



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**Soroepidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em humanos
no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil**

MARIA DA CONCEIÇÃO CARVALHO

RECIFE

2020



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL TROPICAL

**Soroepidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em humanos
no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil**

MARIA DA CONCEIÇÃO CARVALHO

Tese submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciência Animal Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota

RECIFE

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- C331s Carvalho, Maria da Conceição
Soroepidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em humanos no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil / Maria da Conceição Carvalho. - 2020.
124 f. : il.
- Orientador: Rinaldo Aparecido Mota.
Inclui referências, apêndice(s) e anexo(s).
- Tese (Doutorado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, Recife, 2020.
1. *Toxoplasma gondii*. 2. *Leptospira* spp. 3. soroprevalência. 4. epidemiologia. 5. Ilha. I. Mota, Rinaldo Aparecido, orient. II. Título

CDD 636.089

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal Tropical, outorgado pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, à disposição na Biblioteca Central desta universidade. A transcrição ou utilização de trechos deste trabalho é permitida, desde que respeitadas as normas de ética científica.

Maria da Conceição Carvalho

Aprovada em 20 de fevereiro de 2020

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rinaldo Aparecido Mota (Orientador)
Departamento de Medicina Veterinária (DMV/UFRPE)

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior
Departamento de Medicina Veterinária (DMV/UFRPE)

Dr^a. Renata Pimentel Bandeira de Melo
Departamento de Medicina Veterinária (DMV/UFRPE)

Prof. Dr. Müller Ribeiro Andrade
Departamento de Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS/UFAL)

Prof^a. Dr^a. Débora Rochelly Alves Ferreira
Departamento de Medicina Veterinária (DMV/ UNIFIP)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção, força e coragem nas horas de dificuldade, ajudando-me a alcançar meus objetivos, sempre me guiando e colocando pessoas maravilhosas no meu caminho, e principalmente por me dar o dom da vida e por colocar todos os dias um sorriso no rosto e garantir minha firmeza nas decisões. Assim como aos meus guias espirituais pelo auxílio e conselhos necessários para minha evolução espiritual nessa caminhada terrena.

Aos meus pais Arnaldo e Elza, pelo amor incondicional, pela educação e exemplo de honestidade e integridade, estando sempre presente em todos os momentos da minha vida e não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa, agradeço por toda a torcida e orações para que este trabalho fosse concluído com êxito.

Aos meus irmãos, Alexandre, Arnaldo Júnior e Adelson por todos os momentos compartilhados; Aos meus sobrinhos, Anderson, João, Marília, Théo, Victor e Wagner, por ter cedido paciência e compreensão nos meus momentos de estudo e por ter entendido a importância da minha ausência nos momentos familiares, principalmente Anderson e Théo, pela alegria fornecida nos momentos propícios de lazer, gerando energias positivas para concretizar esta batalha.

Ao Prof. Rinaldo Mota, por me acolher, pela amizade, paciência, pelos ensinamentos, orientação que muito vem contribuindo, ajudando-me a formar meu perfil pessoal e profissional, por seu apoio e inspiração no amadurecimento dos meus conhecimentos e conceitos que me levaram a execução e conclusão desta tese.

Ao Prof. Valdemiro pela ajuda e incentivo que tornou possível a minha caminhada acadêmica na UFRPE, obrigada por tudo!

À Família do Laboratório de Doenças Infectocontagiosas dos Animais (LDIC/UFRPE), obrigada pelas trocas diárias, pelo incentivo, por fazer a rotina laboral prazerosa. Em especial ao Prof. Muller, que me acompanhou durante todo o experimento, dedicando-se ao trabalho, pela amizade e pelos muitos bons momentos que passamos de conversas, aflições e acima de tudo de aprendizado; Renata e Polly, pela disponibilidade, pelo apoio técnico, pela amizade e pelo auxílio em vários momentos na condução do experimento. À Givanildo por todo amparato no final da tese, pelos conselhos em prol da minha evolução pessoal.

À Breno, Bruno, Jessica, Marcus, Raylson, Renato, Sandrinha e Sérgio pelos momentos de descontração e incentivo na execução do projeto.

Aos Professores Erika Samico e Wilton Junior pela solicitude nos momentos de necessidades, ajudando no desenvolvimento dessa pesquisa.

À Dandara e Fernando Magalhães pela ajuda no desenvolvimento dessa pesquisa em Fernando de Noronha.

Aos meus amigos de infância, que tiveram um grande subsídio na minha formação pelas conversas em grupos estabelecendo erros e virtudes e garantido minha autenticidade, por me fazerem esquecer as preocupações e angústias do cotidiano.

As minhas amigas Jecilene, Márcia, Marcela, Michelle Galdino, Nathália, Nadyédja, Silvania e Tatiane que nos momentos propícios de lazer sempre levantam minha autoestima, pela leveza e alegria, energia positiva e, principalmente, pela coragem demonstrada diante os desafios da vida, pelo incentivo para que eu chegasse até esta etapa.

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, especialmente ao Programa de Pós Graduação em Ciência Animal Tropical, pela oportunidade.

A CAPES, por fomentar o desenvolvimento desse doutorado.

Por fim, a todos os que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

FONTES FINANCIADORAS

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES): concessão de bolsa de Doutorado.

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE): financiamento do projeto de pesquisa (APQ-0531-5.05/14).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	12
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 Histórico da Toxoplasmose	18
2.2 Aspectos taxonômicos e evolutivos de <i>Toxoplasma gondii</i>	20
2.2.1 Estágios infectantes de <i>T. gondii</i>	22
2.3 Ciclo biológico e mecanismo de transmissão de <i>Toxoplasma gondii</i>	25
2.4 Epidemiologia.....	26
2.5 Sinais Clínicos e Diagnóstico	34
2.6 Controle e Prevenção.....	37
2.7 Histórico sobre leptospirose	38
2.8 <i>Leptospira</i> spp.	40
2.8.1 Taxonomia.....	41
2.8.2 Cadeia de transmissão de <i>Leptospira</i> spp.....	43
2.8.3 Epidemiologia.....	44
2.8.4 Sinais Clínicos e Diagnóstico	51
2.8.5 Controle e Prevenção.....	53
3. REFERÊNCIAS	55
4. OBJETIVOS	82
5. CAPÍTULO 1	83
<i>Toxoplasma gondii</i> infection in the human population on the island of Fernando de Noronha, Brazil: a cross-sectional study	84
6. CAPÍTULO 2	99
Serological evidence of <i>Leptospira</i> spp. in humans from Fernando de Noronha Island, Brazil	100
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	111
8. APÊNDICE	112

8.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) fornecido aos voluntários residentes da Ilha de Fernando de Noronha, Brasil.	112
8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) fornecido aos responsáveis daqueles voluntários com idade inferior a 18 anos, residentes da Ilha de Fernando de Noronha.	116
8.3 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) fornecido aos voluntários residentes da Ilha de Fernando de Noronha, Brasil.	120
9. ANEXOS	123
9.1 Pareceres de aprovação do comitê de ética para pesquisa da soroprevalência da toxoplasmose e leptospirose na população humana de Fernando de Noronha.....	123
9.2 Questionário de investigação epidemiológica sobre toxoplasmose aplicado nos voluntários residentes da Ilha de Fernando de Noronha.....	124

LISTA DE FIGURAS

Revisão Bibliográfica

Figura 1. Estágios infectantes de <i>Toxoplasma gondii</i>	24
Figura 2. Ciclo biológico e vias de transmissão de <i>T.gondii</i>	26
Figura 3. Ultraestrutura de <i>L. interrogans</i>	41
Figura 4. Classificação genotípica de <i>Leptospira</i> spp.....	42
Figura 5. Ciclo de transmissão de <i>Leptospira</i> spp.....	44

Capítulo 1

Figura 1. Map of the archipelago of Fernando de Noronha, Pernambuco, Brazil.....	86
---	----

LISTA DE TABELAS

Revisão Bibliográfica

Tabela 1- Frequência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (IgG) em humanos no Brasil, nos últimos quatro anos (2016-2020)	30
Tabela 2- Frequência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (IgG) em humanos em ilhas oceânicas e fluviais.....	33
Tabela 3- Frequência (%) de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em humanos no Brasil.....	48
Tabela 4- Frequência (%) de anticorpos anti- <i>Leptospira</i> em humanos nos ambientes insulares.....	50

Capítulo 1

Table 1- Univariate and multivariate analysis of infection by <i>T. gondii</i> in individuals residing on the island of Fernando de Noronha, Pernambuco, Brazil.....	89
---	----

Capítulo 2

Table 1- Frequencies of serovars in serum samples from humans residing in Fernando de Noronha Island, Pernambuco, Brazil.....	104
--	-----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

% - Porcentagem

< - Menor

≥ - Maior igual

°C - Grau Celsius

µm- Micrômetros

BSA – Albumina de Soro Bovino

DT - Dye Test

ELISA- *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* - Ensaio Imunoenzimático

EMJH- Meio de cultura *Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris*

EUA- Estados Unidos da América

HIV - *Human Immunodeficiency Virus* -Vírus da Imunodeficiência Humana

CI - Confidence interval- Intervalo de Confiança

IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFAT- *indirect fluorescent antibody test*- Teste Sorológico de Imunofluorescência Indireta

IgG- Imunoglobulina da classe G

IgM- Imunoglobulina da classe M

IHA- *Indirect Haemagglutination Assays*- Teste de Hemaglutinação Indireta.

LAMP - *Loop-mediated isothermal amplification*- Amplificação Isotérmica

LAT- *Latex Agglutination Test* - Teste de Aglutinação em Látex

LPS- Lipopolissacarídeo

MAT- *Modified Agglutination Test*- Teste de Aglutinação Modificada

MAT-*Microscopic Agglutination Test*- Teste de Aglutinação Microscópica

MSLT- *Multi Locus Sequence Typing*

OIE- *World Organisation for Animal Health* - Organização Mundial de Saúde Animal

OMS- Organização Mundial da Saúde

OR- *Odds Ratio* – Razão de chances ou possibilidades

PCR- *Polymerase Chain Reaction* - Reação em Cadeia da Polimeras

RFLP- *Restriction Fragment Length Polymorphism* – Polimorfismo de Comprimento no fragmento de restrição

PFGE- *Pulsed Field Gel Electrophoresis* - Eletroforese em Gel de Campo Pulsátil

pH- Potencial Hidrogeniônico

PIB- Produto Interno Bruto

RADP- *Random Amplified Polymorphic DNA*-Amplificação aleatória do DNA polimórfico

RIFI- Reação de Imunofluorescência Indireta

rRNA- RNA ribossômico

SAM- Soroaglutinação Microscópica

TALE- Termo de Assentimento Livre e Esclarecido

TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

WHO- *World Health Organization Human*- Organização Mundial de Saúde

RESUMO

Objetivou-se determinar a prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) e *Leptospira* spp. em humanos e identificar os fatores de risco associados à infecção por *T. gondii* no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil. Para detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* e anti-*Leptospira* empregaram-se as Reações de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Soroaglutinação Microscópica (SAM), respectivamente. Os fatores de risco foram identificados por meio da aplicação de um questionário epidemiológico e as variáveis foram analisadas por meio da análise univariada e regressão logística. A soroprevalência de anticorpos IgG anti-*T. gondii* foi de 50,4% (172/341) e foram identificados dois fatores de risco associados à infecção: consumo de água de poço/chuva (OR: 2,43; p= 0,020) e consumo de animais silvestres (OR: 1,80; p = 0,026). A prevalência de anticorpos anti-*Leptospira* foi de 1,17% (4/341) e os sorovares identificados foram: Icterohaemorrhagiae, Javanica, Mini e Louisiana. Esse é o primeiro estudo que aborda estas infecções em humanos no Arquipélago de Fernando de Noronha. Os resultados alertam para a necessidade de intervenção por parte das autoridades de saúde local, com medidas estratégicas e integradas na prevenção e controle dessas enfermidades. Além disso, é importante conscientizar os habitantes da ilha de Fernando de Noronha sobre as vias de transmissão de *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp., soroprevalência, epidemiologia, Ilha.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence of *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) and *Leptospira* spp. in humans and identify risk factors associated with *T. gondii* infection in the Fernando de Noronha archipelago, Pernambuco, Brazil. For detection of anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Leptospira* antibodies, indirect fluorescent antibody test (IFAT) and Microscopic agglutination test (MAT), were used respectively. The risk factors were identified through the application of an epidemiological questionnaire and variables were analyzed by univariate analysis and logistic regression. The seroprevalence of immunoglobulin G anti-*T. gondii* antibodies was 50.4%. Factors associated with infection: consumption of well water or rainwater (odds ratio [OR]: 2.43, p=0.020) and consumption of game meat (OR: 1.80, p=0.026). The prevalence of anti-*Leptospira* antibodies was 1.17% (4/341), and the serovars identified were: Icterohaemorrhagiae, Javanica, Mini and Louisiana. This is the first study that addresses these infections in humans in the Fernando de Noronha Archipelago. The results of this study indicate the urgent need for intervention by local, health authorities with integrated and strategic measures in the prevention and control of these diseases. In addition, it is important aware the residents of the Island of Fernando de Noronha about of the transmission routes of *Toxoplasma gondii* and *Leptospira* spp.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp., seroprevalence, epidemiology, Island.

1. INTRODUÇÃO

As zoonoses toxoplasmose e leptospirose causam graves problemas de saúde pública devido à ampla disseminação no mundo, principalmente em regiões tropicais. Estima-se que mais de 60% de algumas populações foram infectadas por *Toxoplasma gondii*, enquanto a Leptospirose causada pela bactéria do gênero *Leptospira*, apresenta uma ocorrência em torno de 1 milhão de casos e, possivelmente, 59.000 óbitos anualmente (COSTA et al., 2015; CDC, 2018).

Ambas as enfermidades têm via de transmissão comum para população humana por meio de um amplo espectro de animais sinantrópicos, domésticos e selvagens que servem como fontes para a persistência da infecção (BRASIL, 2019a; DUBEY, 2010). Essas doenças podem variar de infecção assintomática a quadros clínicos graves como, anomalias neurológicas, pneumonia, miocardite, necrose pulmonar, cegueira (toxoplasmose), icterícia, disfunção renal e hepática, mialgia e diátese hemorrágica (leptospirose), e esses casos podem ser fatais em pacientes imunocomprometidos (ADLER; LA PEÑA MOCTEZUMA, 2010; MONTOYA; LIESENFELD, 2004).

A frequência dessas infecções na população humana é altamente variável, sendo influenciada por hábitos culturais, fatores climáticos, exposição ocupacional, condições socioeconômicas e ambientais (BERTELLONI et al., 2019; BHARTI et al., 2003; DUBEY et al., 2012). Regiões com alta prevalência de infecção por *T.gondii* foram relatadas na América do Sul, partes da Europa Oriental e Central, Oriente Médio, partes do Sudeste da Ásia e África (PAPPAS; ROUSSOS; FALAGAS, 2009). Por outro lado, o aumento nas taxas de anticorpos anti-*Leptospira* foram reportadas após fortes chuvas e inundações nas zonas tropicais, subtropicais e temperadas em países como a China (REN et al., 2005), França (BARANTON; POSTIC, 2006), Filipinas (PROMED, 2009) Brasil (KUPEK; SOUSA SANTOS FAVERSANI; SOUZA PHILIPPI, 2000), Trinidad e Tobago (MOHAN et al., 2009), Polinésia Francesa (COUDERT et al., 2007).

