica é rara em cães (Dubey, 2010a). Na maioria dos casos toxoplasmose clínica é vista em cães imunossuprimidos, muitas vezes com infecção pelo vírus da cinomose (Dubey e Beattie, 1988).

Anticorpos contra *T. gondii* têm sido amplamente relatados em cães no Brasil (Dubey et al., 2012). Como estes animais tem uma estreita associação com os seres humanos são frequentemente utilizados em estudos epidemiológicos

como indicadores de contaminação do meio ambiente com *T. gondii* (Meireles et al., 2004). A alta prevalência de infecção por *T. gondii* em cães de rua sugere que a ingestão de presas infectadas é uma importante forma de transmissão do agente para estes animais nos centros urbanos (de Souza et al., 2003).

1.4.2.2 Ovinos e caprinos

A toxoplasmose é uma das principais causas de abortos em ovinos e caprinos em muitos países e isto tem sido descrito desde a década de 50 (Dubey e Beattie, 1988; Dubey, 2009a). No entanto, abortos por *T. gondii* foram relatados apenas recentemente em caprinos e fetos ovinos no Brasil (Pescador et al., 2007; de Moraes et al., 2011). Pescador et al. (2007) examinaram 6 fetos caprinos abortados no Rio Grande do Sul. *T. gondii* foi demonstrado por métodos de imunohistoquímica em vários tecidos de um feto com lesões degenerativas. Nos 5 outros casos, DNA de *T. gondii* foi encontrado nos tecidos dos caprinos.

Evidência presuntiva de aborto por *T.gondii* foi encontrada em 5 de 35 fetos de 30 ovelhas a partir de 5 fazendas no estado de Pernambuco. DNA de *T. gondii* foi detectado por PCR em vários órgãos e placentas, e as placentas apresentaram lesões necróticas. Silva e de la Rue (2006) também relataram possível transmissão congênita de *T. gondii* em cordeiros em uma fazenda no Rio Grande do Sul, mas não relataram a ocorrência de aborto.

1.4.2.3 Suínos

Toxoplasmose fatal foi relatada uma vez, no Brasil, em um leitão com 28 dias de em Belo Horizonte, MG (Lamas da Silva, 1959). Este animal tinha 4 irmãos que morreram antes, mas a etiologia não foi investigada. O leitão investigado teve

diarreia, dispneia e febre. *T. gondii* foi identificado em cortes histológicos de pulmão, coração, fígado, e linfonodos mesentéricos.

1.4.2.4 Primatas não humanos

Macacos do Novo Mundo, em geral, são altamente suscetíveis para toxoplasmose clínica, enquanto que primatas do Velho Mundo são resistentes à toxoplasmose clínica. Nery-Guimarães et al. (1971) relataram pela primeira vez toxoplasmose clínica em um macaco *Rhesus* (*Macacca mulata*, espécie do Velho Mundo) e um macaco prego (*Cebus apella*, espécie do Novo Mundo) no Brasil. O *M. mulatta* era de cativeiro do laboratório do Instituto Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro. O *C. apella* era uma animal de estimação que vivia no subúrbio do Rio de Janeiro. Ambos os animais morreram após um período curto de doença e taquizoítos foram encontrados em seus tecidos. É interesse notar que o macaco prego era rotineiramente alimentado com carne crua. Pouco se sabe da toxoplasmose clínica em primatas selvagens do Novo Mundo. Na natureza, estes animais são herbívoros e vivem em árvores e, portanto, é pouco provável de serem expostos ao *T. gondii* (Dubey et al., 2012). A detecção de anticorpos anti - *T. gondii* em algumas espécies de macaco prego e bugios na natureza indica que alguns destes primatas do Novo Mundo sobrevivem à exposição ao *T. gondii*. No entanto, várias outras espécies de primatas do Novo Mundo são altamente suscetíveis à infecção experimental e há muitos relatos mundiais de toxoplasmose clínica em animais de cativeiro (Dubey e Beattie, 1988; Dubey, 2010a). No Brasil, toxoplasmose foi diagnosticada em 3 macacos de cheiro (*Saimiri sciureus*), 7 micos leões de cara dourada (*Leontopithecus chrysomelas*), 3 sagüis imperadores (*Saguinus imperator*), 1 sagui de mão dourada (*Saguinus midus*), 1 Sauim (*Saguinus niger*), 5 macacos barrigudos (*Lagothrix lagotricha*), 1 mico estrela

(*Callithrix penicillata*), 1 macaco da noite (*Aotus triviragatus*), 1 mico leão preto (*Leontopithecus chrysopygus*), 2 micos leões dourados (*Leontopithecus rosalia*), 6 bugios (*Alouatta fusca*), e 2 sagüis de tufo branco (*Callithrix jacchus*) que foram examinados *post-mortem* durante 1991 a 2001 (Epiphany et al., 1999, 2000, 2001, 2003), sendo que metade desses animais morreram sem quaisquer sinais clínicos. Pneumonite e hepatite foram as principais lesões (Epiphany et al., 2003). Toxoplasmose fatal também foi observada em 3 macacos de cheiro de uma colônia em cativeiro no Rio de Janeiro (Andrade et al., 2007), e um macaco da noite (*Aotus nigriceps*) de um zoológico em Mato Grosso (Antoniassi et al., 2011).

Toxoplasmose disseminada foi relatada em 3 macacos barrigudos (*Lagothrix lagotrica*) adultos de cativeiro (Tury et al., 1999) e 1 de vida livre (Maluenda et al., 2009).

1.4.2.5 Aves

Toxoplasmose fatal tem sido relatada em pombos (*Columba livia*), inclusive como epizootia (Carini, 1911; Reis e Nóbrega, 1936; Nóbrega e Reis, 1942; Springer, 1942; Dubey, 2002). Estes estudos relatam a presença de sinais como anorexia, conjuntivite e perda de peso nos animais afetados. *T. gondii* foi encontrado em muitos tecidos, especialmente nos pulmões e no baço dos animais que vieram a óbito (Carini, 1911; Reis e Nóbrega, 1936).

1.4.2.6 Roedores

A baixa prevalência de *T. gondii* em camundongos e ratos silvestres no Brasil é surpreendente, já que se supõe que o ambiente é altamente contaminado com oocistos (Dubey et al., 2012). *T. gondii* foi isolado em apenas 1 de 20 *Rattus*

norvegicus, mas em nenhum dos 193 *Rattus rattus* e 4 *Mus musculus* de São Paulo (Muradian et al., 2012). Os tecidos de todos estes roedores foram bioensaiados em camundongos e também testados por PCR para pesquisa de DNA de *T. gondii*. DNA do agente foi detectado em tecidos de 1 *M.musculus*, 7 *R.rattus*, e 2 *R. norvegicus*. Araújo et al. (2010) também relataram resultados semelhantes em roedores do Estado do Paraná. Neste estudo, *T. gondii* foi isolado a partir de 1 de 19 *M.musculus* e 1 de 24 *R. rattus*, mas todos estes animais foram seronegativos para *T. gondii*.

1.4.2.7 Mamíferos marinhos

Em mamíferos marinhos Bandoli e de Oliveira (1977) relataram *T. gondii* taquizoítos e cistos teciduais em cortes histológicos de linfonodos de um boto-cinza (*Sotalia guianensis*) que foi encontrado morto na praia no Rio de Janeiro.

1.5 Aspectos gerais da imunidade

A resistência do hospedeiro ao *T.gondii* é altamente dependente da imunidade celular e, em menor intensidade e numa fase mais tardia da infecção, da imunidade humoral (Denkers e Gazzinelli, 1998). A resposta imunológica do hospedeiro no curso da infecção aguda adquirida é em grande parte a responsável pelo encistamento do parasita na musculatura esquelética, no cérebro e nos demais órgãos. Neste aspecto, taquizoítos assumem a forma de bradizoítos, os quais podem permanecer latentes por toda a vida do indivíduo sem causar-lhe dano ou morte (Denkers e Gazzinelli, 1998; Sullivan e Jeffers, 2012; Kamekar e Davis, 2012). Esta fase crônica e assintomática da toxoplasmose adquirida pode assumir uma forma de reagudização ou recidiva, com conseqüências desastrosas para o

hospedeiro, nos casos em que este apresentar algum comprometimento da imunidade celular, permitindo a transformação dos bradizoítos encistados em taquizoítos passíveis de proliferação e disseminação, ou alguma deficiência imunológica, como por exemplo, nos casos de imunossupressão induzida por drogas, de quimioterapia, de transplantes de órgão ou da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (Sullivan e Jeffers, 2012; Kamerkar e Davis, 2012).

A resposta imune ao parasito é caracterizada por uma forte imunidade celular do tipo T helper 1 (Th1) (Gazzinelli et al., 1993a), com marcante produção de citocinas associadas a esta resposta, tais como interferon-gama ($\text{IFN}\gamma$) (Suzuki et al., 1988; Gazzinelli et al., 1991), interleucina IL2 (Sharma et al., 1985) e fator de necrose tumoral ($\text{TNF}\alpha$) (Haque et al., 1999).

Nos últimos anos, vários estudos foram realizados para demonstrar o papel dos diferentes tipos celulares envolvidos na resposta celular contra a infecção toxoplásmica em suas fases aguda e crônica. Utilizando citocinas recombinantes e anticorpos monoclonais dirigidos contra citocinas endógenas e células do sistema imune, tem sido delineado, em modelo murino, o papel desempenhado por estas células no curso da infecção. Assim, sabe-se que as células T CD8^+ agem como efetoras, tanto pela sua ação citotóxica *in vivo* quando pela produção de $\text{IFN}\gamma$, sendo requeridas ao lado das células T CD4^+ na indução da resistência à infecção. Estas últimas, por sua vez, exercem função auxiliadora na ativação daquelas, além de ser a principal fonte de $\text{IFN}\gamma$ durante a fase crônica da infecção. Ao lado das células NK, respondem também pela produção precoce de $\text{IFN}\gamma$, o qual, suprimindo a atividade de clones CD4^+ “Th2”, age selecionando a produção de citocinas do tipo “Th1” (o próprio $\text{IFN}\gamma$ e citocina IL-2), responsáveis pela resistência à reinfecção e pelo controle da infecção crônica (Gazzinelli et al., 1991, 1992a, 1993b, 1994). A IL-

2, juntamente à citocina IL-12 produzida por macrófagos, estimulam a ação citotóxica de células NK e linfócitos T CD8⁺ e o padrão “Th1” de resposta. O IFN γ , assim formado, atua mediando a destruição intracelular de parasitas por ativar células fagocíticas, sendo que esta ativação é resultante da indução do gene da sintase do óxido nítrico induzível (iNOS) e da síntese de níveis elevados de radicais intermediários do nitrogênio, principalmente óxido nítrico (NO) (James, 1995; Collazo et al., 2002). Outro mecanismo conhecido de defesa contra o parasito induzido por IFN γ é a indução da produção da enzima indoleamina (IDO), a qual leva à degradação do triptofano, aminoácido essencial para o desenvolvimento do *Toxoplasma* (Pfefferkorn et al., 1986; Silva et al., 2002). Além disso, a IL-12 participa da diferenciação de linfócitos T CD4⁺ em células Th1 produtoras de IL-2 e IFN γ , os quais estão envolvidos no controle da produção de imunoglobulinas IgG2a, enquanto células Th2 através de IL-4, IL-5, e IL-10, induzem à produção de imunoglobulinas IgG1 (Fiorentino et al., 1989; Mosmann et al., 1986).

Em camundongos, a resistência é dependente tanto de células T CD4⁺ quanto de células T CD8⁺. Nos estágios mais tardios da infecção, a atividade citotóxica das células T CD8⁺ tem um papel importante na eliminação das células infectadas pelo parasito, com conseqüente liberação de taquizoítos, que seriam destruídos por macrófagos ativados pelo IFN γ (Sher et al., 1993), prevenindo a recrudescência da infecção (Gazzinelli et al., 1991). As células T CD8⁺, reguladas pelo complexo principal de histocompatibilidade MHC classe I, atuam de forma crucial na restrição da disseminação da parasitemia por *T. gondii*, pois lisam células infectadas expondo extracelularmente parasitas, antes protegidos no interior de vacúolos parasitóforos, a outras células efetoras como macrófagos ativados e células T citotóxicas, além de permitir a opsonização dos parasitas por anticorpos, com conseqüente fagocitose e lise pelas proteínas do complemento.

Adicionalmente, há evidências de que as células T CD8⁺ estimuladas *in vitro* podem agir lisando parasitas extracelulares independentemente do MHC. Deste modo, a ação conjunta de células T CD8⁺, do MHC classe I e de IFN γ produzido durante o processo, contribui para proteção contra a formação de cistos teciduais (Brown e McLeod, 1990; Jordan e Hunter, 2010). A opsonização dos parasitas por anticorpos permite a fusão de lisossomos aos vacúolos parasitóforos, onde estão contidos, reduzindo sua inacessibilidade dentro dos macrófagos infectados (Sharma, 1990).

A falta de controle da resposta imune pode levar a graves quadros imunopatológicos e, eventualmente, à morte do hospedeiro. Os macrófagos regulam a imunidade mediada por células, através da produção de interleucina -10 (IL-10) e interleucina-4 (IL-4) (Denkers e Gazzinelli, 1998). O papel da IL-10 é fundamental durante o início da infecção, sendo menos importante durante a fase crônica. A IL-10 tem a função de modular a síntese de IL-12 e IFN γ “*in vivo*”, evitando uma excessiva resposta imune, que poderia causar inflamação exacerbada, com destruição de tecidos do hospedeiro (Gazzinelli et al., 1992b). Alguns estudos têm sugerido que as manifestações da infecção em indivíduos acometidos pela AIDS sejam devidas à redução do número de células T CD8⁺ em estágios avançados da doença, ao lado da redução das CD4⁺, visto que em seus experimentos, somente deficiências em clones T CD4⁺ não têm determinado a reativação de toxoplasmose latente, como a que ocorre na deficiência de T CD8⁺ e/ou IFN- γ (Gazzinelli et al., 1991, 1992a).

Não obstante a imunidade mediada por células tenha sido apontada como principal fator de defesa na infecção pelo *Toxoplasma* (Gazzinelli et al., 1993a), a imunidade humoral dependente de células T acompanha o curso da infecção crônica, com títulos baixos de anticorpos, por toda a vida do indivíduo. Além disso,

indivíduos cronicamente infectados pelo parasita são aparentemente resistentes à reinfecção (Gazzinelli et al., 1993a; Denkers e Gazzinelli, 1998).

A resposta humoral é mediada por linfócitos T, na medida em que a produção de células de memória e a ativação e diferenciação de linfócitos B dependem da interação conjunta destas células B com antígenos apresentados na superfície de células apresentadoras e citocinas produzidas por linfócitos T CD4⁺. Mesmo com a produção de imunoglobulinas pertencentes aos isotipos G, M, A e E, a resposta humoral por si só não exerce um papel protetor no curso da toxoplasmose, podendo atuar na opsonização de parasitas (Sharma, 1990). Tem sido relatada a presença de IgG2 na resposta murina ao *Toxoplasma gondii* indicando uma estimulação seletiva deste isotipo pelas citocinas produzidas pelo clone de células T CD4⁺ “Th1” (Gazzinelli et al., 1991).

Na vigência de uma imunidade protetora contra a fase aguda e na manutenção da fase crônica, o papel dos anticorpos foi avaliado usando camundongos deficientes de células B, infectados com cepa virulenta e tratados com sulfadiazina. Quando o tratamento foi suspenso, todos os animais morreram, sugerindo a importância dos anticorpos produzidos pelas células B no controle da infecção latente (Frenkel e Taylor, 1982).

1.6 Prevenção

Embora já tenham sido propostos vários modelos de imunização em animais, utilizando DNA, proteínas recombinantes ou mesmo cepas mutantes de *T. gondii* (Araújo, 1994; Jongert et al., 2009), não existe nenhuma vacina comercial contra a toxoplasmose humana, que previna a infecção congênita, ou a formação e reativação de cistos teciduais (Jongert et al., 2009; Liu et al., 2012).

A única vacina comercial registrada é a TOXOVAX® para uso em ovelhas, que está disponível na Grã Bretanha e Nova Zelândia, e utiliza taquizoítos viáveis da cepa S48 (Buxton, 1993; Hill e Dubey, 2002). Em ensaio utilizando ovelhas imunizadas com esta vacina atenuada e posteriormente desafiadas com oocistos, foi demonstrada uma eficiência parcial de proteção com 80% dos fetos livres de infecção em ovelhas vacinadas (Buxton et al., 1991).

Estudos iniciais utilizaram modelos de imunizações com parasitas vivos, de baixa patogenicidade, mas pelo fato dos indivíduos permanecerem infectados durante muito tempo, provavelmente por toda a vida, este tipo de imunização não é segura, podendo ocorrer recrudescência da infecção e lesões graves, se o hospedeiro tiver uma perda da imunidade. Modelos de imunização com parasitas mortos também foram testados, mas a imunidade apresentada em ovelhas foi de curta duração, como demonstrado pelo desafio com cepas patogênicas (Jongert et al., 2009; Liu et al., 2012), mesmo utilizando adjuvante incompleto de Freund, sem proteção dos animais contra novos desafios (Buxton, 1993).

Para obtenção de uma fração antigênica estável e imunizante foram feitas várias tentativas com antígenos particulados (Krahenbuhl et al., 1972), ou mesmo, proteínas purificadas de membrana, como a p30 ou SAG-1 (Grimwood e Smith, 1996; Jongert et al., 2009), mas nenhum apresentou resultados satisfatórios.

A utilização de imunógenos com proteínas recombinantes, como a p30, apresentou bons resultados iniciais (Darcy et al., 1992), mas a produção de anticorpos monoclonais contra esta proteína mostrou que apenas alguns destes anticorpos eram eficientes na produção do bloqueio da infecção, sugerindo que epítomos conformacionais ou específicos eram de fundamental importância na indução de proteção (Velge-Roussel et al., 1994). Outros modelos de construção de proteínas híbridas, para melhorar a imunogenicidade resultaram em achados

contraditórios (Lunden et al., 1997), provavelmente pela necessidade de uma resposta conformacional específica tanto celular como humoral (Khan et al., 1988), sugerindo que a melhor imunização é aquela que oferece os antígenos mais semelhantes ao parasita original (Jongert et al., 2009).

Nos últimos anos, foram propostas vacinas utilizando DNA (GRA1, GRA7 e ROP2) (Vercammen et al., 2000), plasmídeos para SAG1 (Nielsen et al., 1999; Aosai et al., 1999), para ROP2 (Leyva et al., 2001) ou proteínas de micronemas MIC1 e MIC4 (Beghetto et al., 2005; Jongert et al., 2009), mas todos estes modelos induziram proteção parcial no desafio dos animais com cepas virulentas. Além disso, vacinas de DNA têm mostrado resultados promissores em animais experimentais, mas com baixa imunogenicidade em humanos (Bout et al., 2002; Jongert et al., 2009).

Atualmente, tem sido propostos modelos de imunização intraperitoneal em camundongos, utilizando taquizóitos irradiados de *T. gondii*, que induzem uma imunidade celular com produção de citocinas (IL10, IL12, $TNF\alpha$ e $INF\gamma$) por células esplênicas, em níveis semelhantes aos encontrados nos animais cronicamente infectados, resultando na diminuição de cistos e lesões cerebrais após desafio com cepa cistogênica ME 49 (Hiramoto et al., 2002; Zorgi et al., 2011). Os resultados obtidos com este imunógeno foram bastante promissores, sugerindo sua aplicação e avaliação em outras espécies animais de interesse econômico como ovinos e bovinos. Interessante notar, que a proteção alcançada em modelos vacinais como os descritos, tanto por parasitas modificados, como proteínas recombinantes, ou ácidos nucleicos, resultaram apenas em proteção parcial na maioria dos modelos.

Como não dispomos de um imunógeno eficaz para o controle vacinal da população humana e animal, as medidas de prevenção da toxoplasmose devem ser focadas no manejo sanitário adequado dos animais de produção, e em medidas

adequadas de higienização dos alimentos (Hill e Dubey, 2002; Dubey e Jones, 2008). A prevenção da infecção humana pela carne contaminada por cistos de *T. gondii* deve ser feita no sentido de evitar a infecção dos rebanhos, através de um programa de controle de roedores, além da limitação do acesso de gatos aos locais de criação (Kijlstra e Jongert, 2008). A remoção de gatos das fazendas ou a vacinação dos felinos poderia teoricamente levar, em longo prazo, à redução da carga de oocistos no entorno das fazendas, sendo útil na prevenção da infecção por *T. gondii* em animais de produção (Hill e Dubey, 2002; Dubey e Jones, 2008). O risco da contaminação ambiental pelo oocisto também pode ser reduzido através da utilização de cama e alimento esterilizados e pelo confinamento dos animais. Entretanto, em criações animais destinadas à produção de carne como ovinos, caprinos, eqüinos, bovinos e animais de caça, algumas dessas medidas são difíceis, senão impossíveis de serem implantadas, como a questão do confinamento (Kijlstra e Jongert, 2008).

De qualquer forma, manter os animais confinados, fornecendo água limpa e filtrada, aquecendo toda a alimentação a pelo menos 70°C e mantendo gatos afastados das fazendas, bem como dos galpões de armazenamento de rações e, impedindo acesso de roedores são algumas medidas que podem diminuir a contaminação ambiental por oocistos (Kijlstra e Jongert, 2008).

Em relação às medidas de transmissão da toxoplasmose em humanos via carne e produtos de origem animal, é indispensável a adequada higienização de todas as superfícies e utensílios, que entraram em contato com carne não cozida. Estes locais devem ser higienizados com água quente e detergente, uma vez que cistos são inativados pelo calor (Kijlstra e Jongert, 2008).

Os cistos contidos na carne podem ser inativados imediatamente por aquecimento superior a 67°C, desde que essa temperatura esteja presente no interior de toda a carne (Dubey et al., 1990; Kijlstra e Jongert, 2008). A utilização do microondas não garante a destruição completa dos cistos devido ao aquecimento desigual da carne (Lundén e Uggla, 1992). Assim, é necessário que toda a carne destinada ao consumo esteja devidamente cozida, devendo-se evitar a ingestão de produtos cárneos crus, mal cozidos, bem como provar a carne antes de prepará-la (Dubey e Beattie, 1988; Kijlstra e Jongert, 2008).

Cistos teciduais são relativamente resistentes às mudanças de temperatura e permanecem infectantes em carcaças refrigeradas (1-4°C) ou carne moída por até 3 semanas (Dubey e Kirkbride, 1989, Dubey et al., 1990). Esse período é geralmente maior que o tempo que a carne permanece viável para consumo. Cistos de *T. gondii* também podem permanecer viáveis por até 22 dias em temperaturas entre -1°C a -3,9°C e por 11 dias a -6,7°C (Kotula, 1991; Kijlstra e Jongert, 2008), indicando que a importação de carnes congeladas nestas temperaturas não garante a inativação do parasita. Para a inativação completa dos cistos, é necessário que a temperatura no interior do corte da carne esteja a no mínimo -12°C (Kotula et al., 1991; Kijlstra e Jongert, 2008). Alguns trabalhos relatam que, em uma temperatura de -20°C, são necessários dois dias para a inativação dos cistos (Sommer et al., 1965 apud Kijlstra e Jongert, 2008), já para outros autores, nesta temperatura, são necessários 3 dias para completa inativação dos cistos (Djurkovic-Djakovic e Milenkovic, 2000). Em temperaturas na faixa de -7°C a -12°C são necessários quatro dias para inativação. Geralmente, o congelamento inativa os cistos, diminuindo o risco de infecção por *T. gondii*, porém é necessário respeitar o tempo e temperatura adequados para alcançar 100% de eficiência. Além disso, detalhes

de um procedimento adequado ainda precisam ser validados, já que a maioria dos trabalhos indica tempos e temperaturas diferentes (Kijlstra e Jongert, 2008).

O processamento por cura de alguns produtos cárneos pode inviabilizar os cistos de *T. gondii*, mas dependem da concentração de sal e temperatura de estocagem (Kijlstra e Jongert, 2008). Experimentalmente, os cistos foram inativados em solução de 6% de NaCl entre 4 a 20°C, mas resistiram por semanas em soluções de 0,85 a 3,3% de NaCl nas mesmas temperaturas (Dubey, 1997). Estudos posteriores demonstraram que a adição de concentrações maiores que 2% de NaCl e/ou maiores que 1,4% de lactato em carne de suínos experimentalmente infectados destruíram o parasita, enquanto que a adição de tripolifosfato não possuiu nenhum efeito na viabilidade do cisto (Hill et al., 2004, 2006b). Alguns estudos também demonstraram que a salga não foi capaz de inativar cistos em linguças suínas caseiras tipo frescal (Jamra et al., 1991; Navarro et al., 1992).

A irradiação gamma na faixa de 0,4–0,7 kGy (Kuticic e Wikerhauser, 1996) ou na dose de 1.0 kGy (Dubey, 2000) e tratamentos de alta pressão (300MPa) (Lindsay et al., 2006) em carnes podem ser efetivos, mas não são amplamente utilizados, já que a irradiação da carne requer uso de alta tecnologia sendo aprovada apenas em poucos países industrializados como os EUA, mas rejeitada pelos consumidores da União Européia (Tenter, 2009). Além disso, esses tratamentos alteram as propriedades organolépticas da carne, prejudicando sua comercialização (Kijlstra e Jongert, 2008).

Outra forma importante de transmissão a ser prevenida é a ingestão de oocistos presentes em água, alimentos crus e solo. Assim, faz-se necessário o consumo de água filtrada ou fervida, além da adequada higienização de frutas, verduras e legumes (Kijlstra e Jongert, 2008). Felinos domésticos devem ser

alimentados somente com ração comercial ou alimentos cozidos, e as fezes da caixa de areia devem ser removidas diariamente, já que o oocisto leva pelo menos um dia para se tornar infectante (Hill et al., 2005). A caixa de areia, bem como outros utensílios, que entraram em contato com as fezes dos felinos, deve ser higienizada com água quente (temperatura superior a 70° C) e detergente, sempre utilizando luvas, e de preferência, por alguém que não se enquadre em grupos de risco para a doença (gestantes e imunossuprimidos). Luvas também são necessárias em atividades manuais envolvendo solo, como jardinagem, e sempre que possível, deve-se evitar a presença de gatos em *playgrounds* com tanques de areia (Hill e Dubey, 2002).

Em razão da sua alta infectividade, ampla distribuição geográfica, alto risco de recrudescimento da doença em indivíduos imunossuprimidos, gravidade da infecção congênita e grande número de casos de comprometimento ocular, a toxoplasmose representa um sério problema de Saúde Pública, exigindo medidas rápidas de controle e prevenção, sobretudo em surtos epidêmicos da doença. No entanto, pouco se sabe sobre a influência da forma infectante do *T. gondii* no quadro clínico da doença humana. Propomos neste trabalho, uma revisão sistemática de surtos epidêmicos de toxoplasmose humana para identificarmos padrões relacionados à forma infectante que possam preconizar intervenções mais precisas de Saúde Pública.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Avaliar a influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana através de revisão sistemática de surtos epidêmicos.

2.2 Específicos

- a) Identificar a produção de estudos científicos relacionados ao tema;
- b) Analisar a qualidade dos artigos com relação à elegibilidade;
- c) Avaliar e comparar a ocorrência de toxoplasmose humana entre surtos veiculados por oocistos, taquizoítos e cistos teciduais de *T.gondii*;
- d) Comparar o quadro clínico da doença aguda e o período de incubação dos surtos por oocistos, taquizoítos e cistos teciduais de *T.gondii*;
- e) Discutir a influência da forma infectante na sintomatologia da doença aguda humana a partir das evidências dos resultados obtidos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo de revisão sistemática da literatura científica conforme as recomendações propostas pela Colaboração Cochrane (<http://www.cochrane.dk/cochrane/handbook/hbook.htm>).

A revisão sistemática (sinônimos: *systematic overview*, *overview*, *qualitative review*) é uma revisão planejada que visa responder uma pergunta específica, utilizando métodos explícitos e sistemáticos para identificar, selecionar e avaliar criticamente os estudos, e para coletar e analisar os dados destes estudos incluídos na revisão. Os métodos estatísticos (metanálise) podem ou não ser utilizados na análise e na síntese dos resultados dos estudos incluídos. Assim, a revisão sistemática utiliza toda esta estruturação para evitar viés – tendenciosidade - em cada uma de suas partes (Atallah, 1996).

Os passos para a realização de uma revisão sistemática são determinados em duas publicações complementares: a) *Cochrane Handbook* (Clarke e Oxman, 2000) produzido pela Colaboração *Cochrane*; b) *CDR Report* (Khan et al., 2000), produzido pelo *NHS Centre for Reviews and Dissemination, University of York*.

A Colaboração Cochrane recomenda que a revisão sistemática seja efetuada em sete passos (Clarke e Oxman, 2000), sendo cada um deles detalhados a seguir:

- a) **Formulação da pergunta:** questões mal formuladas levam a decisões obscuras sobre o que deve ou não ser incluído na revisão. Assim uma pergunta bem formulada, onde são definidos os pacientes/doença e a intervenção é o passo inicial na realização da revisão sistemática;

- b) **Localização e seleção dos estudos:** não existe uma única fonte de busca de estudos. Para identificar todos os estudos relevantes é preciso utilizar diferentes bases de dados, verificar as referências bibliográficas dos estudos relevantes, solicitar estudos de especialistas, e pesquisar manualmente algumas revistas e anais de congressos. Para cada uma das fontes utilizadas deve ser detalhado o método utilizado;
- c) **Avaliação crítica dos estudos:** são critérios para determinar a validade dos estudos selecionados e qual a probabilidade de suas conclusões estarem baseadas em dados viciados. Com a avaliação crítica determinamos quais são os estudos válidos que irão ser utilizados na revisão e aqueles que não preencherem os critérios de validade deverão ser citados, explicando-se o motivo da exclusão;
- d) **Coleta de dados:** todas as variáveis estudadas devem ser observadas nos estudos e resumidas, além das características do método, dos participantes e dos desfechos clínicos, que permitirão determinar a possibilidade de comparar ou não os estudos selecionados. Algumas vezes será necessário entrar em contato com o autor do estudo para pedir informações mais detalhadas;
- e) **Análise e apresentação dos dados:** baseado na semelhança entre os estudos, estes serão agrupados para a análise. Cada um desses agrupamentos deverá ser pré-estabelecido no projeto, assim como a forma de apresentação gráfica e numérica, para facilitar o entendimento do leitor;
- f) **Interpretação dos dados:** é determinada a força da evidência encontrada, a aplicabilidade dos resultados, informações sobre custo

e a prática corrente que sejam relevantes, e determinados claramente os limites entre os benefícios e os riscos;

- g) **Aprimoramento e atualização da revisão:** uma vez publicada a revisão sofrerá críticas e receberá sugestões que devem ser incorporadas às edições subseqüentes, caracterizando uma publicação viva, e ainda ser atualizada cada vez que surgirem novos estudos sobre o tema.

3.1.2 Formulação da pergunta utilizada na busca bibliográfica

A formulação da pergunta utilizada na busca bibliográfica é o passo inicial no desenvolvimento de uma revisão sistemática (Needleman, 2002). A questão deve ser específica, de relevância científica e formulada de modo sistemático. Uma pergunta de pesquisa que atenda a estes quesitos auxilia e direciona a revisão, na determinação dos critérios de inclusão/exclusão, no método de condução da revisão e na organização do raciocínio lógico (Stone, 2002).

Atendendo a estes critérios, a pergunta utilizada na busca bibliográfica foi: *Qual a influência da forma infectante do Toxoplasma gondii na doença aguda humana em surtos epidêmicos?*

3.1.3 Estratégia de busca para identificação de estudos

Foi realizada uma estratégia de busca ampla para minimização de vieses de seleção, utilizando as principais bases de dados bibliográficos na área da saúde, além de publicações em boletins epidemiológicos e anais de congressos nacionais e internacionais em áreas correlatas.

