

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

ADRIANNE MOTA DE ALCÂNTARA

***Toxoplasma gondii* em galinhas caipiras comercializadas em feiras-livres da
região metropolitana de Recife, Pernambuco, Brasil**

RECIFE

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

ADRIANNE MOTA DE ALCÂNTARA

***Toxoplasma gondii* em galinhas caipiras comercializadas em feiras-livres da
região metropolitana de Recife, Pernambuco, Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

RECIFE

2016

Ficha catalográfica

A347t

Alcântara, Adrienne Mota de
Toxoplasma gondii em galinhas caipiras
comercializadas em feiras-livres da região metropolitana
de Recife, Pernambuco, Brasil / Adrienne Mota de
Alcântara. -- Recife, 2016.
45 f. : il.

Orientador: Rinaldo Aparecido Mota.
Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) –
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Recife,
2016.

Referências.

1. Toxoplasmose, 2. Aves 3. Bioensaio em
camundongos 4. Saúde pública I. Mota, Rinaldo
Aparecido, orientador II. Título

CDD 636.089

ADRIANNE MOTA DE ALCÂNTARA

***Toxoplasma gondii* em galinhas caipiras comercializadas em feiras-livres da região metropolitana de Recife, Pernambuco, Brasil**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Biociência Animal.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota – Orientador
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dra. Flaviana Santos Wanderley
Núcleo de Ciências Biológicas - UNCISAL

Prof. Dr. Wagner José Nascimento Porto
Departamento de Medicina Veterinária – UFAL

Prof. Dr. Silvio Gomes de Sá
Departamento de Medicina Veterinária – UFAL

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por ter possibilitado esta realização, me guiando e me dando a força necessária para chegar até aqui.

Agradeço à toda a minha família. Aos meus queridos pais, Ana e Ronaldo, por todo o amor, pelo apoio e dedicação, e por sempre se fazerem presentes. Aos meus irmãos Daniel e Lucas pela amizade e companheirismo.

Ao meu amor, amigo e companheiro, Victor, que sempre esteve presente em todos os momentos, por ter aceitado me acompanhar em mais um projeto de vida e por toda a paciência e compreensão. Ao nosso amado filho de quatro patas, Loki, que tornou todo esse trajeto muito mais leve com todo seu amor, inocência e companheirismo.

Ao meu querido orientador, Professor Rinaldo Mota, um exemplo de profissional e de ser humano, pela incrível oportunidade, pelo voto de confiança e por todo o conhecimento compartilhado neste período.

Aos professores Leonildo Galiza e Wilton Júnior e a todos os amigos do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas por terem me recebido tão bem, tornando essa caminhada muito mais fácil; por todo o aprendizado, pela amizade e por toda ajuda. Em especial, gostaria de agradecer à Camila Pedrosa, Débora Viegas, Jonatas Campos e Renata Pimentel que ajudaram diretamente na realização desse projeto, e à Erica Moraes pela colaboração na escrita desta dissertação.

A todos os meus professores e mestres, que sempre foram uma grande fonte de inspiração, em especial aos professores Karla Patrícia, Márcia Notomi e Wagner Porto, por me mostrarem o mundo da pesquisa acadêmica.

Agradeço às minhas queridas irmãs de coração e profissão Beatriz Braz, Catarina Feitosa, Laysa Cordeiro e Mariana Nabuco, que, apesar da distância, sempre estiveram presentes de alguma forma.

À dona Selma, pois sua colaboração foi essencial na execução deste trabalho.

À dona Guiomar e Cleide pelo apoio.

A todos os animais necessário para a realização deste projeto.

À Coordenação e secretaria do Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da UFRPE pela oportunidade.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de pesquisa.

Agradeço de coração a todos aqueles que contribuíram de forma direta ou indireta no desenvolvimento deste projeto, pela colaboração em minha formação acadêmica e humana.

Obrigada!

RESUMO

A toxoplasmose é uma importante zoonose que ocorre em todo o mundo, com uma estimativa de infecção de 30% da população humana, podendo ocorrer complicações em indivíduos imunocomprometidos e alterações neonatais em humanos. As aves domésticas são importantes hospedeiros intermediários de *T. gondii* por servirem de fonte de infecção do parasita para os felinos e seres humanos. O presente estudo teve como objetivo investigar a frequência e viabilidade de *T. gondii* em galinhas caipiras vendidas em feiras-livre de Recife – Pernambuco. Foram analisadas 56 amostras de soro de galinhas para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii* por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Amostras de tecidos das galinhas soropositivas foram submetidas à Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e ao bioensaio em camundongos. Foi realizada PCR e RIFI de tecido e soro dos camundongos submetidos ao bioensaio, respectivamente. Anticorpos IgG anti-*T. gondii* foram encontrados em 46,43% (26/56) das galinhas e em 25% (13/52) dos camundongos submetidos ao bioensaio. Sinais clínicos sugestivos de toxoplasmose foram observados em cinco dos camundongos inoculados e um óbito. Os resultados obtidos neste estudo demonstram que a carne e vísceras de galinhas caipiras podem atuar como uma fonte de infecção por *T. gondii* para humanos nesta região, reforçando a importância dessas aves na cadeia epidemiológica da toxoplasmose e a necessidade de implementação de medidas de prevenção e controle da enfermidade.

Palavras-chaves: Toxoplasmose, aves, bioensaio em camundongos, saúde pública

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis, caused by the protozoan parasite *Toxoplasma gondii*, which represents an important public health burden worldwide. It has been estimated that 30% of the human population is seropositive for *T. gondii*. Severe complications may occur in immunocompromised patients or after congenital infection. Free-range chickens are considered an important host in the epidemiology of Toxoplasmosis, since they are a source of infection for cats and humans. The purpose of this study was to investigate the frequency and viability of *T. gondii* in free-range chickens destined for human consumption in Recife, Pernambuco state, Brazil. Serum samples from 56 free-range chickens were submitted to Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) for detection of anti-*T. gondii* IgG antibodies. Tissue samples from seropositive chickens were submitted to PCR and mouse bioassay. From the tissue and serum of the mice submitted were performed PCR and IFAT, respectively. Anti-*T. gondii* IgG antibodies were found in 46.43% (26/56) of chickens and in 25% (13/52) of inoculated mice submitted to bioassay. Suggestive clinical manifestation of toxoplasmosis was observed in five inoculated mice, with one death. The data obtained in the present study confirm that free-range chicken meat is a potential source of *T. gondii* infection for humans and it has an important role in the toxoplasmosis chain transmission, revealing the need for implementation of prevention and control of toxoplasmosis.

KEY WORDS: Toxoplasmosis, birds, mouse bioassay, public health

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Ciclo de vida e transmissão de <i>Toxoplasma gondii</i>	13
2.2 Aspectos epidemiológicos da infecção por <i>T. gondii</i>	16
2.3 Resposta imunológica, patogenia e sinais clínicos.....	19
2.4 Diagnóstico.....	22
2.5 Controle	23
3. OBJETIVOS.....	25
3.1 Geral.....	25
3.2 Específicos.....	25
4. REFERÊNCIAS	26
5. ARTIGO	32
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	45

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1 – Ciclo de vida de *Toxoplasma gondii* 14

Figura 2 – Representação do ciclo de transmissão de *T. gondii* 15

LISTA DE TABELAS

Revisão de literatura

Tabela 1 - Isolamento de *Toxoplasma gondii* a partir de tecidos de galinhas caipiras no Brasil e outros países 17

Tabela 2 - Resultado de estudos sorológicos para detecção de *Toxoplasma gondii* realizados em galinhas caipiras oriundas de diferentes estados do Brasil.

19

Artigo

Tabela 1 – Sinais clínicos observados em camundongos submetidos a bioensaio com amostras de tecido de galinhas caipiras soropositivas para *T. gondii*, provenientes do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

39

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

≥	Maior ou igual
®	Marca registrada
°C	Grau Celsius
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ELISA	Teste Imunoenzimático
g	Gramma
G	Gravidade
IFN	Interferon
IgA	Imunoglobulina classe A
IgE	Imunoglobulina classe E
IgG	Imunoglobulina classe G
IgM	Imunoglobulina classe M
IL	Interleucina
MAT	Teste de Aglutinação Modificada
mL	Mililitro
PBS	Tampão Fosfato Salino
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
Rpm	Rotações por minuto
SNC	Sistema Nervoso Central
TGF	Fator de Crescimento
UV	Ultra-violeta
Mg	Micrograma
µL	Microlitro

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma importante zoonose, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, com distribuição cosmopolita, tendo os felídeos selvagens e domésticos como hospedeiros definitivos e qualquer espécie de animal homeotérmico como hospedeiro intermediário (ASPINALL et al., 2002).

Os humanos podem se infectar ao ingerir cistos teciduais em carne mal cozida, alimentos ou bebida contaminada com oocistos ou acidentalmente pela ingestão de oocistos no meio ambiente (DUBEY, 2010a). Estima-se que cerca de 30% da população humana seja soropositiva para *T. gondii*, sendo a maioria dos casos assintomáticos, podendo ocorrer alterações neonatais, aborto e complicações em indivíduos imunocomprometidos (MILLER et al., 2009).