São raros os estudos no Brasil que se dedicam a compreender a epidemiologia da toxoplasmose e leptospirose em seres humanos em ambientes insulares. O isolamento geográfico dos ambientes insulares, particularmente das ilhas oceânicas, propicia uma melhor compreensão em estudos epidemiológicos, pois possibilita abranger diferentes espécies o que permite elucidar a cadeia de transmissão de determinadas doenças como a toxoplasmose (MAGALHÃES, 2016). Levantamentos epidemiológicos sobre a

toxoplasmose e leptospirose em humanos em Ilhas demonstraram como principais fatores de riscos a água, o solo e alimentos contaminados, assim como os animais que albergam as formas infectantes de *T. gondii* (esporozoítos, taquizoítos e bradizoítos), e espécies de *Leptospira* em uma contínua circulação dos patógenos entre os reservatórios e o meio ambiente (BRASIL, 2019a; DUBEY et al., 2016).

Até o momento, nenhum estudo relacionado a epidemiologia da toxoplasmose e leptospirose com seres humanos no Arquipélago de Fernando de Noronha foi encontrado na literatura. Este Arquipélago é constituído de um agrupamento de 21 ilhas e ilhotas de origem vulcânica, localizado a 350 Km da costa do nordeste brasileiro, no Atlântico Sul. A ilha principal, de mesmo nome, é a única ilha habitada com população estimada de 3.061 habitantes (IBGE, 2019), tem clima tropical com temperatura oscilando entre 26 a 27°C. Nesta Ilha oceânica foi reportada a presença de anticorpos anti- *T. gondii* em animais de espécie domésticas e selvagens (LIMA et al., 2019; MAGALHÃES et al., 2016a; MAGALHÃES et al., 2016b; MAGALHÃES et al., 2017) e anticorpos anti-*Leptospira* em cães, bovinos e roedores (ANDRADE FILHO, 2012; MORAIS et al., 2018), indicando que a ilha alberga esses patógenos que podem representar algum risco de infecção para a população local.

Além disso, há a confirmação de sete casos com dois óbitos de leptospirose em humanos na ilha no período de 2001 a 2017 (BRASIL, 2017). Dado o impacto destas zoonoses, é importante realizar estudos soropidemiológicos para determinar a prevalência da infecção por *T. gondii* e *Leptospira* spp. e os fatores de riscos visando auxiliar na implementação de medidas de prevenção e controle.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico da Toxoplasmose

Os estudos sobre *T. gondii* datam de um século atrás com a descoberta desse protozoário por Charles Nicolle e Louis Manceaux (1908) em experimentos com roedor (*Ctenodactylus gundi*) na Tunísia. Ao mesmo tempo, Splendore (1908), no Brasil, detectaram o mesmo parasito em coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) no estado de São Paulo (NICOLLE; MANCEAUX, 2009; SPLENDORE, 2009).

No momento desta descoberta não havia sido descrito o gênero *Toxoplasma*. Assim, Nicolle e Manceaux classificaram o organismo no gênero *Leishmania*, mas logo perceberam diferenças morfológicas. Já Splendore, após análises microscópicas de diferentes tecidos e órgãos verificou a presença de um corpúsculo com comprimento de 5-8 μm e largura de 2,5 - μm e o nomeou *Speciali corpuscoli*. Diante desse contexto, Nicolle e Manceaux descreveram, em 1909, um novo protozoário denominado de *Toxoplasma gondii* para homenagear o hospedeiro *Ctenodactylus gundi*. A denominação do gênero teve origem grega: *toxon* (arco) e *plasma* (corpo), devido ao formato arqueado do organismo (NICOLLE; MANCEAUX, 2009).

Anos mais tarde, *T. gondii* foi identificado em diferentes espécies de animais. Albert Sabin e Peter Olitsky (1937) descobriram que era possível a transmissão do protozoário de animal para animal por meio de inoculação subcutânea, intraperitoneal e intracraniana de diferentes tecidos de animais infectados e que os ratos ao se alimentarem de animais infectados adquiriam a infecção. Dessa forma, iniciaram-se especulações sobre a disseminação natural.

Diante da disseminação da infecção por *T. gondii*, o teste do corante (*Dye test*) foi desenvolvido para identificar a soroprevalência da toxoplasmose em seres humanos e animais infectados através da identificação dos anticorpos anti-*Toxoplasma* (SABIN; FELDMAN, 1948). Essa técnica altera a característica de coloração dos taquizoítos e, assim, por meio da titulação, permite quantificar o anticorpo específico.

Com esse teste foi descoberto que grande parte da população humana e animal era positiva para anticorpos e esse dado mudou a percepção de uma infecção rara com casos limitados, para a infecção parasitária mais comum com ampla distribuição geográfica (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000)

Estudos demonstraram que *Toxoplasma* é um patógeno zoonótico associado à transmissão congênita e o primeiro relato de caso humano foi descrito por Jankulovski, em 1923, com a presença do parasito na forma de cistos na retina ocular em uma criança de 11 meses com quadro de hidrocefalia (GARRIDO, 1978). O patologista Margarinos Torres, em 1927, descreveu a toxoplasmose congênita por meio da presença do protozoário em cortes histológicos de músculo e tecido nervoso em um recém-nascido. Wolf e Cowen (1937) diagnosticaram *T. gondii* no tecido cerebral em uma criança que havia morrido com quadro de encefalomielite.

A disseminação da infecção por *T. gondii* causou inquietação na comunidade científica nos anos 50, pois pouco se sabia quanto ao mecanismo de infecção em humanos e animais. Weinman e Chandler (1954), por já conhecer as duas fases parasitárias do protozoário (taquizoítos e bradizoítos), apontaram que o carnivorismo poderia estar associado à infecção. Porém, essa possibilidade já havia sido estabelecida em 1937 quando foi observado que a infecção poderia ocorrer por meio da ingestão de tecidos infectado com o parasito (SABIN; OLITSKY, 1937).

Em 1960, foi demonstrado que os bradizoítos contidos nos cistos teciduais poderiam sobreviver à exposição ao ácido e tripsina, confirmando o possível papel da ingestão de cisto tecidual na transmissão do parasito (JACOBS; REMINGTON; MELTON, 1960).

Desmonts et al. (1965) associaram a ingestão de carnes mal cozidas ou cruas como via de transmissão do parasito e esta hipótese foi confirmada pelo aumento de anticorpos para *T. gondii* em pacientes que consumiam carne crua como tratamento da tuberculose em um hospital em Paris. Entretanto, os herbívoros e vegetarianos também foram diagnosticados com a infecção por *T. gondii* e esse fato evidenciou um possível mecanismo alternativo, posteriormente desvendado por Hutchison (1965), que identificou em fezes de gato uma nova forma resistente do parasito, o oocisto.

Ao descobrir que o estágio de oocisto é proveniente do desenvolvimento sexual do parasito no intestino dos felinos, o gato foi incluído no ciclo de vida de *T. gondii*, tornando-se seu hospedeiro definitivo, e os animais de sangue quente como hospedeiros intermediários. Estas pesquisas foram realizadas simultaneamente por diversos grupos de pesquisadores nos Estados Unidos, Reino Unido, Holanda e Alemanha (HUTCHISON et al., 1969; FRENKEL, 1970; SHEFFIELD; MELTON, 1970; WITTE; PIEKARSKI, 1970).

O ciclo de vida completo de *T. gondii* foi caracterizado definindo o parasito como um coccídeo. As vias de transmissão de *T. gondii* foram estabelecidas por meio da infecção oral e congênita por diferentes estágios do parasito: ingestão de oocistos em alimentos, no solo ou na água; cistos teciduais por ingestão de carne crua e malpassada; e passagem transplacentária de taquizoítos (FRENKEL; DUBEY; MILLER, 1970).

Nos anos 70 e 80 houve um aumento significativo no número de pesquisas sobre *T. gondii* em áreas especializadas como imunologia, biologia molecular e genética (PFEFFERKORN; PFEFFERKORN, 1980). A microscopia eletrônica foi aplicada para identificar a estrutura polarizada complexa com um número de organelas únicas e caracterizar uma forma única de proliferação assexuada denominada endodiogenia (uma célula mãe origina duas células filhas) (SHEFFIELD; MELTON, 1968; VIVIER, 1970). Frenkel (1973) denominou as formas evolutivas de *T. gondii* de acordo com a velocidade de sua multiplicação.

Nas décadas de 1980 e 1990 foram desenvolvidos vários métodos para reconhecer diferenças genéticas entre isolados de *T. gondii* de humanos e animais (DARDÉ; BOUTEILLE; PESTRE-ALEXANDRE, 1988; PFEFFERKORN; PFEFFERKORN, 1980; SIBLEY et al., 1992; TIBAYRENC et al., 1991). Com base no polimorfismo de comprimento no fragmento de restrição (RFLP), Howe e Sibley (1995) classificaram *T. gondii* em três tipos genéticos (I, II, III) de acordo com a virulência em camundongos.

Recentemente, técnicas como a amplificação aleatória do DNA polimórfico-Reação em Cadeia da Polimerase (RADP-PCR), Reação em Cadeia da Polimerase-polimorfismo de comprimento no fragmento de restrição (PCR-RFLP), microssatélite, *Multiplex*-PCR e microarray permitiram caracterizar as três linhagens do parasito e outros genótipos também foram identificados, incluindo BrI, BrII, BrIII e BrIV na América do Sul e Central, e tipo 12 na América do Norte (KHAN et al., 2011; SOUZA; BELFORT, 2014).

2.2 Aspectos taxonômicos e evolutivos de *Toxoplasma gondii*

T. gondii é um parasito intracelular obrigatório capaz de infectar todos os animais homeotérmicos (carnívoros, herbívoros e aves), incluindo os humanos. Além disso, consegue invadir diversos tecidos e líquidos orgânicos como sangue, saliva, leite,

esperma e líquido peritoneal (DUBEY, 2010; KAWAZOE; MINEO, 2011; PRADO et al., 2011). Adl et al. (2012) categorizaram *T. gondii* da seguinte forma:

SUPERGRUPO: SAR

REINO: Chromista

FILO: Alveolata

SUBFILO: Apicomplexa

CLASSE: Conoidasida

SUBCLASSE: Coccidia

ORDEM: Eucoccidiorida

SUBORDEM: Eimeriorina

FAMÍLIA: *Sarcocystidae*

SUBFAMÍLIA: Toxoplasmatinae

GÊNERO: *Toxoplasma*

ESPÉCIE: *Toxoplasma gondii*

O subfiló Apicomplexa é composto por diversos parasitos responsáveis por zoonoses, entre eles *Plasmodium* spp., *Cryptosporidium* spp., *Eimeria* spp., *Besnoitia* spp., *Babesia bovis* e *Theileria* spp. (SOUZA et al., 2010). Esse subfiló é caracterizado por uma estrutura altamente desenvolvida denominada de complexo apical (usado na invasão celular), composto de organelas secretoras especializadas, como róprias e micronemas (responsáveis pela mobilidade do parasito, adesão e invasão de células), e elementos do citoesqueleto como os anéis polares e o conóide; este último se apresenta apenas em coccídios que inclui *Toxoplasma gondii* (SOUZA; BELFORT, 2014).

A diferença entre *T. gondii* e outros parasitos do subfiló Apicomplexa está relacionada ao perfil eurixênico, ou seja, *T. gondii* apresenta baixa especificidade quanto ao seu hospedeiro e elevada distribuição no meio ambiente, e isto se deve a diversos fatores como sua alta capacidade de adaptação e os vários mecanismos de transmissão (DUBEY, 2009a; DUBEY; SU, 2009).

Existe apenas uma espécie de *Toxoplasma* (DUBEY, 2010). Entretanto, na subfamília Toxoplasmatinae estão incluídas outras espécies como *Neospora caninum*,

Besnoitia besnoiti que são os agentes causadores de aborto e infertilidade em bovinos, e *Hammondia hammodii* que pode causar anorexia, diarreia severa e lesões a nível do trato intestinal em hospedeiros intermediários (SOUZA; BELFORT, 2014; DUBEY et al., 2013).

T. gondii compartilha a maioria das organelas típicas de uma célula eucariótica (um núcleo, um aparelho de Golgi, retículo endoplasmático, um vacúolo e ribossomos) (SOUZA et al., 2010). Mas também apresenta estruturas subcelulares e organelas como: i) um citoesqueleto incomum composto de microtúbulos subpeliculares, filamentos intermediários e o conóide (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998; LEMGRUBER et al., 2009); ii) organelas derivadas da endossimbiose (uma mitocôndria e um apicoplasto não fotossintético) (KOHLENER et al., 1997; MCFADDEN; ROOS, 1999; SOUZA et al., 2010); iii) acidocalcissomos que constituem compartimentos de armazenamento de cálcio (SOUZA et al., 2010); iv) três tipos de organelas secretoras específicas de Apicomplexa (micronemas, roptrias e grânulos densos). O conóide, os micronemas e roptrias definem o complexo apical do parasito, que é crucial para a invasão celular e desenvolvimento (CARRUTHERS; TOMLEY, 2008; PAREDES-SANTOS; DE SOUZA; ATTIAS, 2012).

2.2.1 Estágios infectantes de *T. gondii*

Este protozoário apresenta três estágios infectantes: estágio proliferativo (taquizoítos), estágio latente (bradizoítos) e estágio ambiental (esporozoítos) (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

O taquizoíto (*taqui* significa rápido em grego) é o estágio invasivo do parasito e se dissemina durante a fase aguda da infecção, apresenta multiplicação rápida em vacúolos parasitóforos formados no citoplasma da célula infectada dos hospedeiros intermediários e nas células epiteliais não intestinais dos hospedeiros definitivos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Embora os taquizoítos se disseminem rapidamente, se apresentam como a forma menos resistente do parasito, sendo facilmente destruídos pelas condições ambientais adversas como a desidratação e variação osmótica, ação de enzimas tripsina ou pepsina (DUBEY, 1998a). Entretanto são capazes de atravessar as barreiras hematoencefálica e placentária. Esta última ocorre

durante a gestação, causando a transmissão vertical (TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

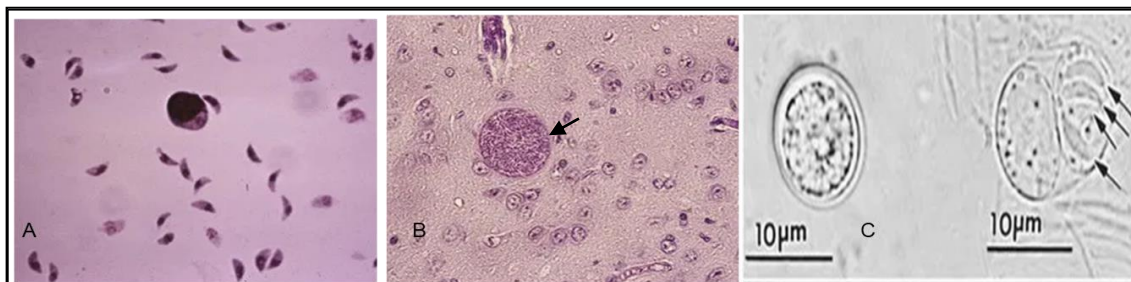
O bradizoíto (*bradi* significa lento, em grego) é um estágio evolutivo do parasito caracterizado por multiplicação lenta. Desenvolve-se a partir de um número desconhecido de divisões por endopoligonia no qual alguns taquizoítos se diferenciam em bradizoítos. Isso ocorre por volta de 10 a 14 dias após a infecção (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Os eventos após a diferenciação em bradizoítos são as alterações morfológicas da membrana do vacúolo e da matriz do vacúolo parasitóforo, constituindo a parede cística, dando origem aos cistos teciduais que sobrevivem por longo período nas células hospedeiras, principalmente em tecidos neurais, característica da fase crônica da infecção (GUIMARÃES et al., 2007; WEISS; KIM, 2000).