3.1.3.1 Bases de dados bibliográficos

A pesquisa foi realizada nas seguintes bases de dados bibliográficos:

a) **CCTR- Cochrane Controlled Trials Register – Cochrane Library:**

Base de dados da biblioteca Cochrane que contém registros de estudos identificados por membros da Colaboração Cochrane e outros. Inclui artigos publicados em anais de congressos e outras fontes que não constam nas principais bases de dados eletrônicos (acesso livre via BIREME);

b) **Embase:** Base de dados que abrange mais de 1,8 milhões de registros da literatura biomédica e farmacológica. Abrange também resumos de congressos e conferências (acesso pelo SIBI/USP);

c) **FSTA - Food Sciences & Tech Abstracts:** Base de dados que abrange engenharia de alimentos, nutrição, microbiologia, marketing, corantes, bioquímica, regulamentos, contendo resumos de artigos publicados internacionalmente (ERL – WebSPIRS – Eletronic Reference Library - acesso pelo SIBI/USP);

d) **Lilacs:** Base de dados bibliográficos produzida de forma cooperativa, onde está registrada a literatura produzida por autores latino-americanos e do Caribe (acesso livre via BIREME);

e) **PubMed:** Base de dados bibliográficos criada e mantida pela Biblioteca Nacional de Medicina dos Estados Unidos. Contém citações bibliográficas e resumo de aproximadamente 3.900 periódicos publicados no EUA e em outros 70 países (acesso livre via National Library of Medicine);

- f) **Scopus:** Base de dados que abrange 18 mil títulos de mais de 5.000 editoras internacionais, incluindo periódicos científicos, técnicos e de ciências médicas e sociais (acesso pelo SIBI/USP);
- g) **Web of Science:** Base de dados que contém trabalhos publicados nos mais importantes periódicos internacionais. Apresenta as referências bibliográficas contidas nos periódicos e informa os trabalhos que os citaram (acesso pelo SIBI/USP).

3.1.3.2 Boletins Epidemiológicos

- a) **BEPA - Boletim Epidemiológico Paulista:** publicação mensal da Coordenadoria de Controle de Doenças, órgão da Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP), disponível na versão html e pdf, veicula artigos relacionados aos agravos à saúde pública ocorridos nas diversas áreas de controle, assistência e diagnóstico laboratorial do Sistema Único de Saúde do Estado de São Paulo – SUS, SP (acesso pelo site http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa_apre.htm.);
- b) **Boletim Eletrônico Epidemiológico:** publicação da Secretaria de Vigilância em Saúde, SVS, do Ministério da Saúde. Divulga dados das doenças de notificação compulsória e análises sobre aspectos epidemiológicos relevantes, cumprindo o papel de retro-alimentar as unidades notificadoras para a disseminação destas informações a todas as instituições gestoras do Sistema Único de Saúde - SUS e profissionais de saúde (acesso pelo site <http://portal.saude.gov.br>).

3.1.4 Palavras-chave

As pesquisas nas bases de dados bibliográficos foram realizadas utilizando idiomas em português e inglês para os termos: surtos de toxoplasmose humana (*human toxoplasmosis outbreak*).

3.2 Critérios de inclusão de estudos

Os seguintes critérios foram estabelecidos para nortear a inclusão dos artigos:

- a) Artigos que relatassem surtos epidêmicos de toxoplasmose humana;
- b) Artigos que relatassem a forma infectante provável do *T.gondii* envolvida no surto da doença humana;
- c) Artigos que descrevessem o quadro clínico da doença em indivíduos envolvidos no surto;
- d) Não houve restrição quanto ao desenho dos estudos epidemiológicos e a época de ocorrência do surto, desde que este tivesse preenchido os três critérios supracitados;
- e) Artigos e resumos publicados no idioma português e inglês;
- f) Artigos publicados em periódicos nacionais e internacionais indexados nas bases de dados: Cochrane, Embase, Food Sciences & Tech Abstracts, Lilacs, PubMed, Scopus e Web of Science;
- g) Artigos publicados no Boletim Epidemiológico Paulista (BEPA) e Boletim Eletrônico Epidemiológico – SVS;
- h) Resumos publicados em Anais de Congressos nacionais e internacionais nas áreas de medicina tropical, infectologia, epidemiologia, parasitologia e protozoologia;

- i) Busca de informações adicionais nas referências bibliográficas dos estudos relevantes obtidos nas bases de dados supracitadas.

A documentação dos resultados de cada busca foi feita com detalhes, garantindo sua reprodutibilidade. Assim, para cada pesquisa realizada, foram registradas as seguintes informações: título da base de dados, título do artigo, periódico onde foi publicado, número, volume, páginas, resumo e palavras-chave. Ao final das buscas, os resultados foram unificados e armazenados em um banco de dados para facilitar o processo de análise e síntese.

A seleção inicial foi realizada a partir da análise do título e dos resumos dos estudos e teve como objetivo a caracterização da produção científica na área. Foi conduzida por meio de formulário padronizado especialmente construído para o presente estudo (Apêndice A). A leitura dos resumos e extração dos dados foi realizada pelo revisor A e a checagem das inclusões e exclusões pelo revisor B. Divergências ocorridas nesta fase foram solucionadas com a inclusão do estudo à etapa seguinte, permitindo assim decisão posterior. Os dados registrados pelos dois avaliadores nos formulários de análise de elegibilidade foram inseridos com dupla digitação em planilhas do Excel (Microsoft, 2007).

3.3 Identificação de dados utilizáveis e criação de tabela comparativa

Os dados de cada artigo foram extraídos de maneira padronizada por meio do instrumento para caracterização e extração de dados por dois leitores independentes. Como elemento de discriminação, utilizamos a forma infectante do agente atribuída pelos autores. Alguns dados demográficos foram categorizados, como predominância do sexo masculino, predominância de faixa etária < 15 anos ou predominância de faixa etária > 25 anos. Este processo também foi utilizado para definição das fontes de infecção como contato com água, ingestão de carnes,

ingestão de vegetais ou contato com solo contaminado e sua disseminação ambiental, atribuída a uma fonte local limitada ou a uma transmissão ampla para a população em risco. Foram também categorizados os dados clínicos sumários recuperáveis dos artigos, como a presença de casos agudos e a referência a outras formas clínicas da toxoplasmose. Não foram categorizados os dados de distribuição geográfica por continente e o ano de ocorrência dos surtos. Dados quantitativos foram obtidos para caracterização do número de casos confirmados por surto, fração de casos sintomáticos desta população, população de risco de infecção no surto e a porcentagem desta população com infecção confirmada. O período de incubação, atribuído para a doença aguda pelos autores, foi analisado de forma direta, sem nenhum processamento para estes dados.

O banco de dados reavaliado por dois observadores foi analisado para comparação dos valores das variáveis categóricas e numéricas, agrupando-se os trabalhos quanto à forma infectante do agente atribuída ao surto pelos autores, utilizando o programa Statistica 9.0 para análise.

4 RESULTADOS

4.1 Busca e seleção dos artigos científicos

Os dados da caracterização da produção científica sobre surtos epidêmicos de toxoplasmose estão apresentados em tabelas, em frequência absoluta e relativa. O processo de seleção dos artigos foi abrangente, com ampla estratégia de busca, utilizando-se 08 bases eletrônicas de dados, 02 coleções de boletins epidemiológicos, além de anais de congressos científicos de áreas correlatas. Na busca eletrônica inicial, foram identificados 431 estudos, dos quais somente 269 (62,41%) eram únicos, ou seja, foram removidos 162 (37,59%) estudos repetidos (Quadro 1). Para remoção dos estudos repetidos foi utilizado o critério de manter o estudo da base que contivesse maior detalhamento do estudo.

FSTA, Scopus e PubMed foram as bases de dados eletrônicas que apresentaram o maior número de publicações (31,32%; 27,14% e 23,67%, respectivamente), seguidas pela Embase (12,52%) e Web of Science (3,01%).

As bases de dados menos representativas foram Lilacs (0,23%) e CCTR (0,23%). Com relação aos boletins epidemiológicos, o Boletim Eletrônico Epidemiológico da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde apresentou um maior número de publicações de surtos de toxoplasmose (1,16%) em relação ao BEPA (0,23%). Os Anais de congressos em áreas correlatas representaram 0,46% das publicações totais.

Os 269 artigos, inicialmente selecionados, foram avaliados segundo os critérios de elegibilidade a partir da análise do título e do resumo de cada estudo. Ao final desta etapa, foram selecionados 55 (20,45%) artigos e excluídos 214 (79,55%) artigos. Embora a base FSTA tenha apresentado o maior número de artigos na busca inicial, os estudos contidos neste banco de dados foram excluídos

quase que na sua totalidade durante a etapa da análise de elegibilidade por abordarem somente aspectos zoonóticos e de prevenção da toxoplasmose humana e animal, sem descrição de surtos epidêmicos.

Dos 214 artigos excluídos, 75 (35,04%) relatavam apenas aspectos zoonóticos e de prevenção da toxoplasmose humana e animal, 22 (10,28%) abordavam somente técnicas de detecção de *T.gondii* na água e alimentos, 46 (21,49%) avaliavam métodos sorológicos, moleculares e estudos de soroprevalência da toxoplasmose, 07 (3,27%) restringiram-se à descrição da forma clínica e/ou tratamento da doença, 15 (7%) relatavam outras doenças infecciosas e parasitárias, sobretudo em indivíduos imunossuprimidos, 05 (2,33%) versavam sobre revisões ou estudos descritivos em toxoplasmose, sem descrição de surtos epidêmicos, 10 (4,67%) abordavam doenças transmitidas por água ou alimentos, mas sem descrição de surtos e 34 (15,89%) estavam relacionados com estudos sobre imunogenicidade, características estruturais, genotipagem e biologia do agente, sem relação com surtos epidêmicos da doença.

Os avaliadores procederam à leitura na íntegra dos 55 artigos elegíveis, sendo que 27 (49,10%) foram mantidos na revisão sistemática por atenderem a todos os critérios de elegibilidade e 28 (50,90%) artigos foram excluídos (Quadro 1).

Quadro 1 - Etapas do processo de seleção dos estudos obtidos de bases eletrônicas. São Paulo, 2012.

Dos 28 artigos excluídos, 05 (17,86%) restringiram-se à descrição da forma clínica, 13 (46,43%) não descreveram o período de incubação dos casos, 06 (21,43%) abordaram doenças transmitidas por água ou alimentos, mas sem descrição completa de surtos, 04 (14,28%) estavam relacionados apenas com a caracterização do agente ou dados laboratoriais.

Durante a leitura dos 55 artigos, foi possível identificar na revisão bibliográfica dos mesmos, 06 estudos sobre surto epidêmico de toxoplasmose que não haviam sido identificados no banco de dados das bases eletrônicas pesquisadas. Assim, procedeu-se à busca e localização destes artigos junto à BIREME. Os artigos foram lidos na íntegra e optou-se pela inclusão dos mesmos na revisão sistemática, já que atendiam aos critérios de elegibilidade. Desta forma, foram incluídos na revisão sistemática 33 artigos, sendo 27 (82%) obtidos das

bases eletrônicas supracitadas e 06 (18%) das revisões bibliográficas dos artigos selecionados das bases de dados (Quadro 1).

Dos 33 artigos incluídos na revisão sistemática, 02 estudos descreveram mais de um surto epidêmico da doença humana (Choi et al.,1997; Luft e Remington, 1984). Assim, foram extraídos do primeiro artigo, 02 surtos de toxoplasmose humana (Choi et al.,1997) e do segundo, 05 surtos (Luft e Remington, 1984). Por essas razões, a revisão sistemática resultou no estudo de 38 surtos, descritos em 33 artigos (Tabela 1).

Tabela 1 - Relação dos artigos incluídos na revisão sistemática. São Paulo, 2012.

Autor/Ano	Título	Fonte
Balasundaram et al., 2010	Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients.	Arch Ophthalmol. 2010; 128 (1): 28-32.
Benenson et al., 1982	Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water.	N Engl J Med. 1982; 307 (11): 666-9.
Bonametti et al., 1997	Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino.	Rev Soc Bras Med Trop. 1996; 30 (1): 21-5.
Bowie et al., 1997	Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team.	Lancet .1997; 350 (9072): 173-7.
Carmo et al., 2010	Surto de Toxoplasmose humana no Distrito de Monte Dourado, Município de Almeirim, Pará, Brasil.	Rev Pan-Amaz Saude. 2010; 1(1): 61-6.
Center for Disease Control 1975	Toxoplasmosis-Pennsylvania.	MMWR.1975; 24(34): 285-6.
Chiari et al., 1984	Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra.	Mem Inst Oswaldo Cruz. 1984; 79(3): 337-340.
Choi et al., 1997	Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis.	J Infect Dis. 1997; 175 (5): 1280-82.
de Almeida et al, 2006	Surto intrafamiliar de Toxoplasmose, Santa Vitória do Palmar-RS, Julho de 2005.	Bol Eletron Epidemiol. [Internet] 2006 [citado 2012 Set 14];6(3):1-7. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_03_.pdf .
de Moura et al., 2006	Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene.	Emerg Infect Dis. 2006;12(2): 326-9.
De Silva et al., 1984	A family outbreak of toxoplasmosis: A serendipitous finding.	J Infect.1984;8 (2):163-7.
Demar et al., 2007	Fatal outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: Epidemiological, clinical, and parasitological aspects.	Clin Infect Dis. 2007;45(7):88-95.
Doganci et al., 2006	A probable outbreak of toxoplasmosis among boarding school students in Turkey.	Clin Microbiol Infect. 2006;12(7): 672-4.

Eduardo et al., 2006	Investigação do surto de toxoplasmose associado ao consumo de prato à base de carne. crua ("steak tartar"), nos municípios de São Paulo e Guarujá, SP, Novembro de 2006.	BEPA [internet] 2007. [citado 2012 Set 14];4(41). Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa41_toxoplas.htm .
Ekman et al., 2012	Case-control study of na outbreak of acute toxoplasmosis in an industrial plant in the state of Sao Paulo, Brazil.	Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2012;54(5):239-44.
Fertig et al., 1977	Tetracycline treatment in a food borne outbreak of toxoplasmosis.	B M J.1977;1(6068):1064.
Gattás et al., 2000	Acute toxoplasmosis outbreak at Campus of the University of Sao Paulo related to food or water oocyst contamination.	Annals of the International Conference on Emerging Infectious Diseases. Atlanta: Georgia; 2000. p.135.
Humphreys et al., 1986	Toxoplasmosis: a family outbreak.	Ir Med J. 1986;79(7):191.
Kean et al., 1969	An epidemic of acute toxoplasmosis.	J Am Med Ass.1969;208(6):1002-04.
Luft e Remington, 1984	Acute <i>Toxoplasma</i> infection among family members of patients with acute lymphadenopathic toxoplasmosis.	Arch Intern Med.1984;144: 53-6.
Madeira e Búrigo, 2005	Surto de Toxoplasmose no município de Agronômica em Santa Catarina.	Estudos e Avaliação [Internet]. Florianópolis: Secretaria de Estado de Saúde, s.d.[citado 2012 Set 14] 3p. Disponível em: http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/articulacao_tecnica/toxoplasmose-boletim-epidemiológico.pdf .
Magaldi et al., 1969	Epidemic of toxoplasmosis at a university in São-José-dos Campos, S.P. Brazil. 1. Clinical and serologic data.	Rev Latinoam Microbiol Parasitol (Mex).1969;11(1):5-13.
Masur et al., 1978	Outbreak of toxoplasmosis in a family and documentation of acquired retinochoroiditis.	Am J Med.1978;64 (3):396-402.
McDonald et al., 1990	An outbreak of toxoplasmosis in pregnant women in northern Quebec.	J Infect Dis. 1990;161(4):769-4.
Palanisamy et al., 2006	Outbreak of ocular toxoplasmosis in Coimbatore, India.	Indian J Ophthalmol.2006;54(2):129-31.
Renoier et al., 2007	Surto de Toxoplasmose Adquirida, Anápolis – GO, fevereiro de 2006.	Bol Eletron Epidemiol. [Internet] 2007 [citado 2012 Set 14]; 7 (8):1-6. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_eletronico_08_07.pdf

Robson et al., 1995	A Probable Foodborne outbreak of toxoplasmosis.	Commun Dis Intell.1995; 19(21):517-22.
Sacks et al., 1982	Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk.	J Am Med Assoc.1982;248 (14):1728-32.
Sacks et al., 1983	Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison.	Am J Epidemiol. 1983;118 (6): 832-8.
Shenep et al., 1984	An outbreak of toxoplasmosis on an Illinois farm.	Pediatr Infect Dis.1984;3(6): 518-22.
Skinner et al., 1990	Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family.	Scand J Infect Dis.1990;22:359-61.
Stagno et al., 1980	An outbreak of toxoplasmosis linked to cats.	Pediatrics.1980; 65(4):706-712.
Teutsch et al., 1979	Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats.	N Engl J Med.1979;300(13):695-9.

4.2 Descrição dos surtos relatados nos artigos selecionados

4.2.1 Surtos de transmissão por oocistos de *T.gondii*

Foram selecionados 18 surtos de transmissão por oocistos, dos quais 27,78% (5/18) são nacionais e 72,22% (13/18) são mundiais. Em relação ao modelo epidemiológico de estudo, 72,23% (13/18) foram descritivos, 22,22% (4/18) foram caso controle e 5,56% (1/18) foram série de casos.

4.2.1.1 Surtos nacionais

Em maio de 1999, 113 estudantes do campus universitário da USP, em São Carlos, São Paulo, apresentaram toxoplasmose aguda, com sinais de linfadenopatia, sendo que um dos casos também apresentou doença ocular. O surto foi associado à ingestão de água contaminada com oocistos de *T. gondii* no restaurante da Universidade (Gattás et al., 2000). Na ocasião do surto, havia mais de 200 gatos vivendo no campus. Uma das medidas de controle proposta foi a utilização de filtros de 2 µm na caixa d'água para retenção de oocistos de *T. gondii*. Após a adoção desta medida e do controle populacional dos gatos, não foram mais registrados casos de toxoplasmose no campus.

Madeira e Búrigo (2005) relataram um surto de toxoplasmose no município de Agronômica, Santa Catarina, no qual foram identificados nove casos de toxoplasmose aguda. Foi realizado um estudo descritivo, através da aplicação de questionário padronizado para todos os casos confirmados e mapeamento das residências envolvidas no surto com identificação da origem das fontes de abastecimento de água. Em relação à distribuição dos casos, 55% foram do sexo masculino, com mediana de idade de 24 anos, sendo que os principais sintomas

relatados foram febre (100%), cefaléia (100%), cansaço e fraqueza (100%), perda de apetite (100%) e linfadenopatia (85%). Não foram descritos casos de transmissão congênita. Em relação aos fatores de exposição e o local provável de infecção, verificou-se que todos os casos (n=9) tiveram fonte de exposição comum, que foi a ingestão de água não tratada proveniente de uma nascente, conhecida como “Nascente da Gruta”. Pela investigação foi constatado que os pacientes não tiveram nenhuma outra fonte comum de exposição de risco para contrair a toxoplasmose.

Um dos maiores surtos de toxoplasmose clínica, descrito na literatura científica, ocorreu em Santa Isabel do Ivaí, Paraná (de Moura et al., 2006). O surto atingiu o pico entre novembro de 2001 e janeiro de 2002. Um total de 426 pessoas apresentaram IgM e anticorpos IgG para *T. gondii* num total de 2884 sorologicamente testadas (população da área 6771 habitantes). Deste total, apenas 176 indivíduos foram confirmados como casos, sendo que 156 participaram do estudo caso-controle. Os principais sintomas foram dor de cabeça (87%), febre (82%), mialgia (80%), linfadenopatia (75%), anorexia (69%), artralgia (61%), suores noturnos (53%), vômitos (38%) e erupção cutânea (7%) (de Moura et al. 2006). Posteriormente, 408 pacientes deste surto foram examinados para lesões oculares e anticorpos IgG e IgM anti-*T.gondii*, sendo que 18 apresentaram lesões típicas da retinocoroidite (15 unilaterais e 3 bilaterais), 24 tiveram lesões superficiais atípicas de retina. Dez mulheres soroconverteram durante a gravidez, sendo que seis bebês nasceram com toxoplasmose congênita (4 com lesões oculares e 1 com sinais neurológicos). Uma mulher apresentou lesões em ambos os olhos e ambos os olhos de seu filho também foram afetados (Silveira, 2002; Dubey, 2010a). Este surto foi epidemiologicamente relacionado a uma cisterna que abastecia o reservatório municipal. *T. gondii* viável foi isolado em amostra de água armazenada na caixa d'água de uma escola municipal (de Moura et al., 2006). Este trabalho

corresponde ao primeiro surto descrito na literatura com isolamento e caracterização genética de *T.gondii* em amostras de água. *T. gondii* também foi isolado de um gato que vivia na cisterna de água do reservatório municipal contaminado e de gatos domésticos que viviam em casas ao redor da cidade (Dubey et al., 2004). Isolados de *T.gondii* foram obtidos, ainda, de galinhas criadas no centro da cidade e áreas adjacentes de Santa Isabel do Ivaí (Dubey et al., 2003b). Embora não tenha sido feita nenhuma tentativa de isolamento do *T. gondii* a partir de indivíduos doentes, foi realizado um estudo soroepidemiológico, com peptídeos sintéticos, visando a tipagem dos soros dos pacientes relacionados ao surto (Vaudaux et al., 2010).

Carmo et al. (2010) relataram um surto de toxoplasmose humana ocorrido no Distrito de Monte Dourado, Município de Almeirim, Pará. Após diagnóstico confirmatório de cinco pacientes índices com sintomas sugestivos de toxoplasmose aguda, foi realizada uma investigação clínica e epidemiológica de toxoplasmose na localidade de procedência dos pacientes. Foram avaliados 186 indivíduos, incluindo pacientes sintomáticos, seus familiares e/ou contatos próximos. Estes indivíduos foram submetidos a um inquérito epidemiológico, avaliação clínica e sorológica. Os resultados sorológicos demonstraram que 21,5% (40/186) dos indivíduos tinham perfil compatível com toxoplasmose aguda. Destes indivíduos, 85% (34/40) apresentaram manifestações clínicas clássicas, 12,5% (5/40) informaram sintomatologia inespecífica e 2,5% (1/40) não manifestaram sintomas. A análise epidemiológica indicou que os casos estavam vinculados à infecção com oocistos eliminados pelos gatos, cuja população era elevada no local do surto. A hipótese provável de transmissão seria pelo contato direto com oocistos presentes no solo. A possibilidade de transmissão hídrica por meio do sistema de distribuição de água local foi descartada, já que o sistema era inacessível aos gatos.

Recentemente, Ekman et al. (2012) descreveram um surto de toxoplasmose em uma indústria da região de Araraquara, São Paulo, com a identificação de 11 casos agudos da doença. No início da investigação, foram identificados nove indivíduos com doença aguda semelhante à toxoplasmose. Estes pacientes e outros 36 funcionários assintomáticos foram incluídos em um estudo caso controle para investigação epidemiológica e diagnóstico laboratorial por ELISA para determinação dos títulos de IgM e IgG e avides de IgG anti-*T. gondii*. Após detecção da avides de IgG, foram identificados 14 pacientes com toxoplasmose crônica e alta avides, sendo 13 controles e um indivíduo com doença aguda não relacionada à infecção por *T. gondii*. Foram identificados, ainda, três indivíduos assintomáticos com infecção aguda por *T.gondii*, que apresentaram altos títulos de IgM e baixa avides de IgG anti-*T.gondii* no ELISA. Assim, após avaliação sorológica, os indivíduos foram reclassificados, sendo 11 casos e 20 controles, resultando numa taxa de infecção de 35,5% (11/31), excluindo-se os indivíduos cronicamente infectados. A incidência de infecções assintomáticas foi de 9,67% (3/31), sendo que 27% (3/11) dos indivíduos infectados foram assintomáticos. Os sintomas mais frequentes foram febre (9/11 = 81.81%), sudorese noturna (9/11 = 81.81%), astenia (9/11 = 81.81%), mal estar (9/11 = 81.81%), linfadenopatia (7/11 = 63.64%), dor de cabeça (7/11 = 63.64%), perda de apetite (6/11 = 54.55%) e mialgia (6/11 = 54.55%). A ingestão de vegetais foi associada com a incidência da doença aguda. Esses dados reforçam a importância do controle sanitário em restaurantes industriais e também demonstram a necessidade de melhoria no controle de qualidade sobre vegetais em risco de contaminação por oocistos de *T. gondii*.

4.2.1.2 Surtos mundiais

Teutsch et al. (1979) descreveram um surto de toxoplasmose que ocorreu entre freqüentadores de um estábulo de montaria em Atlanta, Geórgia, onde 37 pessoas apresentaram sintomatologia característica ou soroconverteram na reação de imunofluorescência indireta (IFA). Cerca de 95% (35/37) dos casos foram sintomáticos. Foram realizados testes de IFA para pesquisa de IgM. Febre, dor de cabeça e linfadenopatia foram diagnosticados em 80% dos casos. *T.gondii* foi isolado de tecidos de cinco de sete gatos e de quatro roedores capturados no local. Os dados epidemiológicos apontaram os oocistos eliminados pelos gatos infectados como a fonte provável de infecção, sendo que os autores relataram que os oocistos presentes no solo poderiam ter sido transmitidos tanto por via aerógena como por ingestão devido à contaminação das mãos.

Stagno et al. (1980) descreveram um surto de toxoplasmose que ocorreu em 1976 em uma família de 30 membros (14 adultos, 5 crianças em idade escolar e 11 crianças com idade pré-escolar), residentes no município de Dothan, Alabama, EUA. O caso índice foi uma criança de 3,5 anos de idade que apresentou abscessos cerebrais, retinocoroidite, convulsões, déficits neurológicos, hepatoesplenomegalia, pneumonite e eosinofilia. Toxoplasmose foi confirmada pela demonstração de *T.gondii* no líquido cefalorraquidiano. Quatro semanas após a detecção do caso índice, foram obtidas amostras de sangue de 12 adultos e de todas as crianças. Amostras de sangue também foram obtidas de 10 controles (crianças em idade pré-escolar), pareadas por idade e sexo com 10 das 11 crianças em idade pré-escolar da família estudada. As amostras de soro foram avaliadas por imunofluorescência indireta para pesquisa de anticorpos anti-*T.gondii*. Foram realizados dois ensaios sorológicos (sorologia pareada), sendo o primeiro na ocasião do surgimento do caso índice e o segundo após três meses do início do surto. Amostras de solo

foram avaliadas para detecção de oocistos de *T.gondii*, através de pesquisa microscópica e inoculação em camundongos. Dos 28 membros da família avaliados sorologicamente, 57% apresentaram evidência de infecção por *T.gondii*. A maior taxa de soropositividade (68%) ocorreu em crianças com idade pré-escolar. No início da triagem sorológica, todas as crianças com idade escolar foram soronegativas, porém três meses após a primeira investigação, foram realizados novos ensaios sorológicos e 3 de 12 indivíduos que tinham sido soronegativos soroconverteram para *T.gondii*, sendo 2 crianças em idade escolar e um adulto. Nove destes pacientes tinham apresentado sintomas clínicos sugestivos de toxoplasmose. Evidências epidemiológicas apontaram a ingestão de oocistos como fonte de infecção. Geofagia foi associada estatisticamente com toxoplasmose aguda entre as crianças infectadas.

Benenson et al. (1982) descreveram um surto de toxoplasmose em soldados americanos que realizaram treinamento de campo, em área de mata, no Panamá. Duas semanas após retornarem do treinamento, 39 dos 98 soldados apresentaram doença febril. Três indivíduos foram hospitalizados e 18 tiveram que se ausentar do trabalho por 48 a 72 horas. Foi realizado um questionário para todos os soldados sobre as suas atividades e eventuais sintomas de doença durante o treinamento a campo. Foram realizados testes de imunofluorescência indireta (IFA) para pesquisa de IgM, sendo confirmados 31 casos. Destes, 91% foram sintomáticos, sendo febre (90%), calafrios (87%), dor de cabeça (77%) e mal estar (74%) os principais sintomas relatados. Evidências epidemiológicas indicaram que a infecção ocorreu pela ingestão de água contaminada por oocistos de *T.gondii* durante o treinamento de campo.

Luft et al. (1984) descreveram quatro surtos de toxoplasmose aguda intrafamiliar, dos quais três foram relatados nos EUA (Califórnia, Pensilvânia e Washington) e um na Venezuela. Nos quatro surtos descritos, mais de um membro

de cada família apresentou evidência sorológica de infecção aguda recente (ELISA – IgM e Dye Test). Linfadenopatia foi o sintoma descrito com maior frequência nos diferentes surtos. Os autores relatam o contato com o solo contaminado com oocistos de *T.gondii* como a fonte provável de infecção nos quatro surtos descritos.

Surto de toxoplasmose entre familiares também foi descrito por Shenep et al. (1984) em Illinois, EUA. Duas crianças gêmeas que residiam em uma fazenda foram hospitalizadas com quadro de linfadenopatia cervical e devido à ocorrência simultânea de dois casos na mesma família, foi conduzida uma investigação prospectiva com os outros 11 membros da família. Cerca de um mês após a hospitalização das crianças, 7 outros membros da família apresentaram evidência sorológica de toxoplasmose aguda, sendo que quatro indivíduos foram sintomáticos. Evidências epidemiológicas sugeriram que o surto foi relacionado com o contato com as fezes de gato.

Em 1995, ocorreu um surto com descrição de 100 casos de toxoplasmose aguda em Greater Victoria, British Columbia, Canadá (Bowie et al., 1997). Os casos foram definidos por critérios sorológicos, clínicos e epidemiológicos. Foi conduzido um programa de triagem sorológica de mulheres gestantes. Paralelamente, foi realizado mapeamento geográfico dos casos e um estudo caso-controle com indivíduos sintomáticos e gestantes. Do total de casos, 19 indivíduos desenvolveram retinocoroidite, 51 apresentaram linfadenopatia, 4 tiveram outros sintomas consistentes com toxoplasmose aguda, 18 foram assintomáticos e um indivíduo não forneceu informações sobre os sintomas desenvolvidos durante o quadro agudo da doença. Em relação à triagem de gestantes, do total de 3812 participantes, 36 foram definidas como caso. Os estudos de mapeamento e de caso controle mostraram associações significantes entre infecção aguda e o fato dos casos residirem próximo a um dos reservatórios de abastecimento de água de Greater Victoria. Nenhum caso foi identificado fora das imediações deste

reservatório. Embora não tenham sido isolados oocistos, os achados epidemiológicos atribuíram a água do reservatório municipal como fonte de infecção do surto. Vários fatores presentes no sistema de distribuição de água de Greater Victoria favoreceram o acometimento deste surto, entre eles, o acesso de felinos domésticos e selvagens ao reservatório, o uso de produtos químicos não efetivos na desinfecção primária e a precariedade do sistema de filtração da água do município.

Doganci et al. (2006) descreveram um surto de toxoplasmose em estudantes que viviam em um internato em Izmir, Turquia, em 2002. Um total de 171 de 1797 estudantes do internato apresentaram sintomas brandos ou inespecíficos de toxoplasmose, com anticorpos IgM e IgG anti-*T.gondii* por ELISA. Os autores selecionaram de forma randômica 43 casos que foram avaliados para avidéz de IgG por Elisa. Destes, 40 (93%), apresentaram baixa avidéz de IgG, confirmando infecção aguda recente. Os dados epidemiológicos atribuíram o contato com a caixa de areia dos gatos que viviam na escola como fonte de infecção dos estudantes.

Em 2004, Palanisamy et al. (2006) descreveram um surto de toxoplasmose ocular em Coimbatore, Índia. Os autores relatam que os pacientes com uveíte clínica estavam sendo avaliados sorologicamente para *T.gondii* desde 2001, porém em 2004 verificaram um aumento significativo de casos de doença ocular com sorologia positiva para *T.gondii*, tanto para pesquisa de anticorpos IgM como IgG por ELISA. De um total de 249 amostras triadas em 2004, 178 tinham altos títulos de IgM e IgG e 4 casos apresentaram apenas anticorpos IgM. Todas as faixas etárias foram afetadas, mas a maioria dos casos ocorreu na faixa de 20 anos de idade. Os dados epidemiológicos da investigação apontaram a água do reservatório municipal como a fonte provável de transmissão do surto. Os autores prosseguiram com as investigações dos casos de uveítes na região e, em 2010, descreveram um

surto com 248 casos de toxoplasmose ocular adquirida no sul da Índia, sendo que a maioria dos pacientes 84,27% (209/248) residia em Coimbatore (Balasundaram et al., 2010). Este estudo foi caracterizado pelos autores como retrospectivo observacional com descrição de série de casos. Os casos foram definidos a partir de achados recentes de envolvimento da retina, sem evidências de retinocoroidite prévia ao exame clínico, e com sorologia positiva para *T.gondii*. Os dados epidemiológicos mostram que 95,56% (237/248) dos casos recebiam água do mesmo reservatório municipal de abastecimento. Dos indivíduos infectados, 97,58% (242/248) não eram vegetarianos, mas consumiam carnes de frango e cordeiro bem cozidas e somente 5 pacientes (2%) tinham gatos em casa. Assim, os autores atribuíram a ingestão da água contaminada com oocistos como a fonte de transmissão do surto, como já havia sido sugerido no estudo anterior em Coimbatore.