A infecção congênita ocorre quando a mãe adquire a infecção durante a gestação e transmite o protozoário via transplacentária para o feto (DUBEY, 2010a). Raramente a mulher desenvolve sintomas da toxoplasmose, mas a criança infectada pode manifestar sinais clínicos como hidrocefalia, convulsões e calcificação intracerebral. Na infecção pós-natal podem ocorrer complicações como retinite, cegueira, linfadenopatia, encefalite e coma (HILL E DUBEY, 2002).

Em animais, a toxoplasmose adquire importância pelas graves perdas econômicas na produção animal devido às perdas por aborto, e principalmente, por esses animais, quando infectados, servirem de fonte de infecção direta ou indireta para o homem (SILVA et al., 2006).

As galinhas domésticas são consideradas importantes hospedeiros intermediários de *T. gondii* servindo como indicadores de contaminação ambiental por oocistos do parasito. Além disso são consideradas fonte de infecção para gatos e a ingestão da carne dessas aves também serve como fonte de infecção para humanos e outros animais (DUBEY, 2010b).

Os testes sorológicos são amplamente utilizados para o diagnóstico da infecção por *T. gondii* em galinhas. Diferentes métodos vêm sendo utilizados para detectar a presença do *T. gondii* em amostras de tecido animal, sendo o bioensaio considerado um dos mais eficientes por conseguir detectar a viabilidade do protozoário (GOMEZ-SAMBLAS et al., 2015).

O Brasil produz cerca de 10 milhões de toneladas de carne de frango por ano, estando entre os três maiores produtores e sendo o maior exportador mundial (IBGE, 2014). A procura dos consumidores por produtos naturais e com menor quantidade de resíduos químicos incentivou as criações de frango do tipo caipira. Esse tipo de criação aumenta o risco das aves adquirirem diversos agentes infecciosos, incluindo *T. gondii* (MILLAR et al., 2008).

A Região Metropolitana do Recife (RMR) é a 5ª mais populosa entre as Regiões Metropolitanas brasileiras, concentrando 3.690.485 habitantes (IBGE, 2010). A RMR possui 27 feiras livres que atendem a população dessa região, atuando como importantes pontos de comércio de produtos não industrializados e de produtos agrícolas provenientes de agricultura familiar (ALI, 2013).

Apesar da ingestão de carne crua e mal passada ser considerada uma das principais fontes de infecção de *T. gondii* para o ser humano e do conhecimento da importância de galinhas caipiras na epidemiologia da toxoplasmose, poucos estudos foram realizados no Brasil com o objetivo de detectar a presença e a viabilidade deste protozoário em amostras de tecidos de galinhas destinadas ao consumo humano.

2. REVISÃO DE LITERATURA

Toxoplasma gondii é um coccídeo intracelular obrigatório pertencente ao Filo Apicomplexa, Classe Sporozoasida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eimeriorina, Família Toxoplasmatidae, Gênero *Toxoplasma*, existindo apenas a espécie *Toxoplasma gondii* (DUBEY, 2010a).

Este protozoário possui um ciclo de vida complexo, tendo os felídeos domésticos e selvagens como hospedeiros definitivos e qualquer espécie de animal homeotérmico como hospedeiro intermediário, incluindo o homem (SILVA et al., 2006).

O primeiro relato desse protozoário foi feito por Nicolle e Manceaux em 1908, em tecidos de um roedor da espécie *Ctenodactylus gundi*, comumente utilizado para pesquisas em laboratório no Instituto Pasteur na Tunísia. Os pesquisadores inicialmente acreditaram que o parasita tratava-se de uma espécie de *Leishmania*, mas, posteriormente perceberam se tratar de uma nova espécie a qual nomearam de *Toxoplasma gondii*, baseado em sua morfologia (*toxos* = arco; *plasma* = vida) e em seu hospedeiro. No mesmo ano, Splendore (1908) descobriu o mesmo parasita em um coelho de laboratório no Brasil, também achando se tratar de uma espécie de *Leishmania*.

2.1 Ciclo de vida e transmissão de *Toxoplasma gondii*

T. gondii é um protozoário cosmopolita com ciclo de vida heteroxeno e apresenta três estágios de desenvolvimento. Os taquizoítos podem infectar praticamente qualquer célula do organismo e se dividem por um processo especializado denominado endodiogenia (DUBEY, 2013). Os bradizoítos são a forma de multiplicação lenta e estão presentes no interior dos cistos teciduais (DUBEY, LINDSAY E SPEER, 1998). Já os esporozoítos estão presentes no interior dos oocistos e são o produto da reprodução sexuada, formados somente no trato digestivo dos felídeos que os eliminam nas fezes, sendo os oocistos uma forma ambiental

resistente que pode permanecer por meses ou anos no ambiente (HOFFMANN E JORGENS, 2010).

O ciclo de vida de *T. gondii* (Figura 1) possui uma fase assexuada (extraintestinal) que ocorre nos hospedeiros definitivos e intermediários e uma sexuada (enteroepitelial) que ocorre apenas no epitélio intestinal do hospedeiro definitivo (DUBEY, 2010a)

Após a infecção nos hospedeiros intermediários, os taquizoítos multiplicam-se rapidamente em diferentes tipos de células hospedeiras. Na tentativa de driblar a resposta imune do hospedeiro, os taquizoítos se diferenciam em bradizoítos, resultando na formação dos cistos teciduais que são o estágio final do ciclo de vida no hospedeiro intermediário (MILLER et al., 2009; BAYARRY et al., 2012).

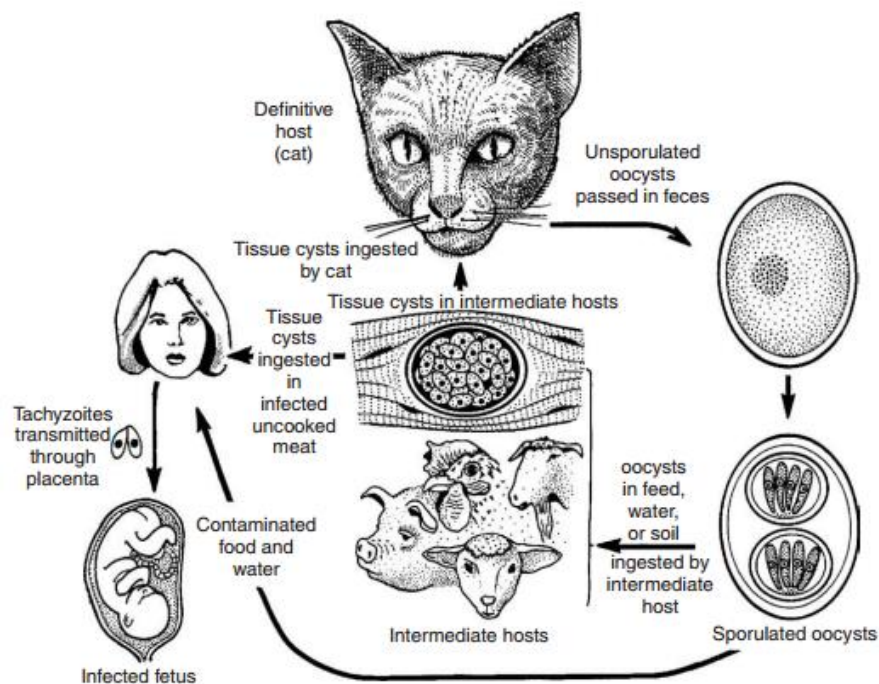


Figura 1: Ciclo de vida de *T. gondii* (DUBEY, 2010a)

Após a ingestão dos cistos teciduais, a parede deste é dissolvida por enzimas proteolíticas no estômago e intestino delgado. Os bradizoítos penetram nas células epiteliais do intestino delgado do hospedeiro e iniciam uma fase assexuada de multiplicação (DUBEY, LINDSAY E SPEER, 1998). Nos hospedeiros definitivos inicia-se a fase sexuada do ciclo onde há a diferenciação de gametas, fecundação e a formação de oocistos não esporulados. Esses oocistos são liberados no lúmen intestinal e eliminados no ambiente nas fezes e a esporulação ocorre no ambiente.

Cada oocisto esporulado contém dois esporocistos com quatro esporozoítos. Quase todos os felídeos liberam oocistos após a ingestão de cistos teciduais enquanto que menos de 30% liberam oocistos ao ingerir oocistos ou taquizoítos (DUBEY, LINDSAY E SPEER, 1998; TENTER, HECKEROTH E WEISS, 2000).

Hospedeiros definitivos e intermediários podem se infectar com os três estágios infecciosos de *T. gondii* (taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos). A infecção em humanos ocorre principalmente por meio da ingestão de oocistos infectantes no ambiente (água e alimentos), pela ingestão de cistos teciduais presentes em vísceras e carne de hospedeiros intermediários e por taquizoítos através de via transplacentária (Figura 2). O transfusão de sangue e transplante órgãos também podem se apresentar como uma via de transmissão (TENTER, HECKEROTH E WEISS, 2000; HOFFMANN E JORGENS, 2010).