A parede dos cistos teciduais é elástica e rica em açúcar e outros polissacarídeos, têm espessura de 0,5µm, o que possibilita a resistência dos bradizoítos à ação de mecanismos do sistema imunológico do hospedeiro. Estudos apontam que a parede cística é composta de material da célula hospedeira e do parasito (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998). Durante a infecção, os cistos teciduais podem se romper e ocorrer a conversão de bradizoítos em taquizoítos, reinvasão de outras células hospedeiras e interconversão em bradizoítos, formando um novo cisto tecidual (GUIMARÃES et al., 2007; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000).

Os oocistos não esporulados apresentam forma esférica com duas membranas e diâmetro de 10 por 12µm. Os oocistos esporulados apresentam formato elipsoidal medindo de 11 por 13µm de diâmetro e contêm dois esporocistos e cada um possui quatro esporozoítos (figura 3) (DUBEY, 1998c). Os esporozoítos têm semelhança morfológica com os taquizoítos e bradizoítos, mas diferem quanto a elevada quantidade de micronemas, grânulos densos e grânulos de amilopectina (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

A estrutura do oocisto é composta por uma multicamada robusta (MAI et al., 2009) que protege os esporozoítos de danos mecânicos e químicos. Os esporozoítos dentro de oocistos podem sobreviver por longos períodos (até anos) em ambientes favoráveis. Esta é a forma de resistência e de disseminação ambiental do parasito, podendo ser transportado mecanicamente por moscas, baratas, besouros e outros artrópodes ou ser veiculados pela água, vegetais e frutas para consumo (HILL; DUBEY, 2014). Os estágios infectantes estão representados na figura 1.

Figura 1. Estágios infectantes de *Toxoplasma gondii*



Fonte: Adaptado de Montoya; Boothroyd; Kovacs, 2018. (A) Esfregação de líquido peritoneal de camundongo, corado por Giemsa, demonstrando taquizoítos; (B) Cisto tecidual corado com hematoxilina e eosina (seta); (c) Oocisto não esporulado (canto esquerdo) e oocisto esporulado com dois esporocistos (canto direito) e quatro esporozoítos (setas) são visíveis em um dos esporocistos.

A estrutura populacional de *T. gondii* isolado na América do Norte e Europa são notavelmente clonais. A maioria dos isolados pertence a uma das três linhagens clonais dos tipos I, II ou III (HOWE; SIBLEY, 1995). Estas linhagens apresentam padrões distintos de virulência em modelo murino (SIBLEY et al., 2009).

Estudos que determinaram essa estrutura populacional e avaliaram a correlação entre o genótipo do parasito e a toxoplasmose humana e animal, demonstraram que a linhagem tipo I são as mais virulentas e letais para camundongos, causando toxoplasmose aguda, enquanto a tipo II apresenta virulência intermediária em modelo murino e a tipo III é tipicamente avirulenta ou de baixa virulência. As linhagens II e III determinam o estado crônico da infecção por meio da formação de cistos (FLEGR et al., 2014; MONTAZERI et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2016; SÁNCHEZ-SÁNCHEZ et al., 2019). Além dessas linhagens clonais clássicas, uma quarta linhagem tipo 12 foi descrita na América do Norte a partir de isolados de animais silvestres (KHAN et al., 2011). Essa nova cepa não pertence a nenhuma dessas linhagens clonais e foi denominada de cepa atípica, exótica ou recombinantes (RAJENDRAN; SU; DUBEY, 2012).

Acredita-se que a amplitude geográfica e a grande biodiversidade de hospedeiro definitivo no Brasil favorecem uma maior variabilidade genética das cepas brasileiras de *T. gondii* (FERREIRA et al., 2006), evidenciando que há alta diversidade genética no País. (CLEMENTINO- ANDRADE et al., 2013).

2.3 Ciclo biológico e mecanismo de transmissão de *Toxoplasma gondii*

T. gondii apresenta ciclo de vida heteroxênico que consiste em um ciclo sexual nos hospedeiros definitivos e um ciclo assexual que ocorre tanto em hospedeiros definitivos quanto nos intermediários (DUBEY, 1998b). A fase sexuada de *T. gondii* geralmente se inicia após a ingestão de cistos teciduais pelos gatos. Posteriormente, ocorre a destruição da parede cística por enzimas proteolíticas do estômago e intestino delgado e dessa forma, os bradizoítos são liberados, penetram na parede intestinal e iniciam a reprodução assexuada por endodiogenia e endopoligonia (forma especializada de multiplicação assexuada em que várias células filhas se formam no interior das células mãe) e originam os gametas (gametogonia), iniciando a fase sexuada nos felinos (SOUZA; BELFORT, 2014).

Após a gametogênese ocorre a fecundação originando o zigoto que evolui para formar os oocistos imaturos. Esses rompem os enterócitos e são liberados nas fezes dos felídeos no ambiente e por meio de estímulos ambientais ocorrerá a esporogonia (dois esporocistos são formados, cada um com 4 esporozoítos). Esses esporozoítos são infecciosos e utilizam outros hospedeiros para continuar o ciclo (SOUZA; BELFORT, 2014).

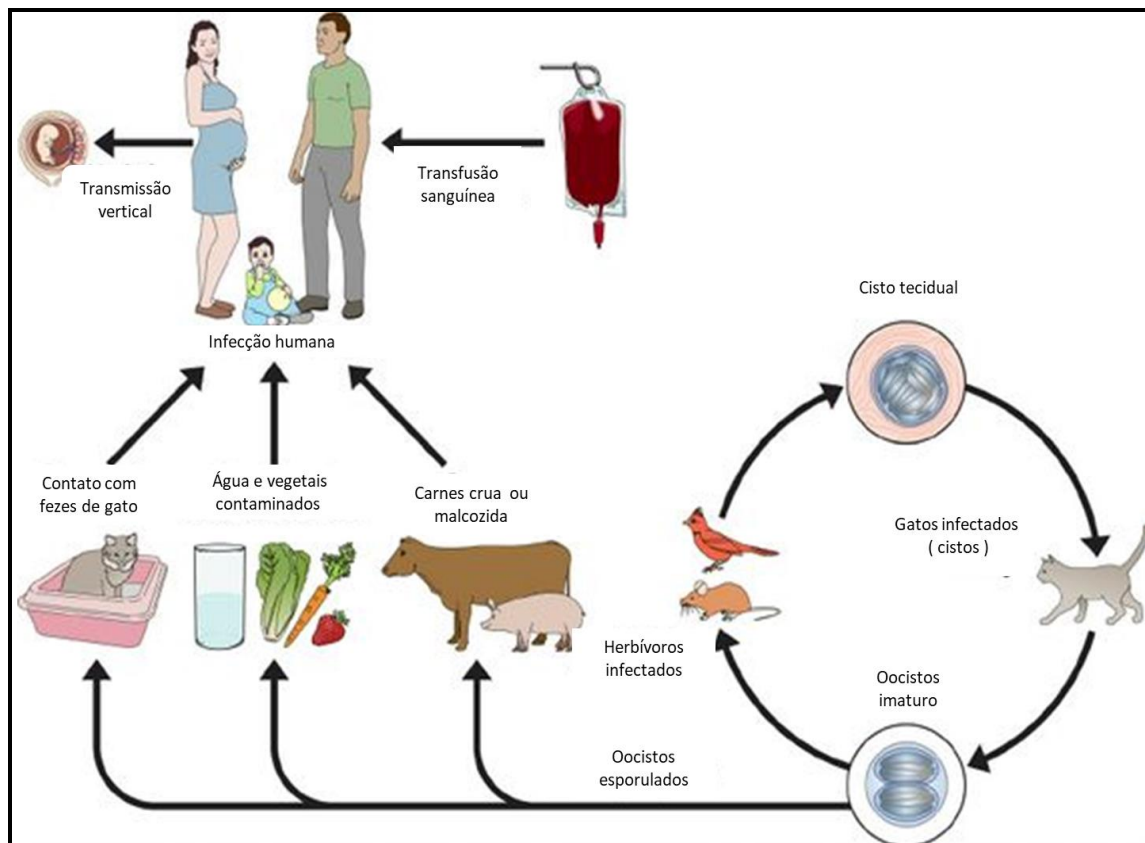
No hospedeiro intermediário suscetível, inclusive o homem, a fase assexuada pode ocorrer após a ingestão de oocistos ou cistos teciduais. Os esporozoítos ou bradizoítos são liberados no tubo digestivo, invadem o epitélio intestinal, e após alguns ciclos de reprodução se diferenciam em taquizoítos livres e são transportados pela linfa, sangue ou dentro dos leucócitos, caracterizando a fase aguda da doença (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

Os taquizoítos podem penetrar na maioria das células hospedeiras nucleadas, formando um vacúolo parasitóforo e esta fase perdura até que se estabeleça uma resposta imune mediada por interferon-gamma e capaz de controlar a proliferação de taquizoítos e induzir a diferenciação dos taquizoítos em bradizoítos. Esse estágio fica alojado no interior de cisto tecidual e pode persistir por toda a vida do hospedeiro no cérebro, olhos, coração e músculos esqueléticos (DUBEY, 2010; SULLIVAN; JEFFERS, 2012).

A transmissão de *T. gondii* para humanos pode ocorrer através do consumo de oocistos em alimentos ou água contaminados ou através da ingestão de carne crua ou

malcozida de outros animais infectados com cistos de *T. gondii* (DUBEY, 2010). Outra forma de transmissão pode acontecer por transfusões sanguíneas e por transmissão vertical (congênita). Quando a infecção primária ocorre durante a gravidez, os taquizoítos podem ultrapassar a membrana transplacentária, e a partir daí, acessa o compartimento fetal podendo causar graves danos ao feto (REMINGTON et al., 1995). O ciclo biológico e o mecanismo de transmissão estão representados na Figura 2.

Figura 2. Ciclo biológico e vias de transmissão de *T.gondii*.



Fonte: Adaptado de Esch; Petersen, 2013. Desenho esquemático das vias de transmissão de *T. gondii* para humanos.

2.4 Epidemiologia

Estudos soroepidemiológicos demonstraram diferenças na prevalência da infecção por *T. gondii* em humanos em nível global (FLEGR et al., 2014; SOUZA; BELFORT, 2014). Variação na prevalência foi detectada na América Central e do Sul e Europa continental com índices variando de 30 a 90%; na América do Norte, no Sudeste da Ásia, no Norte da Europa e nos países do Sahel na África as taxas variam de 10 a 30% (DUBEY; JONES, 2008; DUBEY, 2010; MINBAEVA et al., 2013 ; WILKING et al., 2016). Compreender as razões das variadas taxas de prevalência encontradas até

mesmo em áreas próximas geograficamente levaram à investigação dos fatores de risco associados à infecção (DJURKOVIC-DJAKOVIC et al., 2019).

Os principais fatores de risco associados à infecção de *Toxoplasma gondii* em humanos são o consumo de carne (de porco, carneiro, de caça) crua ou mal cozida contaminada contendo cistos teciduais (AVELINO et al., 2004; DUBEY ; JONES, 2008; LOPEZ et al., 2000); ingestão de vegetais e ou frutas cruas ou mal higienizadas e contato com solo contaminado com oocistos (BASTIEN et al., 2018; DUBEY et al., 2012; LASS et al., 2015), consumo de água não tratada, moluscos e mexilhões crus (BAHIA - OLIVEIRA et al., 2003; CONRAD et al., 2005; DUBEY, 2004; LINDSAY et al., 2004) transmissão vertical, transfusões sanguíneas e contato com secreções contendo taquizoítos (FLATT; SHETTY, 2013; GEBREMEDHIN et al., 2013; WALCHER; COMPARSI; PEDROSO, 2016).

Estudos relataram que o contato com o gato é um fator consistente para soropositividade por *T. gondii* (CHIANG et al., 2012; WALLE et al., 2013). Outros estudos demonstraram que nem sempre o contato com gato está relacionado ao risco de infecção, mas o contato com oocistos em fezes de gato é um perigo universal (DUBEY et al., 2012). Além disso, gatos de estimação presentes em áreas urbanas que consomem alimentos processados, com acesso restrito a rua e sem acesso a caça apresentaram baixo risco de se infectar (DUBEY, 2004, DUBEY et al., 2012; JONES, 2003).

Outras maneiras de se infectar por *T. gondii* pode ser por meio de relação com cães domésticos que brincam em ambientes contaminados por fezes de gato e podem albergar o parasito na pelagem (SOUZA; BELFORT, 2014), e por contato com o solo através da jardinagem que permite a infecção por oocistos. Esses oocistos levam de 1 a 5 dias para se tornarem infectantes, e podem permanecer viáveis no solo e em água por longos períodos, dependendo da temperatura e umidade (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012). Esses oocistos infectantes são ingeridos acidentalmente pelos humanos durante a jardinagem, levando à soropositividade (COOK et al., 2000).

As interações das características ambientais, culturais e biológicas também influenciam na variação da soroprevalência da infecção por *T. gondii* em humanos. Fatores climáticos podem influenciar nas taxas de prevalência como as observadas em países tropicais com clima quente e úmido e com baixas altitudes, pois favorecem a sobrevivência de oocistos no ambiente (DUBEY et al., 2012).

Costumes tradicionais de consumir carnes cruas determinam elevada prevalência em países como Holanda (OPSTEEGH et al., 2011), França (ESTEBAN-REDONDO et al., 1999), Coreia (CHOI et al., 1997) e Etiópia (VITALE; DI MARCO, 2013), já que a ingestão de carne de animais infectados com *T. gondii* é uma das principais vias de transmissão para humanos (COOK et al., 2000; EFSA, 2007; SLIFKO et al., 2000).

Os fatores biológicos (gênero, idade) predis põem a infecção por *T. gondii* (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012). Existe uma maior frequência de soropositividade em indivíduos mais velhos, provavelmente porque estes foram expostos ao agente por mais tempo que os indivíduos mais jovens (ALOISE, 2017; CARMO et al., 2010; GEBREMEDHIN et al., 2013; YBAÑEZ et al., 2019). Quanto ao sexo, estudos demonstraram que a atividade exercida por homens e mulheres pode expor a diferentes fatores de risco e determinar diferentes prevalências (NGUI et al., 2011; SOBRAL et al., 2005).

Estudos demonstram que a taxa de infecção em relação à idade pode variar de acordo com o ambiente e nível socioeconômico. No Brasil, há relatos de elevada soroprevalência na infância em populações que vivem em más condições de higiene, provavelmente ligadas à ingestão de oocistos por via hídrica (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; ERTUG et al., 2005; JONES; DUBEY, 2010; MAREZE et al., 2019). Numerosos surtos de toxoplasmose estão associados à ingestão de oocistos na água não tratada/filtrada/fervida, destacando os surtos ocorridos em Santa Isabel do Ivaí no estado do Paraná com 426 casos (MOURA et al., 2006).

Em três municípios do Estado de Rondônia (Ji-Paraná, Ouro Preto do Oeste e Jaru) foram registrados 141 casos onde a provável via de transmissão foi o consumo de suco preparado com polpa de açaí contaminada com oocistos do parasito (DUTRA et al., 2011). Essa mesma fonte de infecção ocasionou um novo surto com 90 casos em Ponta de Pedras, Pará (MORAIS et al., 2016). No primeiro trimestre de 2018 foram confirmados mais de 748 casos de toxoplasmose em Santa Maria/RS, incluindo 85 gestantes com toxoplasmose aguda ou reinfecção, três óbitos fetais que ocorreram com 28 e 36 semanas de gestação e quatro abortos. O surto foi associado ao consumo de água de torneira e hortaliças configurando possivelmente, a maior epidemia desta doença em âmbito mundial (OLIVEIRA et al., 2018).