Demar et al. (2007) descreveram um surto com casos fatais de toxoplasmose humana em Patam, pequena vila rural do Suriname, próxima à divisa com a Guiana Francesa e o rio Maroni numa região circundada pela floresta amazônica. Entre dezembro de 2003 e janeiro de 2004, cinco pacientes adultos, incluindo 2 gestantes, que viviam na vila foram hospitalizados com quadro de toxoplasmose generalizada em um hospital da Guiana Francesa. Uma investigação epidemiológica foi conduzida na vila, incluindo exames clínicos e sorológicos, além de pesquisas para isolamento de *T.gondii* em amostras ambientais de solo e fezes de felinos selvagens que viviam próximo ao vilarejo. Para todos os casos confirmados sorologicamente, foram realizadas análises moleculares e bioensaio em camundongo, a partir de amostras de sangue periférico, para pesquisa e isolamento de *T.gondii*. Foram reportados 11 casos de toxoplasmose aguda, sendo oito casos em adultos imunocompetentes, resultando em um óbito, dois casos de toxoplasmose congênita letal e um caso sintomático em uma criança. As análises

moleculares por PCR demonstraram que isolados de cepas atípicas foram responsáveis por pelo menos 5 de 11 casos de toxoplasmose do surto. Este trabalho corresponde ao primeiro surto descrito na literatura com isolamento e caracterização genética de amostras humanas, mostrando que as cepas isoladas foram altamente virulentas. Embora não tenham sido isolados oocistos do solo e de fezes de felinos selvagens, os dados epidemiológicos atribuem o contato com oocistos ambientais como a fonte de infecção humana.

4.2.2 Surto de transmissão por cistos de *T.gondii*

A importância da ingestão de carne com cistos como forma de transmissão de *T.gondii* em surtos epidêmicos de toxoplasmose foi descrita em 17 surtos, dos quais 29,41% (5/17) são nacionais e 70,59% (12/17) são mundiais. Em relação ao modelo epidemiológico de estudo, 88,24% (15/17) foram descritivos e 11,76% (2/17) foram coorte retrospectiva.

4.2.2.1 Surto nacionais

Foram identificados na revisão 5 surtos nacionais de transmissão por cistos, representando 29,41% (5/17) do total de relatos de surtos atribuídos a esta forma de transmissão do *T.gondii*.

O primeiro relato de surto de toxoplasmose por ingestão de cistos de *T.gondii*, no Brasil, foi realizado em 1966 por Magaldi et al. (1969) em uma universidade de São José dos Campos, São Paulo. Foram descritos 110 casos (96 estudantes e 14 não estudantes). Os principais sintomas descritos foram febre de curta duração, astenia e linfadenopatia. A infecção foi confirmada sorologicamente por imunofluorescência indireta e reação de Sabin-Feldman (Dye test),

considerando como positivo títulos $\geq 1:4000$. Foram realizadas pesquisas de *T.gondii* em amostras de aspirados de linfonodos, fezes e saliva dos pacientes através de inoculação em camundongos, mas não obtiveram amostras positivas. Os autores relatam a possibilidade de transmissão pela ingestão de carne mal cozida, contaminada por cistos, embora não tenha sido realizada pesquisa de *T.gondii* na carne consumida pela população do campus universitário durante o surto. Os autores não mencionam a espécie animal, cuja carne poderia estar implicada no surto.

Bonametti et al. (1997) descreveram um surto de toxoplasmose aguda transmitido pela ingestão de cistos de *T.gondii*. Foram relatados 17 casos agudos sintomáticos adquiridos pela ingestão de carne de carneiro crua durante uma festa no Paraná, em setembro de 1993. Todos os indivíduos apresentaram febre, cefaléia, mialgia, artralgia e linfadenopatia cervical. Um indivíduo desenvolveu também retinocoroidite. Entre estes pacientes estavam uma mãe com o filho, sendo que a criança evoluiu com febre, mal-estar, irritabilidade, e apresentou anticorpos IgG e IgM. A doença da mãe começou 3 semanas antes da criança adoecer e como a criança era alimentada exclusivamente com leite materno, a via de transmissão foi associada ao aleitamento materno. Todos os pacientes apresentaram títulos séricos de anticorpos específicos (IgG e IgM), pela reação de imunofluorescência indireta, evidenciando fase aguda de infecção.

de Almeida et al. (2006) descreveram um surto intra familiar de toxoplasmose em Santa Vitória do Palmar, RS. Foi realizado estudo de coorte retrospectiva, com utilização de questionário padrão, contendo variáveis demográficas, quadro clínico e hábitos alimentares. Todos os membros da família e alguns visitantes que realizaram refeições em conjunto foram entrevistados. Dez pessoas da mesma família apresentaram toxoplasmose aguda e considerando-se apenas os suscetíveis, a taxa de ataque desse surto foi de 62,5% (10/16). Todos os

pacientes tiveram diagnóstico confirmado por exames laboratoriais. Os principais sintomas descritos foram mialgia (100%), linfadenopatia (80%), cefaléia (75%), mal estar (75%) febre (70%) e sudorese noturna (70%). Um dos pacientes apresentou lesão ocular, com evolução rápida e acentuada diagnosticada três meses após o início dos sintomas. Houve um caso de toxoplasmose adquirida pelo aleitamento em uma criança de dois meses de idade, alimentada exclusivamente com leite materno. A mãe teve sintomas da toxoplasmose aguda, incluindo febre, um mês após o parto. Os autores atribuíram à ingestão de embutido de carne suína tipo “copa” como fonte de infecção do surto entre os familiares.

Renoier et al. (2007) relataram surto de toxoplasmose em Anápolis-GO, com 61 casos confirmados laboratorialmente. Os autores realizaram um estudo de coorte retrospectiva identificando como fator de risco para aquisição da infecção a ingestão de quibe cru, servido em uma festa de confraternização de Natal da Polícia Civil em dezembro de 2005. Das seis gestantes que participaram da festa, duas (33,3%) tiveram toxoplasmose adquirida e foram tratadas durante a gestação, sendo que uma das crianças nasceu com calcificação intracraniana, em decorrência da doença aguda materna. A taxa de ataque de toxoplasmose adquirida nesse surto foi de 19,4% (61/315). Dos doentes, 55,7% eram do sexo masculino e 90% (43/61) tinham entre 20 e 59 anos de idade. Em relação à sintomatologia, 97% dos doentes (59/61) foram sintomáticos, sendo que os principais sinais e sintomas foram fraqueza (88%), febre (85%), cefaléia (81%), linfadenopatia (78%), mialgia (68%), alterações visuais (63%), artralgia (59%).

Eduardo et al. (2007) descreveram um surto de toxoplasmose pelo consumo de prato à base de carne crua “steak tartar”, nos municípios de São Paulo e Guarujá, SP. A investigação epidemiológica foi realizada através de entrevistas, com levantamento dos dados clínicos, laboratoriais e histórico alimentar dos casos. Foram identificados seis casos agudos da doença, entre eles, uma gestante. Os

doentes foram diagnosticados no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HC/FMUSP), sendo que um caso de toxoplasmose ocorreu no município do Guarujá e foi relacionado a mais cinco casos residentes no município de São Paulo. Os principais sintomas encontrados foram febre (100%), mialgia (83%), artralgia (67%), linfadenopatia (67%), cefaléia (50%), hepatomegalia (33%) e exantema (17%). Em relação ao histórico alimentar, verificou-se que os indivíduos doentes tinham participado de um churrasco, no qual foi servido um prato com carne bovina moída crua misturada à gema de ovo crua e diversos temperos conhecido como “steak tartar”. A carne moída foi comprada em um supermercado localizado no município do Guarujá, sendo que o distribuidor tinha sede em São Paulo. Embora a investigação epidemiológica tenha demonstrado que o “steak tartar” foi a provável fonte de transmissão do surto, não foi possível determinar em que momento a carne foi contaminada, ou seja, se durante o preparo do prato, se no estabelecimento de venda, se originalmente no processo de abate e distribuição ou na criação do gado bovino.

4.2.2.2 Surtos mundiais

Foram recuperados 12 surtos mundiais de transmissão por cistos, representando 70,58% (12/17) do total de surtos atribuídos a esta forma de transmissão do *T.gondii*.

Nos EUA, Kean et al. (1969) documentaram surto epidêmico de toxoplasmose aguda em cinco estudantes de medicina que tinham ingerido sanduíches com hambúrgueres preparados com carne bovina mal cozida. Febre, dor de cabeça, mialgia, linfadenopatia e esplenomegalia foram os sintomas clínicos mais frequentes. Todos os casos apresentaram altos títulos de anticorpos nas reações de Sabin-Feldman (Dye test) e fixação do complemento.

Em 1974, o Centro de Controle de Doenças (CDC) dos EUA, relatou um surto de toxoplasmose na Pensilvânia, com quatro casos de doença aguda. A investigação epidemiológica demonstrou que todos os doentes participaram de uma festa de casamento em um restaurante sírio. Com base no histórico alimentar de outros 15 convidados, constatou-se que todos estes indivíduos tinham ingerido “kibee Nayee”, um prato típico feito com carne bovina crua.

Fertig et al. (1977) descreveram um surto com três casos de toxoplasmose aguda em Londres. Os sintomas relatados foram dor de cabeça, linfadenopatia e mal estar. Títulos de anticorpos ($\geq 1:1024$) foram detectados pelo teste de Sabin-Feldman e títulos de IgM foram obtidos por imunofluorescência indireta. Os autores referem à ingestão de carne de cordeiro mal cozida como fonte provável da infecção do surto, já que os indivíduos não tiveram contato com gatos. Os autores relatam ainda, que a oxitetraciclina foi eficiente no tratamento clínico de um dos pacientes.

Masur et al. (1978) descreveram um surto de toxoplasmose intra familiar com ocorrência de retinocoroidite. Dos 7 indivíduos membros da família, 5 (83%) desenvolveram quadro clínico sugestivo de toxoplasmose aguda. Um indivíduo foi assintomático, mas apresentou títulos de anticorpos ($\geq 1:1024$) na reação de imunofluorescência indireta (IFA) e apenas um membro da família não adquiriu a infecção. Seis dos sete membros da família apresentaram altos títulos de anticorpos, indicando infecção recente. As principais manifestações clínicas foram febre e linfadenopatia. O caso índice apresentou também retinocoroidite focal. A investigação epidemiológica atribuiu a ingestão de carne crua de cordeiro como a fonte provável de infecção do surto.

Em 1980, Sacks et al. (1983) relataram toxoplasmose aguda em três caçadores de cervo, sendo um deles do Alabama e dois da Carolina da Sul. Os três casos apresentaram doença aguda e tiveram que ser hospitalizados. Os achados

clínicos mais freqüentes foram febre, leucopenia e testes de função hepática alterados. Dois de três pacientes apresentaram infiltrados na radiografia de tórax. Todos os indivíduos apresentaram altos títulos de anticorpos IgM na reação de imunofluorescência indireta (IFA), indicando infecção recente. Os três casos relataram que tinham consumido recentemente carne crua de veado, sendo esta a provável fonte de infecção do surto.

De Silva et al. (1984) descreveram o primeiro surto de toxoplasmose na Austrália. Os autores relataram um surto de doença aguda em 5 membros de uma família libanesa que haviam ingerido quibe cru preparado com carne moída de cordeiro. Todos os indivíduos apresentaram altos títulos de anticorpos anti-*T.gondii*. Interessante notar que os membros desta família também tiveram hepatite A e foi a partir das investigações do surto de hepatite que os autores verificaram a ocorrência de toxoplasmose aguda na família.

Luft e Remington (1984) descreveram um surto de toxoplasmose em uma família da Califórnia, EUA. Dos quatro membros da família, um desenvolveu linfadenopatia, com altos títulos de anticorpos IgM ($\geq 1:2048$) nas reações de Sabin-Feldman (Dye test) e de ELISA. Os outros três membros da família foram negativos no ELISA e na reação de Sabin-Feldman. Todos os indivíduos relataram ingestão de carne crua, sendo esta a provável fonte de infecção do surto. Os autores não relataram a espécie animal cuja carne foi associada ao surto.

Humphreys et al. (1986) também descreveram um surto de toxoplasmose intrafamiliar em três membros de uma mesma família na Irlanda. Neste surto, foram acometidos o pai de 39 anos, e duas crianças, uma de 7 anos e a outra de 10 anos. O pai e a criança de 7 anos foram sintomáticos, já a criança de 10 anos foi assintomática. A mãe não foi infectada. Todos os casos apresentaram altos títulos de anticorpos (≥ 1024) na reação de aglutinação em látex. Os achados

epidemiológicos demonstraram que a ingestão de carne bovina crua foi a provável fonte de infecção dos casos.

Em 1987, McDonald et al. (1990) descreveram um surto de toxoplasmose em gestantes do Quebec, Canadá. Durante um programa de triagem para toxoplasmose em gestantes foram identificadas quatro mulheres que soroconverteram durante a gestação e uma investigação epidemiológica foi conduzida para identificar a fonte de infecção do surto. Todos os fatores de risco foram avaliados através de um questionário aplicado às mulheres gestantes (n=22) no período do surto. A soroconversão foi associada à atividade de esfolia (p=0.015) de animais para obtenção da pele e ao consumo freqüente de carne crua de caribou (p=0.034). Outros fatores como a ingestão de carne e fígado de foca também foram avaliados, sendo que as gestantes que soroconverteram tinham quatro vezes mais chance de desenvolver a doença ao ingerirem carne de foca (p=0.067) do que as gestantes soronegativas. Em relação à ingestão de fígado de foca, as gestantes que soroconverteram tinham seis vezes mais chance de desenvolver a doença (p=0.064) do que as gestantes soronegativas. Além disso, as gestantes que soroconverteram e que se alimentaram mais de uma vez por semana com carne crua de caribou tiveram oito vezes mais chance de desenvolver a doença do que as gestantes soronegativas. Todas as gestantes que soroconverteram apresentaram altos títulos de anticorpos ($\geq 1:1024$) na reação de imunofluorescência indireta. Todas as gestantes que soroconverteram foram tratadas com espiramicina e todos os recém-nascidos de mães que soroconverteram durante a gestação foram transferidos após o nascimento para um hospital infantil em Montreal para tratamento e avaliação sorológica. Uma criança, infectada por transmissão congênita, apresentou quadro de calcificação cerebral, um cisto ventricular e retinocoroidite.

Em 1994, Robson et al. (1995) descreveram um surto de toxoplasmose aguda na Austrália, com 12 casos confirmados de doença aguda em adultos e um caso de toxoplasmose congênita. O caso índice foi uma mulher que havia ingerido carne mal passada de canguru em um restaurante em novembro de 1994, quando ela estava na 28ª semana de gestação. Em dezembro de 1994, um segundo caso de doença aguda foi relatado em um homem que havia freqüentado o mesmo restaurante do caso índice. Foi realizada uma investigação epidemiológica através de questionário para pesquisa de hábitos alimentares da população com a participação de 46 indivíduos. Trinta e oito questionários foram respondidos, com 83% (38/46) de participação. Todos os casos apresentaram títulos de anticorpos anti-*T.gondii* e os principais sintomas foram mialgias (58%), febre (50%), dor de cabeça (50%) e linfadenopatia (50%). Os dados epidemiológicos demonstraram que a ingestão de carne crua ou mal cozida de canguru foi a fonte de infecção do surto.

Choi et al. (1997) descreveram dois surtos de toxoplasmose humana envolvendo 8 pacientes adultos na Coreia. Ambos os surtos foram atribuídos à ingestão de carne suína mal cozida. No primeiro surto, ocorrido em 1994, três pacientes desenvolveram retinocoroidite unilateral após três meses da ingestão de fígado e baço crus de suínos selvagens. No segundo surto, ocorrido em 1995, 5 de 11 soldados que tinham ingerido fígado cru de suíno doméstico desenvolveram linfadenopatia. Todos os 8 casos tinham altos níveis de IgG anti-*T.gondii* ($\geq 1:1024$) nas reações de Sabin-Feldman (Dye test), teste de aglutinação modificada com β -mercaptoetanol e teste de aglutinação em látex. Estes pacientes apresentaram títulos de anticorpos IgM que persistiram por vários meses. Os pacientes apresentaram boa resposta ao tratamento com sulfadiazina e pirimetamina.

4.2.3 Surtos de transmissão por taquizoítos de *T.gondii*

A ingestão de alimentos contaminados com taquizoítos como forma de transmissão de *T.gondii* em surtos epidêmicos de toxoplasmose foi descrita em três surtos, dos quais 33,33% (1/3) são nacionais e 66,67% (2/3) são mundiais. Todos os estudos foram descritivos.

4.2.3.1 Surtos nacionais

Chiari e Neves (1984) descreveram um surto de toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra, envolvendo três membros de uma mesma família que viviam próximo a Serra do Curral em Belo Horizonte, Minas Gerais. A família mantinha no fundo do terreno da casa 15 cabras que eram ordenhadas diariamente e o leite era utilizado para consumo familiar e dos animais domésticos e, frequentemente, era ingerido sem ferver, uma vez que os animais eram considerados sadios. Anticorpos anti-*T.gondii* foram detectados nos 15 caprinos, sendo que oito animais apresentaram títulos superiores a 1:1024 e nas cinco cabras lactantes estes títulos variaram de 1:1024 a 1:32.768 na reação de imunofluorescência indireta. Taquizoítos foram isolados, por inoculação em camundongos, do leite de uma destas cabras. Os autores ressaltam que a ocorrência de casos humanos de toxoplasmose associados à ingestão de leite de cabras comprovadamente infectadas, assume uma importância particular nas áreas periurbanas e rurais, onde estes animais são criados com a finalidade de obtenção de leite para consumo doméstico.

4.2.3.2 Surtos mundiais

Sacks et al. (1982) descreveram um surto de toxoplasmose associado à ingestão de leite cru de cabra. Em 1978, membros de uma mesma família foram diagnosticados com toxoplasmose aguda na Califórnia. A pesquisa de anticorpos IgM por imunofluorescência indireta mostrou que 10 dos 24 membros da família tinham evidência sorológica de infecção aguda por *T.gondii*. O caso índice desenvolveu retinocoroidite e os outros nove indivíduos foram assintomáticos. Todos os 10 indivíduos soropositivos tinham consumido leite cru de caprinos do rebanho da família. Os dados epidemiológicos evidenciaram que o consumo de leite de cabra cru foi a fonte de transmissão do *T.gondii*, já que nenhum outro item da dieta ou fator de risco teve associação com os casos.

Skinner et al. (1990) relataram a ocorrência simultânea de toxoplasmose em cabras e familiares de criadores de cabras no Reino Unido. Quatro de seis cabras de um pequeno rebanho inglês deram à luz a cabritos fracos ou natimortos, sendo que todos os animais foram soropositivos para *T.gondii*. O parasita foi isolado dos tecidos de um dos cabritos e do leite de uma cabra. Concomitantemente, um dos filhos do proprietário das cabras desenvolveu um quadro semelhante à mononucleose, com evidência sorológica de infecção recente por *Toxoplasma*, com IgM positivo na reação de ELISA. A investigação sorológica nos demais membros da família mostrou que o outro filho do proprietário das cabras infectadas apresentava perfil sorológico compatível com infecção pregressa por *T.gondii*. Os pais foram soronegativos. Os achados epidemiológicos evidenciaram que a fonte de infecção para ambos os filhos estava relacionada ao consumo de leite de cabra não pasteurizado.

4.3 Análise dos dados

Os dados categóricos e quantitativos extraídos dos artigos da revisão sistemática estão apresentados na Tabela 2.

4.3.1 Análise dos dados categóricos

Como podemos observar na Tabela 3, não houve uma relação das formas de transmissão dos surtos com as variáveis demográficas como faixa etária e sexo.

A Tabela 3 mostra que os surtos epidêmicos de transmissão por oocistos tiveram uma relação com a ingestão de água e contato com o solo contaminado com o agente, já os surtos transmitidos por cistos tiveram uma relação com a ingestão de carne. Contudo, foi pouco freqüente a transmissão do agente pela ingestão de vegetais.

Os surtos transmitidos por cistos e por taquizóitos apresentaram somente uma distribuição focal limitada, já os surtos de transmissão por oocistos apresentaram uma maior freqüência de surtos disseminados (Tabela 3).

Parece não haver uma relação das formas de transmissão do agente com a descrição de casos agudos nos surtos, bem como de outras formas clínicas da doença, mostrando que as apresentações clínicas independem da forma infectante.

Tabela 2 - Dados extraídos dos artigos da revisão sistemática. São Paulo, 2012.

Artigos	Formas de Transmissão	Água	Carne	Vegetal	Solo	Casos Confirmados	% Sintomáticos	Pop. Risco	% Infectado	P.I. (dias)	Disseminação	Distribuição geográfica	Ano
Balasundaram et al., 2010	Oocistos	1	0	0	0	248	100	NA	NA	NA	Ampla	Ásia	2004
Benenson et al., 1982	Oocistos	1	0	0	0	31	91	98	32	20	Ampla	América Central	1979
Bonametti et al., 1997	Cistos	0	1	0	0	17	100	NA	NA	11	Focal	América do Sul	1993
Bowie et al., 1997	Oocistos	1	0	0	0	100	82	321.585	0,03	NA	Ampla	América do Norte	1995
Carmo et al., 2010	Oocistos	0	0	0	1	40	85	186	21	NA	Ampla	América do Sul	2004
CDC, 1975	Cistos	0	1	0	0	4	50	19	42	10	Focal	América do Norte	1974
Chiari et al., 1984	Taquizoítos	0	0	0	0	3	66	5	60	30	Focal	América do Sul	1983
Choi et al., 1997 (Surto 1)	Cistos	0	1	0	0	3	100	6	50	NA	Focal	Ásia	1994
Choi et al., 1997 (Surto 2)	Cistos	0	1	0	0	5	100	11	45	7	Focal	Ásia	1995
de Almeida et al., 2006	Cistos	0	1	0	0	10	100	16	62,5	30	Focal	América do Sul	2005
de Moura et al., 2006	Oocistos	1	0	0	0	176	88	2.884	6,1	NA	Ampla	América do Sul	2001

de Silva et al., 1984	Cistos	0	1	0	0	5	40	6	83	NA	Focal	Oceania	1979
Demar et al., 2007	Oocistos	1	0	0	1	11	100	33	33,33	NA	Focal	América do Sul	2003
Doganci et al., 2006	Oocistos	0	0	0	1	171	100	1797	9,5	NA	Focal	Ásia	2002
Eduardo et al., 2006	Cistos	0	1	0	0	6	100	NA	NA	6	Focal	América do Sul	2006
Ekman et al., 2012	Oocistos	0	0	1	0	11	72	45	35	15	Focal	América do Sul	2009
Fertig et al., 1977	Cistos	0	1	0	0	3	66	NA	NA	8	Focal	Europa	1977
Gattás et al., 2000	Oocistos	1	0	0	0	113	NA	NA	NA	NA	Focal	América do Sul	1999
Humphreys et al., 1986	Cistos	0	1	0	0	3	66	4	75	NA	Focal	Europa	1986
Kean, et al., 1969	Cistos	0	1	0	0	5	100	29	17	7	Focal	América do Norte	1968
Luft e Remington, 1984 (Surto1)	Oocistos	0	0	0	1	2	50	6	33	NA	Focal	América do Norte	1982
Luft e Remington, 1984(Surto 2)	Oocistos	0	0	0	1	6	33	9	67	NA	Focal	América do Norte	1981
Luft e Remington, 1984 (Surto 3)	Oocistos	0	0	0	1	5	40	6	83	NA	Focal	América do Sul	1981
Luft e Remington, 1984 (Surto 4)	Oocistos	0	0	0	1	1	100	5	20	NA	Focal	América do Norte	1982
Luft e Remington, 1984 (Surto 5)	Cistos	0	1	0	0	1	100	4	25	NA	Focal	América do Norte	1981

Madeira e Búrigo, 2005	Oocistos	1	0	0	0	9	100	800	1,2	NA	Focal	América do Sul	2005
Magaldi et al., 1969	Cistos	0	1	0	0	110	87	10.000	1,1	NA	Focal	América do Sul	1966
Masur, et al.,1978	Cistos	0	1	0	0	6	83	7	83	12	Focal	América do Norte	1975
McDonald et al.,1990	Cistos	0	1	0	0	4	NA	22	36	90	Focal	América do Norte	1987
Palanisamy et al.,2006	Oocistos	1	0	0	0	178	71	NA	NA	NA	Ampla	Ásia	2001
Renoiner et al., 2007	Cistos	0	1	0	0	61	97	315	19	8	Focal	América do Sul	2006
Robson, et al.,1995	Cistos	0	1	0	0	12	75	38	32	11	Focal	Oceania	1994
Sacks et al., 1983	Cistos	0	1	0	0	3	100	NA	NA	15	Focal	América do Norte	1980
Sacks et al., 1982	Taquizoítos	0	0	0	0	10	NA	24	42	38	Focal	América do Norte	1978
Shenep et al.,1984	Oocistos	0	0	0	1	9	44	13	69	NA	Focal	América do Norte	1979
Skinner, et al., 1990	Taquizoítos	0	0	0	0	2	100	4	50	NA	Focal	Europa	1988
Stagno, et al.,1980	Oocistos	0	0	0	1	10	70	30	33	30	Focal	América do Norte	1976
Teutsch et al.,1979	Oocistos	0	0	0	1	37	95	88	42	15	Focal	América do Norte	1977

0 = Não; 1 = Sim

Tabela 3 - Distribuição das variáveis categóricas extraídas dos artigos da revisão sistemática. São Paulo, 2012.

TIPO DE DADO CATEGÓRICO	TOTAL	FORMA DE TRANSMISSÃO REFERIDA		
		OOCISTOS	CISTOS	TAQUIZOÍTOS
Predominância do sexo masculino	55,26% (21/38)	44,44% (8/18)	64,70% (11/17)	66,67% (2/3)
Predominância de faixa etária < 15 a	15,78% (6/38)	22,22% (4/18)	5,89% (1/17)	33,33% (1/3)
Predominância de faixa etária > 25 a	44,73% (17/38)	33,33% (6/18)	58,82% (10/17)	33,33% (1/3)
Ingestão de água	18,42% (7/38)	38,90% (7/18)	0,00% (0/17)	0,00% (0/3)
Ingestão de carne	44,73% (17/38)	0,00% (0/18)	100,00% (17/17)	0,00% (0/3)
Ingestão de vegetais	2,63% (1/38)	5,55% (1/18)	0,00% (0/17)	0,00% (0/3)
Contato com o solo	26,31% (10/38)	55,55% (10/18)	0,00% (0/17)	0,00% (0/3)
Descrição de casos agudos	92,10% (35/38)	94,44% (17/18)	88,23% (15/17)	100,00% (3/3)
Referência de outras formas clínicas	9,67% (3/31)	6,67% (1/15)	14,28% (2/14)	0,00% (0/2)
Infecção atribuída a uma fonte focal limitada	81,57% (31/38)	66,67% (12/18)	94,11% (16/17)	100,00% (3/3)

Como pode ser observado na Tabela 4, não houve diferença na frequência de relatos na literatura de surtos por cistos (44,73%) e por oocistos (47,36%), demonstrando que ambas as formas de transmissão são freqüentes.

Em relação às fontes de transmissão por oocistos, 55,55% dos surtos (Tabela 5) relataram o contato com o solo contaminado como possível fonte de infecção humana.

Para os surtos de transmissão por cistos, a carne bovina foi atribuída como a provável fonte de infecção em 33,33% (5/15) dos surtos, a carne ovina em 26,67% (4/15), a carne suína em 20% (3/15) e a carne de caça em 20% (3/15) (Tabela 6). Dois artigos não mencionaram o tipo de carne responsável pelo surto.

A Tabela 7 mostra que a maior parte dos surtos descritos ocorreu no continente americano, sendo 36,84% na América do Norte, 34,21% na América do Sul e 2,63% na América Central. Não foram avaliados surtos no continente africano.

Como pode ser observado na Tabela 8, o período com menor descrição de surtos corresponde à década de 60 (5,26%), na qual o ciclo do *T.gondii* e suas formas de transmissão não estavam totalmente elucidados.

Tabela 4 – Frequência das formas de transmissão do *T.gondii* dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.

Formas de transmissão	Frequência	
	Número de surtos	%
Cistos	17	44,73
Oocistos	18	47,36
Taquizoítos	3	7,89%
Total	38	100

Tabela 5 – Frequência das fontes de transmissão por oocistos dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.

Fontes de Transmissão por oocistos	Frequência	
	Número de surtos	%
Solo	10	55,55
Água	7	36,84
Vegetais	1	5,26
Total	18	100

Tabela 6 – Frequência dos tipos de carne relatadas nos surtos epidêmicos de transmissão por cistos, São Paulo 2012.

Tipos de carne	Frequência	
	Número de surtos	%
Bovina	5	33,33
Ovina	4	26,67
Suína	3	20,00
Caça	3	20,00
Total	15	100

Tabela 7 – Frequência da distribuição geográfica dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.

Distribuição Geográfica	Frequência de surtos	
	Número de surtos	%
América Norte	14	36,84
América Sul	13	34,21
América Central	1	2,63
Ásia	5	13,15
Europa	3	7,89
Oceania	2	5,26
Total	38	100

Tabela 8 – Frequência da distribuição temporal dos surtos epidêmicos, São Paulo 2012.

Distribuição temporal (décadas)	Frequência de surtos	
	Número de surtos	%
1961-1970	2	5,26
1971-1980	10	26,31
1981-1990	10	26,31
1991-2000	5	13,15
2000-2012	11	28,94
Total	38	100

Figura 3 - Distribuição da proporção de casos confirmados sintomáticos obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de *T.gondii* envolvida na transmissão no surto.

Figura 4 - Distribuição do tamanho da população em risco nos surtos obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de *T.gondii* envolvida na transmissão no surto.

Figura 5 - Distribuição da proporção de infectados nos surtos obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de *T.gondii* envolvida na transmissão no surto.

Houve uma importante informação quanto ao período de incubação da doença em relação à forma infectante (Figura 6), sendo que os surtos atribuídos a cistos tiveram um período de incubação menor que os demais, em especial, quanto aos transmitidos por oocistos. O maior período de incubação foi atribuído aos surtos por taquizoítos.

Os dados sugerem que surtos com período de incubação maior que 20 dias ou com mais que 30 casos confirmados, provavelmente são causados por oocistos e fontes disseminadas como a água.

Figura 6 - Distribuição dos valores do período de incubação médio (dias) da doença aguda obtidos dos artigos da revisão sistemática que referiam a forma de *T.gondii* envolvida na transmissão no surto.

5 DISCUSSÃO

A avaliação de surtos epidêmicos de toxoplasmose humana é freqüentemente realizada de forma isolada e pontual, como pode ser observada na pequena lista de surtos que foram levantados na literatura e analisados nesta revisão sistemática. Nossa abordagem para o surto de toxoplasmose na região de Araraquara – SP (Ekman et al., 2012) mostrou que muitas das estratégias freqüentemente utilizadas como descrição associada de casos agrupados e o modelo de estudo desenhado para elucidação fazem com que a abordagem para os surtos de toxoplasmose seja muito complexa e trabalhosa. Além disso, o período de incubação da doença, geralmente maior que 10 dias, associado ao fato de que uma fração significativa dos pacientes permanecem assintomática na primoinfecção, acabam prejudicando o reconhecimento da população de casos confirmados. É importante ressaltar ainda, que a fração de pacientes cronicamente infectados e expostos também interfere nesta avaliação.

Em surto de alto impacto social descrito em Santa Isabel do Ivaí, no sul do Brasil (de Moura et al., 2006), a pressão da imprensa leiga levou a uma super-notificação dos casos com base apenas no exame de IgM de captura. Este tipo de exame de alta sensibilidade apresenta uma especificidade menor, o que leva a notificação de pacientes com resultados falso-positivos, cronicamente infectados ou não infectados (Wong e Remington, 1994; Remington et al., 2011). Nossa abordagem para confirmação do surto da região de Araraquara, baseou-se no ensaio de avidéz de IgG (Hedman et al., 1989; Liesenfeld et al., 2001; Roberts et al 2001), que já havia sido utilizado em outros surtos por apresentar uma melhor especificidade para o diagnóstico de doença recente (de Moura et al., 2006, Renoirer et al., 2007). Esta abordagem sorológica permite definir com precisão os casos confirmados e a população infectada assintomática. Assim, no surto

estudado, foi possível identificar uma fração importante de pacientes com infecção recente e sem sintomatologia, incluída, inicialmente, no grupo controle do estudo de caso-controle desenhado para identificar fatores associados à exposição.

É importante ressaltar que abordagens parasitológicas são complexas em surtos de toxoplasmose devido a questões metodológicas e logísticas intransponíveis. A maior parte dos alimentos suspeitos em surtos focalizados, já foi totalmente consumida ou descartada antes da primeira suspeita clínica, quer sejam carnes ou vegetais. No caso de água contaminada por oocistos, outros problemas são relevantes devido à extrema diluição do agente infectante em grandes volumes e o rápido consumo, gerando o esgotamento da fonte de infecção para pesquisa do agente. Uma alternativa para essa questão foi proposta na investigação do surto de Santa Isabel do Ivaí - PR, onde a pesquisa e isolamento do *T.gondii* foram realizados em água estocada de caixas d'água de prédios com pouco uso no período do surto, como foi o caso de uma escola pública em férias na ocasião do surto (de Moura et al., 2006). Em geral, a pesquisa parasitológica do agente é infrutífera, apesar de extensos esforços, como ocorreu em surtos no exterior (Isaac-Renton et al., 1998).