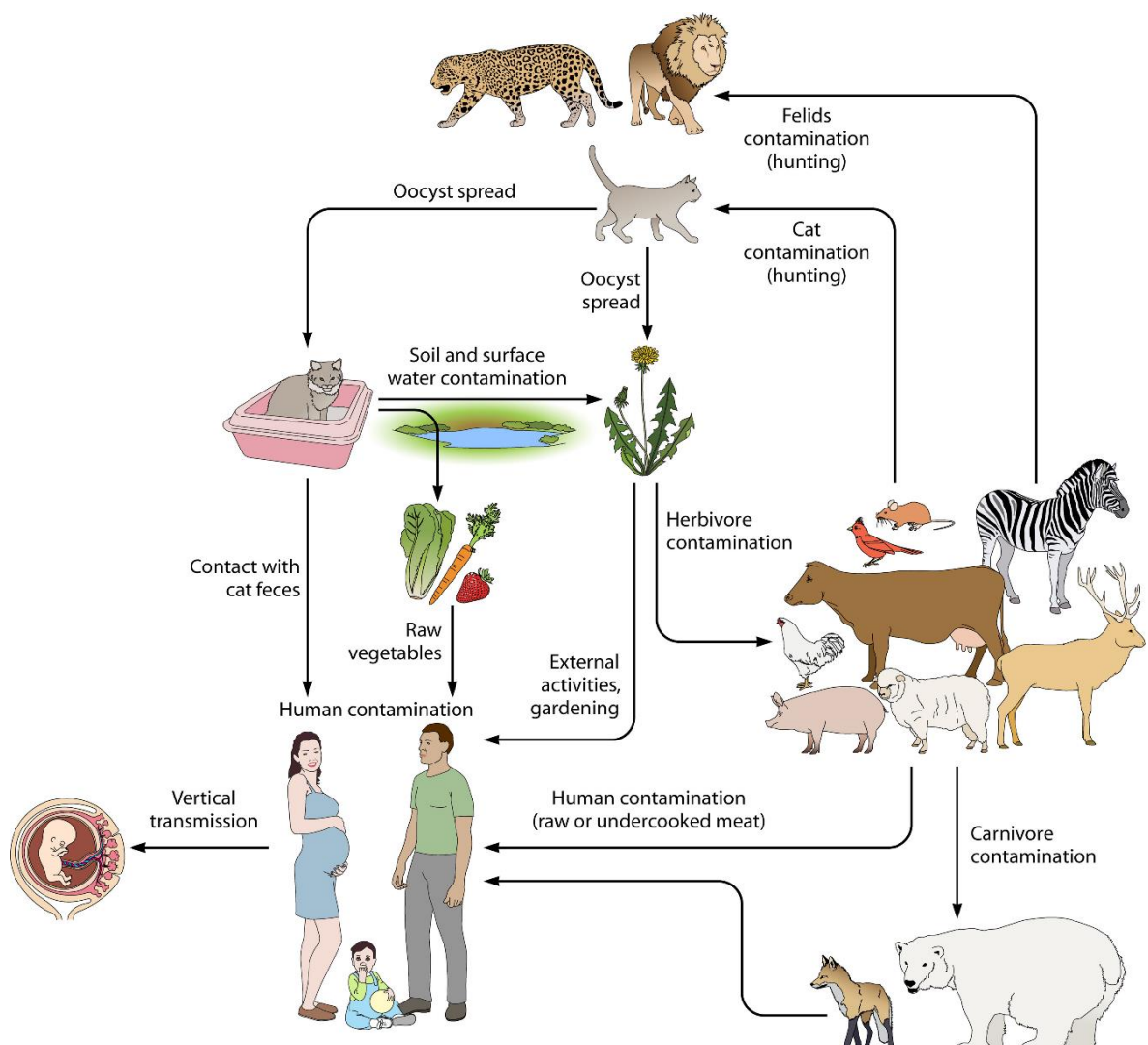


Figura 2: Representação do ciclo de transmissão de *T. gondii* (ROBERT-GANGNEUX E DARDE, 2012).

2.2 Aspectos epidemiológicos da infecção por *T. gondii*

Os gatos são capazes de eliminar milhões de oocistos nas fezes após ingestão de um único bradizoíto contido em um cisto tecidual, por isso são considerados a maior fonte de contaminação ambiental, sendo essenciais na perpetuação do ciclo de vida de *T. gondii* (HILL E DUBEY, 2002). Apesar disso, possuir gatos não representa um risco consistente para a infecção por *T. gondii* em humanos (HOFFMANN E JORGENS, 2010), visto que a liberação dos oocistos só acontece por um pequeno período de tempo logo após o gato adquirir a infecção (DUBEY, LINDSAY E SPEER, 1998).

As galinhas domésticas são consideradas importantes hospedeiros intermediários de *T. gondii*, servindo como indicadores de contaminação ambiental por oocistos do parasito. Além disso são consideradas uma boa fonte de infecção para gatos, podendo a ingestão da carne dessas aves servir como fonte de infecção para humanos e outros animal (DUBEY et al., 2012). No meio rural, as galinhas caipiras desempenham um papel importante na epidemiologia da toxoplasmose, considerado mais importante que o de roedores, pois essas aves são clinicamente resistentes ao parasito e vivem por mais tempo que os roedores, servindo como fonte de infecção para os felídeos (DUBEY, 2010b)

As criações de galinhas em escala industrial tem demonstrado pouca importância na transmissão de *Toxoplasma gondii* para humanos devido ao rápido sistema de criação que não permite o contato com possíveis fontes de infecção. Por outro lado, nas criações do tipo caipira os animais estão sujeitos ao contato com gatos, solo e água contaminados com oocistos, favorecendo a infecção por *T. gondii* (MILLAR et al., 2008).

Estudos feitos com ovos de galinhas não detectaram *T. gondii* viável não havendo atualmente evidência do risco de infecção por meio da ingestão de ovos (BIANCIFIORI et al., 1986; JACOBS E MELTON, 1966). Em contraste, diversos estudos evidenciaram a presença de *T. gondii* viáveis em tecidos de galinhas caipiras (Tabela 1). A comparação entre esses isolados demonstra que *T. gondii* isolado de galinhas no Brasil são fenotípica e genotipicamente diferentes dos isolados obtidos em outros países (DUBEY et al., 2010).

Na maioria dos casos, as aves de criação caipira são abatidas em residências ou em abatedouros sem fiscalização de órgãos oficiais ou serviços de inspeção. A infecção por *T. gondii* pode ser adquirida se não forem tomados os cuidados adequados no momento de lavar as mãos após a manipulação dessa carne bem como se essa carne for consumida crua ou mal cozida (DUBEY, 2010b).

Tabela 1: Isolamento de *Toxoplasma gondii* a partir de tecidos de galinhas caipiras no Brasil e outros países

Local	Galinhas positivas na sorologia	Número de isolados	Referência
Brasil			
São Paulo	29	22	DUBEY et al. (2002)
Pernambuco (Fernando de Noronha)	40	24	DUBEY et al. (2010)
Bahia	25	14	GONÇALVES et al. (2012)
Espírito Santo	64	48	BELTRAME et al. (2012)
Outros países			
Ohio - Estados Unidos	20	11	DUBEY et al. (2003)
Quindio - Colômbia	77	23	DUBEY et al. (2005a)
Trujillo -Venezuela	13	12	DUBEY et al. (2005b)

A ingestão da carne de galinhas infectadas por *T. gondii* representa um risco para a saúde pública, principalmente se essa carne for ingerida por pacientes imunocomprometidos, gestantes, crianças e idosos, que podem desenvolver a toxoplasmose (GEBREMEDHIN et al., 2014).

Estudos realizados na Europa apontam que a ingestão de carne mal cozida é o fator de risco mais importante para mulheres grávidas, sendo responsável por 30 - 60% dos casos de toxoplasmose aguda em gestantes (COOK et al., 2000). Estima-se que a toxoplasmose transmitida por alimentos é superada apenas pela salmonelose em número de mortes por ano, e, apesar da associação da doença com gatos,

atualmente cerca de 50% dos casos de toxoplasmose humana são adquiridos através da alimentação (SCALLAN et al., 2011). Apesar disso, o fato de vegetarianos serem infectados com *T. gondii* mostra que a contaminação ambiental por oocistos ainda representa um importante papel como fonte de infecção (KIJLSTRA E JONGERT, 2008).

Estima-se que 70 – 90% da população humana apresenta anticorpos anti-*T. gondii* (BRASIL, 2010). A distribuição do parasita no mundo varia de acordo com fatores como localização geográfica, condições ambientais, grau de desenvolvimento do país e hábitos alimentares (HILL E DUBEY, 2002). Na França, a prevalência de seres humanos soropositivos para *T. gondii* é alto, com cerca de 67,3% das gestantes de Paris apresentando anticorpos anti-*T. gondii* (Jeanne et al., 1988). Essa alta incidência é explicada pelo hábito dos franceses de ingerir carne e derivados crus ou mal cozidos. Em países da América Central e América do Sul, a alta prevalência da infecção por *T. gondii* em humanos e animais pode ser explicada pelos altos níveis de contaminação ambiental (DUBEY, 2010a).

No Brasil são relatadas altas prevalências da infecção por *T. gondii* em humanos. Estudos realizados com doadores de sangue encontraram prevalências que variaram de 48% de doadores sororeagentes para anticorpos IgM e 35,1% para anticorpos IgG anti-*T. gondii* no estado de São Paulo (BALDINE-PERUCA et al., 2012), 50,3% em Minas Gerais (ARAÚJO, 1970), 75% em doadores no estado de Pernambuco (COÊLHO, KOBAYASHI, CARVALHO JÚNIOR, 2003) e 83,8% no Rio de Janeiro (COUTINHO et al., 1970).