A ingestão de ostras, moluscos ou mexilhões crus também já foram incriminadas como fonte de infecção para *T. gondii*. Esses animais são filtradores e concentram

oocistos de *T. gondii* como demonstrado em condições experimentais por Lindsay et al. (2004). Estudos sugerem que a contaminação das ostras ocorra por oocistos das fezes de gatos que sobrevivem ao tratamento da água de esgoto e chegam à costa marítima através do sistema fluvial (CONRAD et al., 2005).

Outra via de transmissão do agente é a ingestão de leite não pasteurizado contendo taquizoítos. Apesar das divergentes opiniões no mundo científico (GALAT et al., 2018), o consumo de leite de cabra não pasteurizado foi considerado um fator de risco, embora as enzimas digestivas possam destruir os taquizoítos e a pasteurização é um procedimento que destrói todas as formas do parasito (DUBEY et al., 2014; MENG et al., 2014; REMINGTON et al., 2011; ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012).

O risco de transmissão de *T. gondii* por meio da transfusão de sangue e doação de medula óssea são raros e deve levar em consideração o tempo de disseminação de taquizoítos no sangue, a cepa do parasito e a resposta imune do hospedeiro (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012; TENTER; HECKEROTH; WEISS, 2000). Entretanto, em receptores imunodeprimidos ou em mulheres grávidas sugere-se que testes sorológicos sejam realizados antes da transfusão sanguínea como forma de prevenção (PEREIRA et al., 2011).

A falta de informação sobre as possíveis formas de transmissão do agente, o baixo nível de escolaridade e o analfabetismo foram associados à alta prevalência de anticorpos IgG anti-*T. gondii*, principalmente em mulheres grávidas (AVELAR et al., 2017, 2018; MEREZE et al., 2019) e podem indicar a importância da educação como promoção da saúde e prevenção desta enfermidade. Esses fatores citados acima garantem o risco iminente da transmissão vertical, que acontece quando a infecção primária é adquirida por uma mulher grávida. Os taquizoítos atravessam a placenta e infectam o feto em desenvolvimento e isso pode ocorrer em cerca de 30% das gestantes (ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012).

O risco de transmissão vertical é menor durante o primeiro trimestre da gestação (10-15%); no segundo trimestre é de 25% e no terceiro trimestre é de 60-90% (HERNÁNDEZ-CORTAZAR et al., 2015). No entanto, a infecção materna que ocorre no último trimestre, embora com maior frequência, tem menor gravidade para o feto (OLARIU et al., 2011; WALCHER; COMPARSI; PEDROSO, 2016).

No Brasil, a soropositividade varia de 56,4 a 91,6% entre as mulheres grávidas e nos Estados Unidos estima-se que cerca de 500 a 5000 casos de toxoplasmose congênita

ocorram anualmente (EL BISSATI et al., 2018). Outros países registraram índices de: 11,9% no Reino Unido (FLATT; SHETTY, 2013); 10,3% no Japão (SAKIKAWA et al., 2012); 28,3% na Tailândia (NISSAPATORN et al., 2011); 28,6% na Espanha (Batet et al., 2004); 6,1 a 8,2% no México (ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2009). As frequências de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* encontradas em humanos no Brasil estão na Tabela 1.

Tabela 1- Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (IgG) em humanos no Brasil, nos últimos quatro anos (2016-2020).

Região/estado	Município	Nº amostral	Frequência	Teste/corte	Referência
Norte					
Pará	Novo Repartimento	347/427	81,96%	RIFI ^a (1:10)	Carmo et al. (2016)
Nordeste					
Rio Grande do Norte	Santa Cruz	1020/1540	66,2%	ELISA ^b	Aloise et al. (2017)
	Jaçanã	210/356	59,0%	ELISA/ CMIA ^c	Freitas et al. (2017)
Bahia	Ilhéus	335/463	72,3%	ELISA	Costa et al. (2018)
Sudeste					
Minas Gerais	Divinópolis	509/1343	38,0%	ELISA	Nascimento et al. (2017)
Centro-oeste					
Mato Grosso	Campo Novo do Pareci	196/293	66,9%	RIFI (1:16)	Santos et al. (2019)
Goiás	Goiânia	204/229	89,0%	ELISA	Avelar et al. (2018)
Sul					
Rio Grande do Sul	Ivaiporã	526/715	73,57%	RIFI (1:16)	Mereze et al. (2019)
	Pelotas	183/344	53,2%	RIFI (1:32)	Araújo et al. (2018)

^a Reação de Imunofluorescência Indireta; ^b Ensaio Imunoenzimático; ^c imunensaio de micropartículas quimioluminescentes.

Em ambientes insulares, pouco se sabe sobre as doenças zoonóticas. Recentemente foi reportado que apenas uma fração das 560 ilhas onde as pessoas

coabitam com animais têm informações sobre a circulação de alguma zoonose (WIT et al., 2017). A toxoplasmose é uma das doenças zoonóticas mais difundida em ilhas devido a grande densidade de gatos existente nesses ambientes (DOHERTY et al., 2016; JONES et al., 2016; WIT et al., 2019).

Levantamentos epidemiológicos sobre a toxoplasmose em humanos nas Ilhas demonstraram que a introdução de gatos é uma das principais fontes de contaminação ambiental por oocistos e que a erradicação dessas espécies pode reduzir a incidência da doença. Além de restabelecer a biodiversidade já que esses animais são predadores da fauna insular nativa (WIT et al., 2019). Por esse motivo, campanhas de gerenciamento de gato foram implementadas em várias ilhas do mundo (DIAS et al., 2017).

Verificou-se em sete ilhas localizadas no Baja, que a exposição a *T. gondii* ocorre tanto em crianças como em jovens e adultos por meio de diferentes vias de exposição. Nas ilhas de São Tomé e Príncipe, crianças em idade escolar primária são infectadas por *T. gondii* ao brincarem com água, solo, animais de estimação (cães e gatos) e ingestão de alimentos contaminados com oocistos esporulados (ASTHANA et al., 2006; DUBEY et al., 2016; FAN et al., 2012; WIT et al., 2019).

Crianças de idade mais avançada que habitam a ilha da República Marsall apresentaram menor prevalência da infecção, o que pode indicar menor exposição ou aumento dos cuidados e de prevenção (FU et al., 2014). Porém, na ilha fluvial Catijuba, Amazonas, Brasil, observou-se aumento da soroprevalência à medida que os indivíduos envelhecem (PINHEIRO, 2018). Alguns jovens e adultos se infectam por meio de hábitos alimentares ao consumir carnes e produtos de origem animal, crus ou mal cozidos contaminados com cistos de bradizoítos (WIT et al., 2019; IDDAWELA; VITHANA; RATNAYAKE, 2017), ou por consumo de produtos da agricultura orgânica e aumento de animais domésticos entre os ilhéus (KIM et al., 2017).

Infecção por *T. gondii* foi relatado em bovinos, ovinos caprinos, galinhas de vida livre e suínos em diferentes ilhas no mundo (COSTA et al., 2012; FAN et al., 2001; HAMILTON et al., 2015; MAGALHÃES et al., 2016a; 2016b; 2017; WALLACE; MARSHALL; MARSHALL, 1972; YANG et al., 2012). Esses animais também são fonte de infecção para população local e podem estar envolvidos no mecanismo de transmissão do protozoário. Animais silvestres como o javali, veado e teju também são fonte de infecção em ilhas isoladas (YANG et al., 2012).

Nas ilhas do Caribe (São Tomé, Príncipe e Granada) foi detectada a infecção por *T. gondii* em mulheres grávidas (ASTHANA et al., 2006; DUBEY et al., 2016; FAN et al., 2012), muitas vezes relacionado ao nível socioeconômico. Estudos demonstraram que gestantes de baixa renda tem maior probabilidade de se infectar do que as gestantes com maior nível socioeconômico (MAREZE et al., 2019).

O produto interno bruto (PIB), renda per capita e escolaridade dos ilhéus também pode ser preditivos para adquirir a infecção por *T. gondii*, pois um número significativo de ilhas apresenta déficit de recursos, infraestrutura e educação em saúde influenciando de forma direta nos serviços de saúde pública e prevenção da doença (HONG et al., 2011; WIT et al., 2017).

A falta de saneamento básico também expõe os ilhéus a riscos de infecção, pois algumas ilhas não possuem nascentes de água doce, a água é captada no período das chuvas e armazenadas em poços desprotegidos e acessíveis a contaminação por oocistos (HONG et al., 2011). As condições ambientais das ilhas (quente e úmido) aumentam a sobrevivência dos oocistos e favorecem a sua disseminação (IDDAWELA et al., 2017). As taxas de frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em ilhas encontram-se na tabela 2.

Tabela 2- Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (IgG) em humanos em ilhas oceânicas e fluviais.

País	Ilhas	N° amostras	Frequência	Teste/Ponto de corte	Referência
África					
	São Tomé/ Príncipe	161/255	63,1%	LAT ^a (1:32)	Fan et al. (2012)
Brasil					
	*Cotijuba	251/307	81,8%	ELISA ^b	Pinheiro (2018)
	*Marajó	73/270	27,04%	ELISA	Morais et al. (2016)
	*Miradouro	132/361	36,57%	RIFI ^c (1:16)	Kawarabayashi et al. (1980)
	São Luís	118/373	31,6%	RIFI (1:32)	Nascimento et al. (1983)
Coréia					
	Jeju	309/2.348	13,2%	ELISA (1:32)	Hong et al. (2011)
	Gangwha- gun	335/1296	25,8%	ELISA	Yang et al. (2012)
Caribe					
	10 Países Insulares	174/437	39,8%	MAT ^c (1:6)	Dubey et al. (2016)
	Granada	305/534	57%	ELISA	Asthana et al (2006)
Filipinas					
	Cebu	244/924	26,4%	LAT (1:64)	Ybañez et al. (2019)
Malásia					
	Pulau Pangkor	178/298	59,7%	ELISA	Ahmad et al. (2014)
Sri Lanka					

Sri Lanka	160/536	29,9%	ELISA	Iddawela et al. (2017)
Venezuela				
Ilha de San Carlos	167/335	49,8%	IHA ^d	Chacín-Bonilla et al. (2003)

^a Teste de Aglutinação em Látex; ^b Ensaio Imunoenzimático; ^c Teste de Aglutinação Modificada; ^d Hemaglutinação indireta, *Ilhas fluviais.

2.5 Sinais Clínicos e Diagnóstico

A infecção por *T. gondii* geralmente é assintomática em humanos imunocompetentes. Contudo, a toxoplasmose pode apresentar sinais inespecíficos de gripe, mal-estar geral e fadiga, gastroenterite ou sinais de linfadenopatia e erupção cutânea (REMINGTON et al., 2011). Em locais de surtos comunitários ou em certas áreas tropicais, 82% das pessoas infectadas são sintomáticas e até 19% pode ter doença ocular, dor de cabeça, mialgia, artralgia, dor de garganta, torcicolo, náusea, dor abdominal, anorexia, confusão mental, ocasionalmente, dor de ouvido (CONTOPOULOS-IOANNIDIS; MONTOYA, 2018).

Na toxoplasmose congênita, o envolvimento fetal é mais grave quando a toxoplasmose materna é adquirida no início da gestação, levando ao aborto espontâneo ou sintomas graves no recém-nascido como doença ocular, calcificações cerebrais, hidrocefalia, epilepsia e atrasos no desenvolvimento. Por outro lado, a infecção no terceiro trimestre é frequentemente assintomática com o desenvolvimento de coriorretinite no decorrer da vida (KHAN; KHAN, 2018; MONTOYA; LIESENFELD, 2004).

A tríade clássica de sinais da toxoplasmose congênita é a coriorretinite, hidrocefalia e calcificações intracranianas (MCAULEY, 2014), embora uma variedade de sintomas possa ocorrer como o estrabismo, cegueira, microcefalia, convulsões, encefalite, hepatoesplenomegalia, pneumonite, hipotermia, icterícia, erupção cutânea e perda auditiva (CONTOPOULOS-IOANNIDIS; MONTOYA, 2018).

A apresentação clínica da toxoplasmose em pacientes imunocomprometidos, a exemplo dos pacientes infectados com HIV, é a toxoplasmose cerebral que pode ser focal ou generalizada com convulsões, distúrbios neuropsicológicos e cognitivos, dor de cabeça, sinais cerebrais focais (hemiparesia, hemianopia, ataxia, disartria) e

comprometimento da consciência (BAHIA-OLIVEIRA; GOMEZ-MARIN; SHAPIRO, 2017).

Aproximadamente um terço dos indivíduos infectados por HIV desenvolvem encefalite toxoplásmica (HILL; DUBEY, 2014). A manifestação neurológica varia de sinais sutis a agudos. Nos últimos anos, os pesquisadores levantaram a hipótese de que a infecção por *T. gondii* pode causar transtornos psiquiátricos como esquizofrenia, depressão e tentativas de suicídio (BAHIA-OLIVEIRA; GOMEZ-MMARIN; SHAPIRO 2017; FLEGR et al., 2014).

O diagnóstico de toxoplasmose pode ser realizado pela inoculação de amostras de sangue, líquido cefalorraquidiano, linfonodo ou outros fluídos ou tecidos corporais, por via intraperitoneal, subcutânea ou oral em camundongo. O procedimento requer parasitos vivos e, portanto, deve ser efetivado rapidamente após o material ser obtido. A presença de taquizoítos no fluído peritoneal dos camundongos é analisada por microscopia de contraste de fase (RAMÍREZ; OROZCO; RAMÍREZ, 2017). Na maioria dos laboratórios, o teste de PCR substituiu a inoculação em camundongo devido a sua sensibilidade e resultado rápido (JENUM et al., 1998), mesmo assim, o bioensaio é caracterizado como padrão ouro (DUBEY, 2010). Outro recurso utilizado é o isolamento de *Toxoplasma gondii* por meio da inoculação do material biológico em cultura de célula (SOUZA; BELFORT, 2014).

O ultrassom fetal e o teste de amniocentese foram muito utilizados nos últimos 50 anos para detectar as anomalias fetais (TABOR; ALFIREVIC, 2010; WULFF et al., 2016). O parasito ou seus antígenos também podem ser visualizados em cortes histológicos de tecidos na técnica de imunohistoquímica, utilizando anticorpos específicos e coloração imunoenzimática (COSTA et al., 2008).

Para detecção de anticorpos contra *T. gondii* em humanos e em animais os testes sorológicos mais utilizados são: Teste de corante (DT), Teste de Aglutinação Modificado (MAT), Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Aglutinação em Látex (LAT), Ensaio Imunoenzimático (ELISA) com sensibilidade e especificidade variadas (DUBEY, 2010; DUBEY et al., 2012; LIU et al., 2015). A referência de diagnósticos laboratoriais na população humana brasileira é o Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN).

O teste do corante (*Dye test*) foi considerado o padrão ouro para a detecção de anticorpos anti- *T. gondii* em humanos devido a sua alta sensibilidade e especificidade.

Esse teste foi desenvolvido por Sabin e Feldman em 1948, a complexidade para realizar esta técnica associada ao risco de exposição ao parasito a torna inviável na rotina laboratorial sendo utilizada apenas em laboratórios de pesquisa (LIU et al., 2015; SOUZA; BELFORT, 2014).

O teste de Aglutinação Modificada foi desenvolvido por Desmonts e Remington (1980) para o sorodiagnóstico em humanos. Porém, é utilizado em várias espécies de animais devido à facilidade da técnica e por apresentar boa sensibilidade e especificidade (DUBEY, 1996; DUBEY, 2002).

O diagnóstico por Aglutinação em Látex (LAT) é rápido e apresenta sensibilidade entre 86-94% e especificidade de 100% em humanos. É um teste muito usado no levantamento epidemiológico devido à simplicidade do desempenho, mas o resultado positivo requer um exame mais aprofundado usando outros testes sorológicos (LIU et al., 2015).