Diante destas dificuldades, a investigação da fonte de infecção do surto é freqüentemente realizada por meio de questionários, como o utilizado em nosso surto. Neste tipo de inquérito, vários fatores interferem com a qualidade do resultado, como diferentes entrevistadores, a extensão do questionário, a memória específica para alimentos ingeridos há mais de 15 dias e outros fatores inerentes a este desenho de estudo. Em geral, o evento marcante pode ser definido de forma clara em surtos, onde a transmissão ocorre associada a algum evento comemorativo e de alimentação coletiva, como festas ou churrascos (Bonametti et al., 1996; Renoirer et al., 2007).

Por outro lado, em estabelecimentos industriais, a identificação da fonte de infecção é ainda mais complexa, pois não existem eventos marcantes e a pesquisa, em geral, restringe-se ao refeitório ou fontes coletivas de água que selecionam grupos específicos de funcionários com mesmo turno e área de trabalho. Não há um interesse muito alto na detecção dos casos assintomáticos e freqüentemente o alerta é dado para sintomas relevantes de maior intensidade, como febre, perda de visão ou linfadenopatia, no caso da toxoplasmose, excluindo-se parte significativa da população infectada assintomática. Em nosso estudo, a pesquisa via questionário mostrou poucos eventos significantes devido a problemas de memória de eventos pouco marcantes como o tipo de alimento ingerido a mais de uma quinzena e fatores ligados a hábitos alimentares e de higiene. Este tipo de limitação sempre ocorre com inquéritos alimentares, sendo que outros fatores também interferem, como o nível de ansiedade causado pela entrevista e a restrição do entrevistado em relatar fatos que considera pessoais. Em nosso estudo, estas limitações foram levadas a um mínimo, pelo treinamento e qualidade dos entrevistadores e a constante referência ao sigilo das informações. Outros fatores importantes que devem ser levados em consideração e que podem ocasionar erros são o tamanho da amostra entrevistada e a ausência de voluntariedade para entrevista, problemas freqüentes em estudos de surtos mais amplos.

Essa complexidade de avaliação embasou de certa forma nossa revisão sistemática dos surtos. Na literatura científica, os surtos de toxoplasmose tem tido importância crescente, apesar de ser uma doença freqüentemente assintomática e de pouca letalidade, dada a extensa morbidade que pode ocorrer após o surto. Um exemplo deste tipo de importância está na descrição do surto de toxoplasmose ocular ocorrido na Índia (Balasundaram et al., 2010), onde mais de 200 casos em poucos meses levaram à identificação de um surto de proporções enormes de infecção, dada a baixa incidência desta complicação (Vallochi et al., 2002). A

seleção dos artigos para inclusão na revisão seguiu critérios rígidos e sempre valorizou a informação e opiniões dos autores, evitando interpretações subjetivas por parte dos autores da revisão. Além disso, a seleção dos artigos por dois revisores também confirma a solidez dos dados utilizados.

É importante ressaltar que a revisão sistemática buscou apenas descrever informações e obter frequências de valores, sem nunca tentar consolidar resultados para uma metanálise. Na metanálise, há uma associação de dados comparáveis em diversos artigos, gerando uma população amostral maior, o que não foi proposto em nossa análise. Nesta associação poderíamos utilizar outros tipos de abordagens estatísticas, como estimativas agregadas de incidência e fatores de risco, mas dada a qualidade de nossos dados e a diversidade de abordagem metodológica e apresentação dos resultados dos artigos levantados, este tipo de análise não pode ser realizado.

Nossos resultados de revisão sistemática de surtos mostraram que não houve seleção de casos confirmados da doença aguda por sexo e idade, o que é esperável para uma doença adquirida por via oral. A relação da toxoplasmose com hábitos e ambientes especiais, como baixa higiene na infância, foi relatada apenas em um estudo, no qual os autores mencionaram associação significativa de geofagia com a doença em uma criança (Stagno et al., 1980). Da mesma forma, a relação da doença com profissões de risco, como magarefes, foi descrita como fator de risco para aquisição da doença em apenas um estudo, no qual os autores verificaram que indivíduos que praticavam atividade de esfola de animais para obtenção da pele tiveram mais chance de desenvolver a doença em relação ao grupo controle (McDonald et al., 1990).

A forma de ocorrência do surto quer seja focal ou ampla, tem implicações mais complexas. Evidentemente, grandes surtos são atribuídos a fontes disseminadas e nesses casos, a ampla disseminação do agente está sempre

associada à transmissão pela água (Bowie et al., 1997), embora o agente tenha sido isolado e confirmado parasitologicamente em apenas um surto de transmissão hídrica (de Moura et al., 2006).

Não foi possível separar em nossa revisão, os casos de surtos de disseminação focal, atribuídos a cistos e oocistos, devido ao pequeno número de relatos. Embora tenha ocorrido uma relação da transmissão por oocistos com formas amplas de disseminação da doença, houve um número importante de surtos focais atribuídos aos oocistos, que devem ter sido causados por uma exposição focal e limitada ao agente, como o contato com o solo contaminado com as fezes do gato ou a ingestão de alimentos crus contaminados, que inadvertidamente são rapidamente consumidos, ocasionando um aspecto focal ao surto causado por oocistos, e que na realidade representaram a maioria dos surtos atribuídos a esta forma do agente. Em nossa revisão sistemática, vários surtos por oocistos foram intrafamiliares e, portanto de distribuição focal (Stagno et al., 1980; Luft e Remington, 1984; Shenep et al., 1984)

Embora alguns autores relatem que a infecção por oocistos é responsável por doença clínica mais severa em humanos, do que a infecção adquirida por cistos (Jones e Dubey, 2010), nossos dados mostraram que não houve relação da forma infectante do agente atribuída ao surto com a gravidade dos quadros clínicos descritos pelos vários autores. Este fato poderia ser corroborado por estudos de caracterização genotípica de isolados humanos, que propõem que a gravidade da doença está relacionada com características genotípicas e de virulência das cepas de *T.gondii* (Ferreira et al., 2006; Pereira-Chiocola et al., 2009; Ferreira et al., 2011). Em um dos trabalhos da nossa revisão sistemática, os autores também associaram a gravidade da doença, inclusive com casos fatais, ocorridos em um vilarejo no Suriname, com o genótipo atípico, altamente virulento, dos isolados humanos (Demar et al., 2007). Além disso, avanços recentes em genômica e

proteômica têm permitido a sorotipagem das cepas prevalentes em uma determinada população, através da pesquisa sorológica com peptídeos sintéticos específicos (Kong et al., 2003; Sousa et al., 2008; Maksimov et al., 2012).

Os dados quantitativos recuperados na revisão sistemática foram limitados por vários fatores, entre eles, a importância atribuída pelos autores de diferentes especialidades a cada um deles. Assim, optamos por expor sistematicamente a frequência dos dados, evitando processamento inadequado da informação e a compilação de grupos ou associação de trabalhos que poderiam estar sujeitos a inúmeros erros. Outra questão a ser considerada é que os dados da revisão sistemática foram extraídos exatamente como os autores descreveram nos artigos originais, sem qualquer desconsideração ou questionamento em relação à forma de transmissão atribuída ao surto, respeitando-se ao máximo o espírito crítico e o conhecimento dos autores.

Em relação à dimensão dos surtos atribuídos a uma forma específica de transmissão do agente, os maiores surtos estiveram relacionados a oocistos, que é a forma mais fácil de disseminação do *T.gondii*. Utilizando como cepa de referência a linhagem RH do tipo I, apenas um oocisto, que contém oito parasitas, é infectante para camundongo (Dubey, 2001, 2006). Por outro lado, um cisto contém centenas ou milhares de agentes, mas seu número em termos de massa de tecido muscular ingerido é muito menor, já que é necessária a ingestão de um cisto viável para que ocorra a infecção do hospedeiro (Dubey, 2006). Para bioensaios, quantidades maiores que 50 g de carne são necessárias para a pesquisa da presença do agente, dada a sua distribuição heterogênea nas carcaças (Dubey, 2006). Como consequência deste aspecto parasitológico, comprovamos que os surtos atribuídos a cistos apresentaram um menor número de casos confirmados. Além disso, em muitos artigos foi possível identificar claramente a fonte infectante, como

hambúrgueres mal cozidos (Kean et al., 1969), carne suína (Choi et al., 1997) e de cordeiros, ingeridos de forma pouco cozida, como em churrascos (Bonammeti et al., 1997). Esta relação com eventos específicos também permitiu uma definição mais precisa do período de incubação da doença em surtos por cistos, enquanto que esta determinação foi muito menos freqüente em surtos por oocistos. Interessante notar que, os valores encontrados na revisão sistemática concordaram com os resultados experimentais de infecção por cistos e oocistos, sendo que pela carga infectante menor, estes últimos têm um período de incubação mais longo (Dubey, 2006). Este resultado foi obtido em um pequeno número de artigos, cuja fonte de infecção foi atribuída aos oocistos, já que a maioria destes artigos não conseguiu precisar o período de incubação pela ausência de um evento marcante e pelo fato da transmissão da doença por oocistos ser constante (Bowie et al., 1997).

Interessante notar que nos surtos de transmissão por cistos, o tipo de carne mais frequentemente atribuído a esta forma de transmissão foi a bovina. A importância da carne bovina na transmissão da toxoplasmose tem sido motivo de controvérsia na literatura científica, pois embora alguns autores relatem que os bovinos são mais resistentes à infecção e que apresentam um menor número de cistos na carne quando comparados com outros ruminantes como ovinos e caprinos (Tenter et al., 2000; Dubey et al., 2005), vários estudos europeus reportaram o consumo da carne bovina crua ou mal passada como fator de risco para a infecção humana (Cook et al., 2000; Kijlstra e Jongert, 2008).

Os demais dados analisados não apresentaram diferenças importantes relativas à forma infectante atribuída. Nos trabalhos desta revisão sistemática, verificamos uma tendência a menor porcentagem de pessoas infectadas em surtos por oocistos entre os expostos, provavelmente porque a maioria dos surtos descritos ocorreu em membros de uma mesma família, restringindo-se a um grupo pequeno de indivíduos.

Outra questão a ser ressaltada é a importância da utilização de técnicas sorológicas de maior especificidade, como o ELISA - avidéz de IgG, para detecção da infecção em indivíduos assintomáticos e identificação da população de risco, facilitando o manejo adequado do surto e prevenção de novos casos como demonstrado por nós no surto ocorrido em uma empresa da região de Araraquara - SP, no qual identificamos três casos assintomáticos pela baixa avidéz de IgG (Ekman et al., 2012).

Nossa revisão abordou aspectos epidemiológicos importantes que podem ser úteis em investigações de futuros surtos epidêmicos de toxoplasmose humana. Assim, surtos com casos agrupados temporalmente e incubação rápida tendem a ser transmitidos por cistos em carne contaminada. Por outro lado, surtos com aparecimento contínuo de novos casos, sem relação com eventos específicos, tendem a demonstrar transmissão por água contaminada por oocistos, necessitando de coleta imediata de grandes volumes para pesquisa e isolamento do agente, bem como a aplicação de medidas de prevenção e controle sanitário, como a filtração de água.

É importante mencionar que toda ênfase deve ser dada a ampliação de revisões sistemáticas e a criação e padronização de bancos de dados, onde a descrição de surtos epidêmicos possa ser feita de forma global e continuada, permitindo uma maior captação de dados e criação de um sistema de informação de surtos de doenças de maior complexidade e de características clínicas diferenciadas como a toxoplasmose.

6 CONCLUSÕES

6.1 Geral

A análise dos surtos epidêmicos de toxoplasmose descritos na literatura médica e submetidos à revisão sistemática sugeriu que a forma infectante do agente induz diferentes padrões epidemiológicos.

6.2 Específicas

- a) O período de incubação da toxoplasmose foi menor nos surtos causados por cistos teciduais;
- b) O número de casos confirmados foi maior nos surtos de toxoplasmose causados por oocistos;
- c) A disseminação da infecção foi maior nos surtos de toxoplasmose causados por oocistos;
- d) A proporção de infectados na população de risco tendeu a ser menor nos surtos de toxoplasmose causados por oocistos;
- e) A água e o solo foram mais relacionados à fonte de infecção em surtos de toxoplasmose causados por oocistos e a carne mais relacionada a surtos causados por cistos;
- f) Não houve relação da forma infectante quanto à porcentagem de casos confirmados sintomáticos, distribuição temporal ou geográfica dos surtos e outras características como sexo e idade dos indivíduos infectados.

REFERÊNCIAS

Abreu MT, Boni D, Belfort Jr R, Passos A, Garcia AR, Muccioli C, et al. Toxoplasmose ocular em Venda Nova do Imigrante, ES, Brasil. *Arq Bras Oftalmol*. 1998;61:540–5.

Aigner CP, da Silva AV, Sandrini F, de Sá Osório P, Poiares L, Largura A. Real-time PCR-based quantification of *Toxoplasma gondii* in tissue samples of serologically positive outdoor chickens. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2010;105:935–7.

Albuquerque GR, Munhoz AD, Flausino W, Silva RT, Almeida CRR, Medeiros SM, et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros do vale do Paraíba Sul Fluminense, estado do Rio de Janeiro. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2005;14:125–8.

Aleixo ALQC, Benchimol EI, Neves ES, Silva CSP, Coura LC, Amendoeira MRR. Frequência de lesões sugestivas de toxoplasmose ocular em uma população rural do Estado do Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2009;42:165–9.

Alencar A, Schäffer G. Aspectos histopatológicos da encefalite aguda toxoplásmica (humana e experimental). *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1971;69:463–73.

Alvarenga DP, Couto MF, Pessoa VF. Perceptual visual filling-in of toxoplasmic retinochoroiditis scotomas. *NeuroReport*. 2007;18:1679–81.

Alves JAB, de Oliveira LAR, de Oliveira MFB, Araújo RM, Santos RCS, Abud ACF, et al. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em mulheres grávidas. *Rev Enferm UERJ*. 2009;17:107–10.

Alves JM, Magalhães V, Gomes de Matos MA. Retinocoroidite toxoplásmica em pacientes com AIDS e neurotoxoplasmose. *Arq Bras Oftalmol*. 2010a;73:150–54.

Alves JM, Magalhães V, Gomes de Matos, MA. Avaliação oftalmológica em pacientes com AIDS e neurotoxoplasmose. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010b;43:36–40.

Amaral V, Macruz R. Pesquisa de formas encistadas de *T.gondii* em diafragmas de suínos clinicamente sadios, abatidos em matadouros de São Paulo. *Cienc Cult*. 1968;20:308.

Amaral V, Santos SM, Netto JB, Rebouças, MM. Levantamento da toxoplasmose suína latente, no Estado de São Paulo, Brasil. Cienc Cult. 1976a;28:459.

Amaral V, Santos SM, Ribeiro LOC, Rebouças MM. *Toxoplasma gondii*: isolamento a partir de fezes de gatos domésticos, naturalmente infectados. Cienc Cult 1976b;28:459–60.

Amendoeira MRR, Coutinho SG. Indirect immunofluorescence (IgG and IgM) tests for toxoplasmosis on 203 persons, with no symptomatology suggesting the disease, located in the city of Rio de Janeiro. Serological follow up one to two years later. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1981;76:397–407.

Amendoeira MRR, Coutinho SG. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the saliva and tonsils of a three-year-old child. J Infect Dis. 1982;145:587.

Amendoeira MRR, da Costa T, Spalding SM. *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Sarcocystidae) e a Toxoplasmose. Rev Souza Marques. 1999;1(1):15-35.

Amendoeira MRR, Sobral CAQ, Teva A, de Lima JN, Klein CH. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. Rev Soc Bras Med Trop. 2003;36:671–6.

Anand R, Jones CW, Ricks JH, Sofarelli TA, Hale DC. Acute primary toxoplasmosis in travelers returning from endemic countries. J Travel Med. 2012;19:57–60.

Anderlini GA, Mota RA, Faria EB, Cavalcanti EFTSF, Valença RMB, Pinheiro Júnior JW, et al. Occurrence and risk factors associated with infection by *Toxoplasma gondii* in goats in the state of Alagoas, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2011;44:157–62.

Andrade GMQ, Vasconcelos-Santos DV, Carellos EVM, Romanelli RMC, Vitor RWA, Carneiro ACAV, et al. Congenital toxoplasmosis from a chronically infected woman with reactivation of retinochoroiditis during pregnancy. J Pediatr. 2010;86:85–8.

Andrade MCR, Coelho JMCO, Amendoeira MRR, Vicente RT, Cardoso CVP, Ferreira PCB, et al. Toxoplasmosis in squirrel monkeys: histological and immunohistochemical analysis. Cienc Rural. 2007; 37:1724–7.

Antoniassi NAB, Boabaid FM, Souza RL, Nakazato L, Pimentel MFA, Filho JOX, et al. Granulomatous meningoencephalitis due to *Toxoplasma gondii* in a black-headed night monkey (*Aotus nigriceps*). J Wildl Zoo Med. 2011;42: 118–20.

Aosai F, Mun HS, Norose K, Chen M, Hata H, Kobayashi M, et al. Protective immunity induced by vaccination with SAG1 gene-transfected cells against *Toxoplasma gondii*-infection in mice. Microbiol Immunol. 1999;43(1):87–91.

Araujo FAP, Santos JR, Souza WJS. Detection on *Toxoplasma gondii* infection in naturally infected pigs by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the area of Great Erechim, RS, Brasil. Arq Fac Vet UFRGS. 1998a;26:57–65.

Araujo FAP, Santos JR, Souza WJS. Standardization of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of antibodies for *Toxoplasma gondii* in swine (*Sus scrofa*) sera. Arq Fac Vet UFRGS. 1998b;26:94–102.

Araújo FAP, Silva NRS, Chaplin EL, Santos EB. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de caprinos da região da Grande Porto Alegre/RS. Arq Fac Vet UFRGS. 1984;12:35–40.

Araujo FAP, Souza WJS. Antibody response against *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa) measured by indirect fluorescent antibody technique in pigs naturally infected in the area of Great Erechim, RS, Brazil. Arq Fac Vet UFRGS. 1997;25:75–83.

Araujo FG. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em doadores de sangue. Rev Inst Med Trop. Sao Paulo. 1970;12:105–11.

Araújo FG. Immunization against *Toxoplasma gondii*. Parasitol Today. 1994; 10(9):358–60.

Araújo JB, da Silva AV, Rosa RC, Mattei RJ, da Silva RC, Richini-Pereira VB, et al. Isolation and multilocus genotyping of *Toxoplasma gondii* in seronegative rodents in Brazil. Vet Parasitol. 2010;174:328–31.

Araújo Neto JO, Azevedo SS, Gennari SM, Funada MR, Pena HFJ, Araújo ARCP, et al. Prevalence and risk factors for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in goats of the Seridó Oriental microregion, Rio Grande do Norte state, Northeast region of Brazil. Vet Parasitol. 2008;156:329–32.

Areal KR, Miranda AE. Soroprevalência de toxoplasmose em gestantes atendidas na rede básica de saúde de Vitória, ES. NewsLab. 2008;87:122–9.

Arevalo JF, Belfort Jr R, Muccioli C, Espinoza JV. Ocular toxoplasmosis in the developing world. *Int Ophthalmol Clin*. 2010;50:57–69.

Arruda RF, Muccioli C, Belfort Jr R. Achados oftalmológicos em infectados pelo HIV na era pós-HAART e comparação com série de pacientes avaliados no período pré-HAART. *Rev Assoc Med Bras*. 2004;50:148–52.

Atallah AN. Systematic reviews of medical literature and metanalyses. *Sao Paulo Med J*. 1996;114(5):1285-7.

Avelino MM, Campos Jr D, de Parada JB, de Castro AM. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of childbearing age. *Braz J Infect Dis*. 2004;8:164–74.

Avelino MM, Campos Jr D, de Parada JCB, de Castro AM. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;108:19–24.

Azevedo DS, Jamra LMF, Ribeiro MF. Isolamento de oocistos de *Toxoplasma gondii* em dois bairros de Recife (PE). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1983;25(1):31-6.

Bahia MD, Oréfice F, de Andrade GMQ. Análise clínica das lesões de retinocoroidite em crianças portadoras de toxoplasmose congênita. *Rev Bras Oftalmol*. 1992;51:265–71.

Bahia MT, Vitor RWA, Caldas R, Antunes CMF, Chiari CA. Diagnosis of caprine toxoplasmosis by a dot enzyme-linked immunosorbent assay. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1993;45:173–82.

Bahia-Oliveira LMG, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CCF, Oréfice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro State, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:55–62.

Bahia-Oliveira LMG, Wilken de Abreu AM, Azevedo-Silva J, Oréfice F. Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. *Int J Parasitol*. 2001;31: 133–6.

Balasundaram MB, Andavar R, Palaniswamy M, Venkatapathy N. Outbreak of acquired ocular toxoplasmosis involving 248 patients. *Arch Ophthalmol*. 2010;128(1):28-32.

Bandoli JG, de Oliveira CAB. Toxoplasmose em *Sotalia guianensis* (van Beneden, 1863), Cetacea-Delphinidae. *Folha Med.* 1977;75:459–68.

Barbosa CJDG, Molina RJ, de Souza MB, Silva ACA, Micheletti AR, dos Reis MA, et al. Disseminated toxoplasmosis presenting as sepsis in two AIDS patients. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2007;49:113–6.

Barbosa IR, Holanda CMCX, de Andrade-Neto VF. Toxoplasmosis screening and risk factors amongst pregnant females in Natal, northeastern Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2009;103:377–82.

Barbosa W, Fernandes WJ, Pinheiro ZB, Teixeira AA, de Oliveira GSC. Coccidios encontrados em felinos (*Felis catus domestica*) de Goiânia. Estudo de sua biomorfologia. *Rev Patol Trop.* 1973;2:311–19.

Baruzzi RG. Contribution to the study of the toxoplasmosis epidemiology. Serologic survey among the indians of the Upper Xingu River, Central Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1970;12:93–104.

Beck ST, Konopka CK, da Silva AK, Diehl FP. Importância do rastreamento sorológico da toxoplasmose em gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal de alto risco. *Rev Saúde.* 2010;36:29–36.

Beghetto E, Nielsen HV, Del Porto P, Buffolano W, Guglietta S, Felici F, et al. A combination of antigenic regions of *Toxoplasma gondii* microneme proteins induces protective immunity against oral infection with parasite cysts. *J Infect Dis.* 2005;191(4):637–45.

Belfort Jr R, Hirata OS, de Abreu MT. Uveítes: estudo de 250 casos consecutivos. *Arq Bras Oftalmol.* 1978;41:196–9.

Belfort Jr RN, Rasmussen S, Kherani A, Lodha N, Williams G, Fernandes BF, et al. Bilateral progressive necrotizing retinochoroiditis in immunocompromised patients: histopathological diagnosis. *Acta Ophthalmol.* 2010;88:614–15.

Belfort-Neto R, Nussenblatt V, Rizzo L, Muccioli C, Silveira C, Nussenblatt R, et al. High prevalence of unusual genotypes of *Toxoplasma gondii* infection in pork meat samples from Erechim, Southern Brazil. *An Acad Bras Ciênc.* 2007;79:111–4.

Beltrame MAV, Pena HFJ, Ton NC, Lino AJB, Gennari SM, Dubey JP, et al. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens

from Espírito Santo state, southeastern Brazil. Vet Parasitol. 2012;188(3-4):225-30.

Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water N Engl J Med. 1982;307(11):666-9.

Bezerra RA, Carvalho FS, Guimarães LA, Rocha DS, Silva FL, Wenceslau AA, et al. Comparison of methods for detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of naturally exposed pigs. Parasitol Res. 2012;110:509–14.

Bezerra RA, Paranhos EB, Del’Arco AE, Albuquerque GR. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet. 2009;18:78–80.

Bichara CNC, Canto GAC, Tostes CL, Freitas JJS, do Carmo EL, Póvoa MM, et al. Incidence of congenital toxoplasmosis in the City of Belém, State of Pará, Northern Brazil, determined by a neonatal screening program: preliminary results. Rev Soc Bras Med Trop. 2012;45:122–4.

Bispo MS, Faustino MAG, Alves LC, Salcedo JHP, Souza CH, Sousa DP, et al. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em propriedades de criação de caprinos e ovinos no estado de Pernambuco. Cienc Anim Bras. 2011;12:291–7.

Bittencourt LH, de Barros F, Lopes-Mori FMR, Mitsuka-Breganó R, Valentim-Zabott M, Freire LR, et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gestantes a partir da implantação do Programa de Vigilância da Toxoplasmose Adquirida e Congênita em municípios da região oeste do Paraná. Rev Bras Ginecol Obstet. 2012;34:63–8.

Bóia MN, Carvalho-Costa FA, Sodr FC, Pinto GMT, Amendoeira MRR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among Indian people living in Iauaret, So Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008;50:17–20.

Bonametti AM, Passos JN, da Silva EM, Bortoliero AL. Surto de toxoplasmose aguda transmitida atravs da ingesto de carne cra de gado ovino. Rev Soc Bras Med Trop 1997;30(1):21-5.

Bonametti AM, Passos JN, da Silva EM, Bortoliero AL. Surto de toxoplasmose aguda transmitida atravs da ingesto de carne cra de gado ovino. Rev Soc Bras Med Trop. 1997a;30:21–5.

Bonametti AM, Passos JN, da Silva EMK, Macedo ZS. Probable transmission of acute toxoplasmosis through breast feeding. *J Trop Pediatr*.1997b;43:116.

Bonna ICF, Figueiredo FB, da Costa T, Vicente RT, Santiago CAD, Nicolau JL, et al. Estudo soropidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos e frangos, para abate, em região rural do Rio de Janeiro. *Rev Bras Ciênc Vet*. 2006;13:186–9.

Borges AS, de Castro Figueiredo JF. Detecção de imunoglobulinas IgG, IgM e IgA anti-*Toxoplasma gondii* no soro, líquido e saliva de pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida e neurotoxoplasmose. *Arq Neuro-Psiquiatr*. 2004;62:1033–37.

Bottós J, Miller RH, Belfort RN, Macedo AC, Belfort Jr R, Grigg ME. Bilateral retinochoroiditis caused by an atypical strain of *Toxoplasma gondii*. *Br J Ophthalmol*.2009;93:1546–50.

Bout DT, Mevelec MN, Velge-Roussel F, Dimier-Poisson I, Lebrun M. Prospects for a human *Toxoplasma* vaccine. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*. 2002;2(3):227-34.

Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, et al. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC *Toxoplasma* Investigation Team. *Lancet*. 1997;350(9072):173-7.

Braccini GL, Chaplin EL, Stobbe NS, Araújo FAP; Santos NR. Resultados de exames laboratoriais realizados no setor de protozoologia da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, nos anos 1986 a 1990. *Arq Fac Vet UFRGS*.1992;20:134–49.

Brandão GP, Ferreira AM, Melo MN, Vitor RWA. Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. *Parasite*. 2006;13:143–9.

Bresciani KDS, Gennari SM, Serrano ACM, Rodrigues AAR, Ueno T, Franco LG, et al. Antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in domestic cats from Brazil. *Parasitol Res*. 2007;100:281–5.

Brown CR, McLeod R. Class I MHC genes and CD8+ T cells determine cyst number in *Toxoplasma gondii* infection. *J Immunol*. 1990;145(10):3438-41.

Buchignani BPC, Silva MRB. Serviço de Visão Subnormal do Hospital das Clínicas de Botucatu: levantamento das causas e resultados. *Rev Bras Oftalmol*. 1991;50:305–10.

Buxton D, Thomson K, Maley S, Wright S, Bos HJ. Vaccination of sheep with a live incomplete strain (S48) of *Toxoplasma gondii* and their immunity to challenge when pregnant. *Vet Rec*. 1991;129(5):89-93.

Buxton D. Toxoplasmosis: the first commercial vaccine. *Parasitol Today*. 1993; 9(9):335-7.

Cademartori BG, Farias NAR, Brod CS. Soroprevalência e fatores de risco à infecção por *Toxoplasma gondii* em gestantes de Pelotas, sul do Brasil. *Rev Panam Infectol*. 2008;10:30–5.

Calderaro A, Picerno G, Peruzzi S, Gorrini C, Chezzi C, Dettori G. Evaluation of *Toxoplasma gondii* immunoglobulin G (IgG) and IgM assays incorporating the new Vidia analyzer system. *Clin Vaccine Immunol*. 2008;15:1076–79.

Caporali EHG, da Silva AV, Mendonça AO, Langoni H. Comparação de métodos para determinação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos dos Estados de São Paulo e Pernambuco – Brasil. *Arq Cienc Vet Zool UNIPAR*. 2005;8:19–24.

Carellos EVM, de Andrade GMQ, de Aguiar RALP. Avaliação da aplicação do protocolo de triagem pré-natal para toxoplasmose em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: estudo transversal em puérperas de duas maternidades. *Cad Saúde Pública*. 2008;24:391–401.

Carini A. Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. *Bull Soc Pathol Exot*. 1911;4:518–9.

Carletti RT, Freire RL, Shimada MT, Ruffolo BB, Begale LP, Lopes FMR, et al. Prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos abatidos no Estado do Paraná, Brasil. *Semina Cienc Agrar*. 2005;26:563–8.

Carmo EL, Póvoa MM, Monteiro NS, Marinho RR, Nascimento JM, Freitas SN, et al. Surto de Toxoplasmose humana no Distrito de Monte Dourado, Município de Almeirim, Pará, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude*. 2010;1(1):61-6.

Carneiro ACAV, Carneiro M, Gouveia AMG, Guimarães AS, Marques APR, Vilas-Boas LS, et al. Seroprevalence and risk factors of caprine toxoplasmosis in Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol*. 2009;160:225–9.

Carvalho CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, de Souza CBS, Maciel LMZ. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect.* 2005;133:485–91.

Castilho-Pellosso MP, Falavigna DLM, Falavigna-Guilherme AL. Suspected acute toxoplasmosis in pregnant women. *Rev Saúde Pública.* 2007;41:27–34.

Cavalcante ACR, Carneiro M, Gouveia AMG, Pinheiro RR, Vitor RWA. Risk factors for infection by *Toxoplasma gondii* in herds of goats in Ceará, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2008;60:36–41.

Cavalcante ACR, Ferreira AM, Melo MN, Fux B, Brandão GP, Vitor RWA. Virulence and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* isolated from goats in Ceará, Brazil. *Small Rumin Res.* 2007;69:79–82.

Cavalcante GT, Aguiar DM, Camargo LMA, Labruna MB, de Andrade HF, Meireles LR, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in humans from rural Western Amazon, Brazil. *J Parasitol.* 2006a;92:647–9.

Cavalcante GT, Aguiar DM, Chiebao D, Dubey JP, Ruiz VLA, Dias RA, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in cats and pigs from rural western Amazon, Brazil. *J Parasitol.* 2006b;92:863–4.

Cavalcante GT, Aguiar DM, Chiebao DP, Meireles LR, Andrade HF, Camargo LMA, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em humanos e animais domésticos da zona rural do município de Monte Negro, Rondônia. In: XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino-Americano de Rickettsioses, Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil; 2004. p.217. (Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária; vol.13, Suplemento 1).

Center for Disease Control, Department of Health, Education and Welfare. Toxoplasmosis-Pennsylvania. *MMWR.* 1975;24(34): 285-6.

Chakraborty J. HIV/AIDS and ocular manifestations. *J Indian Med Assoc.* 1999;97:299-304.

Chaplin EL, Silva NRS, Araújo FAP. Eliminação de oocistos tipo-*Toxoplasma* por felinos naturalmente infectados. *Arq Fac Vet UFRGS.* 1991;19:77–81.

Chaplin EL, Silva NRS, Sebben JC, Araújo FAP, Mendez LDV. Cadeia epidemiológica da toxoplasmose em Guaporé/RS, relacionando humanos e seus animais domésticos. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1984;12:25–34.

Chiari CA, Lima JD, Lima WS, Antunes CMF. Soro-epidemiologia da toxoplasmose caprina em Minas Gerais, Brasil. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1987;39:587–609.

Chiari CA, Neves DP. Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1984;79(3):337-40.

Chimelli L, Rosemberg S, Hahn MD, Lopes MBS, Barretto Netto M. Pathology of the central nervous system in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV): a report of 252 autopsy cases from Brazil. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 1992;18:478–88.

Choi WY, Nam HW, Kwak NH, Huh W, Kim YR, Kang MW, et al. Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis *J Infect Dis*. 1997;175(5):1280-82.

Clarke M, Oxman AD, editors. *Cochrane Reviewers' Handbook*. Available from: <http://www.cochrane.org/cochrane-reviews>.