Estudos realizados em gestantes demonstraram prevalências de 59,8% no estado do Rio Grande do Sul (VARELLA et al., 2003), 64,92% na Bahia (NASCIMENTO et al., 2002), 77,5% em Pernambuco (PORTO et al., 2008) e 77,9% no Maranhão (CÂMARA, SILVA E CASTRO, 2015).

Estudos sorológicos realizados no Brasil indicam que mais de 90% dos animais domésticos e silvestres possuem anticorpos anti-*T. gondii* e o parasita viável foi isolado de diversas dessas espécies (DUBEY et al., 2012).

Em galinhas caipiras foram encontradas soroprevalência que variaram de 10,3% no estado do Paraná (GARCIA et al., 2000) a 84% no arquipélago de Fernando de Noronha, no estado de Pernambuco (DUBEY et al., 2010) (Tabela 2).

Tabela 2: Resultado de estudos sorológicos para detecção de *Toxoplasma gondii* realizados em galinhas caipiras oriundas de diferentes estados do Brasil.

Local	Frequência	Técnica utilizada	Referência
Paraná	10,3% (6/115)	RIFI*	GARCIA et al. (2000)
São Paulo	39% (32/82)	MAT ⁺	DUBEY et al. (2002)
Pernambuco (Fernando de Noronha)	84% (42/50)	MAT	DUBEY et al. (2010)
Bahia	25% (25/100)	RIFI	GONÇALVES et al. (2012)
Espírito Santo	38,8% (198/510)	MAT	BELTRAME et al. (2012)
Mato Grosso do Sul	67,5 (27/40)	MAT	HOLSBACK et al. (2012)
Rio de Janeiro	27,6 (61/220)	RIFI	CASARTELLI-ALVES et al. (2012)
Pernambuco (Semi-árido)	25,8% (82/322)	RIFI	SÁ et al. (2016, no prelo)

*MAT= Teste de Aglutinação Modificada

⁺RIFI= Reação de Imunofluorescência Indireta

Estudos com galinhas caipiras em outros países revelaram soroprevalência de 17% (20/118) nos EUA (DUBEY et al., 2003), 34,78% (16/46) na Venezuela (DUBEY et al., 2005) e 44,4% (32/72) na Colômbia (DUBEY et al., 2005b).

2.3 Resposta imunológica, patogenia e sinais clínicos

As células epiteliais do intestino são a primeira linha de defesa do hospedeiro contra a infecção oral pelo *T. gondii*, representando uma barreira física contra a penetração no intestino (BUZONI-GATEL E KASPER, 2013). Apesar dessa barreira, o parasita consegue penetrar as células intestinais e se multiplica rapidamente na forma de taquizoítos formando os vacúolos parasitóforos, rompendo a célula

hospedeira e invadindo então novas células (INNES, 1997). Os taquizoítos livres são capazes de infectar qualquer célula nucleada e continuam sua multiplicação se disseminando nos tecidos do hospedeiro (DENKERS E GAZZINELLI, 1998).

Após a invasão do epitélio intestinal ocorre a liberação de quimiocinas pelas células infectadas, levando a atração de células da imunidade inata. Neutrófilos são atraídos para fagocitar os taquizoítos livres, contribuindo para a redução da carga parasitária. Células dendríticas e macrófagos são estimulados a produzir IL-12 que ativam células *natural killers* e células T a produzir IFN- γ . A combinação dessas citocinas resulta na produção de radicais livres e óxido nítrico que podem matar os taquizoítos de *T. gondii* (ROBERT-GANGNEUX E DARDE, 2012). IL-10 e TGF- β (fator de crescimento) são responsáveis pela regulação da resposta imunológica para não ocasionar uma resposta exacerbada com inflamação severa, resultando em danos no tecido do hospedeiro (BHOPALE, 2003).

Após o desenvolvimento da resposta imunológica do hospedeiro, a multiplicação parasitária diminui e, na tentativa de driblar essa resposta imune, o parasita se protege por meio da formação de cistos nos tecidos do hospedeiro. No interior dos cistos teciduais, os bradizoítos sobrevivem isolados da ação do sistema imune (DENKERS E GAZZINELLI, 1998). Esses cistos podem se formar em qualquer tecido do organismo, principalmente no sistema nervoso central e músculo esquelético, onde podem permanecer toda a vida do hospedeiro sem causar sintomas, caracterizando a infecção crônica (MILLER et al. 2009).

A multiplicação dos taquizoítos é controlada de forma eficiente pelo sistema imune de pacientes imunocompetentes. Para manter a infecção por *T. gondii* controlada e evitar a reativação com a multiplicação de taquizoítos, é necessário o desenvolvimento de uma imunidade persistente. A resposta adquirida é mediada por células T CD4+ e CD8+ que agem de forma conjunta para prevenir a reativação de cistos durante a infecção crônica. Há também a produção de imunoglobulinas do tipo IgA, IgM, IgG e IgE, mas estas não possuem papel decisivo no controle da infecção por *T. gondii* quando o parasita se encontra no interior de células ou dos cistos teciduais (MELBY E ANSTEAD, 2013).

A manifestação clínica da toxoplasmose é resultado da interação entre parasita e hospedeiro. Os taquizoítos são a principal forma patogênica do parasita e

durante as repetidas replicações que ocorrem na infecção aguda pode ocorrer morte celular nos tecidos do hospedeiro e uma acentuada resposta inflamatória, levando à destruição do tecido com consequente manifestação clínica (ROBERT-GANGNEUX E DARDE, 2012).

A maioria das infecções por *T. gondii* ocorre de forma assintomática, mas alguns indivíduos podem apresentar sinais clínicos da infecção. Esses podem variar desde sintomas inespecíficos de curta duração até sintomas mais severos como febre prolongada, fadiga, retinite, cegueira, linfadenopatia, encefalite, convulsão e coma (PETERSEN E LIESENFELD, 2013).

Em pacientes imunossuprimidos, *T. gondii* provoca doença severa (TENTER, HECKEROTH, WEISS, 2000). A toxoplasmose encontra-se entre as doenças responsáveis pelo maior número de mortes em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Cerca de 10% dos pacientes com AIDS nos EUA e 30% na Europa morreram devido à toxoplasmose (HILL E DUBEY, 2002). A manifestação clínica da toxoplasmose em pacientes com AIDS está ligada a reativação da infecção latente pela ruptura dos cistos teciduais. A apresentação clínica mais comum envolve o sistema nervoso central (SNC) e/ou olhos, sendo encefalite o sintoma mais comum (PETERSEN E LIESENFELD, 2013).

A infecção congênita ocorre quando a mulher adquire a infecção por *T. gondii* durante a gestação. Mulheres que adquiriram a infecção antes da gravidez, na maioria dos casos não transmitem a infecção para o feto. Infecções adquiridas durante o primeiro trimestre de gravidez são mais severas do que as adquiridas no segundo trimestre (HILL E DUBEY, 2002). Nos casos em que a infecção ocorre antes da 26ª semana de gestação, o SNC da criança geralmente é o mais afetado, podendo ocorrer estrabismo, cegueira, epilepsia, encefalite, microcefalia, calcificação intracranial e hidrocefalia. Recém-nascidos que adquiriram a infecção no terço final da gestação podem ser assintomáticos ao nascimento, mas desenvolvem sequelas ao longo do tempo (ROBERT-GANGNEUX E DARDE, 2012).

Em animais, semelhante ao que é observado em humanos, a infecção por *T. gondii* apresenta-se de forma assintomática na maioria dos casos. Dentre as espécies domésticas mais suscetíveis ao *T. gondii* estão caprinos, ovinos e suínos (LINDSAY E DUBEY, 2013). Esses animais, ao adquirem a infecção durante a

gestação, podem desenvolver distúrbios reprodutivos como abortos, neonatos mortos ou fracos e repetição de cio, ocasionando graves perdas econômicas. As galinhas são consideradas resistentes ao *T. gondii*, raramente desenvolvendo sinais clínicos da infecção. Alguns estudos relatam sinais clínicos como anorexia, edema, diarreia, cegueira e morte súbita (DUBEY, 2010).

2.4 Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose pode ser realizado através de técnicas indiretas, que se baseiam na resposta humoral do hospedeiro como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), o Teste Imunoenzimático (ELISA) e o Teste de Aglutinação Modificada (MAT); mas também pode ser feito utilizando técnicas diretas que evidenciam a presença do parasito como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), o exame histopatológico, além do bioensaio em camundongos (DUBEY, 2010).

A pesquisa de anticorpos específicos anti- *T. gondii* é um dos meios mais utilizados para o diagnóstico de *T. gondii*. Apesar de muito utilizadas, as técnicas sorológicas servem como um auxiliar do diagnóstico, visto que a presença de anticorpos anti-*T. gondii* apenas demonstra que o hospedeiro entrou em contato com o agente em algum momento de sua vida (HILL E DUBEY, 2002).