A RIFI é rotineiramente utilizada e considerada o “padrão ouro”. É uma técnica de fácil manuseio e não representa riscos de infecção acidental; a RIFI é um teste sensível e específico que detecta anticorpo IgG e IgM em humanos e animais. Esse teste baseia-se no reconhecimento de anticorpos dirigido contra os antígenos de superfície do parasito através de anti-globulina humana conjugada ao isotiocianato de fluoresceína e as amostras são consideradas positivas quando ocorrer a fluorescência de toda periferia da membrana do parasito (DUBEY, 2010; LIU et al., 2015). Esse teste apresenta sensibilidade (80,4-100%) e especificidade (91,4-95,8%) e os anticorpos IgM podem ser dosados entre uma a duas semanas após o início da infecção, alcançando o pico na sexta até a oitava semana, quando inicia o declínio; títulos baixos podem persistir por até 12 meses. Entretanto, a dosagem de anticorpos IgG ocorre mais tardiamente, e seus níveis podem persistir por toda a vida na maioria dos pacientes (CARMO et al., 2016; LIU et al., 2015; SAADATNIA; GOLKAR, 2012).

O ELISA é o método de rotina em laboratórios clínicos para o diagnóstico da toxoplasmose em humanos (ROSTAMI et al., 2017). Os ELISAs indiretos convencionais mostram elevada concordância com o DT, MAT ou RIFI, detectando anticorpos IgG ou IgM em humanos e animais. Esse teste inclui o antígeno ou anticorpo de fase sólida, marcado com enzima e o substrato da reação enzimática, que pode ser modificado para testar anticorpos de forma automatizada e analisa muitas amostras simultaneamente (LIU et al., 2015; SAADATNIA; GOLKAR, 2012).

O teste de avidéz da IgG foi descrito por Hedman et al. (1989) e mede a avidéz da ligação de anticorpos específicos ao antígeno de *T. gondii*. As proteínas presentes no soro são desnaturadas com uma solução de ureia. A avidéz pode ser variável durante o curso da infecção (ALI-HEYDARI et al., 2013). Nos estágios iniciais da infecção, os valores de avidéz são baixos e aumentam com o curso da infecção. Portanto, este teste pode distinguir entre a infecção aguda e crônica. No entanto, existem limitações para o teste de IgG em mulheres grávidas, pois esses anticorpos podem persistir por vários meses e o tratamento de *T. gondii* pode afetar os resultados (LEFEVRE-PETTAZZONI et al., 2006).

2.6 Controle e Prevenção

Existem medidas que ajudam os indivíduos a prevenir a infecção por *T. gondii*, principalmente os grupos de alto risco, como gestantes e indivíduos imunocomprometidos como lavar as mãos após o manuseio da carne crua e materiais que entrem em contato com carne não cozida (PEYRON et al., 2015). Recomenda-se que a carne de qualquer animal seja cozida a 67°C antes do consumo e que a degustação de carne durante o cozimento seja evitada (JONES; DUBEY, 2010).

O esvaziamento diário da caixa de areia dos gatos e manuseio de solo com o uso de luvas impedirá a exposição a oocistos presentes em fezes; lavar os vegetais e frutas (HILL; DUBEY, 2014); ingerir água filtrada ou fervida (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003); consumir frutos do mar bem cozidos (BAHIA-OLIVEIRA; GOMEZ-MARIN; SHAPIRO, 2017). O conhecimento sobre as formas de transmissão de *T. gondii* pode ajudar na prevenção da infecção (FOULON; SEMPRINI; DUNN, 2000).

O Brasil possui incidência de infecção por *T. gondii* que estão entre as mais altas descritas na literatura, e como medidas de prevenção e controle em tempo oportuno em casos de surtos, o Ministério da Saúde (MS) junto com a Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS), incluiu essa doença no sistema de notificação compulsória pela Nota Informativa CGDT/DEVIT/SVS/MS no 26 e Portaria nº 3.502, de 19 de dezembro de 2017.

O tratamento de escolha para todas as formas clínicas de toxoplasmose humana é a combinação de pirimetamina e sulfadiazina (PEYRON et al., 2015). O ácido folínico é adicionado para evitar a toxicidade hematopoiética da pirimetamina (BAHIA-

OLIVEIRA; GOMEZ-MARIN; SHAPIRO, 2017). Novos estudos com diferentes fármacos estão sendo desenvolvidos.

2.7 Histórico sobre leptospirose

Estudos sobre a leptospirose tiveram início em 1881, na Europa, quando Weiss denominou a doença de *Icterus catarrhalis*. Em 1886, Adolf Weil fez a primeira descrição da doença, com base em observações clínicas em quatro pacientes com icterícia acompanhada de esplenomegalia, disfunção renal, conjuntivite e erupções cutâneas. Posteriormente, Goldschmidt em 1887, designou a enfermidade como “Doença de Weil” (ADLER, 2015; BRASIL, 1995).

Apesar da etiologia da doença ser desconhecida nessa época a enfermidade foi diagnosticada como infecciosa por sua natureza e sua transmissão foi associada ao contato com a água devido às epidemias serem comuns em pessoas que trabalhavam em esgotos, campo de arroz e minério de carvão. Na Europa, Stimson em 1907, identificou leptospiras em tecido renal de um paciente morto por febre amarela, a qual denominou de *Spirocheta interrogans*, nome sugerido devido à semelhança da bactéria a um ponto de interrogação (ADLER, 2015).

Todavia, esta bactéria foi isolada pela primeira vez no Japão, em 1915, por Inada e Ido. As leptospiras, denominadas *Spirochaeta icterohaemorrhagiae* foram isoladas dos mineradores de carvão e novos isolamentos foram feitos na Alemanha por Hubener (1915). Uhlenhuth e Fromme (1915) comprovaram a patogenicidade do agente etiológico, inoculando o sangue de soldados com suspeita de doença de Weil em porquinhos-da-índia. Esses animais morreram e as leptospiras foram identificadas microscopicamente e denominadas de *Spirochaeta nodosa* e *Spirochaeta icterogenes*, respectivamente (FARRAR, 1995; LEVETT, 2015).

Com esses experimentos, novas informações sobre o agente foram desvendadas como a sua transmissibilidade, vias de infecção, alterações patológicas, morfologia, motilidade e distribuição tecidual (principalmente no fígado e rins) (ADLER, 2015). Em 1917, Miyajima, Ido Hoki, Ito e Wani relataram que os ratos eram os portadores renais de *Leptospira*. Essa investigação foi feita após o cultivo de espiroquetas a partir dos rins e urina de uma variedade de espécies de ratos domésticos e selvagens, mostrando que 40% deles eram portadores assintomáticos da bactéria (LUCHEIS; FARREIRA, 2011).

O gênero *Leptospira* foi classificado por Noguchi (1917) após estudo com isolados desta bactéria do Japão, Europa e EUA (LEVETT, 2015). Além disso, houve relatos epidemiológicos interessantes de maior incidência da doença de Weil em humanos nos períodos da primavera e outono, sendo associado à temperatura de 22° a 25°C, enquanto os mineiros demonstraram prevalência constante durante todo o ano (ADLER, 2015).

A doença nos bovinos foi relatada pela primeira vez na Rússia, em 1940, por Semskov, sendo denominada de “febre do gado”. Anos mais tarde, em 1948, houve o reconhecimento da leptospirose como uma doença infecciosa em diversas espécies de mamíferos e roedores, além da descoberta dos animais domésticos como fonte de infecção para humanos. Na década de 1950, Alston e Broom identificaram variedades de espécies em diferentes hospedeiros caracterizando a disseminação natural da bactéria (ADLER, 2015).

Os isolados de diversos locais foram nomeados e a diferenciação entre as cepas foi alcançada por meio de uma variedade de testes de aglutinação; as cepas antigenicamente distintas receberam o “*status*” de espécies que foram divididas em sorogrupos por Wolff e Broom em 1954, e cada sorogrupo contendo vários sorovares que compartilham antígenos comuns (LEVETT, 2015). Em 1982, a taxonomia de *Leptospira* adotou dois grupos: *Leptospira interrogans sensu lato* (sorovares patogênicos) e *Leptospira biflexa sensu lato* (sorovares saprófitos) (FAINE; STALLMAN, 1982).

Em 1980, a leptospirose estava bem documentada como uma doença veterinária de grande importância para os cães, bovinos, suínos, equinos e ovinos (ELLIS, 2015), mas que também atingia os humanos (LEVETT, 2015). Hoje, é reconhecido que a maioria das infecções humanas por *Leptospira* se origina da exposição ambiental à água e a solos contaminados pela urina excretada pelos animais infectados (GOARANT, 2019). O quadro clínico está associado ao sorogrupo específico de *Leptospira* e varia de uma doença febril leve até infecções graves (insuficiência hepática, renal e hemorragia pulmonar) (BHARTI et al., 2003; GOUVEIA et al., 2008).

Recentemente foram feitas grandes mudanças na taxonomia desta bactéria por meio de técnicas sorológicas e moleculares (MAT, ELISA, teste Imunocromatográfico, amplificação do DNA por testes de LAMP e PCR real time) ((ADLER, 2015). Além disso, as técnicas de genotipagem (MSLT, PFGE) e desenvolvimento de sistemas de

mutagênese para *Leptospira* patogênica permitiram o avanço na taxonomia bacteriana (HARTSKEERL; IWASAKI, 2016; SMYTHE, 2014).

2.8 *Leptospira* spp.

A leptospirose é uma doença zoonótica causada por bactérias espiroquetas patogênicas, aeróbicas obrigatórias do gênero *Leptospira* (ADLER; DA PEÑA MOCTEZUMA, 2010). As leptospirosas são bactérias finas em forma de hélice com 0,1 µm de diâmetro e 6 a 12 µm de comprimento e apresentam formato de gancho em uma ou ambas as extremidades (EVANGELISTA; COBURN, 2010). Essas bactérias são altamente móveis e mostram motilidade translacional, se deslocam aproximadamente 20 µm em 2 a 3 segundos em meios comuns. Essa motilidade se deve ao flagelo periplásmico em espiral que gira na extremidade principal, gerando uma onda helicoidal que impulsiona a célula em direção oposta à da rotação flagelar; se dividem por fissão binária e podem ser encontradas em animais, humanos e ecossistemas de água doce (GOARANT et al., 2019).

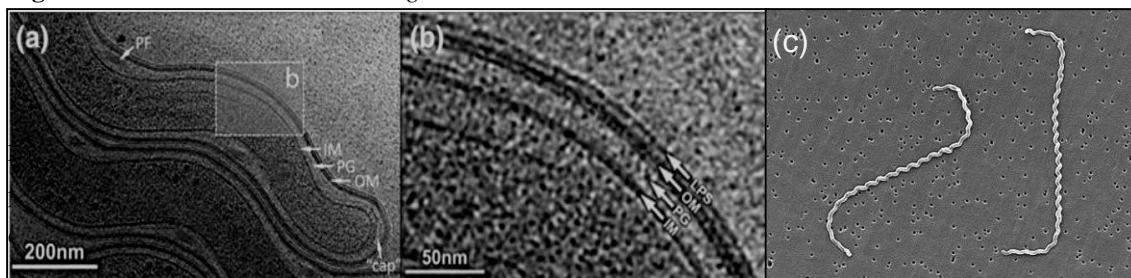
A organização estrutural e a composição química das leptospirosas são semelhantes às de bactérias Gram-negativas com membrana dupla, membrana citoplasmática interna e externa, dentre as quais se localiza o espaço periplasmático, contendo dois endoflagelos e camada de peptidoglicano associada à membrana interna (Figura 3). O componente preponderante da membrana externa é o lipopolissacarídeo (LPS), que diferem as leptospirosas de outras espiroquetas como *Treponema* spp. e *Borrelia* spp. (CAMERON, 2015; FERNANDES et al., 2016).

Experimentos *in vitro* demonstraram que o crescimento das leptospirosas ocorre em uma temperatura de 28 e 30°C, na faixa de pH entre 7,2 e 7,6 em condições aeróbias. O meio ideal para desenvolvimento deve estar enriquecido com vitaminas B1 e B12, albumina bovina sérica (BSA), soro de coelho, amônia, ferro e ácido graxos de cadeia longa (fonte de energia). O meio mais utilizado para seu crescimento é o Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) que contém ácido oleico, BSA como detoxificante e Tween como fonte de carbono (ADLER; DA PEÑA MOCTEZUMA 2010).

Essas bactérias são sensíveis a luz solar direta, desinfetantes comuns ou antissépticos, águas salinas, ambientes secos, temperaturas elevadas $\geq 37^{\circ}\text{C}$ ou pH fora

da neutralidade (<6,8) (BENITEZ et al., 2010; FAINE et al., 2000). Mesmo com esses adventos conseguem sobreviver em ambientes aquáticos ou úmidos (córregos, rios, lagoas, águas de inundação e água estagnada) e em condições de pH entre 7,8 e 7,9 como solo alcalino, lama, pântanos e tecidos de animais vivos ou mortos (FAINE et al., 2000).

Figura 3. Ultraestrutura de *L. interrogans*



Fonte: Camaron (2015); Levet (2001). (a) membrana interna (IM) e membrana externa (OM), espessa camada de peptidoglicano (PG), flagelo periplasmático (PF). (b) imagem ampliada mostrando os lipopolissacarídeo (LPS), detalhes do envolvimento celular, (c) microscopia eletrônica de *Leptospira interrogans* sorovar Icterohaemorrhagiae.

2.8.1 Taxonomia

As leptospiros pertencem ao Reino Monera, Filo Spirochaetes, Ordem Spirochaetales, família Leptospiraceae que compreende o gênero *Leptospira* que durante anos foi classificado com base na sorologia e virulência e foram incluídos em duas espécies: *Leptospira interrogans sensu lato* (patogênica) e *Leptospira biflexa sensu lato* (saprófita) (LEVETT, 2001; VICENT et al., 2019).

A classificação de *Leptospira* em sorovares tem como base as diferenças sorológicas quanto à expressão LPS, tanto estruturais como químicas. Em caso de diferentes sorovares apresentarem os mesmos antígenos com um determinado grau de reação cruzada, estes são agrupados em um mesmo sorogrupo (ADLER; DA PEÑA MOCTEZUMA 2010). Embora os sorogrupos não tenham posição taxonômica, a classificação antigênica continua sendo utilizada por conseguir identificar cepas e se mostraram úteis na compreensão epidemiológica da leptospirose em uma região (JORGE et al., 2017).