Clementino MM, Souza MF, Andrade Neto VF. Seroprevalence and *Toxoplasma gondii*-IgG avidity in sheep from Lajes, Brazil. *Vet Parasitol*. 2007;146:199–203.
Coelho DM, Cerávolo IP, Borges JM. (2003). Avaliação sorológica anti-*Toxoplasma gondii* em gestantes no município de Ipatinga-MG. *Revista On-line Unileste* www.unilestemg.br/revistaonline/volumes/02/downloads/artigo14.pdf.

Coelho RA, Kobayashi M, Carvalho Jr LB. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2003;45(4):229-31.

Coelho RAL, Kobayashi M, Carvalho LB. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2003;45:229–31.

Coelho WMD, do Amarante AFT, Apolinário JC, Coelho NMD, de Lima VMF, Perri SHV, et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Leishmania* spp. infections and risk factors for cats from Brazil. *Parasitol Res*. 2011;109:1009–13.

Collazo CM, Yap GS, Hieny S, Caspar P, Feng CG, Taylor GA, et al. The function of gamma interferon-inducible GTP-binding protein IGTP in host

resistance to *Toxoplasma gondii* is Stat1 dependent and requires expression in both hematopoietic and nonhematopoietic cellular compartments. Infect Immun. 2002;70(12):6933-9.

Colombo FA, Vidal JE, Penalva de Oliveira AC, Hernandez AV, Bonasser-Filho F, Nogueira RS, et al. Diagnosis of cerebral toxoplasmosis in AIDS patients in Brazil: importance of molecular and immunological methods using peripheral blood samples. J Clin Microbiol. 2005;43:5044-47.

Commodaro AG, Belfort RN, Rizzo LV, Muccioli C, Silveira C, Burnier Jr MN, et al. Ocular toxoplasmosis – an update and review of the literature. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:345-50.

Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. BMJ. 2000;321(7254):142-7.

Corrêa FMA, Salata E, Oliveira MR. *Toxoplasma gondii*: diagnóstico pela imunofluorescência indireta em suínos no estado de São Paulo, Brasil. Arq Inst Biol. 1978;45:209-12.

Corrêa MOA, Hyakutake S, Tognoli JF. Incidência de reagentes à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose entre escolares do município de Presidente Prudente. Rev Inst Adolfo Lutz. 1972;32:41-6.

Correia CC, Melo HRL, Costa VMA. Influence of neurotoxoplasmosis characteristics on real-time PCR sensitivity among AIDS patients in Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2010;104:24-8.

Costa AJ, Avila FA, Kasai N, Paulillo AC, da Silva MB, Galesco H. Anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de bovinos do município de Jaboticabal; São Paulo, Brasil. Arq Inst Biol. 1978;45:299-301.

Costa AJ, Costa EP. Frequência de bovinos reagentes à imunofluorescência indireta para *Toxoplasma gondii* em Poços de Caldas, M.G., Brasil. Arq Esc Vet UFMG. 1978;30:47-51.

Costa AJ, Ishizuka MM, Marques LC, Vidotto O, Rocha UF, Ikeda A. Toxoplasmosis frequency in equines from the north region of São Paulo State, Brazil. Ars Veterinaria. 1986;2:75-9.

Costa CM, Nascimento GL, Ferreira PM, Carmo GMI, Pereira MSLC, Souto MCS, et al. Investigação de surto de toxoplasmose recente no Rio Grande do Norte, março 2010. In: 10ª Mostra Nacional de Experiências bem Sucedidas em Epidemiologia, Prevenção e Controle de Doenças. Anais... Brasília: Ministério da Saúde; 2010. p.99-100.

Costa DGC, Marvulo MFV, Silva JSA, Santana SC, Magalhães FJR, Lima Filho, CDF, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. J Parasitol. 2012;98:679-80.

Costa FF, Gondim APS, de Lima MB, Braga JU, de Souza Vieira LJE, Araujo MAL. Preventive behavior for toxoplasmosis in pregnant adolescents in the state of Ceara, Brazil. BMC Public Health. 2012;12:73.

Costa GHN, Cabral DD, Varandas NP, Sobral EA, Borges FA, Castagnolli KC. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* em soros de bovinos pertencentes aos estados de São Paulo e de Minas Gerais. Semina Cienc Agr. 2001;22:61–6.

Costa GHN, da Costa AJ, Lopes WZ, Bresciani KDS, dos Santos TR, Esper CR, et al. *Toxoplasma gondii*: infection natural congenital in cattle and an experimental inoculation of gestating cows with oocysts. Exp Parasitol. 2011;127:277–81.

Costa MAS, Bezela AL, Trindade CD, Neto JAF. Soroprevalência da toxoplasmose no Hospital Universitário Materno Infantil de São Luís – MA, em 2008. Cad Pesq. 2010;17:62–6.

Cota GF, Assad ECP, Christo PP, Giannetti AV, dos Santos JAM, Xavier MAP. Ventriculitis: a rare case of primary cerebral toxoplasmosis in AIDS patient and literature review. Braz J Infect Dis. 2008;12:101–4.

Coutinho SG, de Andrade CM, Malvar GS, Ferreira LF. Análise comparativa entre as sensibilidades da reação indireta de anticorpos fluorescentes e da reação Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos séricos para toxoplasmose. Rev Soc Bras Med Trop São Paulo. 1970;4:315–25.

Coutinho SG, de Souza WJS, Camillo-Coura L, Marzochi MCA, Amendoeira MRR. Levantamento dos resultados das reações de imunofluorescência indireta para toxoplasmose em 6079 pacientes de ambulatório ou gestantes no Rio de Janeiro realizadas durante os anos de 1971 a 1977. Rev Inst Med Trop. 1981;23:48–56.

Coutinho SG, Frias LAM, Nogueira JS. Resultados da reação indireta de anticorpos fluorescentes para toxoplasmose, (RIAF), em grupos de indivíduos de até 20 anos de idade, no Rio de Janeiro. Rev Soc Bras Med Trop. 1972;6:382–4.

Coutinho SG, Lobo R, Dutra G. Isolation of *Toxoplasma* from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil. J Parasitol. 1982a; 68:866–8.

Coutinho SG, Morgado A, Wagner M, Lobo R, Suttmoller F. Outbreak of human toxoplasmosis in a rural área. A three year serologic follow up study. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1982;77(1):29-36.

Coutinho SG, Morgado A, Wagner M, Lobo R, Suttmoller F. Outbreak of human toxoplasmosis in a rural area. a three year serologic follow-up study. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1982b;77:29–36.

Cruz MA, Ullmann LS, Montañó PY, Hoffmann JL, Langoni H, Biondo AW. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats from Curitiba, Paraná, Brazil. Rev Bras Parasitol Vet. 2011;20:256–8.

Cury PM, Pulido CF, Furtado VMG da Palma FMC. Autopsy findings in AIDS patients from a reference hospital in Brazil: analysis of 92 cases. Pathol Res Pract. 2003;199:811–4.

D'Angelino JL, Ishizuka MM. Toxoplasmose suína. 3. Avaliação da prevalência de infecção toxoplásmica em rebanhos suínos pela prova de imunofluorescência indireta e hemaglutinação. Bol Oficina Sanit Panam. 1986;100: 634–47.

da Serra-Freire NM, Norberg AN, Gazeta GS. Toxoplasmose caprina no Rio de Janeiro, Brasil. Parasitol día. 1994;18:77–81.

da Silva AV, Boareto H, Isbrecht FB, da Silva RC, Langoni H. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da região oeste do Paraná, Brasil. Vet Zootec. 2008;15:263–6.

da Silva AV, Cunha ELP, Meireles LR, Gottschalk S, Mota RA, Langoni H. Toxoplasmose em ovinos e caprinos: estudo soroepidemiológico em duas regiões do Estado de Pernambuco, Brasil. Cienc Rural. 2003a;33:115–9.

da Silva AV, Cutolo AA, Langoni H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de

anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. Arq Inst Biol. 2002;69:7–11.

da Silva AV, da Silva RC, Zamproga TO. *Toxoplasma gondii* em suínos com ênfase na contribuição brasileira. Sci Med (Porto Alegre). 2010;20:120–30.

da Silva AV, Gonçalves GF, Livero FAR, Bottin JMP, Belinato FC, Bastos EA, et al. Avaliação de fatores epidemiológicos na ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em cães atendidos em um hospital universitário. Vet Zootec. 2009;16:239–47.

da Silva AV, Langoni H. The detection of *Toxoplasma gondii* by comparing cytology, histopathology, bioassay in mice, and the polymerase chain reaction (PCR). Vet Parasitol. 2001;97:191–8.

da Silva AV, Mendonça AO, Pezerico SB, Domingues PF, Langoni H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains detected in pork sausage. Parasitol Latinoam. 2005a;60:65–8.

da Silva AV, Pezerico SB, de Lima VY, d’Arc Moretti L, Pinheiro JP, Tanaka EM, et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from dogs with neurological signs. Vet Parasitol. 2005b;127:23–7.

da Silva DS, Bahia-Oliveira LMG, Shen SK, Kwok OCH, Lehmann T, Dubey JP. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens from an area in southern Brazil highly endemic to humans. J Parasitol. 2003b;89:394–6.

da Silva NRS, da Costa AJ, Chaplin EL, Souza SMG. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de ovinos, pela reação de imunofluorescência indireta (IFI), na região de Guaíba, RS. Arq Fac Vet UFRGS. 1981;9:101–4.

da Silva RC, Langoni H, Su C, da Silva AV. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* in sheep from Brazilian slaughterhouses: new atypical genotypes and the clonal type II strain identified. Vet Parasitol. 2011;175: 173–7.

Daguer H, Vicente RT, da Costa T, Virmond MP, Hamann W, Amendoeira MRR. Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos e funcionários de matadouros da microrregião de Pato Branco, Paraná, Brasil. Cienc Rural. 2004;34:1133–37.

Darcy F, Maes P, Gras-Masse H, Auriault C, Bossus M, Deslee D, et al. Protection of mice and nude rats against toxoplasmosis by a multiple antigenic

peptide construction derived from *Toxoplasma gondii* P30 antigen. J Immunol. 1992;149(11):3636-41.

Dattoli VCC, Veiga RV, Cunha SS, Pontes-de-Carvalho L, Barreto ML, Alcantara-Neves NM. Oocyst ingestion as an important transmission route of *Toxoplasma gondii* in Brazilian urban children. J Parasitol. 2011;97:1080–84.

de Abreu MT, Belfort Jr R, Hirata PS. Fuch's heterochromic cyclitis and ocular toxoplasmosis. Am J Ophthalmol. 1982;93:739–44.

de Abreu MT, Hirata PS, Belfort Jr R, Neto SD. Uveítes em São Paulo. Estudo epidemiológico, clínico e terapêutico. Arq Bras Oftalmol. 1980;43: 10–6.

de Almeida MAB, de Alencar LR, do Carmo GMI, de Araújo WN, Garcia MHO, Reis AKV, et al. Surto intra familiar de toxoplasmose, Santa Vitória do Palmar-RS, Julho de 2005. Bol Eletron Epidemiol. [Internet] 2006 [citado 2012 Set 14];6(3):1–7. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_03_06.pdf.

de Amorim Garcia CA, Oréfice F, de Oliveira Lyra C, Bezerra Gomes A, França M, de Amorim Garcia Filho CA. Socioeconomic conditions as determining factors in the prevalence of systemic and ocular toxoplasmosis in northeastern Brazil. Ophthalmic Epidemiol. 2004;11:301–17.

de Andrade GMQ, de Resende LM, Goulart EMA, Siqueira AL, Vitor RWA, Januario, JN. Deficiência auditiva na toxoplasmose congênita detectada pela triagem neonatal. Rev Bras Otorrinolaringol. 2008;74:21–8.

de Araújo FAP, da Silva NRS, Olicheski AT, Beck C, Rodrigues RJD, Fialho CG. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de gatos internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, Porto Alegre, RS, Brasil, detectados através da técnica de hemaglutinação indireta. Acta Sci Vet. 2003;31:89–92.

de Araújo FR, Carvalho CME, Balbuena CB. Levantamento sorológico para *Toxoplasma gondii* em bovinos de corte do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev Bras Med Vet. 1998;20:201–3.

de Araújo FR, Sarti EC, Crocci AJ, Seabra VMS, Amorim JH, Cusinato FQ, et al. Anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em estudantes de medicina veterinária de Campo Grande, MS, Brasil. Cienc Rural. 2000;30:1017–19.

de Azevedo KML, Setúbal S, Lopes VGS, Camacho LAB, de Oliveira SA. Congenital toxoplasmosis transmitted by human immunodeficiency-virus infected women. *Braz J Infect Dis*. 2010a;14:186–9.

de Azevedo SS, Pena HFJ, Alves CJ, de Melo Guimarães Filho AA, Oliveira RM, Maksimov P, et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in swine from Northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2010b;19:80–4.

de Carvalho M, Minguini N, Moreira DC, Kara-José N. Characteristics of a pediatric low-vision population. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*. 1998;35: 162–5.

de Faria Couto J; Leite JM. Sinais ultra-sonográficos em fetos portadores de toxoplasmose congênita. *Rev Bras Ginecol Obstetr*. 2004;26: 377–82.

de Figueiredo HR, Favero S, Amendoeira MRR, Cardozo C. Inquérito soroepidemiológico para toxoplasmose e avaliação dos condicionantes para sua transmissão em universitários de Campo Grande, Mato Grosso do Sul. *Sci Med (Porto Alegre)*. 2010;20:71–5.

de Lima JTR, Ahid SMM, Barrêto RA, Pena HFJ, Dias RA, Gennari SM. Prevalência de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* e anti-*Neospora caninum* em rebanhos caprinos do município de Mossoró, Rio Grande do Norte. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2008;45:81–6.

de Mattos CCB, Spegiorin LCJF, da Silva Meira C, da Costa Silva T, da Costa Ferreira AI, Nakashima F, et al. Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women and their newborn infants in the region of São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. *Sao Paulo Med J*. 2011;129:261–6.

de Moraes EPBX, da Costa MM, Dantas AFM, da Silva JCR, Mota RA. *Toxoplasma gondii* diagnosis in ovine aborted fetuses and stillborns in the State of Pernambuco, Brazil. *Vet Parasitol*. 2011;183:152–5.

de Moura AB, Osaki SC, Zulpo DL, Marana ERM. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2007;16:54–6.

de Moura L, Bahia-Oliveira LMG, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:326–9.

de Oliveira BC. Toxoplasmose: perfil sorológico durante a gravidez e repercussões neonatais em maternidade pública de referência na cidade de Belém do Pará. [dissertação]. São Paulo, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 2002.

de Oliveira JF, Greco DB, Oliveira GC, Christo PP, Guimarães MDC, Corrêa-Oliveira R. Neurological disease in HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral treatment: a Brazilian experience. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2006;39:146–51.

de Oliveira KR, Domingues PF, Langoni H, da Silva RC, Gottschalk S. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de suínos criados sob condições rústicas na microrregião de Registro – SP, pelo método de aglutinação direta (MAD). *Vet Zootec*. 2007;14:169–75.

de Oliveira LN, Costa LM, de Melo CB, Silva JCR, Bevilaqua CML, Azevedo SS, et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the Northeast Region of Brazil. *J Parasitol*. 2009;95:235–7.

de Oliveira-Sequeira TCG, Amarante AFT, Salata E, Sogayar R. Serological survey for *Toxoplasma infection* in sheep in São Paulo, Brazil. *Vet Zootec*. 1993;5:121–5.

de Resende LM, de Andrade GMQ, de Azevedo MF, Perissinoto J, Vieira ABC. Congenital Toxoplasmosis Brazilian Group of the Universidade Federal de Minas Gerais (CTBG-UFGM). Congenital toxoplasmosis: auditory and language outcomes in early diagnosed and treated children. *Sci Med (Porto Alegre)*. 2010;20:13–9.

De Silva LM, Mulcahy DL, Kamath KR. A family outbreak of toxoplasmosis: A serendipitous finding. *J Infect*. 1984;8(2):163-7.

de Souza EC, Casella AMB. Clinical and tomographic features of macular punctate outer retinal toxoplasmosis. *Arch Ophthalmol*. 2009;127:1390–94.

de Souza LM, Nascimento AA, Furuta PI, Basso LMS, Silveira DM, Costa AJ. Detecção de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de bubalinos (*Bubalus bulalis*) no Estado de São Paulo, Brasil. *Semina Cienc Agr*. 2001;22:39–48.

de Souza Neves E, Kropf A, Bueno WF, Bonna ICF, Curi ALL, Amendoeira MRR, et al. Disseminated toxoplasmosis: an atypical presentation in an immunocompetent patient. *Trop Doct*. 2011;41:59–60.

de Souza SLS, Feitoza PVS, de Araújo JR, de Andrade RV, Ferreira LCL. Causas de óbito em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida, necropsiados na Fundação de Medicina Tropical do Amazonas. Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41:247–51.

de Souza W, DaMatta RA, Attias M. Brazilian contribution for a better knowledge on the biology of *Toxoplasma gondii*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:149–54.

de Souza W. Fine structure of the conoid of *Toxoplasma gondii*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1974;16:32–8.

Deane LM. Inquérito de toxoplasmose e de tripanossomíases realizado no território do Amapá pela III bandeira científica do Centro Acadêmico “Oswaldo Cruz” da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Rev Med. 1963;47:1–12.

Delair E, Latkany P, Noble AG, Rabiah P, McLeod R, Brézin A. Clinical manifestations of ocular toxoplasmosis. Ocul Immunol Inflamm. 2011;19:91–102.

Delicio AM, Milanez H, Amaral E, Moraes SS, Lajos GJ, Pinto e Silva JL, et al. Mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus in a ten years period. Reprod Health. 2011;8:35.

Demar M, Ajzenberg D, Maubon D, Djossou F, Panchoe D, Punwasi W, et al. Fatal outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: Epidemiological, clinical, and parasitological aspects. Clin Infect Dis. 2007;45(7):88-95.

Demar M, Hommel D, Djossou F, Peneau C, Boukhari R, Louvel D, et al. Acute toxoplasmoses in immunocompetent patients hospitalized in an intensive care unit in French Guiana. Clin Microbiol. 2011;18(7):221-31.

Denkers EY, Gazzinelli RT. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. Clin Microbiol Rev. 1998;11(4): 569-88.

Desmonts G, Couvreur J. Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. N Engl J Med. 1974;290:1110–6.

Desmonts G, Couvreur J, Alison F, Baudelot J, Gerbeaux J, Lelong M. Étude épidémiologique sur La toxoplasmose: de l'influence de La cuisson des viandes

de boucherie sur La fréquence de l'infection humaine. Rev Fr Études Clin Biol. 1965;10:95-958.

Detanico L, Basso RMC. Toxoplasmose: perfil sorológico de mulheres em idade fértil e gestantes. Rev Bras Anal Clin. 2006;38:15–8.

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

Dias RAF, Navarro IT, Ruffolo BB, Bugni FM, de Castro MV, Freire RL. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2005;47:185–9.

Dias RCF, Lopes-Mori FMR, Mitsuka-Breganó R, Dias RAF, Tokano DV, Reiche EMV, et al. Factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in pregnant women attended in Basic Health Units in the city of Rolândia, Paraná, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2011;53:185–91.

Diniz B, Regatieri C, Andrade R, Maia A. Evaluation of spectral domain and time domain optical coherence tomography findings in toxoplasmic retinochoroiditis. Clin Ophthalmol. 2011;5:645–50.

Djurkovic-Djakovic O, Milenkovic V. Effect of refrigeration and freezing on survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts. Acta Vet Beograd. 2000;50:375–80.

do Amaral RP, do Amaral RP, de Saidneuy AEKT, Ribeiro WL, de Andrade J. Serological profile of potential Toxoplasmosis in Brazil 41 solid organ donors in Santa Catarina, Brazil. Transplant Proc. 2008;40:665–7.

do Amaral V, Macruz R, Rebouças MM, Farinha FBN. *Toxoplasma gondii*: tentativa de isolamento do protozoário a partir de músculos diafragmáticos de coelhos clinicamente saudáveis, abatidos em matadouros de São Paulo-Capital. Cienc Cult. 1972;24:388.

do Amaral V, Macruz R. Pesquisa de formas encistadas do *Toxoplasma gondii* em diafragmas de suínos clinicamente saudáveis, abatidos em matadouros de São Paulo – Capital. Cienc Cult. 1968;20:308.

do Amaral V, Macruz R. *Toxoplasma gondii*: isolamento de amostras a partir de diafragmas de suínos clinicamente saudáveis, abatidos em matadouros de São Paulo – Brasil. Arq Inst Biol. 1969;36:47–54.

do Amaral V, Santos SM, Macruz R, Fenerich FL, Conrado Ribeiro LO, Rebouças MM. *Toxoplasma gondii*: isolamento do protozoário a partir de diafragmas de gatos domésticos, clinicamente hígidos. O Biológico. 1978b;44:211–14.

do Amaral V, Santos SM, Rebouças MM. Estudos preliminares sobre a prevalência de anticorpos antitoxoplasma, por hemaglutinação, em soros de suínos provenientes dos Estados de São Paulo e Rio Grande do Sul, Brasil. O Biológico. 1975;41:105–7.

do Amaral V, Santos SM, Rebouças MM. Sobre a prevalência de anticorpos antitoxoplasma em soros de caprinos e ovinos procedentes, respectivamente, dos Estados da Bahia e Rio Grande do Sul, Brasil. O Biológico. 1978c;44:331–40.

do Amaral V, Santos SM, Redouças MM. Considerações sobre a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de suínos provenientes dos estados do Paraná, Santa Catarina, Ceará e Piauí, Brasil. O Biológico. 1978a;44:117–20.

do Carmo EL, de Moraes Silva MC, Xavier UAM, da Costa BO, Póvoa MM. Inquérito sorológico de toxoplasmose em candidatos a transplante renal no Hospital Ofir Loyola, Belém, Pará, Brasil. Rev Panam Infectol. 2004;6:15–7.

Doganci L, Tanyuksel M, Araz ER, Besirbellioglu BA, Erdem U, Ozoguz CA, et al. A probable outbreak of toxoplasmosis among boarding school students in Turkey. Clin Microbiol Infect. 2006;12 (7):672-4.

dos Reis CR, Lopes FMR, Gonçalves DD, Freire RL, Garcia JL, Navarro IT. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in caprines from Pitanga City, Paraná State, Brazil. Braz J Vet Res Anim Sci. 2007;44:358–63.

dos Santos CBA, de Carvalho ACFB, Ragozo AMA, Soares RM, Amaku M, Yai LEO, et al. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from finishing pigs from São Paulo State, Brazil. Vet Parasitol. 2005;131:207–11.

dos Santos MCP, Zaidan AE, Costa AAL, Cardoso ES. Toxoplasmose e gravidez inquérito sorológico em gestantes do Hospital Universitário – Ufal. Rev Hosp Univ UFAL. 1994;1:7–12.

dos Santos TR, Nunes CM, Luvizotto MCR, de Moura AB, Lopes WDZ, da Costa AJ, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples from public schools. *Vet Parasitol.* 2010;171:53–7.

Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. *J Eukaryot Microbiol.* 2008;55(6):467-75.

Dubey JP. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidian of humans and animals. In: Kreier JP. *Parasitic protozoa*. 2ed. New York: Academic Press; 1993.p.1-57.

Dubey JP. Toxoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc.* 1994;205(11):1593-1598.

Dubey JP, Beattie, CP. *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton: CRC Press; 1988. p. 41-60.

Dubey JP, Frenkel JK Cyst-induced toxoplasmosis in cats. *J Protozool.* 1972;19:155–77.

Dubey JP, Frenkel JK. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. *J Protozool.* 1976;23(4):537-46.

Dubey JP, Gennari SM, Labruna MB, Camargo LMA, Vianna MCB, Marcet PL, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil. *J Parasitol.* 2006;92:36–40.

Dubey JP, Gennari SM, Sundar N, Vianna MCB, Bandini LM, Yai LEO, et al. Diverse and atypical genotypes identified in *Toxoplasma gondii* from dogs in São Paulo, Brazil. *J Parasitol.* 2007a;93:60–4.

Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, Lehmann T, Gennari SM, Ragozo AM, et al. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. *Int J Parasitol.* 2002;32(1):99-105.

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

Dubey JP, Hill DE, Jones JL, Hightower AW, Kirkland E, Roberts JM, et al. Prevalence of viable *Toxoplasma gondii* in beef, chicken, and pork from retail

meat stores in the United States: risk assessment to consumers. J Parasitol. 2005 Oct;91(5):1082-93.

Dubey JP, Jones JL. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. Int J Parasitol. 2008;38:1257-78.

Dubey JP, Kerber CE, Granstrom DE. Serologic prevalence of *Sarcocystis neurona*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in horses in Brazil. J Am Vet Med Assoc. 1999;215:970–2.

Dubey JP, Kirkbride CA. Economic and public health considerations of congenital toxoplasmosis in lambs. J Am Vet Med Assoc. 1989;195:1715-6.

Dubey JP, Kotula AW, Sharar AK, Andrews CD, Lindsay DS. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J Parasitol. 1990;76:201-4.

Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. Parasitology. 2012;10:1-50.

Dubey JP, Murrell KD, Fayer R, Schad GA. Distribution of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in commercial cuts of pork. J Am Vet Med Assoc. 1986;188:1035–37.

Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Paraná, Brazil. Vet Parasitol. 2003b;117:229–34.

Dubey JP, Navarro IT, Sreekumar C, Dahl E, Freire RL, Kawabata HH, et al. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Paraná, Brazil: seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. J Parasitol. 2004;90:721–6.

Dubey JP, Passos LMF, Rajendran C, Ferreira LR, Gennari SM, Su C. Isolation of viable *Toxoplasma gondii* from guinea fowl (*Numida meleagris*) and domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) from Brazil. J Parasitol. 2011;97:842–5.

Dubey JP, Rajendran C, Costa DGC, Ferreira LR, Kwok OCH, Qu D, et al. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpected findings. J Parasitol. 2010;96:709–12.

Dubey JP, Su C. Population biology of *Toxoplasma gondii*: what's out and where did they come from. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:190–5.

Dubey JP, Sundar N, Gennari SM, Minervino AHH, Farias NAR, Ruas JL, et al. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. Vet Parasitol. 2007b;143:182–8.

Dubey JP, Velmurugan GV, Chockalingam A, Pena HFJ, de Oliveira LN, Leifer CA, et al. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Brazil. Vet Parasitol. 2008;157:299–305.

Dubey JP. A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet Parasitol. 2002;106:121–53.

Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol. 1998;28(7):1019–24.

Dubey JP. Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. Vet Parasitol. 2006;140(1-2):69–75.

Dubey JP. Oocyst shedding by cats fed isolated bradyzoites and comparison of infectivity of bradyzoites of the VEG strain *Toxoplasma gondii* to cats and mice. J Parasitol. 2001;87(1):215–9.

Dubey JP. Survival of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in 0.85–6% NaCl solutions at 4–20 °C. J Parasitol. 1997;83:946–9.

Dubey JP. The scientific basis for prevention of *Toxoplasma gondii* infection: studies on tissue cyst survival, risk factors and hygiene measures. In: Ambroise-Thomas P, Petersen E, editors. Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control. Paris: Springer; 2000. p. 271–5.

Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, clinical disease, diagnosis, and public health significance. Zoonoses Public Health. 2010b;57:60–73.

Dubey JP. Toxoplasmosis in pigs – the last 20 years. Vet Parasitol. 2009b;164:89–103.

Dubey JP. Toxoplasmosis in sheep – the last 20 years. *Vet Parasitol* 2009a;163:1–14.

Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans, 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. 2010a. p.305.

Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. *Lancet*. 1999; 353:1829–33.

Eckert GU, Melamed J, Menegaz B. Optic nerve changes in ocular toxoplasmosis. *Eye*. 2007;21:746–51.

Eduardo MBP, Katsuya EM, Ramos SRTS, Pavanello ORP, Brito SN, Madalosso G. Investigação do surto de toxoplasmose associado ao consumo de prato à base de carne crua (“steak tartar”), nos municípios de São Paulo e Guarujá, SP, Novembro de 2006. BEPA. [internet] 2007. [citado 2012 Set 14]; 4(41):2-7. Disponível em: http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa41_toxoplas.htm.

Ekman CCJ, Chiossi MFV, Meireles LR, Andrade Júnior HF, Figueiredo WM, Marciano MAM, et al. Case-control study of an outbreak of acute toxoplasmosis in an industrial plant in the state of São Paulo, Brasil. *Rev.Inst.Med.Trop Sao Paulo*. 2012; 54(5):239-44.

Elbez-Rubinstein A, Ajzenberg D, Dardé ML, Cohen R, Dumètre A, Yera H, et al. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. *J Infect Dis*. 2009;199:280–5.

Epiphanyo S, Catão-Dias JL, Guimarães MABV. Toxoplasmosis in emperor tamarin (*Saguinus imperator*): case report. *Braz J Vet Res Anim Sci*.1999;36:2.

Epiphanyo S, Guimarães MABV, Fedullo DL, Correa SHR, Catão-Dias JL. Toxoplasmosis in golden-headed lion tamarins (*Leontopithecus chrysomelas*) and emperor marmosets (*Saguinus imperator*) in captivity. *J Zoo Wildl Med*. 2000;31:231–5.

Epiphanyo S, Sá LRM, Teixeira RHF, Catão-Dias JL. Toxoplasmosis in a wild-caught black lion tamarin (*Leontopithecus chrysopygus*). *Vet Rec*. 2001;149: 627–8.

Epiphany S, Sinhorini IL, Catão-Dias JL. Pathology of toxoplasmosis in captive New World primates. *J Comp Pathol.* 2003;129:196–204.

Faria EB, Gennari SM, Pena HFJ, Athayde ACR, Silva MLCR, Azevedo SS. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goats slaughtered in the public slaughterhouse of Patos city, Paraíba State, Northeast region of Brazil. *Vet Parasitol.* 2007;149:126–9.

Feldman HA. A nationwide serum survey of United States military recruits, 1962. VI. *Toxoplasma* antibodies. *Am J Epidemiol.* 1965;81:385–91.

Fernandes EFTS, Fernandes MFTS, Kim PCP, de Albuquerque PPF, Neto OLS, Santos AS, et al. Study of *Toxoplasma gondii* in slaughtered swine in the state of Pernambuco, Brazil. *J Parasitol.* In Press 2012.

Fernandes MA, Batista GI, Carlos JCS, Gomes IM, de Azevedo KML, Setubal S, et al. *Toxoplasma gondii* antibody profile in HIV-1-infected and uninfected pregnant women and the impact on congenital toxoplasmosis diagnosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2012;16:170–4.

Fernandes RCSC, Vasconcellos VP, de Araújo LC, Medina-Acosta E. Vertical transmission of HIV and *Toxoplasma* by reactivation in a chronically infected woman. *Braz J Infect Dis.* 2009;13:70–1.

Ferreira AM, Vitor RWA, Carneiro ACAV, Brandão GP, Melo MN. Genetic variability of Brazilian *Toxoplasma gondii* strains detected by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR) and simple sequence repeat anchored-PCR (SSRPCR). *Infect Genet Evol.* 2004;4:131–42.

Ferreira AM, Vitor RWA, Gazzinelli RT, Melo MN. Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. *Infect Genet Evol.* 2006;6:22–31.

Ferreira IMR, Vidal JE, de Mattos CCB, de Mattos LC, Qu D, Su C, et al. *Toxoplasma gondii* isolates: multilocus RFLP-PCR genotyping from human patients in São Paulo State, Brazil identified distinct genotypes. *Exp Parasitol.* 2011;129:190–5.

Ferreira M, Bicheri MCM, Nunes MB, Ferreira CCM. Diagnóstico laboratorial de infecção por *Toxoplasma gondii* na gestação. *Rev Bras Anal Clin.* 2007;39:37–8.

Ferreira MU, Hiramoto RM, Aureliano DP, da Silva-Nunes M, da Silva NS, Malafronte RS, et al. A community-based survey of human toxoplasmosis in rural Amazonia: seroprevalence, seroconversion rate, and associated risk factors. *Am J Trop Med Hyg.* 2009;81:171–6.

Fertig A, Selwyn S, Tibble MJK. Tetracycline treatment in a food borne outbreak of toxoplasmosis. *B M J.* 1977;1(6068):1064.

Fialho CG, de Araujo FAP. Detecção de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soro de suínos criados e abatidos em frigoríficos da região grande Porto Alegre-RS, Brasil. *Cienc Rural.* 2003;33:893–7.

Fialho CG, Teixeira MC, de Araujo FAP. Toxoplasmose animal no Brasil. *Acta Sci Vet.* 2009;37:1–23.

Figliuolo LPC, Kasai N, Ragozo AMA, de Paula VSO, Dias RA, Souza SLP, et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in ovine from São Paulo State, Brazil. *Vet Parasitol.* 2004a;123:161–6.

Figliuolo LPC, Rodrigues AAR, Viana RB, Aguiar DM, Kasai N, Gennari SM. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in goat from São Paulo State, Brazil. *Small Rumin Res.* 2004b;55:29–32.