O primeiro teste disponível para detectar anticorpos específicos anti-*T. gondii* foi a reação de Sabin-Feldman (*Dye test*) criada em 1948. Ainda é considerado um teste de referência, mas apresenta a grande desvantagem de utilizar o parasito vivo, o que representa um risco para biossegurança (KOMPALIC-CRISTO, BRITTO E FERNANDES 2005). O *Dye test* é altamente sensível e específico para diversas espécies, mas estudos demonstram resultados incorretos em galinhas (DUBEY, 2010).

Técnicas como a RIFI, ELISA e o MAT vem demonstrando boa especificidade e sensibilidade para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas. A RIFI consegue detectar anticorpos produzidos a partir de 7 dias pós-infecção, enquanto

o ELISA e o MAT detectam anticorpos 12 dias e 15 dias pós infecção, respectivamente (DUBEY, 2010b).

A RIFI apresenta uma alta sensibilidade e é de fácil realização, sendo mundialmente aceita. Por outro lado, apresenta a desvantagem de necessitar de um microscópio de epifluorescência e de um conjugado espécie-específico. O ELISA apresenta uma alta sensibilidade e especificidade e possibilita o processamento de quantidades variadas de amostras, mas tem como desvantagem a necessidade de um espectrofotômetro para leitura da reação (DUBEY, 2010a).

O MAT é considerado uma técnica sorológica de alta sensibilidade e especificidade, sendo capaz de detectar títulos de anticorpos maiores do que outros testes sorológicos como o *Dye test* e a hemaglutinação indireta (DESMONTS E REMINGTON, 1980).

Diferentes métodos vêm sendo utilizados para detectar a presença do *T. gondii* em amostras de carne, sendo o bioensaio em camundongos considerado um dos mais eficientes por conseguir detectar a viabilidade do protozoário através do desenvolvimento de sinais clínicos e soroconversão (GOMEZ-SAMBLAS et al., 2015).

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma técnica de alta sensibilidade e especificidade, muito utilizada para detectar o DNA de *T. gondii* em amostras de carne (OPSTEEGH et al., 2010). Apesar disso, de acordo com Hill e Dubey (2002), estima-se a presença de apenas um cisto tecidual a cada 100 g de tecido, o que diminui a probabilidade de encontrar cistos teciduais, podendo levar a ocorrência de resultados falsos negativos (ESTEBAN-REDONDO E INNES, 1998).

2.5 Controle

A infecção por *T. gondii* em humanos pode ser prevenida através de algumas medidas de controle. Deve ser levado em conta que existe desconhecimento das pessoas sobre a toxoplasmose, assim, ações de educação em saúde devem ser dirigidas à população. As pessoas devem ser orientadas a lavar as mãos após entrar

em contato com carne crua, após a realização de serviços de jardinagem ou qualquer atividade que tenha contato com solo e após contato direto com gatos. Pessoas que possuem gatos devem realizar a higiene da caixa de areia diariamente, utilizando máscaras e luvas (ROBERT-GANGNEUX E DARDE, 2012).

Outras medidas são: lavar bem frutas e vegetais que serão ingeridos crus, tábuas, facas e outros materiais que entrem em contato com carne crua devem ser lavados com água e sabão. *T. gondii* presente em carne pode ser inativado ao ser exposto a calor ou frio extremos, devendo carnes e derivados ser bem cozinhados antes do consumo (HILL E DUBEY, 2002).

A prevenção da infecção por *T. gondii* em animais exige conhecimento da epidemiologia da doença para estabelecer a possível fonte de infecção. No caso de cães e gatos, a higienização das instalações e o controle da alimentação com fornecimento de água tratada e ração comercial, evitando carnes cruas são medidas essenciais. Também deve ser evitado comportamento de caça nesses animais. No caso de animais de produção, deve-se evitar a presença do hospedeiro definitivo na propriedade para prevenir a contaminação por oocistos (VIDOTTO, 1992).

A criação tecnificada de frangos é uma forma de controlar a infecção por *T. gondii* nessas aves, devido a menor probabilidade de contato com as possíveis vias de transmissão (MILLAR et al., 2008).

Ainda não existem vacinas para prevenir a doença em humanos, mas foi desenvolvida uma vacina com o objetivo de reduzir as taxas de aborto provocadas pela toxoplasmose em caprinos e ovinos (SCHAAP et al., 2013).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Investigar a ocorrência e a viabilidade de *T. gondii* em galinhas caipiras destinadas ao consumo humano em feiras livres da região metropolitana de Recife, Pernambuco.

3.2 Específicos

- Determinar a frequência de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas caipiras destinadas ao consumo humano, comercializadas em feiras livres da região metropolitana de Recife, Pernambuco;

- Avaliar a viabilidade do *T. gondii* no tecido de galinhas caipiras destinadas ao consumo humano, comercializadas em feiras livres da região metropolitana de Recife, Pernambuco.

4. REFERÊNCIAS

ALI, V. P. M. As feiras livres associadas aos Mercados Públicos de Recife e os sistemas de organização. 2013. Dissertação (Mestrado em Administração e Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.

ASPINALL, T. V., et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polymerase chain reaction - food for thought? **Int. J. Parasitol.**, v. 32, n. 9, p.1193–1199, 2002.

BALDINI-PERUCA, L. C., et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em doadores de sangue do HEMOCENTRO , Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina, Botucatu, São Paulo. **Vet. e Zootec.**, v. 17, n. 3, p. 399-406, 2010.

BAYARRY, S., et al. *Toxoplasma gondii* in meat and food safety implications – A review. In: LORENZO-MORALES, J. (Ed.). **Zoonosis**, 2012. Disponível em: <<http://www.intechopen.com/books/zoonosis/toxoplasma-gondii-in-meat-and-food-safety-implications-a-review>>. Acesso em: 28 ago. 2014.

BELTRAME, M. A. V. et al. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Espírito Santo state, southeastern Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 188, n. 3-4, p. 225-230, 2012.

BHOPALE, G. M. Pathogenesis of Toxoplasmosis. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.**v. 26 n. 4 p. 213–222, 2003.

BIANCIFIORI, F. et al. Avian toxoplasmosis: experimental infection of chicken and pigeon. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** v. 9, p. 337–346, 1986.

BITON, J. et al. Região Metropolitana do Recife no contexto de Pernambuco no censo 2010. **Observatório das Metrôpoles**, 25 p., 2010.

BUZONI-GATEL, D.; KASPER, L. H. Innate immunity in *Toxoplasma gondii* infections. In: Weiss, L. M.; Kim, K (Eds). **The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods**, Elsevier Health Sciences, 2013. p. 333-350.

CÂMARA, J. T.; SILVA, M. G.; CASTRO, A. M. Prevalência de toxoplasmose em gestantes atendidas em dois centros de referência em uma cidade do Nordeste,

Brasil. **Rev. Bras. Ginecol. Obstetri.**, v. 37, n. 2, p. 64-70, 2015.

CASARTELLI-ALVES, L. et al. Sensitivity and specificity of serological tests, histopathology and immunohistochemistry for detection of *Toxoplasma gondii* infection in domestic chickens. **Vet. Parasitol.**, v. 204, n. 3-4, p. 346–351, 2014.

COÊLHO, R. A. L.; KOBAYASHI, M.; CARVALHO-JÚNIOR, L.B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among blood donors in Recife, northeast Brazil. **Rev. Inst. Med. trop.**, v.45 n.4, p. 229-231, 2003.

COOK, A.J.C. et al. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: european multicentre case-control study. **Br. Med. J.** v. 321, p. 142–147, 2000.

DENKERS, E. Y.; GAZZINELLI R. T. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 11 n. 4, p.569–588, 1998.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J. S.. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity.” **J. Clin. Microbiol.**, v. 11, n. 6, p. 562–568, 1980.

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. 2nd ed. Boca Raton: CRC press, 2010a. 313 p.

DUBEY, J. P. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. **Zoonoses Public Health**, v. 57, n. 1, p.60–73, 2010b.

DUBEY, J. P. The History and Life Cycle of *Toxoplasma Gondii*. In: Weiss, L. M.; Kim, K (Eds). **The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods**, Elsevier Health Sciences, 2013. p. 1–20.

DUBEY, J. P. et al. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. **Int. J. Parasitol**, v 32, p. 99-105, 2002.

DUBEY, J. P. et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. **J. Parasitol.**, v. 89 n. 5, p. 1060–1062, 2003.

DUBEY, J. P. et al. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from Colombia, South America. **Vet. Parasitol.**, v. 134, n. 1-2, p. 67–72, 2005a.

DUBEY, J. P. et al. *Toxoplasma gondii* infections in chickens from venezuela : isolation , tissue distribution , and molecular characterization. **J. Parasitol.**, v. 91, n. 6, p. 1332–1334, 2005b.

DUBEY, J. P. et al. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpected findings. **J. Parasitol.**, v. 96, n. 4, p. 709–712, 2010.

DUBEY, J. P. et al. 2012. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v. 139, n. 11, p.1375-1424, 2012.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clin. Microbiol. Rev.** v. 11, n. 2, p. 267–299, 1998.

ESTEBAN-REDONDO, I.; INNES, E. A. Detection of *Toxoplasma gondii* tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. **Int. J. Parasitol**, v. 28, n. 9, p. 1459–1466, 1998.