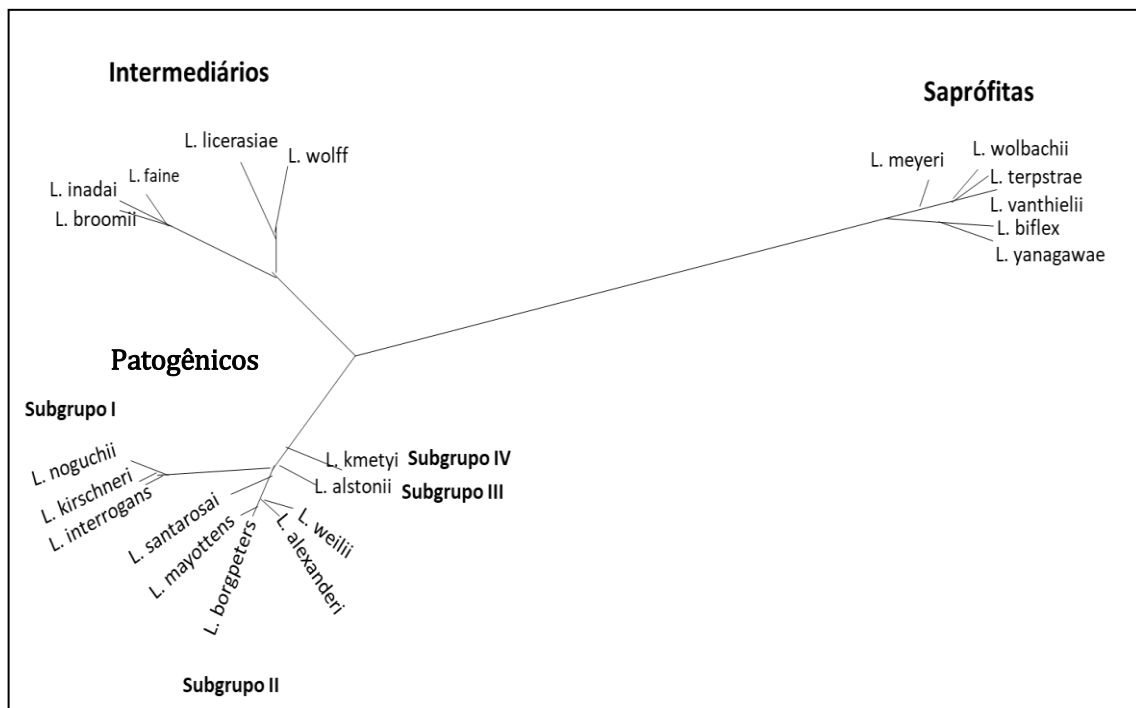
Recentemente, novas espécies de leptospiros foram descritas por genotipagem; as leptospiros foram reclassificadas em 22 espécies, com base no grau de relacionamento genético. A hibridação DNA-DNA e a análise filogenética por 16S

rRNA dividiram o gênero *Leptospira* em três grupos distintos: 1) patogênicas com 10 espécies que podem infectar e causar leptospirose em humanos e animais; 2) intermediárias com 5 espécies isoladas de animais e seres humanos com patogenicidade moderada. 3) saprófitas com 7 espécies isoladas de fontes ambientais e que não são patogênicas (figura 4) (PICARDEAU, 2017; VICENT et al., 2019).

Os agentes etiológicos da leptospirose são espécies patogênicas e intermediárias de *Leptospira* que compreendem mais de 260 sorovares (LEVETT, 2015; VICENT et al., 2019).

Os sorovares patogênicos de leptospira podem apresentar preferência por hospedeiro como, por exemplo, o bovino que geralmente se infecta pelo sorovar Hardjo (sorogrupo Sejroe); os cavalos que são hospedeiros adaptados do sorovar Bratislava (sorogrupo Australis); os cães do sorovar Canicola (sorogrupo Canicola), ratos do sorovar Icterohaemorrhagie (sorogrupo Icterohaemorrhagiae) (JORGE et al., 2017). Contudo, essas associações não são fidedignas, pois as bases moleculares para essa especificidade do hospedeiro ainda são desconhecidas, sendo assim, as leptospirosas são geralmente adaptadas a um ou mais mamíferos, como é o caso dos seres humanos que podem se infectar por qualquer um dos sorovares mencionados, mas o mais frequente são os provenientes de ratos (BRASIL, 2019a; VICENT et al., 2019).

Figura 4. Classificação genotípica de *Leptospira* spp.



Fonte: elaborado pelo autor baseado em Picardeau (2017).

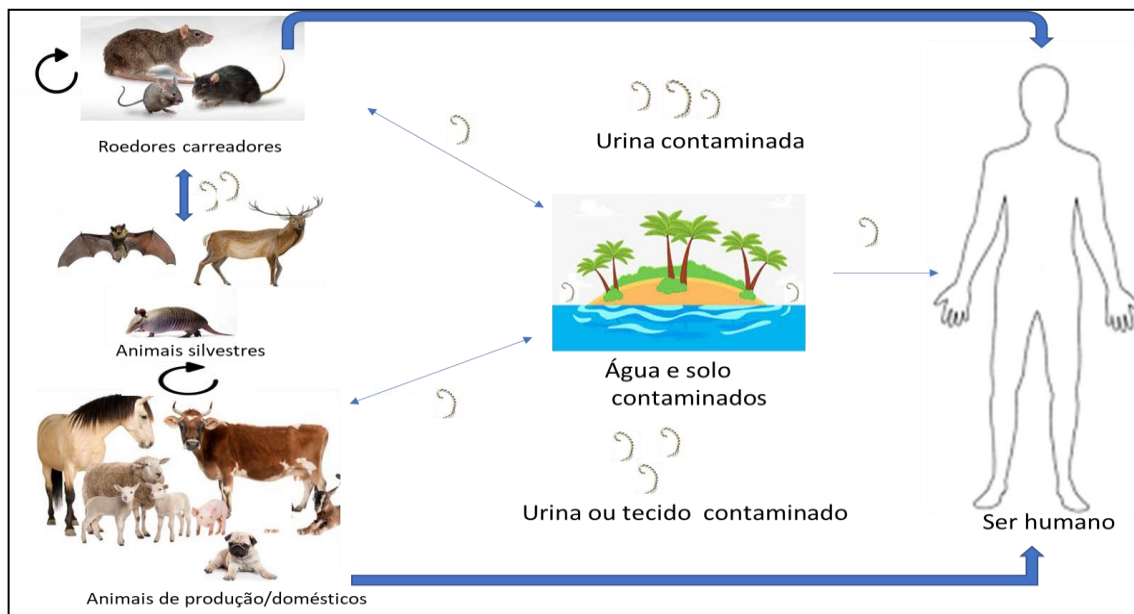
2.8.2 Cadeia de transmissão de *Leptospira* spp.

Para que ocorra a transmissão de *Leptospira* spp. é necessária uma contínua circulação do patógeno entre os reservatórios, geralmente referidos como hospedeiros de manutenção. Esses animais são assintomáticos e eliminam persistentemente as leptospirosas patogênicas na urina por toda a vida (FRAGA et al., 2014). Os roedores são apontados como os principais reservatórios, destacando os urbanos como ratos de esgostos (*Rattus norvegicus*), rato preto (*Rattus rattus*) e camundongo (*Mus musculus*) (BRASIL, 2019a).

Além deles, mamíferos domésticos e selvagens também estão incluídos como hospedeiro de manutenção de alguns sorovares e hospedeiros incidentais de outros sorovares e albergam a *Leptospira* nos rins e as eliminam vivas no meio ambiente contaminando o solo, a água e alimentos (KO; GOARANT; PICARDEAU, 2009). O homem, hospedeiro acidental e terminal dentro da cadeia de transmissão da doença, se infecta pela exposição direta ou indireta à urina desses animais infectados (BRASIL, 2019a; POLACHINI; FUJIMORI, 2015).

A transmissão direta ocorre quando as leptospirosas presentes nos fluídos corporais, tecidos e urina de animais infectados entram em contato com novos hospedeiros (AL-ORRY et al., 2016). A transmissão indireta ocorre quando humanos e animais entram em contato com a *Leptospira* presente no ambiente, por meio do contato com solo ou água contaminada (figura 5). Nesse último caso, as bactérias penetram no corpo através das membranas mucosas dos olhos, nariz, garganta ou cortes e abrasões na pele, ou mesmo na pele intacta que permanece imersa há muito tempo na água, inalação de água ou aerossol (FAINE et al., 1999; KHALILI et al 2020).

Figura 5. Ciclo de transmissão de *Leptospira* spp.



Fonte: elaborado pelo autor baseado em Ko; Goarant; Picardeau (2009). As leptospiros podem ser transmitidas aos hospedeiros de manutenção ou acidentais de forma direta (contato com urina ou tecido de animais contaminados) e indireta (contato com água e solo contaminado).

2.8.3 Epidemiologia

A leptospirose representa uma das mais importantes zoonoses bacterianas, e é considerada pela Organização Mundial da Saúde uma doença infecciosa emergente ou reemergente de ampla distribuição mundial, pois afeta mais de um milhão de pessoas com 59.000 mortes ao ano (COSTA et al., 2015; KHALILI et al 2020). As maiores estimativas de morbidade e mortalidade da doença foram observadas nas regiões sul e sudeste da Ásia, Oceania, Caribe, Andina, América Central, América do sul e leste da África Subsaariana, com taxas de 48% do total de casos e 42% do total de óbitos (COSTA et al., 2015).

Mesmo assim, esses números são subnotificados, pois a leptospirose é geralmente diagnosticada incorretamente se confundindo com outras doenças febris, como dengue, malária e Chikungunya, especialmente nas áreas rurais onde o acesso aos serviços de saúde é limitado e a conscientização sobre a doença é baixa (POLO et al., 2019; WHO, 2003). O Brasil é o país com o maior número de casos notificados; no período de 2003 a 2018 houve registros de casos em todas as regiões do país, com uma média de 3.693 casos por ano e incidência média de 1,95 casos por 100 mil habitantes com taxa de 10% de mortalidade. Os maiores registros de casos ocorreram nas regiões

Sul e Sudeste, embora as maiores incidências tenham ocorrido nas regiões Norte e Sul (BRASIL, 2019b).

Sabe-se que o contato acidental com a urina de animais infectados por diferentes sorovares de *Leptospira* causa a infecção e pode produzir a doença. Além desse, outros fatores podem favorecer a infecção humana, dentre eles: fatores climáticos, alta população de reservatórios, exposição ocupacional, atividades recreativas e circunstâncias socioeconômicas (BERTELLONI et al., 2019; BHARTI et al., 2003; LAU et al., 2010). As condições climáticas influenciam fortemente a transmissão de leptospirosas que exige condições quentes e úmidas para a sua sobrevivência e consegue persistir por semanas a meses após sua excreção na água ou no solo úmido (MWACHUI et al., 2015).

Estudos epidemiológicos demonstraram que existe um aumento nas taxas de leptospirose após eventos climáticos extremos como chuvas fortes e inundações com maior incidência nas zonas tropicais, subtropicais e temperadas, principalmente em países da a China (REN et al., 2005), França (BARANTON; POSTIC, 2006), Filipinas (PROMED, 2009) Brasil (KUPEK; SOUSA SANTOS FAVERSANI; SOUZA PHILIPPI, 2000), Trinidad e Tobago (MOHAN et al., 2009), Polinésia Francesa (COUDERT et al., 2007). Há relatos sobre o risco de infecção relacionado à exposição à água de enchente, lama ou solo úmido; contudo, esses eventos variam de região para região e, em alguns casos, mostram variação sazonal (HAGAN et al., 2016).

Em ambientes urbanos, grandes quantidades de água de enchente sobrecarregam os sistemas de esgoto e propiciam a disseminação e persistência das leptospirosas no meio, ocasionando os surtos por via hídrica, destacando os casos ocorridos no Acre em 2014 (1222 casos), Santa Catarina em 2008 (934 casos) e Pernambuco em 2000 (851 casos). No primeiro semestre de 2019 foram confirmados 434 casos em humanos no Rio Grande do Sul (BASIL, 2014; BRASIL, 2019c).

Uma consequência adicional das inundações é que ratos e animais domésticos podem ser forçados a buscar refúgio nos mesmos locais que os humanos, e desta forma, aumenta a probabilidade do contato com animais infectados. Nas áreas rurais sob condições de inundação onde o habitat seco é escasso, os animais silvestres podem invadir o ambiente peridoméstico, e contribuir ainda mais com o ciclo ambiental da *Leptospira* (BARRAGAN et al., 2016, 2017).

Nesse contexto, as chuvas, inundações e desastres naturais podem influenciar na densidade da população de animais devido à dispersão de lixo e detritos nos ambientes, e assim, resultar em um aumento na disponibilidade de alimentos ocasionando a proliferação de roedores e outros animais que mantêm a bactéria (COOK et al., 2008; LAU et al., 2010). Entretanto, a diminuição da precipitação pode eliminar as fontes de alimentos e forçar os roedores a procurar alimentos nos “habitats” humanos, aumentando, assim o contato com as pessoas (LAU et al., 2010).

A leptospirose demonstrou estar associada à exposição a animais e nas áreas rurais onde a agricultura é proeminente, mamíferos como bovinos, suínos, caprinos e cães são hospedeiros em potencial (FERNANDES et al., 2013, 2018). Os cães podem se infectar quando encontram água ou urina infectada por leptospiras e tem grande importância na transmissão ao homem em função do contato estreito e podem ser uma importante fonte de infecção por excretar leptospiras na urina por longos períodos. Esses animais são considerados sentinelas, pois refletem a contaminação ambiental (FERNANDES et al., 2018; GAY; SOUPÉ-GILBERT; GOARANT, 2014).

As atividades ocupacionais também expõem os humanos à infecção de forma direta e indireta. A exposição direta ocorre com menor frequência e geralmente envolve ocupações que requerem interação com animais potencialmente infectados ou com o próprio patógeno (HAAKE; LEVETT, 2015). Essas atividades incluem os fazendeiros, veterinários e trabalhadores de matadouros (DREYFUS et al., 2015; GARCIA-RAMIREZ et al., 2015; SOO; KHAN; SIDDIQUI, 2020; SUWANPAKDEE et al., 2015; WASÍŃSKI; DUTKIEWICZ, 2013). Os agricultores, pescadores, mineiros, militares, limpadores de esgoto, bombeiros, coletores de lixo se expõem indiretamente à bactéria por meio de água, solos e alimentos contaminados (BRIGHTMAN, 2018; GOARANT, 2016; SILVA et al., 2014).

Outra possibilidade de o humano se infectar é por meio de atividades recreativas, principalmente os esportes aquáticos (natação, canoagem, caiaque, *rafting* e triatlos), assim como atividades de ciclismo, caminhada, corrida deixam os participantes suscetíveis à infecção ao se deparar com *Leptospira* spp. no ambiente (SOO; KHAN; SIDDIQUI, 2020). A infecção nesse caso pode ser acidental por meio de lesões na pele, exposição prolongada à água; consumo e inalação de água ou aerossol (POLACHINI; FUJIMORI, 2015).

Estudos demonstraram que a incidência de leptospirose em humanos está diretamente associada à baixa condição socioeconômica e precárias condições de infraestrutura e serviços. Essa situação ocorre mais em populações de países subdesenvolvidos (VASCONCELOS et al., 2012). No âmbito sociodemográfico, estudos apontaram maior incidência de leptospirose em adultos de 20 a 29 anos do sexo masculino, mas a infecção pode acometer ambos os sexos de qualquer idade, pois depende da exposição ao agente. Outro fator relevante de infecção por leptospirosas está relacionado ao nível de escolaridade, pois quanto menor, maior é a falta de conhecimento sobre medidas de prevenção (COSTA et al., 2015; TORGESRSON et al., 2015).

Existe risco de transmissão de *Leptospira* via transfusão sanguínea, porém apenas um caso na Índia foi relatado (NEDUNCHELLIYAN; VENUGOPALAN, 1997). Um estudo realizado por Bolin e Koellner (1988), relatou a transmissão por meio do leite materno. Esses autores relataram um caso de leptospirose anictérica na mãe e no bebê e concluíram que a provável via de transmissão foi a amamentação. Em outro estudo, Chung e colaboradores (1963), isolaram leptospirosas de leite materno humano, líquido amniótico, placenta e sangue do cordão umbilical o que mostra o risco de transmissão transplacentária (KOE et al., 2014). A frequência de anticorpos anti-*Leptospira* encontradas no Brasil está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3- Frequência (%) de anticorpos anti-*Leptospira* em humanos no Brasil.