Figueiredo JF, Silva DAO, Cabral DD, Mineo JR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats by the indirect haemagglutination, immunofluorescence and immunoenzymatic tests in the region of Uberlândia, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2001;96:687–92.

Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, de Souza Júnior VG, Botelho CA, Figueiredo MS, et al. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27:442–9.

Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med.* 1989;170(6):2081-95.

Francisco FM, de Souza SLP, Gennari SM, Pinheiro SR, Muradian V, Soares RM. Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo Municipality, SP, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 2006;48:167–70.

Frazão-Teixeira E, de Oliveira FCR, Pelissari-Sant' Ana V, Lopes CWG. *Toxoplasma gondii* em encéfalos de suínos comercializados no município de Campos dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet. 2006;15:33–6.

Frazão-Teixeira E, de Oliveira FCR. Anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in cattle and pigs in a highly endemic area for human toxoplasmosis in Brazil. J Parasitol. 2011;97:44–7.

Frazão-Teixeira E, Sundar N, Dubey JP, Grigg ME, de Oliveira FCR. Multi-locus DNA sequencing of *Toxoplasma gondii* isolated from Brazilian pigs identifies genetically divergent strains. Vet Parasitol. 2011;175:33–9.

Freire RL, Giralddi N, Vidotto O, Navarro IT. Levantamento soroepidemiológico da toxoplasmose em ovinos na região de Londrina, Paraná. Arq Bras Med Vet Zootec.1995;47:609–12.

Freitas JA, Oliveira JP, Ramos OS, Ishizuka MM. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos abatidos sem inspeção em Belém. Arq Bras Med Vet Zootec. 2009;61:1230–2.

Frenkel JK, Dubey JP, Miller NL. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. Science. 1970;167:893-6.

Frenkel JK, Taylor DW. Toxoplasmosis in immunoglobulin M-suppressed mice. Infect Immun. 1982;38(1):360-7.

Frenkel J. Toxoplasmosis: parasite life cycle, pathology and immunology. In: Hammond DM, Long PL. Coccidia. Baltimore: University Park Press; 1973. p.343.

Fuentes I, Rubio JM, Ramírez C, Alvar J. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. J Clin Microbiol. 2001 Apr;39(4):1566-70.

Galisteu KJ, Mattos CB, Lelis AGL, de Oliveira MP, Spejorim LF, Jordão P, et al. Prevalência e fatores de risco associados à toxoplasmose em grávidas e suas crianças no Noroeste Paulista, Brasil. Rev Panam Infectol. 2007;9:24–9.

Garcia G, Sotomaior C, do Nascimento AJ, Navarro IR, Soccol VT. *Toxoplasma gondii* in goats from Curitiba, Paraná, Brazil: risks factors and epidemiology. Rev Bras Parasitol Vet. 2012;21:42–7.

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, de Oliveira RC, Kobilka E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapitã (Paraná), Brasil. *Rev Panam Salud Pública*.1999c;6:157–63.

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, de Oliveira RC. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil. *Cienc Rural*.1999b;29:99–104.

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, de Oliveira RC. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii*, em suínos, bovinos, ovinos e eqüinos, e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná-Brasil. *Cienc Rural*. 1999a;29:91–7.

Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Marana ERM. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do Norte do Paraná, Brasil. *Cienc Rural*. 2000;30:123–7.

Garweg JG, Ventura ACS, Halberstadt M, Silveira C, Muccioli C, Belfort Jr R, et al. Specific antibody levels in the aqueous humor and serum of two distinct populations of patients with ocular toxoplasmosis. *Int J Med Microbiol*. 2005;295:287–95.

Gattás VL, Nunes EM, Soares ALB, Pires MA, Pinto PLS, de Andrade HF. Acute toxoplasmose outbreak at campus of the University of Sao Paulo related to food or water oocyst contamination. In: *Annals of the International Conference on Emerging Infectious Diseases*. Atlanta; 2000. p.135.

Gazêta GS, Dutra AEA, Norberg AN, Serra-Freire NM, Souza WJS, Amorim M, et al. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de eqüinos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*.1997;6:87–91.

Gazzinelli R, Xu Y, Hieny S, Cheever A, Sher A. Simultaneous depletion of CD4+ and CD8+ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol*. 1992a;149(1):175-80.

Gazzinelli RT, Denkers EY, Sher A. Host resistance to *Toxoplasma gondii*: model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracellular parasites. *Infect Agents Dis*. 1993a;2(3):139-49.

Gazzinelli RT, Hakim FT, Hieny S, Shearer GM, Sher A. Synergistic role of CD4+ and CD8+ T lymphocytes in IFN-gamma production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. *J Immunol*. 1991;146(1):286-92.

Gazzinelli RT, Hieny S, Wynn TA, Wolf S, Sher A. Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon gamma by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1993b; 90(13):6115-9.

Gazzinelli RT, Oswald IP, James SL, Sher A. IL-10 inhibits parasite killing and nitrogen oxide production by IFN-gamma-activated macrophages. *J Immunol*. 1992b;148(6):1792-6.

Gazzinelli RT, Wysocka M, Hayashi S, Denkers EY, Hieny S, Caspar P, et al. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-gamma synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol*. 1994;153(6):2533-43.

Gilbert R, Dunn D, Wallon M, Hayde M, Prusa A, Lebech M, et al. Ecological comparison of the risks of mother-to-child transmission and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis according to prenatal treatment protocol. *Epidemiol Infect*. 2001;127:113–20.

Gilbert RE, Freeman K, Lago EG, Bahia-Oliveira LMG, Tan HK, Wallon M, et al. Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2:277.

Giraldi N, Vidotto O, Navarro IT, Garcia JL, Ogawa L, Kobylka E. *Toxoplasma* antibody and stool parasites in public school children, Rolândia, Paraná, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002;35:215–9.

Glasner PD, Silveira C, Camargo M, Kim M, Nussenblatt RB, Belfort Jr R, et al. Low frequency of congenital *Toxoplasma gondii* (TG) infection in the Erechim Region of Rio Grande do Sul, Brazil. *Ophthalmology*. 1992a;99:150.

Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D, Martins MC, Burnier M, Silveira S, et al. An unusually high prevalence Toxoplasmosis in Brazil 43 of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. *Am J Ophthalmol*. 1992b;114:136–44.

Gomes UA, Teruel JR, Ferrioli Filho F, Nogueira JL. Estudo comparativo das frequências de infecção por *Toxoplasma gondii* nas zonas urbana e rural. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1975;17:355–60.

Gonçalves DD, Teles PS, dos Reis CR, Lopes FMR, Freire RL, Navarro IT, et al. Seroepidemiology and occupational and environmental variables for leptospirosis, brucellosis and toxoplasmosis in slaughterhouse workers in the Paraná State, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2006;48:135–40.

Gondim LFP, Barbosa HV, Ribeiro CHA, Saeki H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle, and water buffaloes in Bahia State, Brazil. *Vet Parasitol.* 1999;82:273–6.

Gouveia EB, Yamamoto JH, Abdalla M, Hirata CE, Kubo P, Olivalves E. Causas das uveítes em serviço terciário em São Paulo, Brasil. *Arq Bras Oftalmol.* 2004;67:139–45.

Grimwood J, Smith JE. *Toxoplasma gondii*: the role of parasite surface and secreted proteins in host cell invasion. *Int J Parasitol.* 1996;26(2):169-73.

Grünspan ED, Moreira WS, Edelweiss MIA, Ulon SN, Daudt HML. Imunoglobulinas antitoxoplásmicas e retinocoroidite em suínos. *Cienc Rural.* 1995;25:261–4.

Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Engl J Med.* 1994;330:1858–63.

Guimarães AC, Kawarabayashi M, Borges MM, Tolezano JE, Andrade HF. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo metropolitan region. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1993;35:479–83.

Guimarães AM, Ribeiro MFB, Lima JD, de Almeida TMB. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos da raça Piau. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 1992;44:69–71.

Guimarães FN, Meyer H. Cultivo de *Toxoplasma* Nicolle & Manceaux, 1909, em culturas de tecidos. *Rev Bras Biol.* 1942;2:123–9.

Guimarães FN. Toxoplasmose humana. Meningoencefalomielite toxoplásmica: ocorrência em adulto e em recém-nascido. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1943;38:257–320.

Haddad MAO, Sei M, Sampaio MW, Kara-José N. Causes of visual impairment in children: a study of 3,210 cases. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 2007;44:232–40.

Haque S, Franck J, Dumon H, Kasper LH, Haque A. Protection against lethal toxoplasmosis in mice by an avirulent strain of *Toxoplasma gondii*: stimulation of IFN-gamma and TNF-alpha response. *Exp Parasitol.* 1999;93(4):231-40.

Hayashi S, Kim MK, Belfort Jr R. White-centered retinal hemorrhages in ocular toxoplasmosis. *Retina*.1997;17:351–2.

Hedman K, Lappalainen M, Seppaia I, Makela O. Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J Infect Dis*. 1989;159(4): 736–40.

Heukelbach J, Meyer-Cirke V, Moura RCS, Gomide M, Queiroz JAN, Saweljew P, et al. Waterborne toxoplasmosis, northeastern Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2007;13:287–9.

Higa LT, Araújo SM, Tsuneto L, Castilho-Pelloso M, Garcia JL, Santana RG, et al. A prospective study of *Toxoplasma*-positive pregnant women in southern Brazil: a health alert. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2010;104:400–5.

Hill DE, Benedetto SMC, Coss C, McCrary JL, Fournet VM, Dubey JP. Effects of time and temperature on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in enhanced pork loin. *J Food Prot*. 2006b;69:1961–5.

Hill DE, Chirukandoth S, Dubey JP. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. *Anim Health Res Rev*. 2005;(1):41–61.

Hill DE, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2002;8:634–40.

Hill DE, Sreekumar C, Gamble HR, Dubey JP. Effect of commonly used enhancement solutions on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork loin. *J Food Prot*. 2004;67:2230–3.

Hiramoto RM, Galisteo AJ, do Nascimento N, de Andrade HF Jr. 200 Gy sterilised *Toxoplasma gondii* tachyzoites maintain metabolic functions and mammalian cell invasion, eliciting cellular immunity and cytokine response similar to natural infection in mice. *Vaccine*. 2002; 20(16): 2072–81.

Holland GN, Muccioli C, Silveira C, Weisz JM, Belfort Jr R, O'Connor GR. Intraocular inflammatory reactions without focal necrotizing retinochoroiditis in patients with acquired systemic toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*.1999;128:413–20.

Holland GN. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. *Am J Ophthalmol*. 2003;136:973–88.

Holland GN. Ocular toxoplasmosis: the influence of patient age. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:351–7.

Hutchison WM. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. Nature. 1965;206:961-2.

Howe DK, Honoré S, Derouin F, Sibley LD. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. J Clin Microbiol. 1997 Jun;35(6):1411-4.

Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. J Infect Dis. 1995 Dec;172(6):1561-6.

Humphreys H, Hillary IB, Kiernan T. Toxoplasmosis: a family outbreak. Ir Med J. 1986;79 (7):191.

Inagaki ADM, de Oliveira LAR, de Oliveira MFB, Santos RCS, Araújo RM, Alves JAB, et al. Soroprevalência de anticorpos para toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, sífilis e HIV em gestantes sergipanas. Rev Soc Bras Med Trop. 2009;42:532–6.

Isaac-Renton J, Bowie WR, King A, Irwin GS, Ong CS, Fung CP, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. Appl Environ Microbiol. 1998;64(6):2278-80.

Ishizuka MM, D'Angelino JL, Souza JMP. Toxoplasmose suína. Estudo comparativo das provas de imunofluorescência indireta e hemaglutinação, para a avaliação de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros suínos. Bol Oficina Sanit Panam. 1986;100:524–30.

Ishizuka MM, Miguel O, Brogliato DF. Avaliação da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma* em eqüinos PSI clinicamente normais. Rev Fac Med Vet Zootec Univ Sao Paulo. 1975;12:289–92.

Ishizuka MM. Estudo comparativo entre as provas de Sabin- Feldman e de imunofluorescência indireta para a determinação de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de suínos. Ver Fac Med Vet Zootec Univ Sao Paulo. 1978;15:45–9.

Jacobs L, Remington JS, Melton ML. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. J Parasitol. 1960;46:11-21.

James SL. Role of nitric oxide in parasitic infections. *Rev Microbiol.* 1995;59(4):533-47.

Jamra LF, Deane MP, Guimarães EC. On the isolation of *Toxoplasma gondii* from human food of animal origin. Partial results in the city of São Paulo (Brazil). *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1969;11:169–76.

Jamra LF, Deane MP, Mion D, Guimarães EC. Isolation of *Toxoplasma gondii* from human tonsils. *Rev Bras Pesq Med Biol.* 1971;4:97–102.

Jamra LM, Martins MC, Vieira MP. Ação do sal de cozinha sobre o *Toxoplasma gondii*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1991;33:359-63.

Jamra LMF, Guimarães EC. Conversão sorológica para toxoplasmose em crianças de um centro de saúde de São Paulo. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1981;23:133–7.

Jamra LMF, Santos OC, Guimarães EC. Presença de anticorpos anti-*Toxoplasma* em gestantes e recém-nascidos de um centro de saúde de São Paulo. *Rev Bras Pesq Med Biol.* 1979;12:279–85.

Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis – recent developments. *Exp Parasitol.* 2010;124:10–25.

Jones JL, Holland GN. Short report: annual burden of ocular toxoplasmosis in the United States. *Am J Trop Med Hyg.* 2010;82:464–5.

Jones JL, Muccioli C, Belfort Jr R, Holland GN, Roberts JM, Silveira C. Recently acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:582–7.

Jongert E, Roberts CW, Gargano N, Förster-Waldl E, Petersen E. Vaccines against *Toxoplasma gondii*: challenges and opportunities. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009 Mar;104(2):252-66.

Jordan KA, Hunter CA. Regulation of CD8+ T cell responses to infection with parasitic protozoa. *Exp Parasitol.* 2010 Nov;126(3):318-25.

Jorge EC, de Moraes Silva MRB, Nakamoto W, Jorge EN. Avaliação do sistema sangüíneo Duffy como fator de risco para a toxoplasmose ocular. *Rev Bras Oftalmol.* 2003;62:598–611.

Kamerkar S, Davis PH. *Toxoplasma* on the brain: understanding host-pathogen interactions in chronic CNS infection. J Parasitol Res. 2012;2012:589295.

Kara José N, de Carvalho KMM, Pereira VL, Venturini NHB, Gasparetto MEFR, Gushiken MT. Estudo retrospectivo dos primeiros 140 casos atendidos na Clínica de Visão Sub-normal do Hospital de Clínicas da UNICAMP. Arq Bras Oftalmol. 1988;51:65–9.

Kawasaki ML, de Carvalho PN, Lucarevski BR. Atenção à toxoplasmose durante a gestação em população carente do interior do Estado de São Paulo. Pediatr. 2006;28:242–50.

Kean BH, Kimball AC, Christenson WN. An epidemic of acute toxoplasmosis. J Am Med Ass. 1969;208(6):1002-04.

Khan A, Jordan C, Muccioli C, Vallochi AL, Rizzo LV, Belfort R Jr, et al. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. Emerg Infect Dis. 2006 Jun;12(6):942-9.

Khan A, Jordan C, Muccioli C, Vallochi AL, Rizzo LV, Belfort R, et al. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. Emerg Infect Dis. 2006;12:942–9.

Khan IA, Smith KA, Kasper LH. Induction of antigen-specific parasitocidal cytotoxic T cell splenocytes by a major membrane protein (P30) of *Toxoplasma gondii*. Immunol. 1988;141(10):3600-5.

Khan KS, Ter Riet G, Glanville J, Sowden AJ, Kleijnen J, editors for the NHS Centre for Reviews and Dissemination (CDR). Undertaking Systematic Reviews of Research on Effectiveness. CRD's Guidance for Carrying out or commissioning reviews. 2nd ed. New York: NHS Centre for Reviews and dissemination, University of York, 2000. [CRD Report nº4]. Available from: <http://www.york.ac.uk/inst/cdr/report4.htm>.

Kijlstra A, Jongert E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. Int J Parasitol. 2008;38:1359-70.

Kodjikian L, Hoigne I, Adam O, Jacquier P, Aebi-Ochsner C, Aebi C, et al. Vertical transmission of toxoplasmosis from a chronically infected immunocompetent woman. Pediatr Infect Dis J. 2004;23:272–4.

Kompalic-Cristo A, Britto C, Fernandes O. Molecular diagnosis of toxoplasmosis: review. J Bras Patol Med Lab. 2005;41(4): 229-35.

Kong JT, Grigg ME, Uyetake L, Parmley S, Boothroyd JC. Serotyping of *Toxoplasma gondii* infections in humans using synthetic peptides. J Infect Dis. 2003;187(9):1484-95.

Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, Andrews CD, Shen SK, Lindsay DS. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J Food Protection. 1991;54:687-90.

Krahenbuhl JL, Ruskin J, Remington JS. The use of killed vaccines in immunization against an intracellular parasite: *Toxoplasma gondii*. J Immunol. 1972;108(2):425-31.

Kuticic V, Wikerhauser T. Studies of the effect of various treatments on the viability of *Toxoplasma gondii* tissue cysts and oocysts, *Toxoplasma gondii*. Curr Top Microbiol Immunol. 1996;219:261-5.

Lago EG, Conrado GS, Piccoli CS, Carvalho RL, Bender AL. *Toxoplasma gondii* antibody profile in HIV-infected pregnant women and the risk of congenital toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009a;28:345–51.

Lago EG, de Carvalho RL, Jungblut R, da Silva VB, Fiori RM. Screening for *Toxoplasma gondii* antibodies in 2,513 consecutive parturient women and evaluation of newborn infants at risk for congenital toxoplasmosis. Sci Med (Porto Alegre). 2009b;19:27–34.

Lago EG, Neto EC, Melamed J, Rucks AP, Presotto C, Coelho JC, et al. Congenital toxoplasmosis: late pregnancy infections detected by neonatal screening and maternal serological testing at delivery. Paediatr Perinat Epidemiol. 2007;21:525–31.

Lamas da Silva JML. Sobre um caso de toxoplasmose espontânea em suínos. Arq Esc Sup Vet. 1959;12:425–8.

Lamb GA, Feldman HA. A nationwide serum survey of Brazilian military recruits, 1964.III. *Toxoplasma* dye test antibodies. Am J Epidemiol. 1968;87:323–8.

Langoni H, Greca H, Guimarães FF, Ullmann LS, Gaio FC, Uehara RS, et al. Serological profile of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in commercial sheep from São Paulo State, Brazil. Vet Parasitol. 2011;177:50–4.

Larsson CE, Jamra LMF, Guimarães EC, Pattoli DBG, da Silva HLL. Prevalência de toxoplasmose ovina determinada pela reação de Sabin-Feldman em animais de Uruguaiana, RS, Brasil. Rev Saúde Pública, 1980;14:582–8.

Leal FE, Cavazzana CL, de Andrade HF, Galisteo AJ, de Mendonça JS, Kallas EG. *Toxoplasma gondii* pneumonia in immunocompetent subjects: case report and review. Clin Infect Dis. 2007;44:62–6.

Leão PRD, Meirelles J, de Medeiros SF. Toxoplasmose: soroprevalência em puérperas atendidas pelo Sistema Único de Saúde. Rev Bras Ginecol Obstetr. 2004;26:627–32.

Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B, et al. Congenital Toxoplasmosis Study Group. Feasibility of neonatal screening for *Toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. Lancet. 1999;353:1834–7.

Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, et al. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996;15:799–805.

Lehmann T, Marcet PL, Graham DH, Dahl ER, Dubey JP. Globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii*. Proc Natl Acad Sci USA. 2006;103:11423–8.

Leyva R, Herion P, Saavedra R. Genetic immunization with plasmid DNA coding for the ROP2 protein of *Toxoplasma gondii*. Parasitol Res. 2001;87(1):70-9.

Liesenfeld O, Montoya JG, Kinney S, Press C, Remington JS. Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. J Infect Dis. 2001 Apr 15;183(8):1248-53.

Lima JN, Felicio PS, Franco PM, Lara MCCS, Cunha EMS, Quagliari D, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceaux, 1908) em suínos abatidos em matadouros no estado de São Paulo, SP, Brasil. O Biológico. 2007;67(Suppl.1):25.

Lindsay DS, Collins MV, Holliman D, Flick GJ, Dubey JP. Effects of high-pressure processing on *Toxoplasma gondii* tissue cysts in ground pork. J Parasitol. 2006;92:195–6.

Lindsay DS, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: the changing paradigm of congenital toxoplasmosis. *Parasitology*. 2011;138:1829–31.

Liu Q, Singla L, Zhou H. Vaccines against *Toxoplasma gondii*: Status, challenges and future directions. *Hum Vaccin Immunother*. 2012;8(9).

Lopes FMR, Gonçalves DD, dos Reis CR, Breganó RM, Freire RL, de Freitas JC, et al. Presence of domesticated cats and visual impairment associated to *Toxoplasma gondii* serum positive children at an elementary school in Jataizinho, State of Paraná, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2008;17:12–5.

Lopes FMR, Mitsuka-Breganó R, Costa IC, Carletti RT, Reis CR, Gonçalves DD, et al. Ocorrência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em alunos do ensino médio do Município de São Jerônimo da Serra – PR, Brasil. *Rev Bras Anal Clin*. 2005;37:107–9.

Lopes FMR, Mitsuka-Breganó R, Gonçalves DD, Freire RL, Karigyo CJT, Wedy GF, et al. Factors associated with seropositivity for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women of Londrina, Paraná, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:378–82.

Lopes WZ, dos Santos TR, da Silva RS, Rossanese WM, de Souza F, Rodrigues JF, et al. Seroprevalence of and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep raised in the Jaboticabal microregion, São Paulo State, Brazil. *Res Vet Sci*. 2010;88:104–6.

Lucas SRR, Hagiwara MK, Loureiro VDS, Ikesaki JYH, Birgel EH. *Toxoplasma gondii* infection in Brazilian domestic outpatient cats. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 1999;41:221–4.

Luft BJ, Remington JS. Acute *Toxoplasma* infection among family members of patients with acute lymphadenopathic toxoplasmosis. *Arch Intern Med*. 1984;144(1):53-6.

Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. *Clin Infect Dis*. 1992;15(2):211-22.

Lunden A, Parmley SF, Bengtsson KL, Araujo FG. Use of a recombinant antigen, SAG2, expressed as a glutathione-S-transferase fusion protein to immunize mice against *Toxoplasma gondii*. *Parasitol Res*. 1997;83(1):6-9.

Lundén A, Uggla A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *Int J Food Microbiol*. 1992;15:357–63.

Lynch MI, de Moraes LFL, Malagueño E, Ferreira S, Cordeiro F, Oréfice F. Características clínicas de 64 indivíduos portadores de uveítis posterior activa presumivelmente toxoplásmica em Pernambuco. *Arq Bras Oftalmol*. 2008;71:43–8.

Lynch MI, Malagueño E, Lynch LF, Ferreira S, Stheling R, Oréfice, F. Anti-*Toxoplasma gondii* secretory IgA in tears of patients with ocular toxoplasmosis: immunodiagnostic validation by ELISA. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009; 104:818–22.

Machado TMM, Lima JD. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos criados sob diferentes formas de exploração no Estado de Minas Gerais. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 1987;39:255–64.

Maciel KP, de Araujo FAP. Inquerito sorológico para detecção de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em caprinos (*Capra hircus*) criados nos municípios de Gravataí e Viamão. região de Grande Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev Cienc Agrovet*. 2004;3:121–5.

Macruz R, Lenci O, Ishizuka MM, Miguel O, da Cunha RAF. Toxoplasmose em equinos PSI: estudo sorológico. *Rev Fac Med Vet Zootec Univ Sao Paulo*. 1975;12:277–82.

Madeira A, Búrigo MJ. Surto de Toxoplasmose no município de agrônoma em Santa Catarina. *Estudos e Avaliação de Saúde*, s.d. [citado 2012 Set 14] 3p. Disponível em: http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/articulacao_tecnica/toxoplasmose-boletim-epidemiologico.pdf

Magaldi C, Elkis H, Pattoli D, Coscina AL. Epidemic of toxoplasmosis at a university in São-José-dos-Campos, S.P., Brazil. 1. Clinical and serologic data. *Rev Latinoam Microbiol Parasitol (Mex)*. 1969;11:5–13.

Magaldi C, Elkis H, Pattoli D, Quiróz JC, Coscina AL, Ferreira JM. Surto de toxoplasmose em seminário de Bragança Paulista (Estado de São Paulo). Aspectos clínicos, sorológicos e epidemiológicos. *Rev Saúde Pública*. 1967;1(2):141–71.

Mainardi RS, Modolo JR, Stachissini AVM, Padovani CR, Langoni H. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no Estado de São Paulo. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36:759–61.

Maksimov P, Zerweck J, Maksimov A, Hotop A, Gross U, Spekter K, et al. Analysis of clonal type-specific antibody reactions in *Toxoplasma gondii* seropositive humans from Germany by peptide-microarray. PLoS One. 2012;7(3):34212.

Maluenda ACH, Casagrande RA, Nemer VC, Kanamura CT, Kluyber D, Teixeira RHF, et al. Infecção aguda fatal por *Toxoplasma gondii* em macaco-barrigudo (*Lagothrix lagotricha*) – relato de caso. Clin Vet. 2009; 81:100-4.

Mandai ON, Lopes FMR, Mitsuka-Breganó R. Prevalência de anticorpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma gondii* em gestantes atendidas nas unidades básicas de saúde do município de Londrina – Paraná, no período de 2003 e 2004. Rev Bras Anal Clin. 2007;39:247–9.

Marana ERM, Navarro IT, Vidotto O, Freire RL, Lott R. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de corte, abatidos em matadouros do norte do Paraná – Brasil. Semina Cienc Agrar. 1994;15:38–40.

Marana ERM, Ventrurini ACH, Freire RL, Vidotto O, Navarro IT. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em rebanhos de bovinos de Leite do Norte do Paraná – Brasil. Semina Cienc Agrar. 1995;16:40–2.

Martins JR, Hancock R, Corrêa BL, Ceresér VH. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em ovinos no município de Livramento, RS: prevalência e implicações epidemiológicas. Pesq Agrop Gaúcha. 1998;4:27–9.

Masur H, Jones TC, Lempert JA, Cherubini TD. Outbreak of toxoplasmosis in a family and documentation of acquired retinochoroiditis. Am J Med. 1978;64:(3)396-402.

Mateus-Pinilla NE, Dubey JP, Choromanski L, Weigel RM. A field trial of the effectiveness of a feline *Toxoplasma gondii* vaccine in reducing *T. gondii* exposure for swine. J Parasitol. 1999;85(5):855-60.

Matos KTF, Santos MCM, Muccioli C. Manifestações oculares do paciente infectado pelo HIV atendido no Departamento de Oftalmologia da Universidade Federal de São Paulo. Rev Assoc Med Bras. 1999;45:323–6.

Matos MPC, Sobestiansky J, Gambarini ML, Caiado KL. Anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de matrizes suínas de granjas que abastecem o mercado consumidor de Goiânia. Hora Vet. 1995;19:9–11.

Mattos CCB, Meira CS, Ferreira AIC, Frederico FB, Hiramoto RM, Almeida GC, et al. Contribution of laboratory methods in diagnosing clinically suspected ocular toxoplasmosis in Brazilian patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;70:362–6.

McDonald JC, Gyorkos TW, Alberton B, MacLean JD, Richer G, Juranek, D. An outbreak of toxoplasmosis in pregnant women in northern Quebec. *J Infect Dis*. 1990;161(4):769-74.

McLeod R, Boyer K, Karrison T, Kasza K, Swisher C, Roizen N, et al. Outcome of treatment for congenital toxoplasmosis, 1981-2004: the national collaborative Chicago-based, congenital toxoplasmosis study. *Clin Infect Dis*. 2006;42:1383-94.

McLeod R, Kieffer F, Sautter M, Hosten T, Pelloux H. Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis? *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104: 320–44.

Mecca JN, Meireles LR, de Andrade HF Jr. Quality control of *Toxoplasma gondii* in meat packages: standardization of an ELISA test and its use for detection in rabbit meat cuts. *Meat Sci*. 2011;88(3):584-9.

Meira CS, Costa-Silva TA, Vidal JE, Ferreira IMR, Hiramoto RM, Pereira-Chiocola VL. Use of the serum reactivity against *Toxoplasma gondii* excreted-secreted antigens in cerebral toxoplasmosis diagnosis in human immunodeficiency virusinfected patients. *J Med Microbiol*. 2008;57:845–50.

Meira CS, Vidal JE, Costa-Silva TA, Frazatti-Gallina N, Pereira-Chiocola VL. Immunodiagnosis in cerebrospinal fluid of cerebral toxoplasmosis and HIV-infected patients using *Toxoplasma gondii* excreted/secreted antigens. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2011;71:279–85.

Meireles LR, Galisteo AJ, Andrade HF. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo state, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2003;40:267–71.

Meireles LR, Galisteo AJ, Pompeu E, Andrade HF. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. *Trop Med Int Health*. 2004;9:876–81.

Meireles LR. Padronização e aplicações da avidéz de anticorpos IgG no diagnóstico laboratorial da toxoplasmose animal [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas; 2005.

Melamed J, Dornelles F, Eckert GU. Alterações tomográficas cerebrais em crianças com lesões oculares por toxoplasmose congênita. J Pediatr (Rio J). 2001;77:475–80.

Melamed J, Eckert GU, Spadoni VS, Lago EG, Uberti, F. Ocular manifestations of congenital toxoplasmosis. Eye (Lond). 2010;24:528–34.

Melamed J. Contributions to the history of ocular toxoplasmosis in Southern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:358–63.

Melamed J. Isolamento do *Toxoplasma gondii* no Brasil. Arq Bras Oftalmol. 1992;55:90.

Mendes-de-Almeida F, Labarthe N, Guerrero J, Faria MCF, Branco AS, Pereira C D, et al. Follow-up of the health conditions of an urban colony of free-roaming cats (*Felis catus Linnaeus*, 1758) in the city of Rio de Janeiro, Brazil. Vet Parasitol. 2007;147:9–15.

Mendonça AO, Cerqueira E JL, do Araujo WN, Moraes- Silva E, Shimabukuro FH, Sarkis DT, et al. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equídeos procedentes de duas regiões do Estado da Bahia, Brasil. Semina Cienc Agrar. 2001;22:115–8.

Mentzer A, Perry M, Fitzgerald N, Barrington S, Siddiqui A, Kulasegaram R. Is it all cerebral toxoplasmosis? Lancet. 2012;379:286.

Mesquita RT, Vidal JE, Pereira-Chioccia VL. Molecular diagnosis of cerebral toxoplasmosis: comparing markers that determine *Toxoplasma gondii* by PCR in peripheral blood from HIVinfected patients. Braz J Infect Dis. 2010b;14:346–50.

Mesquita RT, Ziegler AP, Hiramoto RM, Vidal JE, Pereira-Chioccia VL. Real-time quantitative PCR in cerebral toxoplasmosis diagnosis of Brazilian human immunodeficiency virusinfected patients. J Med Microbiol. 2010a;59:641–7.

Millar PR, Daguer H, Vicente RT, da Costa T, Sobreiro LG, Amendoeira MRR. *Toxoplasma gondii*: estudo soropidemiológico de suínos da região Sudoeste do Estado do Paraná. Pesq Vet Bras. 2008;28:15–8.

Mioranza SL, Meireles LR, Mioranza EL, de Andrade HF. Evidência sorológica da infecção aguda pelo *Toxoplasma gondii* em gestantes de Cascavel, Paraná. Rev Soc Bras Med Trop. 2008;41:628–34.

Moraes Jr HV. Punctate outer retinal toxoplasmosis in an HIV positive child. *Ocul Immunol Inflamm*. 1999;7:93–5.

Mosmann TR, Bond MW, Coffman RL, Ohara J, Paul WE. T-cell and mast cell lines respond to B-cell stimulatory factor 1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986;83(15):5654–8.

Mozzatto L, Soibelmann Procianoy R. Incidence of congenital toxoplasmosis in Southern Brazil: a prospective study. *Rev Inst Med Trop*. 2003;45:147–51.

Muccioli C, Belfort Jr R, Lottenberg C, Lima J, Santos P, Kim M, et al. Achados oftalmológicos em AIDS: avaliação de 445 casos atendidos em um ano. *Rev Assoc Med Bras*. 1994;40:155–8.

Munday BL. Serological evidence of *Toxoplasma* infection in isolated groups of sheep. *Res Vet Sci* 1972;13:100–102.

Muradian V, Ferreira LR, Lopes EG, Esmerini PO, Pena HF, Soares RM, et al. A survey of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection in urban rodents from Brazil. *J Parasitol*. 2012;98:128–34.