GARCIA, J. P., et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em galinhas (*Gallus gallus domesticus*) de criações domésticas, oriundas de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. **Ciênc. Rural**, v. 30, n. 1, p. 123–127, 2000.

GEBREMEDHIN, E. Z., et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in free-range chickens (*Gallus domesticus*) of Central Ethiopia. **Epidemiol Infect**, v. 143, p. 608-617, 2014.

GOMEZ-SAMBLAS, M., et al. Quantification and viability assays of *Toxoplasma gondii* in commercial ‘serrano’ ham samples using magnetic capture real-time qPCR and bioassay techniques. **Food Microbiol.**, v. 46, p. 107–113, 2015.

GONÇALVES, I. N.. et al. Molecular frequency and isolation of cyst-forming coccidia from free ranging chickens in Bahia state, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v. 190, n.1-2, p. 74–79, 2012.

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

HOFFMANN, M. L.; JORGENS, É. N. Toxoplasmose : revisão de literatura. In: XVII Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão. 2012, Cruz Alta. *Anais...* Cruz Alta: CCS, 2012, p. 1988–1991, 2010.

HOLSBACK, L. et al. Serologic and molecular diagnostic and bioassay in mice for detection of *Toxoplasma gondii* in free ranges chickens from Pantanal of Mato Grosso do Sul. **Pesq. Vet. Bras.**, v. 32, n. 8, p. 721–726, 2012.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agropecuária 2014. Disponível em: <<http://ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producaoagropecuaria/default.shtm#animal>>. Acesso em: 23 jan. 2016.

_____. Censo demográfico 2010. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/temas.php?lang=&codmun=261160&idtema=1&search=pernambuco|recife|censo-demografico-2010:-sinopse->> Acesso em 25 fev. 2016.

INNES, E. A. Toxoplasmosis: comparative species susceptibility and host immune response. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 20, n.2, p. 131–138, 1997.

JACOBS, L.; MELTON, M. L. Toxoplasmosis in chickens. **J. Parasitol.** v. 52, p. 1158–1162, 1966.

KIJLSTRA, A.; JONGERT, E. Control of the risk of human toxoplasmosis transmitted by meat. **Int. J. Parasitol.**, v.38, n. 12, p. 1359–1370, 2008.

KOMPALIC-CRISTO, A.; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **J Bras de Patol e Med Lab**, v. 41, n. 4, p.229–235, 2005.

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. Toxoplasmosis in wild and domestic animals. In: Weiss, L. M.; Kim, K (Eds). **The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods**, Elsevier Health Sciences, 2013. p. 133-152.

MELBY, P. C.; ANSTEAD, G. M. Host defenses to protozoa. In: Rich, R. R., et al (Eds). **Clinical Immunology Principles and Practice**. 4 ed. Elsevier Health Sciences, 2013. p. 361-362.

MILLAR, P. R. et al. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. **Semin. Cienc. Agrar.**, v. 29, n. 3, p. 693–706, 2008.

MILLER, C. M. et al. The immunobiology of the innate response to *Toxoplasma gondii*. **Int. J. Parasitol**, v. 39, n. 1, p. 23–39, 2009.

NASCIMENTO, I. et al. Estudo da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em mulheres grávidas no Estado da Bahia. **R. Ci. Méd. Biol.**, v. 1, n. 1, p. 12-15, 2002.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection a corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. **Seances Acad Sci**, v. 147, p. 763–766, 1908.

OPSTEEGH M. et al. Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat samples using magnetic capture and PCR. **Int J Food Microbiol.**, v. 139, n. 3, p. 193-201, 2010.

PETERSEN, E.; LIESENFELD, O. Clinical Disease and Diagnostics. In: Weiss, L. M.; Kim, K (Eds). **The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods**, Elsevier Health Sciences, 2013. p. 81-100.

PORTO, A. M. F., et al. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes atendidas em maternidade. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.54 n.3, p. 242-248, 2008.

ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDE, M.-L. Epidemiology of and Diagnostic Strategies for Toxoplasmosis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 25, n. 2, p. 264–296, 2012.

SÁ, S. G., et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among turkeys on family farms in the state of northeastern Brazil. **Acta Parasitol.**, v. 61, n. 2, 2016. No prelo.

SCALLAN, E. et al. Foodborne Illness acquired in the United States. Major Pathogens. **Emerg. Infect. Dis.**, v. 17, n. 1, p. 7-15, 2011.

SCHAAP, D. et al. Vaccination against Toxoplasmosis: Current Status and Future Prospects. In: Weiss, L. M.; Kim, K (Eds). **The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods**, Elsevier Health Sciences, 2013. p. 721-759.

SILVA, F. W. S. A. et al. Toxoplasmose: uma revisão. **Ci. Anim.**, v. 16, n. 2, p. 71–

77, 2006.

SPLENDORE, A. Un nuovo protozoa parassita de' conigli. Incontrato nelle lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uomo. Nota preliminare pel. **Rev Soc Scient**, v. 3, p. 109–112, 1908.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: From animals to humans. **Int.. J. Parasitol**, v. 30, n. 12-13, p. 1217–1258, 2000.

VARELLA, I. S. et al. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. **J. Pediatr.**, v.79 n.1, p. 69-74, 2003.

VIDOTTO, O. Toxoplasmose: epidemiologia e importância da doença na saúde animal. **Semin. Ciênc. Agrár.**, v. 13, n 1, p. 69-75, 1992.

5. ARTIGO

Ocorrência de *Toxoplasma gondii* viável em tecido de galinhas caipiras destinadas ao consumo humano em feiras-livres do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil

(A ser submetido ao periódico Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene)

Ocorrência de *Toxoplasma gondii* viável em tecido de galinhas caipiras destinadas ao consumo humano em feiras-livres do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil

RESUMO: As galinhas caipiras representam um importante papel na epidemiologia da toxoplasmose, atuando como fonte de infecção para gatos (hospedeiros definitivos), e sendo consideradas os melhores indicadores de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*. Humanos podem adquirir a infecção por *T. gondii* após o consumo de carne crua ou mal cozida que contenham cistos do parasita. O objetivo desse estudo foi investigar a ocorrência e viabilidade de *T. gondii* em galinhas caipiras destinadas ao consumo humano em feiras livres do estado de Pernambuco, Brasil. Amostras de soro de 56 galinhas foram submetidas à Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI \geq 16) para detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*. Amostras de tecidos das galinhas soropositivas foram submetidas à PCR e ao bioensaio em camundongos. Foi realizada PCR e RIFI de tecido e soro dos camundongos submetidos ao bioensaio, respectivamente. Anticorpos IgG anti-*T. gondii* foram encontrados em 46,43% (26/56) das galinhas e em 25% (13/52) dos camundongos submetidos ao bioensaio. Foram observados sinais clínicos sugestivos de toxoplasmose em cinco camundongos inoculados com observação de uma morte. Os dados obtidos confirmam que a carne dessas galinhas são potencial fonte de infecção de *T. gondii* para a população dessa região, e que esses animais apresentam um papel importante na cadeia de transmissão da toxoplasmose.

PALAVRAS-CHAVES: Aves, bioensaio em camundongos, saúde pública, Toxoplasmose

ABSTRACT: Free-range chickens have an important role in the toxoplasmosis epidemiology being considered a source of infection for cats (definitive hosts) and it is one of the best biological indicator of soil contamination with oocysts of *Toxoplasma gondii*. Humans may become infected by *T. gondii* after the consumption of undercooked meat containing cysts of this parasite. The purpose of this study was to investigate the occurrence and viability of *T. gondii* in free-range chickens destined for human consumption in street markets from Pernambuco state, northeastern Brazil. Serum samples from free-range chickens were submitted to Immunofluorescence Antibody Test (IFAT \geq 16) for detection of anti-*T. gondii* IgG antibodies. Tissue samples from seropositive chickens were submitted to PCR and mouse bioassay. From the tissue and serum of the mice submitted were performed PCR and IFAT, respectively. Anti-*T. gondii* IgG antibodies were found in 46.43% (26/56) of chickens and in 25% (13/52) of inoculated mice submitted to bioassay. Suggestive clinical manifestation of toxoplasmosis was observed in five inoculated mice, with one death. The data obtained in the present study confirm that free-range chicken meat is a potential source of *T. gondii* infection for humans and it has an important role in the toxoplasmosis chain transmission.