Região/Estado	Nº amostral	Frequência	Teste/ ponto de corte	Sorovares	Referência
Norte					
Manaus	43/1000	4,3%	MAT ^a (200)	Icterohaemorrhagiae, Cynopteri, Australis Copenhageni, Patoc Canícola, Tarassovi Autumalis, Pyrogenes.	Silva et al. (2016)
Nordeste					
Pernambuco	8/154	5,68%	SAM ^b (100)	Australis, Autumnalis, Grippotyphosa e Wolffii.	Silva et al. (2014)
Sudeste					
Minas Gerais	301/597	50,4%	MAT (100)	Icterohaemorrhagiae, Andamana, Patoc, Tarassovi, Copenhageni, Hardjo, Australis.	Oliveira et al. (2017)
Centro-oeste					
Mato Grosso do sul	54/439	12,3%	SAM (100)	Gryppytyphosa, Australis, Tarassovi, Icterohaemorrhagiae, Cuica, Panama, Hardjo, Canicola, Copenhageni, Bataviae, Javanica, Shermani.	Souza et al (2007)
Sul					
Paraná	25/207	12,1%	MAT (100)	Hardjo, Castellonis, Grippotyphosa, Australis, Pomona, Shermani.	Gonçalves et al. (2013)

^a Teste de Aglutinação Microscópica; ^b Técnica de Soroaglutinação Microscópica.

Em ambientes insulares, as vias de transmissão de *Leptospira* em humanos e animais são pouco documentadas, especialmente nas ilhas mais isoladas e menos desenvolvidas. Recentemente, uma revisão sistemática constatou que a Oceania foi a região mais impactada pela leptospirose em humanos no que se refere à morbidade (150,68 casos por 100.000 habitantes / ano) e mortalidade (9,61 mortes por 100.000 habitantes / ano) (COSTA et al., 2015).

Nas ilhas do Caribe, a incidência de infecção por leptospiras aumenta com a idade sendo maior no sexo masculino particularmente em pessoas acima dos 35 anos, mas algumas ilhas como Barbados e Trinidad apresentaram soropositividade em crianças

(7-14 anos). Os fatores de risco detectados foram atividades recreativas (andar descalço), contato com animais e solo contaminado (EVERARD et al., 1989, 1992). Por não ser uma enfermidade frequentemente diagnosticada, alerta-se o caso de negligência (RODRIGUES et al., 2017).

Os motivos que dificultam a notificação de casos em humanos são: indisponibilidade de diagnóstico laboratorial, falta de conhecimento médico e sintomas inespecíficos que se sobrepõem a muitas outras doenças infecciosas tropicais, especialmente infecções por arbovírus (GUERNIER et al., 2018).

Relatórios recentes confirmam que a leptospirose em algumas ilhas do Pacífico é associada ao rápido crescimento populacional e a urbanização que exacerbam os problemas com o saneamento, o acesso à água limpa e a gestão de resíduos (LAU et al., 2016). A maioria das ilhas possui recursos humanos ou financeiros limitados para o gerenciamento e mitigação dos impactos na saúde, desastres naturais e mudanças climáticas (GERO et al., 2014; LAU et al., 2016).

Os principais fatores de risco associados à leptospirose na população humana de ambientes insulares foram documentados em 25 ilhas do Pacífico, incluindo cinco na Melanésia, oito na Micronésia, dez na Polinésia, Ilhas de Páscoa e Havaí. Nessas ilhas, a doença esteve associada às atividades ocupacionais (agricultores, jardinagem, abatedouros de animais), exposição recreativa (caça, pesca, natação e andar descalço em água doce), falta de água tratada, saneamento e infraestrutura, além de riscos ambientais (ciclones e inundações), baixa condições socioeconômicas e contato com animais (GUERNIER et al., 2018).

Na Ilha da Reunião, localizada no Oceano Índico, o fator de risco para leptospirose em humanos está associado ao contato com animais domésticos e selvagens (GUERNIER et al., 2016). Diferentes ilhas identificaram anticorpos anti-*Leptospira* spp. em uma variedade de animais (DESVARS et al., 2012; GUERNIER et al., 2016; LAGADEC et al., 2012; LAU et al., 2016; PETERS et al., 2017). No Brasil, na ilha de Fernando de Noronha foi reportada a soropositividade em 12,7% dos roedores, 28,7% dos bovinos e 10,1% dos cães, com ocorrência dos sorovares: Icterohaemorrhagiae, Djasiman, Bratislava, Copenhageni, Grippotyphosa e Autumnalis (ANDRADE FILHO, 2012; MORAIS et al., 2018). Animais silvestres como morcegos e veados também foram identificados como carreadores de *Leptospira* em ambientes insulares

(DIETRICH et al., 2014; SAVILLE et al., 1996). As taxas de frequência de anticorpos anti-*Leptospira* encontradas em ambientes insulares estão representadas na Tabela 4.

Tabela 4- Frequência (%) de anticorpos anti-*Leptospira* em humanos nos ambientes insulares

País/Ilhas	Nº amostral	Frequência	Teste/corte	Sorogrupo/Sorovares	Referência
Caribe					
Ilhas Barbados	66/528	12,5%	MAT ^a (50)	Panama, Autumnalis Icterohaemorrhagiae, Canicola, Pyrogenes, Hebdomadis, Ballum, Bataviae.	Everard et al. (1989)
Ilha Trinidad	53/558	9,5%	MAT (50)	Panama, Autumnalis Icterohaemorrhagiae Canicola Pyrogenes Hebdomadis, Bataviae Grippotyphosa Tarassov	Everard et al. (1989)
Ilhas Trinidad e Tobago	15/212	7,1%	MAT (20)	Icterohaemorrhagiae Copenhageni, Sejroe, Sejroe Saxkoebing,	James et al. (2013)
	43/212	20,3%	ELISA ^b	Ballum, Bataviae, Australis	
EUA					
Ilha Oahu	7/488	1,4%	MAT (100)	Australis, Autumnalis, Bratislava, Icterohaemorrhagiae, Copenhageni	Lettieri et al. (2004)
Fiji					
Ilha Fiji	417/2152	19,4%	MAT (50)	Pohnpei, Australis, Canicola, Copenhageni, Hardjo, Ballum	Lau et al. (2016)
França					
Ilha Mayotte	196/2523	7,8%	MAT (100)	Mini, Sejroe Hebdomadis, Pyrogenes Grippotyphosa, Pomona, Ballum	Bourhy et al. (2012)
Índia					
Ilha Andaman	129/1181	10,9%	MAT (100)	Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Sejroe, Pomona, Australis, Hebdomadis, Pyrogenes, Autumnalis	Vimal Raj et al. (2018)
Vanuatu					
Ilha Vanuatu	15/130	11,5%	MAT (100)	Australis Panama, Pyrogenes, Louisiana Icterohaemorrhagiae	Pakoa et al. (2018)

^aTeste de Aglutinação Microscópica; ^bEnsaio Imunoenzimático.

2.8.4 Sinais Clínicos e Diagnóstico

A apresentação clínica da leptospirose varia de uma infecção assintomática a quadros clínicos graves. Em geral, os sintomas iniciais ocorrem dentro de 5 a 14 dias após a infecção. O quadro clínico é bifásico, composto pela fase septicêmica ou leptospiremia caracterizada por multiplicação das leptospiras no sangue e em outros tecidos do hospedeiro. As manifestações iniciais são febre, calafrios, dor de cabeça, anorexia, mialgia grave, náuseas, pode ocorrer diarreia, hiperemia ou hemorragia conjuntival, tosse seca e dor ocular; esses sintomas são autolimitantes, duram uma semana e correspondem a 85% a 90% dos casos (ALDER; MOCTEZUMA, 2010; PICARDEAU, 2013). Cerca de 5 a 15% dos pacientes podem evoluir para fase imune ou leptospirúria determinada pela produção de anticorpos e liberação de leptospiras na urina. Os sintomas nesta fase são cefaleia intensa, vômitos, pneumonia, meningite e uveíte e a principal manifestação é a Síndrome de Weil com a tríade clássica (icterícia, disfunção renal e hemorragia), além de hemorragia pulmonar, insuficiência respiratória, falência hepática, arritmia cardíaca, colapso circulatório, distúrbios eletrolíticos, pancreatite, anemia e distúrbios neurológicos (ALDER; MOCTEZUMA, 2010; BHARTI et al., 2003; SILVA JUNIOR et al., 2018).

A gravidade da leptospirose está associada ao sorovar envolvido (Ex: Grippotyphosa: síndrome da gripe, Icterohaemorrhagiae: forma icterica) e à intensidade da resposta imune humoral do hospedeiro (DAHER et al., 2010; TURNIER; EPELBOIN, 2019). Os pacientes imunocomprometidos (HIV) demonstraram manifestações clínicas semelhantes às que ocorrem em hospedeiros imunocompetentes (GONOZA et al., 2005) e mulheres gestantes que adquirem leptospirose apresentam risco significativo de aborto (TURNIER; EPELBOIN, 2019).

Diversos testes podem ser utilizados para diagnosticar a leptospirose como o isolamento de leptospiras em amostras de sangue, líquido cefalorraquidiano, urina e outros fluídos ou tecidos corporais. Esse procedimento requer que as amostras sejam coletadas na primeira semana de sintomatologia e semeadas em meios de cultura seletivos. É uma técnica laboriosa e o resultado é retrospecto devido ao lento crescimento da *Leptospira*; para a visualização da bactéria utiliza-se microscopia de campo escuro ou microscopia de fluorescência (BLANCO; CASSIOLATO; ROMERO, 2015; SCHULLER et al., 2015). Técnicas histopatológicas e imunohistoquímica

também são empregadas (LEVETT, 2001; VERONESI; FOCACCIA, 2009). Na prática, a cultura e inoculação não são técnicas relevantes para o diagnóstico de rotina e foram substituídas por técnicas moleculares que são mais rápidas, incluindo a PCR convencional ou PCR tempo real; apesar da sensibilidade elevada, essas técnicas não avaliam o sorogrupo responsável pela infecção (WOODS et al., 2018).

As técnicas sorológicas são recomendadas para detecção de anticorpos contra *Leptospira* em estudos epidemiológicos, identificação de sorogrupos e avaliação de sorogrupo. Os testes sorológicos mais indicados são: Ensaio Imunoenzimático (ELISA-IgM) e o Teste de Aglutinação Microscópica (MAT) (BLANCO; ROMERO, 2014). O teste ELISA-IgM é um método de triagem, gênero-específico que detecta anticorpos IgM e IgG mais precocemente que o MAT, a partir do sexto dia após o início dos sintomas, apresenta sensibilidade (>90%) e especificidade (95-99%). Ambas as técnicas necessitam de amostras coletadas em duplicata com intervalo de tempo da segunda amostra entre 7 a 10 dias para observar a soroconversão (HARTSKEERL; COLLARES-PEREIRA; ELLIS, 2011; WHO, 2003).

O MAT é um método considerado padrão-ouro e recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e fornece o provável sorogrupo infectante. Esse teste baseia-se na aglutinação do soro do paciente com antígenos de *Leptospira*. Após a incubação, a reação soro-antígeno é observada em microscopia de campo escuro, e considera-se a reação positiva se pelo menos 50% das leptospiras estiverem aglutinadas em comparação a um antígeno controle (BLANCO; CASSIOLATO; ROMERO, 2015; AL-ORRY et al., 2016). Essa técnica é laboriosa e requer a manutenção das leptospiras vivas de diferentes sorovares, dessa forma, necessita de um operador especializado e treinado para evitar riscos de infecção. Diante do exposto, o teste mais utilizado na rotina laboratorial é sorológico rápido devido a quantidade de exames.

Para determinar o sorotipo específico é necessário utilizar pelo menos um sorovar pertencente a cada sorogrupo priorizando os mais comuns na região estudada. Os resultados falso-negativos ocorrem quando algum sorogrupo não está incluído entre os sorovares testados (AL-ORRY et al., 2016). Existe a possibilidade de reações cruzadas entre sorovares semelhantes antigenicamente, e neste caso a confirmação do diagnóstico será determinada pelo sorovar que apresentar o maior título (ADLER; MOCTEZUMA, 2009). Geralmente, os pacientes infectados apresentam títulos a partir

de 100. O MAT apresenta uma boa especificidade (>90%) e sensibilidade (90%) (AVILA et al., 1998; HARTSKEERL; COLLARES-PEREIRA; ELLIS, 2011).

Para o acompanhamento clínico de pacientes suspeitos ou infetados por leptospiras alguns exames são primordiais na diferenciação de outras doenças e avaliação da gravidade do caso, entre eles o sumário de urina, hemograma, coagulograma, transaminases, bilirrubinas, creatinofosfoquinase (CPK), ureia, creatinina, eletrólitos, gasometria, radiografia de tórax e eletrocardiograma, ultrassonografia e gasometria arterial (BRASIL et al., 2014).

Técnicas de tipificação molecular como PFGE (*Pulsed field gel electrophoresis*), RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) e MLST (*Multi Locus Sequence Typing*), auxiliam na identificação em nível de espécie em estudos soroepidemiológicos para diferenciar os grupos patogênicos dos saprófitas (AHMED et al., 2006; CERQUEIRA; PICARDEAU, 2009; PEROLAT et al., 1993; WENJUN et al., 2009).

2.8.5 Controle e Prevenção

Controlar a infecção por leptospiras é difícil devido à variedade de sorovares infectantes e as vias de transmissão. Diante disso, estudos epidemiológicos são essenciais para implementar estratégias de controle local. Geralmente, as formas de controlar e prevenir a infecção por *Leptospira* em pessoas e animais se baseiam na redução da população de roedores com medidas de anti-ratização e desratização, melhorias no saneamento e no gerenciamento de resíduos alimentares que geralmente são eficazes para limitar a proliferação de roedores, reduzindo a contaminação ambiental como também o número de casos de infecção (FARRAR, 1995).

Medidas protetivas como a vacinação em animais domésticos e de produção contra a leptospirose reduz a disseminação das leptospiras, sendo importante ressaltar que a vacina não oferece 100% de proteção porque existem muitas cepas de leptospiras e a vacina não fornece imunidade contra todas, mas deve-se fazer imunização periódica com os sorovares prevalentes na região (CDC, 2018).

Profissionais em risco devem usar equipamentos de proteção (luvas, botas e máscaras), evitar contato com urina animal, fazer uso de quimioprofilaxia e vacina na população de alto risco (GOARANT, 2019). No entanto, as vacinas com sorotipos

específicos para seres humanos estão disponíveis apenas em alguns países (SOO; KHAN; SIDDIQUI, 2020). Fazer a educação em saúde com a população sobre os riscos e o impacto da leptospirose é essencial para mudanças de comportamento e favorece medidas de prevenção e controle (BRASIL et al., 2010b).

No tratamento da leptospirose humana empregam-se antibióticos como doxiciclina, ampicilina que são eficientes e devem ser administrados no início do curso da doença. Em casos graves como pneumonia e quadros hemorrágicos faz-se o uso de antibióticos intravenosos como penicilina (CDC, 2018).

3. REFERÊNCIAS

ADL, S.M. *et al.* The Revised Classification of Eukaryotes. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v.59, n.5, p.429-493, 2012.

ADLER, B. History of leptospirosis and *Leptospira*. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.387, p.1–9, 2015.

ADLER, B.; DE LA PEÑA MOCTEZUMA, A. *Leptospira* and leptospirosis. **Veterinary Microbiology**, v. 140, n. 3–4, p.287–296, 2010.

AHMAD, A.F. *et al.* Current status of parasitic infections among Pangkor Island community in Peninsular Malaysia. **Tropical Biomedicine**, v.31, p.836–843, 2014.

AHMED, N. *et al.* Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v.5, p.28, 2006.

ALI-HEYDARI, S. *et al.* Diagnosis of antigenic markers of acute toxoplasmosis by IgG avidity immunoblotting. **Parasite**, v.20, n.18, 2013.

ALOISE, D.A. *et al.* Seroprevalence and risk factors for human toxoplasmosis in northeastern Brazil. **Revista de Patologia Tropical**, v.46, n.4, p.307, 2017.