Muraro LS, Caramori Jr JG, de Amendoeira MRR, Pereira JA, de Oliveira JX, Vicente RT, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in swine matrices in Nova Mutum and Diamantino, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2010;19:254–5.

Nascimento LV, Stollar F, Tavares LB, Cavasini CE, Maia IL, Cordeiro JA, et al. Risk factors for toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients: a case-control study in Brazil. *Ann Trop Med Parasitol*. 2001;95:587–93.

Navarro IT, Vidotto O, Giraldi N, Mitsuka R. Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em linguica de suínos. *Bol Oficina Sanit Panam*. 1992;112:138–43.

Needleman IG. A guide to systematic reviews. *J Clin Periodontol*. 2002;29 (Suppl 3):6–9.

Nery-Guimarães F, Franken AJ, Chagas WA. Toxoplasmose em primatas não humanos. Infecções naturais em “*Macacca mulatta*” e “*Cebus paella*”. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1971;69:77–87.

Nery-Guimarães F, Franken AJ. Toxoplasmose em primatas não humanos. II-Tentativas de infecções experimentais em *Macacca mulatta*, *Cebus apella* e *Callithrix jacchus*; e pesquisa de anticorpos em várias espécies de *Platyrrhinus*. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1971;69:97–111.

Nery-Guimarães F, Lage HA. Produção irregular e inconstante de oocistos pela minitração de cistos de "*Toxoplasma gondii*" Nicolle & Manceaux, 1909, em gatos. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1973;71:157–67.

Neto EC, Amorim F, Lago EG. Estimation of the regional distribution of congenital toxoplasmosis in Brazil from the results of neonatal screening. Sci Med (Porto Alegre). 2010;20:64–70.

Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Schulte J, Becker D, et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. Int J Epidemiol. 2000;29:941–7.

Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R. Newborn screening for congenital infectious diseases. Emerg Infect Dis. 2004;10:1069–73.

Neto JO, Meira DA. Soroprevalência de vírus linfotrópico de células T humanas, vírus da imunodeficiência humana, sífilis e toxoplasmose em gestantes de Botucatu – São Paulo – Brasil. Fatores de risco para vírus linfotrópico de células T humanas. Rev Soc Bras Med Trop Sao Paulo. 2004;37:28–32.

Netto EG, Munhoz AD, Albuquerque GR, Lopes CWG, Ferreira AMR. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) na Cidade de Niterói, Rio de Janeiro. Rev Bras Parasitol Vet. 2003;12:145–9.

Neves ES, Bicudo LN, Carregal E, Bueno WF, Ferreira RG, Amendoeira MR, et al. Acute acquired toxoplasmosis: clinical-laboratorial aspects and ophthalmologic evaluation in a cohort of immunocompetent patients. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:393–6.

Nicolle C, Manceaux L. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. C R Séances Acad Sci. 1908;147:763–66.

Nielsen HV, Lauemoller SL, Christiansen L, Buus S, Fomsgaard A, Petersen E. Complete protection against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice immunized with a plasmid encoding the SAG1 gene. Infect Immun. 1999;67(12):6358–63.

Nobre V, Braga E, Rayes A, Serufo JC, Godoy P, Nunes N, et al. Opportunistic infections in patients with AIDS admitted to an university hospital of the southeast of Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2003;45:69–74.

Nóbrega MJ, Rosa EL. Toxoplasmosis retinochoroiditis after photodynamic therapy and intravitreal triamcinolone for a supposed choroidal neovascularization: a case report. *Arq Bras Oftalmol*. 2007;70:157–60.

Nóbrega P, Reis J. Identidade dos toxoplasmas das aves e de mamíferos. *Arq Inst Biol (Sao Paulo)*. 1942;13:21–8.

Nogueira FLN, Mattas S, Turcato Jr G, Lewi DS. Neurotoxoplasmosis diagnosis for HIV-1 patients by real-time PCR of cerebrospinal fluid. *Braz J Infect Dis*. 2009;13:18–23.

Ogassawara S, Benassi S, Hagiwara MK, Larsson CE. *Isospora* spp: estudo sobre a ocorrência na espécie felina, na cidade de São Paulo. *Rev Microbiol (Sao Paulo)*. 1980;11:126–30.

Ogawa L, Freire RL, Vidotto O, Gondim LFP, Navarro IT. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dairy cattle from the northern region of the Paraná State, Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2005;57:312–6.

Ogawa L, Navarro IT, Freire RL, de Oliveira RC, Vidotto O. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos da região de Londrina no Estado do Paraná. *Semina Cienc Agrar*. 2003;24:57–62.

Olariu TR, Remington JS, McLeod R, Alam A, Montoya JG. Severe congenital toxoplasmosis in the United States: clinical and serologic findings in untreated infants. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30:1056–61.

Oliveira LB, Reis PA. Photodynamic therapy-treated choroidal neovascular membrane secondary to toxoplasmic retinochoroiditis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2004;242:1028–30.

Oréfice JL, Costa RA, Oréfice F, Campos W, da Costa-Lima D, Scott IU. Vitreoretinal morphology in active ocular toxoplasmosis: a prospective study by optical coherence tomography. *Br J Ophthalmol*. 2007;91:773–80.

Ortolani ES, Gennari SM, Pinheiro SR, Rodrigues AAR, Chiebao DP, Soares RM. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em populações animais

das aldeias indígenas Krucutu e Morro da Saudade, no município de São Paulo, Brasil. Vet Zootec. 2005;12:25–8.

Palanisamy M, Madhavan B, Balasundaram M, Andavar R, Venkatapathy N. Outbreak of ocular toxoplasmosis in Coimbatore, India. Indian J Ophthalmol. 2006;54 (2):129-31.

Passos LMF, Lima JD, Figueiredo BL. Determinação da infecção por *Toxoplasma gondii* em bovinos abatidos em Belo Horizonte (MG) através da frequência de anticorpos e tentativa de isolamento a partir de musculatura diafragmática. Arq Bras Med Vet Zootec. 1984b;36:581–89.

Passos LMF, Lima JD, Figueiredo BL. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos abatidos em Belo Horizonte, Minas Gerais. Arq Bras Med Vet Zootec. 1984a;36:649–57.

Passos LN, de Araújo Filho OF, de Andrade Jr HF. *Toxoplasma* encephalitis in AIDS patients in São Paulo during 1988 and 1991. A comparative retrospective analysis. Rev Inst Med Trop São Paulo. 2000;42:141–5.

Peixoto CMS, Lopes CWG. Isolamento do *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em galinhas naturalmente infectadas. Arq Univ Fed Rural Rio de Janeiro. 1990;13:105–11.

Pena HFJ, Gennari SM, Dubey JP, Su C. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. Int J Parasitol. 2008;38:561–9.

Pena HFJ, Marvulo MFV, Horta MC, Silva MA, Silva JCR, Siqueira DB, et al. Isolation and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* from a red-handed howler monkey (*Alouatta belzebul*), a jaguarondi (*Puma yagouaroundi*), and a black-eared opossum (*Didelphis aurita*) from Brazil. Vet Parasitol. 2011;175:377–81.

Pena HFJ, Soares RM, Amaku M, Dubey JP, Gennari SM. *Toxoplasma gondii* infection in cats from São Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. Res Vet Sci. 2006;81:58–67.

Pereira-Chioccia VL, Vidal JE, Su C. *Toxoplasma gondii* infection and cerebral toxoplasmosis in HIV-infected patients. Future Microbiol. 2009;4:1363–79.

Pescador CA, Oliveira EC, Pedroso PMO, Bandarra PM, Okuda LH, Corbellini LG, et al. Perdas reprodutivas associadas com infecção por *Toxoplasma gondii* em caprinos no sul do Brasil. *Pesq Vet Bras*. 2007;27:167–71.

Petrilli AMN, Belfort Jr R, Moreira JBC, Nishi M. Uveítes na infância em São Paulo. *Arq Bras Oftalmol*. 1987;50:203–7.

Pezerico GB, Pezerico SB, Silva RC, Hoffmann JL, Camargo LB, Langoni H. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira* spp. em suínos abatidos em três abatedouros dos estados de Minas Gerais e São Paulo. *Arq Inst Biológico (Sao Paulo)*. 2007;74:267–70.

Pfefferkorn ER, Eckel M, Rebhun S. Interferon-gamma suppresses the growth of *Toxoplasma gondii* in human fibroblasts through starvation for tryptophan. *Mol Biochem Parasitol*. 1986;20(3):215–24.

Piassa FR, de Araújo JB, da Rosa RC, Mattei RJ, da Silva RC, Langoni H, et al. Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in certified and non-certified pig breeding farms in the Toledo microregion, PR, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2010;19:152–6.

Pinheiro JW, Mota RA, Oliveira AAF, Faria EB, Gondim LFP, da Silva AV, et al. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the State of Alagoas, Brazil. *Parasitol Res*. 2009;105:709–15.

Pinheiro SRAA, Oréfice F, Andrade GMQ, Caiaffa WT. Estudo da toxoplasmose ocular em famílias de pacientes portadores de toxoplasmose congênita, sistêmica e ocular. *Arq Bras Oftalmol*. 1990;53:4–6.

Pinto LD, de Araujo FAP, Stobb NS, Marques SMT. Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil. *Cienc Rural*. 2009;39:2464–9.

Pomares C, Ajzenberg D, Bornard L, Bernardin G, Hasseine L, Dardé ML, et al. Toxoplasmosis and horse meat, France. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:1327–28.

Portela RWD, Bethony J, Costa MI, Gazzinelli A, Vitor RWA, Hermeto FM, et al. A multihousehold study reveals a positive correlation between age, severity of ocular toxoplasmosis, and levels of glycoinositolphospholipid-specific immunoglobulin A. *J Infect Dis*. 2004;190:175–83.

Porto AMF, de Amorim MMR, Coelho ICN, Santos LC. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes atendidas em maternidade. Rev Assoc Med Bras. 2008;54:242–8.

Ragozo AMA, Pena HFJ, Yai LEO, Su C, Gennari SM. Genetic diversity among *Toxoplasma gondii* isolates of small ruminants from Brazil: novel genotypes revealed. Vet Parasitol. 2010;170:307–12.

Ragozo AMA, Yai LEO, Oliveira LN, Dias RA, Dubey JP, Gennari SM. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from sheep from São Paulo State, Brazil. J Parasitol. 2008;94:1259–63.

Ragozo AMA, Yai LEO, Oliveira LN, Dias RA, Gonçalves HC, Azevedo SS, et al. Isolation of *Toxoplasma gondii* from goats from Brazil. J Parasitol. 2009;95:323–6.

Rebouças EC, Dos Santos EL, Do Carmo MLS, Cavalcante Z, Favali C. Seroprevalence of *Toxoplasma* infection among pregnant women in Bahia, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2011;105:670–1.

Rehder JR, Burnier M, Pavesio CE, Kim MK, Rigueiro M, Petrilli AMN et al. Acute unilateral toxoplasmic iridocyclitis in an AIDS patient. Am J Ophthalmol. 1988;106:740–1.

Reiche EMV, Morimoto HK, Farias GN, Hisatsugu KR, Geller L, Gomes ACLF, et al. Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). Rev Soc Bras Med Trop. 2000;33:519–27.

Reis FV, Soares C, Watanabe M, Colombini GUI, Leite LAM. Causas de cegueira entre os alunos em curso no Instituto Benjamin Constant no ano de 1996. Rev Bras Oftalmol. 1998a;57:619–23.

Reis J, Nóbrega P. Toxoplasmose. In: Reis J, Nóbrega P. Tratado de Doenças das Aves. São Paulo: Instituto Biológico. 1936. p.302–6.

Reis MM, Tessaro MM, d'Azevedo PA. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de um hospital público de Porto Alegre. Rev Bras Ginecol Obstetr. 2006;28:158–64.

Reis PAC, Campos CMC, Fernandes LC. Características da população portadora de visão subnormal do Hospital São Geraldo. Um estudo retrospectivo de 435 casos. *Rev Bras Oftalmol*.1998b;57:287–94.

Remington JS, McLeod R, Wilson CB, Desmonts G. Toxoplasmosis. In Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 7th ed. Pennsylvania: Elsevier Saunders; 2011. p. 918–1041.

Renoiner EIM, Siqueira AA, Garcia MH, Alves RM, Cardoso ME, Ferreira ABPL, et al. Surto de toxoplasmose adquirida, Anápolis-GO, fevereiro de 2006. *Bol Eletron Epidemiol*. [Internet] 2007 [citado 2012 Set 14]; 8:1-6. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_eletronico_08_07.pdf.

Rey LC; Ramalho ILC. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceará, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*.1999;41:171–4.

Ricciardi ID, Sabroza PC, Sandoval ED, Mayrink W. Seroepidemiological study on the prevalence of human toxoplasmosis in Brazil. *Rev Microbiol (Sao Paulo)*.1978;9:181–7.

Ricciardi ID, Sandoval EFD, Mayrink W. Preliminary notes on the prevalence of human toxoplasmosis in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*.1975;69:516–7.

Roberts A, Hedman K, Luyasu V, Zufferey J, Bessièrès MH, Blatz RM, et al. Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2001;20(7):467-74.

Roberts T, Murrell KD, Marks S. Economic losses caused by foodborne parasitic diseases. *Parasitol Today*. 1994;10:419–23.

Robson JMB, Wood RN, Sullivan JJ, Nicolaides NJ, Lewis BR. A Probable Foodborne outbreak of toxoplasmosis. *Commun Dis Intell*. 1995;19(21):517-22.

Rodrigues IMX, Castro AM, Gomes MBF, Amaral WN, Avelino MM. Congenital toxoplasmosis: evaluation of serological methods for the detection of anti-*Toxoplasma gondii* IgM and IgA antibodies. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:434–40.

Romanelli PR, Freire RL, Vidotto O, Marana ERM, Ogawa L, de Paula VSO, et al. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Paraná, Brazil. *Res Vet Sci*. 2007;82:202-7.

Rosa LD, de Moura AB, Trevisani N, Medeiros AP, Sartor AA, de Souza AP, et al. *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2010;19:268–9.

Rosemberg S, Lopes MBS, Tsanaclis AM. Neuropathology of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Analysis of 22 Brazilian cases. *J Neurol Sci.* 1986;76:187–98.

Rossi GF, Cabral DD, Ribeiro DP, Pajuaba ACAM, Corrêa RR, Moreira RQ, et al.. Evaluation of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Uberlândia, Minas Gerais State, Brazil, by different serological methods. *Vet Parasitol.* 2011;175:252–9.

Sabin AB, Feldman HA. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). *Science.* 1948;108:660–3.

Sacks JJ, Delgado DG, Lobel HO, Parker RL. Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison. *Am J Epidemiol.* 1983;118(6):832–8.

Sacks JJ, Roberto RR, Brooks NF. Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. *J Am Med Assoc.* 1982;248(14):1728–32.

Sáfadi MAP, Berezin EN, Farhat CK, Carvalho ES. Clinical presentation and follow up of children with congenital toxoplasmosis in Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2003;7:325–31.

Salata E, Yoshida ELA, Pereira EA, Corrêa FMA. Toxoplasmose em animais silvestres e domésticos da região de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1985;27:20–2.

Santos APC, Dantas RPC, Lima TO, Araújo RM, Daltro AST, Alves JAB, et al. Ocorrência de fatores de risco para toxoplasmose em um grupo de gestantes. *Revista Nursing.* 2010a;13:291–5.

Santos SL, de Souza Costa K, Gondim LQ, da Silva MSA, Uzêda RS, Abe-Sandes K, et al. Investigation of *Neospora caninum*, *Hammondia* sp., and *Toxoplasma gondii* in tissues from slaughtered beef cattle in Bahia, Brazil. *Parasitol Res.* 2010b;106:457–61.

Santos SM, do Amaral V, Rebouças M. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma*, por hemaglutinação indireta, em soros de suínos provenientes de diferentes municípios do Estado de São Paulo, Brasil. *Biológico (Sao Paulo)*. 1978;44:149-53.

Santos SM, do Amaral V, Rebouças MM, Drummond LS. Anticorpos anti-*Toxoplasma* detectados por hemaglutinação indireta em soros de gatos domésticos provenientes da capital do estado de São Paulo, Brasil. *Biológico (Sao Paulo)*. 1983;49:163-65.

Santos TR, Costa AJ, Toniollo GH, Luvizotto MCR, Benetti AH, Santos RR, et al. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dairy cattle, dogs, and humans from the Jauru micro-region, Mato Grosso state, Brazil. *Vet Parasitol*. 2009;161:324-6.

Sartori AL, Minamisava R, Avelino MM, Martins CA. Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2011;33:93-8.

Schellini SA, Zambrim MATVB, Amarante RB, Jorge EC, Silva MRBM. Toxoplasmose ocular – análise de 100 pacientes tratados na Faculdade de Medicina de Botucatu. *Rev Bras Oftalmol*. 1993;52:35-40.

Schenk MAM, Lima JD, Schenk JAP. Isolamento de *Toxoplasma gondii* em suínos do estado de Minas Gerais. *Arq Esc Vet Univ Fed Minas Gerais*. 1977;29:25-30.

Schenk MAM, Lima JD, Viana FC. Frequência da toxoplasmose em suínos abatidos em Belo Horizonte, Minas Gerais. *Arq Esc Vet Univ Federal de Minas Gerais*. 1976;28:261-6.

Sebben JC, Melamed J, Silveira SM, Locatelli CI, Fridman D, Ferretti R. Influência de fatores climáticos na toxoplasmose ocular em Guaporé – Brasil. *Rev Bras Oftalmol*. 1995;54:303-7.

Segundo GRS, Silva DAO, Mineo JR, Ferreira MS. A comparative study of congenital toxoplasmosis between public and private hospitals from Uberlândia, MG, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99:13-7.

Sella MZ, Navarro IT, Vidotto O, Freire RL, Shida PN. Epidemiologia da toxoplasmose caprina: levantamento sorológico do *Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros na micro região de Londrina, Paraná, Brasil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 1994;3:13-6.

Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. BMJ. 2000;321(7254):142-7.

Sharma SD, Hofflin JM, Remington JS. In vivo recombinant interleukin 2 administration enhances survival against a lethal challenge with *Toxoplasma gondii*. J Immunol. 1985;135(6):4160-3.

Sharma SD. Immunology of toxoplasmosis. In: David JW. Modern parasite biology: cellular, immunological and molecular aspects. New York: WH Freeman; 1990. p. 184-99.

Shenep JL, Barenkamp SJ, Brammeier SA, Gardner TD. An outbreak of toxoplasmosis on an Illinois farm. Pediatr Infect Dis. 1984;3(6):518-22.

Sher A, Oswald IP, Hieny S, Gazzinelli RT. *Toxoplasma gondii* induces a T-independent IFN-gamma response in natural killer cells that requires both adherent accessory cells and tumor necrosis factor-alpha. J Immunol. 1993;150(9):3982-9.

Silva ACAL, Rodrigues BSC, Micheletti AMR, Tostes S, Meneses ACO, Silva-Vergara ML, et al. Neuropathology of AIDS: an autopsy review of 284 cases from Brazil comparing the findings pre- and post-HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) and pre- and postmortem correlation. AIDS Res Treat. [internet] 2012 [cited 2012 Sept 14]; 2012: article ID 186850 [9p.]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3296154/>.

Silva CSP, de Souza Neves E, Benchimol EI, de Moraes DR. Postnatal acquired toxoplasmosis patients in a infectious diseases reference center. Braz J Infect Dis. 2008;12:438-41.

Silva JCR, Gennari SM, Ragozo AMA, Amajones VR, Magnabosco C, Yai LEO, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of domestic cats from Guarulhos and São Paulo, Brazil. J Parasitol. 2002;88:419-20.

Silva KLMV, de la Rue ML. Possibilidade da transmissão congênita de *Toxoplasma gondii* em ovinos através de seguimento sorológico no município de Rosário do Sul, RS, Brasil. Cienc Rural. 2006;36:892-7.

Silva MSA, Uzêda RS, Costa KS, Santos SL, Macedo ACC, Abe-Sandes K, et al. Detection of *Hammondia heydorni* and coccidia (*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*) in goats slaughtered in Bahia, Brazil. Vet Parasitol. 2009;162:156-9.

Silva NM, Rodrigues CV, Santoro MM, Reis LF, Alvarez-Leite JI, Gazzinelli RT. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase, tryptophan degradation, and kynurenine formation during in vivo infection with *Toxoplasma gondii*: induction by endogenous gamma interferon and requirement of interferon regulatory factor 1. *Infect Immun*. 2002;70(2):859-68.

Silva NRS, Chaplin EL, Araújo FAP, Mendez LDV. Frequência de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em soros de bovinos de leite da Grande Porto Alegre, RS. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1982;10:1–1.

Silva NRS, Chaplin EL, Araújo FAP, Mendez LDV. Frequência de anticorpos de *Toxoplasma gondii* em soros de bovinos de leite da Grande Porto Alegre, RS. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1983;81–4.

Silva NRS, Chaplin EL, Araujo FAP, Pereira RAP. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em soros de eqüinos no município de Porto Alegre, RS. *Arquivos da Faculdade de Veterinária UFRGS*. 1981a;9:105–7.

Silva NRS, Chaplin EL, Mendez LDV, Araújo FAP. Determinação de anticorpos toxoplásmicos em soros de suínos obtidos em matadouros, na região do Alto Taquarí, RS, Brasil. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1981b;9:33–8.

Silva NRS, da Costa AJ, de Souza SMG. Prevalência de anticorpos antitoxoplásmicos em ovinos, determinada pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), no município de São Lourenço do Sul, RS. *Arq Fac Vet UFRGS*. 1980;8:89–92.

Silva SP, Mota RA, Faria EB, Fernandes EFTS, Neto OLS, Albuquerque PPF, et al. Anticorpos IgG anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em búfalas (*Bubalus bubalis*) criadas no estado do Pará. *Pesq Vet Bras*. 2010;30:443–6.

Silveira C, Belfort Jr R, Burnier Jr M, Nussenblatt R. Acquired toxoplasmic infection as the cause of toxoplasmic retinochoroiditis in families. *Am J Ophthalmol*. 1988;106:362–4.

Silveira C, Belfort Jr R, Burnier Jr MNN. Toxoplasmose ocular: identificação de cistos de *Toxoplasma gondii* na retina de irmãos não gêmeos com diagnóstico de toxoplasmose ocular recidivante; primeiro caso mundial. *Arq Bras Oftalmol*. 1987;50:215–8.

Silveira C, Belfort Jr R, Muccioli C, Abreu M T, Martins MC, Victora C, et al. A follow-up study of *Toxoplasma gondii* infection in Southern Brazil. Am J Ophthalmol. 2001;131:351–4.

Silveira C, Belfort Jr R, Muccioli C, Holland GN, Victora CG, Horta BL, et al. The effect of long-term intermittent trimethoprim/sulfamethoxazole treatment on recurrences of toxoplasmic retinochoroiditis. Am J Ophthalmol. 2002;134:41–6.

Silveira C, Belfort Jr R, Nussenblatt R, Farah M, Takahashi W, Imamura P, et al. Unilateral pigmentary retinopathy associated with ocular toxoplasmosis. Am J Ophthalmol. 1989;107:682–4.

Silveira C, Belfort R Jr, Muccioli C, Abreu MT, Martins MC, Victora C, et al. A follow-up study of *Toxoplasma gondii* infection in southern Brazil. Am J Ophthalmol. 2001;131(3):351-4.

Silveira C, Ferreira R, Muccioli C, Nussenblatt R, Belfort Jr R. Toxoplasmosis transmitted to a newborn from the mother infected 20 years earlier. Am J Ophthalmol. 2003;136:370–1.

Silveira C, Vallochi AL, da Silva UR, Muccioli C, Holland GN, Nussenblatt RB, et al. *Toxoplasma gondii* in the peripheral blood of patients with acute and chronic toxoplasmosis. Br J Ophthalmol. 2011;95:396–400.

Skinner LJ, Timperley AC, Wightman D, Chatterton JMW, Ho-Yen DO. Simultaneous diagnosis of toxoplasmosis in goats and goatowner's family. Scand J Infect Dis. 1990;22:359-61.

Soares HS, Ahid SMM, Bezerra ACDS, Pena HFJ, Dias RA, Gennari SM. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Neospora caninum* antibodies in sheep from Mossoró, Rio Grande do Norte, Brazil. Vet Parasitol. 2009;160:211–4.

Soares RM, Silveira LH, da Silva AV, Ragozo A, Galli S, Lopes EG, et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens in the Pantanal area of Brazil. Vet Parasitol. 2011;178:29–34.

Sobrinho LS, Rossi CN, Vides JP, Braga ET, Gomes AAD, de Lima VMF, et al. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. Vet Parasitol. 2012;187(1-2):302-6.

Soccol VT, de Castro EA, Gazda TL, Garcia G, Richartz RRTB, Dittrich RL. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ovinos das áreas urbanas e periurbanas de Curitiba, Paraná. Rev Bras Parasitol Vet. 2009;18(Supl.1):69–70.

Sogorb F, Jamra LMF, Guimarães EC, Deane MP. Toxoplasmose espontânea em animais domésticos e silvestres, em São Paulo. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1972;14:314–20.

Sogorb F, Jamra LMF, Guimarães EC. Toxoplasmose em animais de São Paulo, Brasil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1977;19:191–4.

Sommer R, Rommel M, Levetzov R. Dieiiberlebensdauer von *Toxoplasma* zysten in fleisch und fleischzubereitungen. Fleischwirtsch. 1965;45:454–7. Apud Kijlstra A, Jongert E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. Int J Parasitol. 2008;38:1359-70.

Sousa S, Ajzenberg D, Vilanova M, Costa J, Dardé ML. Use of GRA6-derived synthetic polymorphic peptides in an immunoenzymatic assay to serotype *Toxoplasma gondii* in human serum samples collected from three continents. Clin Vaccine Immunol. 2008;15(9):1380-6.

Souza CO, Tashima NT, da Silva MA, Tumitan ARP. Estudo transversal de toxoplasmose em alunas de um curso superior da região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo. Rev Soc Bras Med Trop. 2010;43:59–61.

Souza WJS, Coutinho SG, Lopes CWG, Dos Santos CS, Neves NM, Cruz AM. Epidemiological aspects of toxoplasmosis in school children residing in localities with urban or rural characteristics within the city of Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1987;82:475–82.

Spagnol FH, Paranhos EB, Oliveira LLS, de Medeiros SM, Lopes CWG, Albuquerque GR. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos abatidos em matadouros do estado da Bahia, Brasil. Rev Bras Parasitol Vet. 2009;18:42–5.

Spalding SM, Amendoeira MRR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38:173–7.

Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, 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 Med Trop. 2003;36:483–91.

Splendore A. Un nuovo protozoo parassita de conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il Kalaazar dell' uomo. Nota preliminare. Rev Soc Scient Sao Paulo. 1908;3:109–12.

Spósito Filha E, do Amaral V, Macruz R, Rebouças MM, Barci LAG. *Toxoplasma gondii* em eqüinos: estudo sorológico e tentativa de isolamento. Biológico (Sao Paulo). 1986;52:73–4.

Spósito Filha E, do Amaral V, Macruz R, Rebouças MM, Santos SM, Drumond LS. *Toxoplasma gondii* em ovinos: isolamento do parasita a partir de diafragmas de animais procedentes do estado do Rio Grande do Sul abatidos em matadouros de São Paulo, para consumo humano. Rev Bras Parasitol Vet.1992;1:117–9.

Spósito Filha E, do Amaral V, Santos SM, Macruz R, Rebouças MM. *Toxoplasma gondii* em caprinos: isolamento de cepas a partir de diafragmas de animais oriundos do estado da Bahia e abatidos em matadouros de São Paulo-Brasil. Biológico (Sao Paulo).1983;49:199–206.

Springer L. Toxoplasmose epizootica entre pombos. Arq Biol.1942;26:74–6.

Sroka S, Bartelheimer N, Winter A, Heukelbach J, Ariza L, Ribeiro H, et al. Prevalence and risk factors of toxoplasmosis among pregnant women in Fortaleza, Northeastern Brazil. Am J Trop Med Hyg. 2010;83:528–33.

Stagno S, Dykes AC, Amos CS, Head RA, Juranek DD, Walls K. An outbreak of toxoplasmosis linked to cats. Pediatrics. 1980;65(4):706-12.

Stillwaggon E, Carrier CS, Sautter M, McLeod R. Maternal serologic screening to prevent congenital toxoplasmosis: a decision-analytic economic model. PLoS Negl Trop Dis. 2011;5:1333.

Stone PW. Popping the (PICO) question in research and evidence-based practice. Appl Nurs Res. 2002;15(3):197-8.

Su C, Shwab EK, Zhou P, Zhu XQ, Dubey JP. Moving towards an integrated approach to molecular detection and identification of *Toxoplasma gondii*. Parasitology. 2010;137:1–11.

Su C, Zhang X, Dubey JP. Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: a high resolution and simple method for identification of parasites. *Int J Parasitol.* 2006;36:841–8.

Suaréz-Aranda F, Galisteo AJ, Hiramoto RM, Cardoso RPA, Meireles LR, Miguel O, et al. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. *Vet Parasitol.* 2000;91:23–32.

Sullivan Jr WJ, Jeffers V. Mechanisms of *Toxoplasma gondii* persistence and latency. *FEMS Microbiol Rev.* 2012;36(3):717-33.

Suzuki Y, Orellana MA, Schreiber RD, Remington JS. Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science.* 1988;240(4851):516-8.

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol.* 2000;30(12-13):1217-58.

Tenter AM, Johnson AM. Phylogeny of the tissue cyst-forming coccidia. *Adv Parasitol.* 1997;39:69-139.

Tenter AM. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2009;104:364-9.

Teutsch SM, Juranek DD, Sulzer A. Epidemic toxoplasmosis associated with infected cats. *N Engl J Med.* 1979;300(13):695-9.

The SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) Study Group. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *Lancet.* 2007;369:115–22.

Torres CM. Sur une nouvelle maladie de l'homme, caracterisee par la presence d'un parasite intracellulaire, tres proche du *Toxoplasma* et de l'Encephalitozoon, dans le tissu musculaire cardiaque, les muscles du squelette, le tissu cellulaire souscutane et le tissu nerveux. *C R Séances Soc Biol.* 1927;97:1778–81.

Tsutsui VS, Freire RL, Garcia JL, Gennari SM, Vieira DP, Marana ERM, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* by PCR and mouse bioassay in commercial cuts of pork from experimentally infected pigs. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2007;59:30–4.

Tsutsui VS, Navarro IT, Freire RL, Freitas JC, Prudencio LB, Delba ACB, et al. Soroepidemiologia e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná. Arch Vet Sci. 2003;8:27–34.

Túry E, Costa AM, Pereira WLA, Castro PHG, Vale WG. Ocorrência de toxoplasmose entre primatas amazônicos mantidos em cativeiro. Hora Vet. 1999;19:27–31.

Ueno TEH, Gonçalves VSP, Heinemann MB, Dilli TLB, Akimoto BM, de Souza SLP, et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infections in sheep from Federal District, central region of Brazil. Trop Anim Health Prod. 2009;41:547–52.

Uzêda RS, Fernández SY, Jesus EEV, Pinheiro AM, Ayres MCC, Spinola S, et al. Fatores relacionados à presença de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em caprinos leiteiros do Estado da Bahia. Rev Bras Saúde Prod Anim. 2004;5:1–8.

Vallochi AL, Muccioli C, Martins MC, Silveira C, Belfort R, Rizzo LV. The genotype of *Toxoplasma gondii* strains causing ocular toxoplasmosis in humans in Brazil. Am J Ophthalmol. 2005;139:350–1.

Vallochi AL, Nakamura MV, Schlesinger D, Martins MC, Silveira C, Belfort Jr R, et al. Ocular toxoplasmosis: more than just what meets the eye. Scand J Immunol. 2002;55(4):324–8.

Varella IS, Canti ICT, Santos BR, Coppini AZ, Argondizzo LC, Tonin C, et al. Prevalence of acute toxoplasmosis infection among 41,112 pregnant women and the mother-to-child transmission rate in a public hospital in south Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:383–8.

Varella IS, Wagner MB, Darela AC, Nunes LM, Müller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. J Pediatr (Rio J). 2003;79:69–74.

Vasconcelos OT, Costa AJ, Avila FA. Aspectos epidemiológicos da infecção por *Toxoplasma gondii* em suínos. Científica. 1979;6:83–7.

Vasconcelos-Santos DV, Azevedo DOM, Campos WR, Oréfice F, Queiroz-Andrade GM, Carellos EVM, et al. Congenital toxoplasmosis in southeastern Brazil: results of early ophthalmologic examination of a large cohort of neonates. Ophthalmology. 2009;116:2199–205.

Vaudaux JD, Muccioli C, James ER, Silveira C, Magargal SL, Jung C, et al. Identification of an atypical strain of *Toxoplasma gondii* as the cause of a waterborne outbreak of toxoplasmosis in Santa Isabel do Ivaí, Brazil. *J Infect Dis.* 2010;202:1226–33.