KEY WORDS: Birds, Mouse bioassay, Public health, Toxoplasmosis

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose cosmopolita, causada pelo protozoário intracelular *Toxoplasma gondii*, possuindo grande importância na saúde pública. Felinos domésticos e selvagens são os hospedeiros definitivos e os animais homeotérmicos são considerados hospedeiros intermediários. ¹

Em humanos a maioria das infecções são assintomáticas, no entanto, em alguns casos podem ocorrer alterações neonatais, aborto e complicações em indivíduos imunocomprometidos. A infecção congênita ocorre quando a mãe adquire a infecção durante a gestação e transmite o protozoário via transplacentária para o feto. Raramente a mulher desenvolve sintomas da toxoplasmose, mas a criança infectada pode manifestar sinais clínicos como: doença ocular, hidrocefalia, calcificação intracerebral e convulsões. ^{2,3} Na infecção pós-natal, podem ocorrer complicações como retinite, cegueira, linfadenopatia, encefalite, convulsão e coma. Em pacientes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), a toxoplasmose encontra-se entre as principais doenças que mais causam morte. Cerca de 10% dos pacientes com AIDS nos EUA e 30% na Europa morrem devido à toxoplasmose. ^{4,5}

Em animais de produção, a toxoplasmose tem importância pelos graves prejuízos econômicos na produção devido ao aborto, e principalmente, pelos animais infectados servirem de fonte de infecção direta ou indireta para o homem. ² Humanos podem se infectar ao ingerir cistos teciduais em carnes mal cozidas, ingerindo comida ou bebida contaminada com oocistos ou acidentalmente ingerindo oocistos do meio ambiente. ^{2,3}

As galinhas domésticas são consideradas importantes hospedeiros intermediários de *T. gondii* servindo como indicadores de contaminação ambiental por oocistos do parasito. Além disso são consideradas boa fonte de infecção para gatos, podendo a ingestão da carne dessas aves servir como fonte de infecção para humanos e outros animais. Na maioria dos casos, as aves comercializadas em feiras livres são abatidas em residências ou em abatedouros sem fiscalização de órgãos oficiais ou serviços de inspeção. ⁶

O Brasil encontra-se entre os três maiores produtores de frango do mundo, sendo o maior exportador mundial de carne de frango ⁷. A procura dos consumidores

por produtos naturais incentivou as criações de frango do tipo caipira. Esse tipo de criação aumenta o risco das aves adquirirem diversos agentes infecciosos, incluindo *T. gondii*⁸.

As feiras livres são importantes pontos de comércio de produtos não industrializados e agrícolas provenientes de agricultura familiar⁹. Atualmente, a Região Metropolitana do Recife (RMR) é a 5ª mais populosa entre as Regiões Metropolitanas brasileiras, concentrando 3.690.485 habitantes,¹⁰ contando com 27 feiras livres que atendem a população dessa região.

O objetivo do presente estudo foi investigar a ocorrência e a viabilidade de *T. gondii* em galinhas caipiras destinadas ao consumo humano no estado de Pernambuco, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Aspectos éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil (licença nº 116/2015) e foi realizado de acordo com os princípios éticos de experimentação animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Amostragem e coleta das amostras

As amostras foram coletadas de galinhas caipiras comercializadas para consumo humano em feiras livres da Região Metropolitana de Recife, Pernambuco, nordeste do Brasil. Para a realização do estudo foi utilizada amostragem não probabilística por conveniência.¹¹

Foram coletadas amostras de sangue de 56 galinhas, por meio de punção da veia braquial; o sangue obtido foi acondicionado em tubo sem anticoagulante e mantidos sob refrigeração (+4°C). As amostras de sangue foram centrifugadas a 1500 rpm por 10 minutos e o soro obtido foi acondicionado em microtubos identificados e estocados a -20° C até o momento da realização do teste sorológico.

Diagnóstico sorológico e bioensaio em camundongo

Para a pesquisa de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi utilizada a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI).¹² Os soros foram diluídos em PBS (pH 7,2) em diluições sequenciais na base dois e, em seguida, distribuídos em lâminas previamente sensibilizadas com taquizoítos da cepa RH. Foram utilizados controles positivos e negativos em cada uma das lâminas. As lâminas foram incubadas em câmara úmida a 37°C por 30 minutos, seguida de duas lavagens de 10 minutos em PBS (pH 7,2). Posteriormente foi adicionado o conjugado marcado com fluoresceína (Sigma-Aldrich) na diluição de 1:100. As lâminas foram novamente incubadas e lavadas nas mesmas condições descritas anteriormente. A leitura foi realizada em microscópio de epiluminescência (Zeiss, AxioVert.A1), utilizando objetiva de 40x. Foram consideradas positivas as amostras com título $\geq 1:16$ para galinhas¹³ e camundongos.¹⁴

Das aves soropositivas foram coletados fragmentos de tecidos (cérebro, coração, fígado, pulmão e músculo peitoral). Os tecidos coletados foram submetidos à técnica de digestão em solução ácida de pepsina¹⁵ dentro de um período máximo de 24 horas. Brevemente: as amostras foram maceradas e pesadas (50 g de tecido), sendo realizado um *pool* de tecidos de cada galinha. Em seguida, os tecidos foram homogeneizados em 250 mL de solução de cloreto de sódio 0,85 % e 250 mL de solução ácida de pepsina (pH 1,2). Foi realizada incubação sob agitação constante e temperatura de 37°C durante 60 minutos. O material digerido foi então filtrado em gaze e centrifugado a 1200xg por 10 minutos, o sobrenadante obtido foi descartado e o sedimento ressuspendido com solução de bicarbonato de sódio a 1,2%, sendo realizada uma nova centrifugação a 1200xg por 10 minutos. O sobrenadante foi novamente descartado e o sedimento ressuspendido em 3 mL de solução salina com antibiótico contendo 1.000 UI penicilina e 100µg de estreptomicina por mL. Foram utilizados camundongos *Swiss Webster* com 30 dias de idade, sendo inoculados dois camundongos por amostra (1mL por via subcutânea) e observados clinicamente por 45 dias. Os camundongos que não morreram ao fim desse período, foram eutanasiados para a coleta de sangue e tecidos (cérebro, coração, pulmão e fígado). O sangue foi centrifugado para obtenção de soro que foi submetido à RIFI e os tecidos foram submetidos à PCR. Também foi realizado *imprint* de encéfalo para pesquisa de cistos teciduais.

Extração do DNA e PCR

As amostras de tecidos das galinhas e dos camundongos provenientes do bioensaio foram submetidas à extração de DNA utilizando o kit comercial "Wizard SV Genomic DNA Purification System" (PROMEGA®, WI, USA), seguindo o protocolo do fabricante.

Foi realizada a técnica de PCR nested em um tubo para detecção do DNA de *T. gondii*. Foram utilizados dois pares de *primer*, um externo e outro interno, sendo os *primers* externos TgNN1 (5'-CCTTTGAATCCCAAGCAAACATGAG-3') e TgNN2 (5'-GCGAGCCAAGACATCCATTGCTGA-3') e os internos TgNP1 (5'-GTGATAGTATCGAAAGGTAT-3') e TgNP2 (5'-ACTCTCTCTCAAATGTTCCCT-3'), que amplificam a região ITS1.¹⁶

Os produtos amplificados de 227 pares de bases correspondentes ao DNA de *T. gondii* foram detectados por eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com BlueGreen (LGC®, Biotecnologia, São Paulo, Brasil), visualizados através de luz ultravioleta e fotodocumentados. Foi utilizada uma suspensão de taquizoítos da cepa ME49 na concentração de 10⁴ taquizoítos/mL como controle positivo da reação e como controle negativo foi utilizada água ultrapura.

RESULTADOS

Das amostras de soro analisadas, 46,43% (26/56) das galinhas foram positivas na RIFI com os títulos de anticorpos variando de 16 a 256.

Não houve isolamento de *T. gondii* no bioensaio. Apesar disso, o bioensaio foi considerado positivo, visto que anticorpos IgG anti-*T. gondii* foram encontrados em 25% (13/52) dos camundongos inoculados com títulos variando de 16 a 128. Além disso foi observada manifestação clínica sugestiva de toxoplasmose em cinco camundongos inoculados, com relato de um óbito (Tabela 1). A partir de um pool de tecidos (pulmão, coração e fígado) e do encéfalo do camundongo que foi a óbito foi feita re-inoculação em outros dois camundongos. O camundongo re-inoculado com encéfalo apresentou sorologia positiva na RIFI (1:32) aos 45 dias pós-inoculação.

Não foi detectado o DNA do parasito nos tecidos das galinhas (encéfalo, coração, fígado, pulmão e músculo peitoral) e dos camundongos inoculados (encéfalo, coração, fígado e pulmão).

Tabela 1: Sinais clínicos observados em camundongos submetidos a bioensaio com amostras de tecido de galinhas caipiras soropositivas para *T. gondii*, provenientes de feiras livres do estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Amostra	Camundongos com sintomas	Sinais clínicos	Mortes	Titulação de anticorpos IgG
AF – 06	01	Ascite, pelos arrepiados (33 dias p.i.)	-	1: 64
AF – 07	01	Convulsão (30 dias p.i.)	30 dias p.i.	1:64
AF – 11	01	Taquipnéia, blefarite, letargia, pelos arrepiados (15 dias p.i.)	-	1:32
AF – 26	02	Conjuntivite, fraqueza, pelos arrepiados (30 dias p.i.)	-	Neg.

p.i. = pós- infecção

DISCUSSÃO

A alta frequência (46,43%) de galinhas positivas encontrada neste estudo indica a contaminação do ambiente de criação destas galinhas por oocistos de *T. gondii* e confirma essa espécie como um bom indicador da presença deste protozoário. ⁶ Os baixos títulos de anticorpos encontrados na RIFI sugerem que as aves estavam em fase crônica da infecção ou que não houve tempo hábil para formação de títulos mais elevados. ¹⁷

Em outros países, estudos com galinhas revelaram soroprevalência de 17% (20/118 – MAT) nos EUA, ¹⁸ 34,78% (16/46 – MAT) na Venezuela ¹⁹ e 44,4% (32/72 – MAT) na Colômbia. ²⁰

No Brasil foram encontrados anticorpos IgG anti-*T. gondii* em 10,3% (16/115 - RIFI) das galinhas no Paraná ¹³, em 25% (25/100 – RIFI) na Bahia ²¹ e 38,8% (198/510 - MAT) no Espírito Santo, ²². A prevalência de *T. gondii* em galinhas caipiras de 22 municípios em 7 estados do nordeste (Pernambuco, Rio Grande do Norte, Maranhão, Bahia, Ceará, Sergipe e Alagoas) foi de 53,3% (81/152 – MAT). ²³

No estado de Pernambuco, foi encontrada frequência de 25,8% (83/322 – RIFI) de galinhas soropositivas em propriedades do semi-árido do estado ²⁴ e no Arquipélago de Fernando de Noronha, pertencente ao mesmo estado, foi descrita prevalência de 84% (42/50 - MAT). ²⁵

A criação tecnificada de galinhas minimiza o contato com possíveis fontes de infecção por *T. gondii*, ⁸ como demonstrado por diferentes estudos que reportaram ausência de galinhas naturalmente infectadas ou soropositivas nesse tipo de criação.^{22,26} Por outro lado, nas criações não tecnificadas, os animais estão sujeitos ao contato com gatos, solo e água contaminados com oocistos favorecendo a infecção por *T. gondii*. ⁸

A PCR é uma técnica de alta sensibilidade e especificidade, muito utilizada para detectar DNA de *T. gondii* em amostras de carne. A PCR nested é uma técnica capaz de detectar a presença de apenas um taquizoíta de *T. gondii*. ¹⁶ No presente estudo, o DNA do parasito não foi detectado nos tecidos das galinhas submetidos à PCR, mas o resultado negativo não significa que todo o tecido esteja livre do parasito. ²⁷ Estima-se a presença de apenas um cisto tecidual a cada 100 g de tecido. ³ A sensibilidade da PCR diminui influenciada por diferentes fatores: distribuição não homogênea dos cistos teciduais, baixa quantidade de cistos presente em animais naturalmente infectados e pequeno volume de amostra utilizado nesta técnica. ^{28,29} Tais fatores diminuem a probabilidade de encontrar cistos teciduais, podendo levar a ocorrência de resultados falsos negativos. ²⁷

Neste estudo não foram obtidos isolados em camundongos submetidos ao bioensaio porém a sorologia positiva comprova a infecção por *T. gondii*, além da manifestação de sinais clínicos em alguns animais, incluindo um óbito. Muitos fatores podem interferir no sucesso do isolamento de *T. gondii* em camundongos. Dentre esses estão o número de camundongos inoculados, a dose inoculada, a concentração do parasita no tecido inoculado e a cepa. ²⁰ Apesar de ser possível o isolamento do

parasito a partir de galinhas com títulos baixos, as chances de isolamento aumentam com títulos mais elevados. ^{19, 21, 25}

A virulência de isolados de *T. gondii* obtidas a partir de tecidos de galinhas, varia de acordo com a cepa presente no tecido estudado. Alguns estudos relatam infecções assintomáticas por *T. gondii* em camundongos submetidos ao bioensaio, ^{21,25} enquanto outros estudos relataram 81,1% e 100% de óbitos entre os camundongos inoculados. ^{19,20}

Todos os camundongos utilizados no bioensaio eram imunocompetentes e, ainda assim, apresentaram sinais clínicos compatíveis com a toxoplasmose, comprovando a viabilidade do parasito nas amostras de tecidos das galinhas analisadas. A carne e vísceras das galinhas desse estudo seriam destinadas ao consumo humano, sendo possível a infecção caso a carne dessas aves fosse consumida crua ou mal cozida. Isso representa um risco para a saúde pública, principalmente se essa carne for ingerida por pacientes imunocomprometidos, crianças, idosos e gestantes, que podem desenvolver toxoplasmose. ³⁰

CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou a viabilidade de *Toxoplasma gondii* em tecidos de galinhas caipiras comercializadas para o consumo humano no estado de Pernambuco, Brasil. Isso comprova que a carne dessas galinhas é uma potencial fonte de infecção para humanos nesta região e reforça a importância dessas aves na cadeia epidemiológica da toxoplasmose.

REFERÊNCIAS

1. Dubey JP. The History and Life Cycle of *Toxoplasma gondii*. In: Weiss LM, Kim K, eds. The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods. Vol 2nd ed. Academic Press - Elsevier; 2013:1-20.
2. Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: Transmission, diagnosis, and prevention. Clin Microbiol Infect. 2002;8(10):634-40.
3. Dubey, J. P. Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd ed. Boca Raton - CRC press; 2010: 313 p.
4. Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin Infect Dis 1992;15: 211–22.
5. Renold C, Sugar A, Chave JP. et al. Toxoplasma encephalitis in patients with the acquired immuno- deficiency syndrome. Medicine 1992; 71: 224–39.
6. Silva FWSA, Alves ND, Amóra SSA, et al. Toxoplasmose: uma revisão. Ciência Anim. 2006;16(2):71-7.
7. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. Zoonoses Public Health. 2010;57(1):60-73.
8. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção agropecuária 2014. http://ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/producao_agropecuaria/default.shtm#animal. [Acesso em: 23 jan. 2016.]
9. Millar, PR, Sobreiro, LG, Bonna, ICF, Amendoeira, MRR, et al. A importância dos animais de produção na infecção por *Toxoplasma gondii* no Brasil. Semin. Cienc. Agrar., v. 29, n. 3, p. 693–706, 2008.
10. Ali, VPM. As feiras livres associadas aos Mercados Públicos de Recife e os sistemas de organização. 2013. Dissertação (Mestrado em Administração e Desenvolvimento Rural) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2013.
11. IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2010. <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/temas.php?lang=&codmun=261160&>

idtema=1&search=pernambuco|recife|censo-demografico-2010:-sinopse.
[Acesso em 25 fev. 2016.]

12. Thrusfield M. Veterinary Epidemiology. Vol 3rd ed. Blackwell; 2007.
13. Camargo ME. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 1964;6:117-8.
14. 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. Ciência Rural. 2000;30(1):123-7.
15. Tsutsui VS, Freire RL, Garcia JL, 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(1):30-4.
16. Dubey JP. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. Vet Parasitol. 1998;74(1):75-7.
17. Hurtado A, Aduriz G, Moreno B, et al. Single tube nested PCR for the detection of *Toxoplasma gondii* in fetal tissues from naturally aborted ewes. Vet Parasitol. 2001;102(1-2):17-27.
18. Roberts CW, Gazzinelli RT, Khan IA, et al. Adaptive Immunity and Genetics of the Host Immune Response. In: Weiss LM, Kim K, eds. The Model Apicomplexan - Perspectives and Methods. Vol 2nd ed. Academic Press - Elsevier; 2013:609-97.
19. Dubey JP, Graham DH, Dahl E, et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. J Parasitol. 2003;89(5):1060-2.
20. Dubey JP, Lenhart A, Castillo CE, et al. *Toxoplasma gondii* infections in chickens from Venezuela: isolation, tissue distribution, and molecular characterization. J Parasitol. 2005;91(6):1332-4.
21. Dubey JP, Gomez-Marin JE, Bedoya A, et al. Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from

- Colombia, South America. *Vet Parasitol.* 2005;134(1-2):67-72.
22. Gonçalves IN, Uzêda RS, Lacerda G a., et al. Molecular frequency and isolation of cyst-forming coccidia from free ranging chickens in Bahia State, Brazil. *Vet Parasitol.* 2012;190(1-2):74-9.
 23. Beltrame MAV, Pena HFJ, Ton NC, 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.
 24. Oliveira LN, Costa Junior LM, de Melo CF, et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens from the northeast region of Brazil. *J Parasitol.* 2009;95(1):235-7.
 25. Sá, SG, Lima, DCV, Silva, LTR, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among turkeys on family farms in the state of northeastern Brazil. *Acta Parasitol.* 2016; 61(2), in press.
 26. Dubey JP, Rajendran C, Costa DGC, et al. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpected findings. *J Parasitol.* 2010;96(4):709-12.
 27. Dubey JP, Hill DE, Jones JL, 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;91(5):1082-93.
 28. Esteban-Redondo I, Innes EA. Detection of *Toxoplasma gondii* tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. *Int J Parasitol.* 1998;28(9):1459-66.
 29. Opsteegh M, Langelaar M, Sprong H, et al. Direct detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in meat samples using magnetic capture and PCR. *Int J Food Microbiol.* 2010;139(3):193-201.
 30. Dubey JP, Graham DH, Blackston CR, et al. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: Unexpected findings. *Int J Parasitol.* 2002;32:99-105.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que as galinhas caipiras comercializadas para o consumo humano no estado de Pernambuco estão expostas à infecção por *T. gondii* ao comprovar a viabilidade do parasita no tecido dessas aves. Isso representa um risco para a saúde pública, com a carne dessas aves atuando como uma potencial fonte de infecção para a população dessa região, e confirma a importância de galinhas caipiras na cadeia epidemiológica da toxoplasmose.

Por ser uma zoonose de grande importância para a saúde pública, sugere-se a realização de novos estudos envolvendo um maior número de amostras e outras regiões do estado de Pernambuco, para acrescentar novas informações sobre a epidemiologia da toxoplasmose.