Vaz RS, Thomaz-Soccol V, Sumikawa E, Guimarães ATB. Serological prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women from Southern Brazil. *Parasitol Res.* 2010;106:661–5.

Velge-Roussel F, Chardes T, Mevelec P, Brillard M, Hoebeke J, Bout D. Epitopic analysis of the *Toxoplasma gondii* major surface antigen SAG1. *Mol Biochem Parasitol.* 1994;66(1):31-8.

Vercammen M, Scorza T, Huygen K, De Braekeleer J, Diet R, Jacobs D, et al. DNA vaccination with genes encoding *Toxoplasma gondii* antigens GRA1, GRA7, and ROP2 induces partially protective immunity against lethal challenge in mice. *Infect Immun.* 2000;68(1):38-45.

Vidal JE, Colombo FA, de Oliveira ACP, Focaccia R, Pereira-Chioccia VL. PCR assay using cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebral toxoplasmosis in Brazilian AIDS patients. *J Clin Microbiol.* 2004;42:4765–8.

Vidal JE, Diaz AVH, de Oliveira ACP, Dauar RF, Colombo FA, Pereira-Chioccia VL. Importance of high IgG anti-*Toxoplasma gondii* titers and PCR detection of *T. gondii* DNA in peripheral blood samples for the diagnosis of AIDS-related cerebral toxoplasmosis: a case-control study. *Braz J Infect Dis.* 2011;15:356–9.

Vidal JE, Hernandez AV, de Oliveira ACP, Dauar RF, Barbosa SP, Focaccia R. Cerebral toxoplasmosis in HIV-positive patients in Brazil: clinical features and predictors of treatment response in the HAART era. *AIDS Patient Care STDs.* 2005;19:840–8.

Vidotto O, Kano FS, Freire RL, Mitsuka R, Ogawa L, Bonesi G, et al. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em eqüinos procedentes de quatro estados (SP, PR, MS e MT) abatidos em Apucarana, PR. *Semina Cienc Agrar.* 1997.18:9-13.

Vidotto O, Navarro IT, Giraldi N, Mitsuka R, Freire RL. Estudos epidemiológicos da toxoplasmose em suínos da região de Londrina – PR. *Semina Cienc Agrar.* 1990;11:53-9.

Villalobos EMC, Felício PS, Lara MCCSH, Cunha EMS, Ogata RA, Bersano JG. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de suínos de propriedades rurais do estado de São Paulo, Brasil. *Biológico (Sao Paulo)*. 2011;73:129–80.

Wainstein MV, Ferreira L, Wolfenbuttel L, Golbspan L, Sprinz E, Kronfeld M, et al. Achados neuropatológicos na síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA): revisão de 138 casos. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1992;25:95–9.

Wallace GD. Serological and epidemiologic observations on toxoplasmosis on three Pacific atolls. *Am J Epidemiol*. 1969;90:103-11.

Waldeland H, Frenkel JK. Live and killed vaccines against toxoplasmosis in mice. *J Parasitol*. 1983;69(1):60-5.

Walls KW, Kagan IG, Turner A. Studies on the prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii*. 1. U.S. Military recruits. *Am J Epidemiol*. 1967;85:87–92.

Walls KW, Kagan IG. Studies on the prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii*. 2. Brazil. *Am J Epidemiol*. 1967;86:305–13.

Weinman D, Chandler AH. Toxoplasmosis in swine and rodents; reciprocal oral infection and potential human hazard. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1954;87:211-216.

Wentz I, Sobestiansky J, Chaplin E. Prevalência de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em soros de suínos pedigree em Santa Catarina. *Pesq Agropec Bras*. 1986;21:441–3.

Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Ware D, et al. Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol*. 1997;35:3112–15.

Wolf A, Cowen D, Paige B. Human toxoplasmosis: occurrence in infants as an encephalomyelitis verification by transmission to animals. *Science*. 1939;89:226–7.

Wong SY, Remington JS. Biology of *Toxoplasma gondii*. *AIDS*. 1993;7:299-316.

Wong SY, Remington JS Toxoplasmosis in pregnancy. *Clin Infect Dis*. 1994; 18(6):853-61.

Yai LEO, Ragozo AMA, Aguiar DM, Damaceno JT, Oliveira LN, Dubey JP, et al.. Isolation of *Toxoplasma gondii* from capybaras (*Hydrochaeris hydrochaeris*) from São Paulo State, Brazil. J Parasitol. 2008;94:1060–63.

Yai LEO, Ragozo AMA, Soares RM, Pena HFJ, Su C, Gennari SM. Genetic diversity among capybara (*Hydrochaeris hydrochaeris*) isolates of *Toxoplasma gondii* from Brazil. Vet Parasitol. 2009;162:332–7.

Yamamoto JH, Boletti DI, Nakashima Y, Hirata CE, Olivalves E. Severe bilateral necrotising retinitis caused by *Toxoplasma gondii* in a patient with systemic lupus erythematosus and diabetes mellitus. Br J Ophthalmol. 2003;87:651–2.

Yilmaz SM, Hopkins SH. Effects of different conditions on duration of infectivity of *Toxoplasma gondii* oocysts. J Parasitol. 1972;58:938-9.

Zajdenweber M, Muccioli C, Belfort Jr R. Acometimento ocular em pacientes com AIDS e toxoplasmose do sistema nervoso central – antes e depois do HAART. Arq Bras Oftalmol. 2005;68:773–5.

Zonta JC, Araujo FAP, Stobbe NS, Chaplin EL, Santos da Silva NR. Prevalência de anticorpos toxoplásmicos em ovinos de Marau e de Uruguaiana, RS. Arq Fac Vet UFRGS.1987;15(16):59–61.

Zorgi NE, Costa A, Galisteo AJ Jr, do Nascimento N, Andrade HF Jr. Humoral responses and immune protection in mice immunized with irradiated *T. gondii* tachyzoites and challenged with three genetically distinct strains of *T. gondii*. Immunol Lett. 2011;138(2):187-96.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Formulário com os critérios de elegibilidade para seleção de artigos em bases eletrônicas.

Critérios de Elegibilidade	Revisor A		Revisor B	
	Sim	Não	Sim	Não
Trata-se de surto epidêmico de toxoplasmose humana?				
Relata a fonte de infecção?				
Relata sintomas clínicos?				
Relata período de incubação?				

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação da Comissão de Ética e Pesquisa do IMTSP

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SÃO PAULO
COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 470
CEP 05403-000 - São Paulo - Brasil
Telefone: (55-11) 3061-7066/8650 e 3064-5132 FAX: (55-11)
3064-5132 e 3062-2174

São Paulo, 06 de maio de 2009.

Ilmo. Sr.

Claudio Cesar Jaguaribe Ekman

A Comissão de Pesquisa e Ética do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, em reunião efetuada na presente data, analisou e **aprovou** o projeto de pesquisa **CEP-IMT/039/2009** intitulado "**Influência da forma infectante do *Toxoplasma gondii* na doença aguda humana: revisão sistemática e metanálise de surtos epidêmicos**", sob a orientação do Prof. Dr. Expedito José de Albuquerque Luna. O presente projeto visa o estudo de surtos epidêmicos da toxoplasmose humana, a partir de dados obtidos na literatura científica específica, sem intervenção e coleta de material humano (soro).

Atenciosamente,

Prof. Dr. Paulo Cotrim
Coordenador

ANEXO B – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da FMUSP **APROVAÇÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 20/06/2012, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **188/12** intitulado: **“INFLUÊNCIA DA FORMA INFECTANTE DO TOXOPLASMA GONDII NA DOENÇA AGUDA HUMANA: REVISÃO SISTEMÁTICA.”** apresentado pelo **INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL**.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar ao CEP-FMUSP, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10/10/1996, inciso IX.2, letra "c").

Pesquisador (a) Responsável: Expedito José de Albuquerque Luna

Pesquisador (a) Executante: Claudio Cesar Jaguaribe Ekman

CEP-FMUSP, 22 de Junho de 2012.

Prof. Dr. Roger Chammas
Coordenador
Comitê de Ética em Pesquisa

ANEXO C – Publicação de artigo científico referente ao projeto desenvolvido no Mestrado.

CASE-CONTROL STUDY OF AN OUTBREAK OF ACUTE TOXOPLASMOSIS IN AN INDUSTRIAL PLANT IN THE STATE OF SÃO PAULO, BRAZIL

Claudio Cesar Jaguaribe EKMAN(1), Maria Fernanda do Valle CHIOSSI(2), Luciana Regina MEIRELES(1), Heitor Franco de ANDRADE JÚNIOR(1), Walter Manso FIGUEIREDO(2), Maria Aparecida Moraes MARCIANO(1,3) & Expedito José de Albuquerque LUNA(1)

SUMMARY

Foodborne diseases represent operational risks in industrial restaurants. We described an outbreak of nine clustered cases of acute illness resembling acute toxoplasmosis in an industrial plant with 2300 employees. These patients and another 36 similar asymptomatic employees were diagnosed with anti-*T. gondii* IgG titer and avidity by ELISA. We excluded 14 patients based on high IgG avidity and chronic toxoplasmosis: 13 from controls and one from acute disease other than *T. gondii* infection. We also identified another three asymptomatic employees with *T. gondii* acute infection and also anti-*T. gondii* IgM positive as remaining acute cases. Case control study was conducted by interview in 11 acute infections and 20 negative controls. The ingestion of green vegetables, but not meat or water, was observed to be associated with the incidence of acute disease. These data reinforce the importance of sanitation control in industrial restaurants and also demonstrate the need for improvement in quality control regarding vegetables at risk for *T. gondii* oocyst contamination. We emphasized the accurate diagnosis of indexed cases and the detection of asymptomatic infections to determine the extent of the toxoplasmosis outbreak.

KEYWORDS: Toxoplasmosis; Outbreak; Foodborne disease; Green vegetables; Case-control study; ELISA; IgG avidity.

INTRODUCTION

Infections by the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* are widely prevalent in humans and animals worldwide^{5,18}. Toxoplasmosis is generally asymptomatic, except in immunocompromised adults and congenitally infected children¹⁸.

Humans acquire infection postnatally mainly by ingesting food and water contaminated with oocysts shed in the feces of infected cats or by ingesting viable tissue cysts in raw or undercooked meat. The major routes of transmission vary between different human populations and depend on social culture, eating habits and environmental factors^{20,21}. Furthermore, estimates of the rate of infection of meat vary widely depending on the animal species¹².

Several reports concerning toxoplasmosis outbreaks have been published in recent decades, mainly regarding outbreaks associated with the consumption of undercooked meat^{7,10}. These outbreaks usually affect a small group of individuals and are associated with exposure to a common source, such as that described by a group of American medical students who had eaten undercooked hamburgers¹¹ and that described in the same year by a community of students from a Brazilian university who ate their meals together at the cafeteria¹⁷. Another well-documented

Brazilian outbreak occurred in 1993, with 17 cases of acute toxoplasmosis transmitted by raw lamb meat².

Until recently, toxoplasmosis was not often considered a waterborne zoonosis, and the occurrence of outbreaks of *Toxoplasma* infection involving more than a single family or small group were rarely reported. However, a major outbreak of acute toxoplasmosis in humans occurred in Brazil in 2001⁴, which was associated with the *T. gondii* contamination of a town's water supply. A similar waterborne outbreak was reported in Canada but with a smaller number of cases³. Oocyst-related Brazilian outbreaks of toxoplasmosis had previously been reported in a specific region of the State of São Paulo, the mesoregion of Araraquara, which featured excellent sanitary conditions. One such incident was a large outbreak that affected 113 students from the one large public university campus at São Carlos near our study area, with numerous cats on campus including inside the cafeteria⁸, which were linked to the contamination of a water reservoir by cat feces. Here, we describe an outbreak of 11 cases of acute toxoplasmosis in the same mesoregion at an industrial plant with approximately 2300 employees.

MATERIAL AND METHODS

Epidemiologic investigation: In April 2009, the Institute of Tropical

(1) Instituto de Medicina Tropical, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

(2) Serviço Especial de Saúde de Araraquara, Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, Araraquara, SP, Brasil.

(3) Instituto Adolfo Lutz, Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo, SP, Brasil.

Correspondence to: Luciana Regina Meireles, D.V.M., M.Sc., Ph.D., Laboratório de Protozoologia, IMTSP, Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 470, 05403-000 São Paulo, SP, Brasil. Phone +55.11.3061-7010; Fax +55.11.3088-5237. E-mail: lrmeirel@usp.br

Medicine of the University of São Paulo (IMTSP - USP) became aware of a cluster of acute toxoplasmosis cases in an industrial plant located in the mesoregion of Araraquara, São Paulo State, Brazil, through the Adolfo Lutz Institute, the State of São Paulo's public health laboratory (IAL). In a collaborative research effort with the State's Epidemiologic Surveillance Center (CVE), we developed a case-control study to investigate the outbreak. The investigation was conducted by professionals of the IMTSP - USP, IAL and the Special Health Service of Araraquara, School of Public Health of University of São Paulo (SESA - FSP- USP). Upon the manifestation of symptoms, the patients sought the company's outpatient services, which then referred them to SESA - FSP - USP to confirm the diagnosis. The initial information provided indicated the existence of eight laboratory-confirmed cases of acute toxoplasmosis and one suspected case diagnosed between March and April 2009. The case subjects shared the common characteristic of working in a large industrial plant located in the region, and the temporal distribution of the dates of the onset of symptoms suggested a common source of exposure.

Initially, we conducted a descriptive study aimed at addressing active cases. The study began in July 2009 with an active search of suspected cases through the medical records of the company's outpatient services and the Special Health Service of Araraquara (SESA). A suspected case was defined as "any person assisted in the services mentioned above who had at least two of the following symptoms: lymphadenopathy, fever, headache and fatigue, or who had laboratory results with serologic evidence of toxoplasmosis in the period from March 15 to March 31, 2009." Moreover, an investigation of the risk factors for toxoplasmosis was conducted through an interview with the nutritionist responsible for the company's industrial kitchen, who provided information regarding the origin and suppliers of the ingredients used in preparing meals, as well as the location and storage temperature of meat products. On this occasion, we requested menus with a list of all of the food items used in each meal for the period from February 2 to March 15, 2009, and search for *T. gondii* cysts in meat samples (50 g) from the alleged suppliers used during the period of employee infection.

To identify risk factors for toxoplasmosis and possible sources of infection, such as food and water, we performed a case-control study. Initially, the study included the eight laboratory-confirmed cases and one suspected case that did not have laboratory confirmation. As controls, we selected 36 asymptomatic employees who worked in the same teams and during the same work shifts as the laboratory-confirmed cases. All asymptomatic individuals (cases) were seropositive for IgM and IgG anti-*T. gondii*, and only one case with clinical suspicion had not been evaluated by laboratory testing.

Because we selected controls based on clinical symptoms, the control group may have included asymptomatic chronic toxoplasmosis individuals who were protected and did not become cases in the investigated outbreak. We carried out the serological testing of all asymptomatic toxoplasmosis controls and all 45 individuals selected for the study underwent laboratory tests for antibodies IgG and IgM anti-*T. gondii* IgG avidity to confirm whether reagent individuals had acute or chronic toxoplasmosis.

Blood samples used for laboratory tests were obtained from May 19 to May 21, 2009, from the staff of the company's outpatient clinic with the written consent of each participant. All samples were processed at

the Laboratory of Protozoology of IMTSP - USP. At the time of blood collection, subjects were interviewed by the IMTSP / USP and SESA team through a standardized questionnaire featuring questions regarding culture, hygiene, food habits and the menu of meals offered by the company during the period from February 2 to March 15, 2009. Only questionnaires from patients with acute toxoplasmosis and susceptible, laboratory-confirmed cases were analyzed, excluding those with chronic toxoplasmosis, for whom serological evidence of previous exposure had already been established.

Serological detection: Sera were assayed by in-house standard ELISA with determination of IgG avidity. Sera were screened at a dilution of 1/100, with a cut-off (0.417), which was previously determined and confirmed by a test set of 16 negative sera. The reaction was performed as described elsewhere²² using *T. gondii* whole-saline antigen and conjugated anti-human IgG, with subsequent titration of positive samples.

IgG avidity was determined by measuring antibody resistance to washing with 6 M urea chaotropic solution and expressed as the percentage of antibody-resistant urea. IgG avidity was considered low when the percentage of resistant antibodies was less than 30%, it was considered undetermined when this percentage was between 30 and 50% and high (chronic infection of > six months duration) when this percentage was greater than 50%.

IgM antibodies were determined by classic ELISA, with a cut-off of (0.331). Serum samples with high titers of IgG were previously treated for the removal of rheumatoid factor.

Detection of *T. gondii* cysts in meat samples: *T. gondii* tissue cysts were detected by molecular biology techniques (PCR) and bioassay in Swiss mice. Briefly, 50 g of meat from each sample was subjected to peptic digestion using commercial pepsin (1:10,000) according to a protocol described elsewhere⁶. The sediment from the digestion by pepsin containing *T. gondii* cysts was used to bioassay the samples and was also used for DNA extraction in PCR. The DNA extraction of samples was performed using a commercial extraction kit (Brasíllica, LCG[®]) according to the manufacturer's instructions.

PCR was performed to detect a 115-bp fragment from the *T. gondii* B1 gene. In each reaction, we included DNA samples extracted from the *T. gondii* RH strain (positive control) and a sample of sterile ultrapure water as a control negative. The PCR products were observed by electrophoresis on 2% agarose gel stained with ethidium bromide solution. The bands were observed by transillumination with ultraviolet light and recorded using a digital imaging system (AlphaImager[®] EC, Alpha Innotech Corporation).

The bioassay was performed by the subcutaneous inoculation of one mL of digested sample in Swiss mice. The animals were kept in the Laboratory of Protozoology IMTSP. After a period of 30 days, the animals were euthanized for the microscopic study of brain cysts and *T. gondii* antibodies by ELISA.

Statistical analyses: Risk factors assessed by the questionnaire were analyzed by 2x2 tables comparing the infected and control groups using Fisher's exact test or a χ^2 test at a significance level of $p < 0.05$.

RESULTS

Screening for *T. gondii* IgG antibodies by ELISA in individuals selected for the case-control study revealed the presence of 25 anti-*T. gondii* IgG-positive sera, including the nine indexed cases, and 20 IgG-negative samples. All 25 reactive sera were tested for IgG avidity by ELISA via serial dilution using 6 M urea as a chaotrope, 14 samples exhibited high avidity (> 50%), indicating chronic infection from candidate controls and one indexed case, and 11 samples exhibited low avidity (< 30%), including eight indexed cases and three asymptomatic controls, indicating recent infection (Fig. 1). All eleven samples of low avidity were positive for *T. gondii* IgM antibodies, as determined by ELISA.

Fig. 1 - IgG and IgG Avidity ELISA results for both clinical cases and controls. The circle in the case group represents an individual with chronic infection. The arrows indicate all individuals of a control group, sorted as non-infected, without antibodies or IgG positive with IgG avidity. The circle in control group represents asymptomatic individuals with acute infection.

Table 1 shows the sorting of the tested population according to the serological classification. Using the clinical classifications of the case-control population, nine cases from among 45 individuals were selected to participate in the study, giving a 20% clinical infection rate. Additionally, three candidates from the control group presented serological evidence

of acute asymptomatic toxoplasmosis. The selection of the patients according to the incidence of susceptible and acute infection resulted in an unprotected population of 31 participants. The final classification revealed 11 cases and 20 controls, with an infection rate of 35.5%, excluding chronically infected subjects. In the group of cases with compatible clinical symptoms, 8/9 individuals showed evidence of recent infection, but one case showed evidence of chronic infection. This patient visited the infirmary more than one week after the other acute cases had visited the infirmary and presented chronic toxoplasmosis. The incidence of asymptomatic infections was therefore 9.67% (3/31). According to laboratory results, we reclassified the case and control groups, resulting in 11 cases of acute toxoplasmosis and 20 susceptible controls. These results clearly show that there was a recent outbreak of toxoplasmosis in the population but that the clinical symptoms did not occur in all of the infected patients, with a percentage of at least 27% (3/11) of infected patients without clinical symptoms.

According to the dates during which the study was conducted, the first index case developed symptoms on March 15, 2009. The main reported symptoms were fever (9/11 = 81.81%), night sweats (9/11 = 81.81%), asthenia (9/11 = 81.81%), malaise (9/11 = 81.81%), lymphadenopathy (7/11 = 63.64%), headache (7/11 = 63.64%), appetite loss (6/11 = 54.55%), myalgia (6/11 = 54.55%), arthralgia (4/11 = 36.36%), nausea (3/11 = 27.27%), sore throat (3/11 = 27.27%), diarrhea (2/11 = 18.18%), vision problems (2/11 = 18.18%), dysuria (2/11 = 18.18%), abdominal pain (1/11 = 9.09%), neurological symptoms (1/11 = 9.09%), dizziness (1/11 = 9.09%) and irritability (1/11 = 9.09%). The outbreak peaked between March 17 and March 22, 2009. Some symptoms were reported in interview by alleged previously asymptomatic patients.

The analysis of possible associations between the exposure to risk factors and disease is described in Table 2. Significant events were analyzed in connection with the risk association of habits, environments and food consumption in case-control analysis using the serologically defined acute cases (11 individuals) and controls (20 individuals). As shown, the individual consumption of a vegetable item (escarole) on March 7, 2009, was the single variable significantly associated with the incidence of disease ($p < 0.05$). The potential impact of this variable is limited as only two infected cases had consumed this recipe, despite the significant association. None of the other variables investigated were

Table 1
Classification of participants in case-control analysis using both clinical presentation and serological definition of recent, chronic or absence of *Toxoplasma gondii* infection

Clinical picture	n	Serology	n	Cases n	Controls n	Chronic infection (excluded)
Acute (indexes)	9	Recent	8	8		
		Chronic	1			1
		Negative	0			
Asymptomatic Controls	36	Recent	3	3		
		Chronic	13			13
		Negative	20		20	
Total	45			11	20	14

Table 2
Distribution of demographic data, habits and food ingestion in serologically defined cases and control groups

Events		Cases (11)	Controls (20)	
Gender	(% males)	91% (10/11)	85% (17/20)	NS
Mean Age	Year $\pm$ SD	28.3 $\pm$ 6.7	27.5 $\pm$ 7.3	NS*
Restaurant	Breakfast	37% (4/11)	25% (5/20)	NS
	Lunch	100% (11/11)	85% (17/20)	NS
	Dinner	0 (0/11)	20% (4/20)	NS
Meat	Barbecue	73% (8/11)	90% (18/20)	NS
Soil contact	Gardening	0 (0/11)	30% (6/20)	NS
	Washing hands	89% (8/9)	100% (13/13)	NS
Green vegetables	Lettuce	100% (11/11)	83% (15/18)	NS
	Arugula	100% (5/5)	60% (6/10)	NS
	Escarole	100% (2/2)	0 (0/5)	$p < 0.05$
	Chicory	45% (5/11)	26% (5/19)	NS
	Water cress	55% (6/11)	25% (5/20)	NS
Green vegetables referred meals		(29/40)	(31/72)	$p < 0.005$
Arabian crude recipes	Tabule	55% (5/9)	28% (5/18)	NS
	Kafta	100% (11/11)	83% (15/18)	NS
Water	Filtered water	90% (9/10)	55% (11/20)	NS
	Bottled water	82% (9/11)	100% (20/20)	NS

(*) Comparison performed by Student T test. Categorical data analyzed by Fisher's Exact test.

significantly associated with the illness. When looking for an association with meals, green vegetable ingestion was strongly associated with infection ($p < 0.005$). Protection factors were associated with individual habits such as the consumption of filtered water, ingestion of well-cooked meat and good hygiene practices. The DNA extracted by PCR and the mice bioassay were negative in the frozen meat obtained from restaurants two months after the outbreak.

DISCUSSION

This epidemic outbreak of toxoplasmosis revealed an unspecific clinical picture of acute toxoplasmosis in most infected patients; similar to what has been reported in other studies¹⁹. This clinical picture overlaps with that of several other acute infections, and we found a reported case that lacked serological evidence of acute toxoplasmosis and so was excluded from our group of cases. Among our candidate controls, we also found three patients who presented asymptomatic disease and were included in our infected group. These data show the importance of accurate serology for diagnosis of acute toxoplasmosis.

Our study did not identify other factors common to the cases outside the workplace or individual behavioral risks. The epidemic curve showed common and isolated exposure because the onset of symptoms in cases occurred over a period of 14 days and peaked within a eight days interval. These results are consistent with the incubation period of 5-23 days described in the literature¹⁸.

We searched and detected the absence of cats in the surroundings of the plant, without access to water reservoirs, which could have been an alternative source of oocysts, as elsewhere described⁴. The clustered and

small number of symptomatic cases does not suggest water as a factor of exposure to *Toxoplasma gondii* because water contaminated with oocysts spreads infection to a large number of people and the number of cases increases over time, as illustrated by the outbreaks in Canada³ and Brazil⁴, which was not observed for this outbreak. Reported outbreaks featuring water as a mode of transmission have led to high attack rates, due to a high dosage of oocysts¹⁰ or a particularly virulent strain¹, distinct from our typical self-limited benign disease infected group, with three asymptomatic infections. Our data, as well as those previously described in the literature⁸, suggest that acute cases of human toxoplasmosis in the Araraquara mesoregion are associated with transmission by oocysts, reinforcing the need for preventive measures in this region, with a focus on maintaining the quality of water and processing of raw foods.

The other exposure factor that could be implicated in the outbreak of toxoplasmosis is food, such as fresh vegetables and raw or undercooked meat²⁰. We investigated the list of all food items provided for each meal in the company's menu over the three-week period corresponding to the exposure period. Except for escarole, no other individual food item was implicated in the outbreak, but ingestion of a meal with green vegetables was intensely associated with the infection. Those vegetables are composed of hard green leaves, which are considered to be difficult to clean, as evidenced by *Salmonella* assays¹⁴. The food supplier of the plant also informed us that aside from mechanical washing, the main method used to wash fresh vegetables is low-concentration chlorine immersion, which does not affect the viability of *T. gondii* oocysts²³. Another problem with cleaning escarole leaves is the fact that this vegetable possesses isolated leaves without an unrolling leaf pattern, such as that of cabbage. In fact, it is more similar to arugula, which has also been reported to be easily contaminated by *Salmonella*⁹. This leaf organization allows

contaminants to reach all leaves, especially if contaminated fertilizer is dispersed over the vegetables. This relationship between the consumption of raw green vegetables and toxoplasmosis has also been observed in other areas of Brazil¹⁵.

The absence of the implication of other possible food items as sources of the outbreak may be due to the small sample size, because the small number of cases and controls reduces the power of the study¹⁶. Another factor was the long interval between exposure and the investigation period, which lasted approximately three months. This interval means that participants may have difficulty in accurately reporting the foods they consumed at the time. Difficulty in remembering facts in epidemiologic studies is known as bias, which sometimes leads to mistakes in the classification of exposure to the factors investigated; in this case, the factor is the consumption of food¹³.

Our study exhibited the same difficulties associated with other *Toxoplasma* outbreaks. Private organizations usually allow only small studies to be performed, without testing the whole group of employees, which precludes the exact determination of the extent of the outbreak. Food suppliers usually offer biased or outdated samples. Serology without the definition of acute infection leads to an inaccurate estimate of incidence due to imprecise serology and a large proportion of *Toxoplasma* chronic infection in the population. We performed IgG avidity assays to confirm the incidence of acute infections; this approach must be used together with IgM determination. We also suggest that food restaurant suppliers and nutritionists avoid the use of raw green vegetables with open leaves, such as Brazilian lettuce, escarole, chicory, broccoli and arugula in their salads to prevent exposure to toxoplasmosis caused by viable oocysts after chlorine treatment.

Outbreaks of infectious diseases due to food consumption are difficult to study, and our report dealt with most of these difficulties. We highlight the importance of the accurate diagnosis of indexed cases and also the importance of detecting asymptomatic infections for determining the accurate extent of outbreaks. Outbreaks of toxoplasmosis present a very good opportunity to test this rationale and all of the operative procedures used in outbreak studies. All possible efforts must be made to generate collaborative discussions for the implementation of adequate preventive measures.

RESUMO

Estudo caso-controle de surto de toxoplasmose aguda em indústria no estado de São Paulo, Brasil

Doenças transmitidas por alimentos representam riscos operacionais em restaurantes industriais. Descrevemos surto de nove casos agrupados de doença aguda semelhante à toxoplasmose em indústria de 2300 funcionários. Estes pacientes e outros 36 funcionários assintomáticos foram diagnosticados por ELISA para o título e avidéz de IgG anti-*T. gondii*. Foram excluídos 14 pacientes com toxoplasmose crônica e alta avidéz: 13 de controles e um de doença aguda não relacionada à infecção por *T. gondii*. Também identificamos três empregados assintomáticos com infecção aguda por *T. gondii*, que como os restantes agudos apresentavam anti-*T. gondii* IgM ELISA positivo. Conduzimos estudo caso controle por entrevista em 11 infecções agudas e 20 controles negativos. A ingestão de vegetais, mas não de carne ou água, foi associada com a

incidência da doença aguda. Esses dados reforçam a importância do controle sanitário em restaurantes industriais e também demonstram a necessidade de melhoria no controle de qualidade sobre vegetais em risco de contaminação por oocistos de *T. gondii*. Enfatizamos o diagnóstico preciso de casos e a detecção de infecções assintomáticas para determinar a extensão do surto de toxoplasmose.

REFERENCES

1. Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Sulzer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med*. 1982;307:666-9.
2. Bonametti AM, Passos JN, da Silva EM, Bortoliero AL. Surto de toxoplasmose aguda transmitido através da ingestão de carne crua de gado ovino. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997;30:21-5.
3. Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, *et al*. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team. *Lancet*. 1997;350:173-7.
4. De Moura L, Bahia-Oliveira LMG, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, *et al*. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis*. 2006;12:326-9.
5. Dubey JP, Beattie CP. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton: CRC Press; 1988. p. 220.
6. Dubey JP. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. *Vet Parasitol*. 1998;74:75-7.
7. Dubey JP. The history of *Toxoplasma gondii*--the first 100 years. *J Eukaryot Microbiol*. 2008;55:467-75.
8. Gattás VL, Nunes EM, Soares ALB, Pires MA, Pinto PLS, Andrade Jr HF. Acute toxoplasmosis outbreak at campus of the University of São Paulo related to food or water oocyst contamination. In: *Annals of the International Conference on Emerging Infectious Diseases*; 2000; Atlanta, Georgia. p. 135.
9. Golberg D, Kroupitski Y, Belausov E, Pinto R, Sela S. *Salmonella Typhimurium* internalization is variable in leafy vegetables and fresh herbs. *Int J Food Microbiol*. 2011;145:250-7.
10. Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis-recent developments. *Exp Parasitol*. 2010;124:10-25.
11. Kean BH, Kimball AC, Christenson WN. An epidemic of acute toxoplasmosis. *JAMA*. 1969;208:1002-4.
12. Kijlstra A, Jongert E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. *Int J Parasitol*. 2008;38:1359-70.
13. Kopeck JA, Esdaile JM. Bias in case-control studies. A review. *J Epidemiol Community Health*. 1990;44:179-86.
14. Kroupitski Y, Pinto R, Belausov E, Sela S. Distribution of *Salmonella typhimurium* in romaine lettuce leaves. *Food Microbiol*. 2011;28:990-7.
15. Lopes FM, Mitsuka-Breganó R, Gonçalves DD, Freire RL, Karigyo CJ, Wedy GF, *et al*. Factors associated with seropositivity for anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women of Londrina, Paraná, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104:378-82.
16. Lwanga SK, Lemeshow S. Sample size determination in health studies: a practical manual. Geneva: World Health Organization; 1991.
17. Magaldi C, Elkis H, Pattoli D, Coscina AL. Epidemic of toxoplasmosis at a university in São-José-dos Campos, S.P. Brazil. Clinical and serologic data. *Rev Latinoam Microbiol Parasitol (Mex)*. 1969;11:5-13.

18. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, editors. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. p. 947-1091.
19. Renoier EIM, Siqueira AA, Garcia MH, Alves RM, Cardoso ME, Ferreira ABPL, *et al.* Surto de toxoplasmose adquirida, Anápolis-GO, fevereiro de 2006. Bol Eletrôn Epidemiol. 2007;7(8):1-6. [cited: 2011 Oct 2]. Available from: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/ano07_n08_toxopl_adquirida_go.pdf
20. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000;30:1217-58.
21. Tenter AM. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2009;104:364-9.
22. Venkatesan P, Wakelin D. ELISAs for parasitologists: or lies, damned lies and ELISAs. Parasitol Today. 1993;9:228-32.
23. Wainwright KE, Miller MA, Barr BC, Gardner IA, Melli AC, Essert T, *et al.* Chemical inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts in water. J Parasitol. 2007;93:925-31.

Received: 24 February 2012

Accepted: 11 June 2012