AL-ORRY, W. *et al.* Leptospirosis: transmission, diagnosis and prevention. **International Journal of Innovation and Applied Studies**, v.15, n.3, p. 457–467, 2016.

ALVARADO-ESQUIVEL, C. *et al.* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in rural Durango, Mexico. **Journal of Parasitology**, v.95, n.2, p.271-4, 2009.

ANDRADE FILHO, G.V. **Inquérito sorológico da leptospirose em cães da Região Metropolitana do Recife e da Ilha de Fernando de Noronha, PE.** 2012. Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina Veterinária, Recife, 2012.

ARAÚJO, A.C. *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Toxocara canis* in a human rural population of Southern Rio Grande Sul. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.60, e.28.p. 1-7, 2018.

ASTHANA, S.P. *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in pregnant women and cats in Grenada, West Indies. **Journal of Parasitology**, v. 92, n.3, p.644-645, 2006.

AVELAR, J.B. *et al.* Epidemiological factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in postpartum women treated in the public healthcare system of goiânia, state of Goiás, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, p. 57–62, 2018.

AVELAR, M.V. *et al.* Association between seroprevalence of IgG anti-*Toxoplasma gondii* and risk factors for infection among pregnant women in climério de oliveira maternity, Salvador, Bahia, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v.59, 2017.

AVELINO, M.M. *et al.* Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of childbearing age. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.8, p.164-74, 2004.

ÁVILA, M.O. *et al.* Leptospiral agglutinins in dogs, in the influence area of the center for control of zoonosis, Pelotas city, RS, Brazil. **Ciência Rural**, v. 28, p. 107-110, 1998.

BAHIA-OLIVEIRA, L.; GOMEZ-MARIN, J.; SHAPIRO, K. *Toxoplasma gondii*. In: ROSE, J.B.; JIMÉNEZ-CISNEROS, B. editors. **Global Water Pathogen Project**, Michigan State University, E. Lansing, MI, UNESCO. 2017.

BAHIA-OLIVEIRA, L.M. *et al.* Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. **Emerging Infectious Diseases jornal**, v.9, n.1, p.55-62, 2003.

BARANTON, G.; POSTIC, D. Trends in leptospirosis epidemiology in France. Sixty-six years of passive serological surveillance from 1920 to 2003. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 10, n. 2, p. 162–170, 2006.

BARRAGAN, V. *et al.* Critical knowledge gaps in our understanding of environmental cycling and transmission of *Leptospira* spp. **Applied and Environmental Microbiology**, v.83, n.19, p.1–10, 2017.

BARRAGAN, V. *et al.* High *Leptospira* Diversity in Animals and Humans Complicates the Search for Common Reservoirs of Human Disease in Rural Ecuador. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.10, n.9, p. e0004990, 2016.

BASTIEN, M. *et al.* High density of fox and cat faeces in kitchen gardens and resulting rodent exposure to *Echinococcus multilocularis* and *Toxoplasma gondii*. **Folia parasitologica**, v.65, p.002, 2018.

BATET, C.M. *et al.* Toxoplasmosis y embarazo. Estudio multicéntrico realizado en 16.362 gestantes de Barcelona. **Medicina Clínica**, v.123, n.1, p.12-6, 2004.

BENITEZ, A. *et al.* Leptospirose em cães errantes encontrados em campus universitário: avaliação sorológica e exame direto de urina. **Semina Ciências Agrárias**, v. 31, n.1, p.191-196, 2010.

BERTELLONI, F. *et al.* Epidemiology of leptospirosis in North-Central Italy: Fifteen years of serological data (2002–2016). **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.65, p.14–22, 2019.

BHARTI, A.R. *et al.* Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **The Lancet Infectious Diseases**, v.3, n. 12, p.757–771, 1 dez. 2003.

BLANCO, R.M.; ROMERO, E.C. Evaluation of nested polymerase chain reaction for the early detection of *Leptospira* spp. DNA in serum samples from patients with leptospirosis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v.78, n.4, p.343-346, 2014.

BLANCO, R.M.; CASSIOLATO, A.P.; ROMERO, E.C. Avaliação do teste de aglutinação microscópica utilizando-se como antígeno leptospiras saprófitas para o diagnóstico da leptospirose humana. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.74, n.2, p. 90, 2015.

BOURHY, P. *et al.* Human *Leptospira* Isolates Circulating in Mayotte (Indian Ocean) Have Unique Serological and Molecular Features. **Journal of Clinical Microbiology**, v.50, n.2, p.307–311, 1 fev. 2012.

BRASIL. Boletim Epidemiológico. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Vigilância em Saúde no Brasil 2003|2009: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais**. Boletim Epidemiológico, v(n.esp.) n. 50, 2019b. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>. Acesso em: 15, set 2019. p. 1–154.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais Peçonhentos. **Manual de Leptospirose**. 2ª ed., Brasília, 1995.

BRASIL. 2017. Ministério da Saúde. **Sala de Apoio à Gestão Estratégica - SAGE**,1p. Disponível em: <<http://sage.saude.gov.br/#>>. [Accessed online in January 2018].

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças Transmitidas por Vetores De Zoonoses. **Intensificação na vigilância da leptospirose- Rio de Janeiro: Alerta leptospirose 001/2019**. p. 1–6, 2019a. Disponível em: <http://www.epi.uff.br/wp-content/uploads/2019/04/Alerta-Leptospirose-Abril-2019.pdf>.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Leptospirose: diagnóstico e manejo clínico Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis**. – Brasília : Ministério da Saúde, 2014. Disponível em <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/leptospirose-diagnostico-manejo-clinico2.pdf> . Acesso em: 15, Julh 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Doenças infecciosas e parasitárias : guia de bolso**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 8. ed. rev. – Brasília : Ministério da Saúde, 2010b, 444 p.

BRASIL. Sistema de informação de agravos de notificação - SINAN. **Casos confirmados de Leptospirose. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas - 2000 a 2019**. 2019c. Disponível em: <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/>

2019/maio/20/Casos-Leptospirose-2000-2019.pdf. Acessado em 04 dez 2019.

BRIGHTMAN, C. Leptospirosis: a leisure and occupational hazard. **Trends Urology & Men Health**, v.9, p.29-31, 2018.

CÂMARA, J.T.; SILVA, M.G.; CASTRO, A.M. Prevalence of toxoplasmosis in pregnant women in two reference centers in a city in Northeast Brazil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.37, n.2, p.64–70, 2015.

CAMERON, C.E. Leptospiral Structure, Physiology, and Metabolism. In: Adler B. (eds) *Leptospira* and Leptospirosis. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.387, p.21-41, 2015.

CARMO E.L. *et al.* Soroepidemiologia da infecção pelo *Toxoplasma gondii* no município de Novo Repartimento, Estado do Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.7, n.4, p.79-87, 2016.

CARMO, E.L. *et al.* Surto de toxoplasmose humana no Distrito de Monte Dourado, Município de Almeirim, Pará, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.1, n.1, p.61- 66, 2010.

CARRUTHERS, V.B.; TOMLEY, F.M. Microneme proteins in apicomplexans. **Subcellular Biochemistry**, v.47, p.33–45, 2008.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), **Division of High-Consequence Pathogens and Pathology (DHCPP)**, Centers for Disease Control and Prevention-CDC. 2018. Disponível em: <https://www.cdc.gov/leptospirosis/treatment/index.html>. Acesso em 03, jan 2020.

CERQUEIRA, G.M.; PICARDEAU, M. A century of *Leptospira* strain typing. **Infection, Genetics and Evolution**, v.9, n.5, p. 760–768, 1 set. 2009.

CHACÍN-BONILLA, L. *et al.* Prevalence of human toxoplasmosis in San Carlos Island, Venezuela. **Interciencia**, v.28, p.457–462, 2003.

CHIANG, T.Y. *et al.* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* Infection among healthy blood donors in Taiwan. **Plos One**, v.7, n.10, e48139, 2012.

CHOI, W.Y. *et al.* Foodborne Outbreaks of Human Toxoplasmosis. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 175, n. 5, p.1280–1282, 1997.

CLEMENTINO ANDRADE, M.M. *et al.* New genotypes of *Toxoplasma gondii* obtained from farm animals in Northeast Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.94, p.587–589, 2013.

CONRAD, P.A.; MILLER, M.A.; KREUDER, C. Transmission of *Toxoplasma*: clues from the study of sea otters and sentinels of *Toxoplasma gondii* flow into the marine environment. **International Journal for Parasitology**, v. 35, p.1155 – 1168, 2005.

CONTOPOULOS-IOANNIDIS, D.; MONTOYA, J.G. (Toxoplasmosis). In: LONG, S.S.; PROBER, C.G.; FISCHER, M. Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases. 5 ed. Philadelphia: **Elsevier**, v. 273, p.1352-1364. 2018.

COOK, A. *et al.* Natural disasters and their long-term impacts on the health of communities. **Journal of Environmental Monitoring**, v. 10, p.167-175, 2008.

COOK, A.J.C. *et al.* Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. **British Medical Journal**, v.321, n.7254, p.142–147, 2000.

COSTA, D.G.C. *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. **Journal of Parasitology**, v.98, n.3, p.679-80, 2012.

COSTA, F. *et al.* Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.9, n.9, p.0–1, 2015.

COSTA, G.B. *et al.* Infectious diseases during pregnancy in Brazil: seroprevalence and risk factors. **Journal of Infection in Developing Countries**, v.12, n.8, p.657–65, 2018.

COSTA, T.L. *et al.* *Toxoplasma gondii*: toxoplasmosose com ênfase no diagnóstico. **Revista de Patologia Tropical**, v.37, n.3, p.191-207, 2008.

COUDERT, C. *et al.* Human leptospirosis in French Polynesia. Epidemiological, clinical and bacteriological features. **Medicina Tropical**, v.67, p. 137-144, 2007.

DAHER, E.F. *et al.* Clinical presentation of leptospirosis: a retrospective study of 201 patients in a metropolitan city of Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.14, n.1, p.3-10, 2010.

DARDÉ, M.L.; BOUTEILLE, B.; PESTRE-ALEXANDRE, M.; Isoenzymic characterization of seven strains of *Toxoplasma gondii* by isoelectrofocusing in polyacrylamide gels. **American Journal of Tropical and Medical Hygiene**, v. 39, p. 551–558. 1988.

DESMONTS, G. *et al.* epidemiologique sur la toxoplasmose: de l'influence de la cuisson des viandes de boucherie sur la fréquence de l'infection humaine. **Rev Fr Etudes Clin Biol**, v.10, p.952-958, 1965.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of Clinical Microbiology**, v.11, p.562–568, 1980.

DESVARS, A. *et al.* Similarities in *Leptospira* serogroup and species distribution in animals and humans in the Indian ocean island of Mayotte. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 1, p. 134–140, 2012.

DIAS, R.A. *et al.* Prospects for domestic and feral cat management on an inhabited tropical island. **Biological Invasions**, v. 19, n.8, p.2339–53, 2017.

DIETRICH, M. *et al.* Diversification of an emerging pathogen in a biodiversity hotspot: *Leptospira* in endemic small mammals of Madagascar. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 11, p.2783–2796, 2014.

DJURKOVIĆ-DJAKOVIĆ, O. *et al.* Toxoplasmosis: Overview from a One Health perspective. **Food and Waterborne Parasitology**, v. 15, p. 12–15, 2019.

DOHERTY, T.S. *et al.* Invasive predators and global biodiversity loss. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.113, n. 40, p.11261-11265, 2016.

DREYFUS, A. *et al.* Sero-Prevalence and Risk Factors for Leptospirosis in Abattoir Workers in New Zealand. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 2, p. 1756–1775, 5 fev. 2014.

DUBEY, J.P. A review of toxoplasmosis in wild birds. **Veterinary Parasitology**, v.106 n.3, p. 121-153, 2002.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, p.3–31, 1998b.

DUBEY, J.P. *et al.* Molecular and biological characterization of first isolates of *Hammondia hammondi* from cats from Ethiopia. **The Journal of Parasitology**, v. 99, n. 4, p.614–8, 2013.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1-2, p. 57-72, 2004.

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

DUBEY, J.P.; SU, C. Population biology of *Toxoplasma gondii* what's out and where did they come from. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 104, n. 2, p. 190- 195, 2009.

DUBEY, J.P. *et al.* 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. *et al.* Toxoplasmosis in the Caribbean islands: literature review, seroprevalence in pregnant women in ten countries, isolation of viable *Toxoplasma gondii* from dogs from St. Kitts, West Indies with report of new *T. gondii* genetic types. **Parasitology Research**, v.115, p.1627–34, 2016.

DUBEY, J.P. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 39, p.877–882, 2009a.

DUBEY, J.P. Re-examination of resistance of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites to pepsin and trypsin digestion. **Parasitology**, v.116 p.43-50,1998a.

DUBEY, J.P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animais and humans. **Veterinary Parasitology**, v.64, n.1-2, p.65-70, 1996.

DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. **Journal of Parasitology**, v.84, p.862–865, 1998c.

DUBEY, J.P. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*, **CRC Press**, Boca Raton, Florida, 2010.

DUBEY, J.P.; JONES, J.L. *Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States. **International Journal for Parasitology**, v. 38, p.1257–1278, 2008.

DUTRA, L.H. *et al.* **Investigação de surto de toxoplasmose transmitido pelo consumo de açaí em Rondônia, Brasil, 2011**. Anais da 12^a EXPOEPI: mostra nacional de experiências bem-sucedidas em epidemiologia, prevenção e controle de doenças; nov 16-19; Brasília, Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde. p.108-9, 2012.

EFSA. Surveillance and monitoring of *Toxoplasma* in humans, food and animals; scientific opinion of the panel on Biological hazards. **The EFSA Journal**, v. 583, p.1-64, 2007.

EL BISSATI, K. *et al.* Global initiative for congenital toxoplasmosis: an observational and international comparative clinical analysis. **Emerging microbes & infections**, v.7, n.1, p.165, 2018.

ELLIS, W.A. Animal Leptospirosis. In: Adler B. (eds) *Leptospira* and Leptospirosis. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 387, p.99-137, 2015.

ERTUG, S. *et al.* Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. **BMC Public Health**, v.5, p.66, 2005.

ESCH, K.J.; PETERSEN, C.A. Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. **Clinical Microbiology Reviews**, v.26, p.58–85, 2013.

ESTEBAN-REDONDO, I. *et al.* Detection of *T. gondii* in tissues of sheep and cattle following oral infection. **Veterinary Parasitology**, v.86, n.3, p.155-171, 1999.

EVANGELISTA, K.V.; COBURN, J. *Leptospira* as an emerging pathogen: a review of its biology, pathogenesis and host immune responses. **Future Microbiology**, v. 5, pp. 1413-1425, 2010.

EVERARD, C.O. *et al.* Leptospiral infection in school-children from Trinidad and Barbados. **Epidemiology and Infection**, v.103, n.1, p.143-56, 1989.

FAINE, S. *et al.* **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MediSci, 2000.

FAINE, S. *et al.* **Leptospira and leptospirosis**. MediSci, Melbourne, 2. ed., 272p. 1999.

FAINE, S.; STALLMAN, N.D. Amended descriptions of the genus *Leptospira* Noguchi 1917 and the species *L. interrogans* (Stimson 1907) Wenyon 1926 and *L. biflexa* (Wolbach and Binger 1914) Noguchi 1918. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**. v.32, p.461–463, 1982.

FAN, C.K. *et al.* *Toxoplasma gondii* infection: relationship between seroprevalence and risk factors among primary schoolchildren in the capital areas of Democratic Republic of São Tomé and Príncipe, West Africa. **Parasites & Vectors**, v.5, p.141, 2012.

FAN, C.K. *et al.* *Toxoplasma gondii* infection: relationship between seroprevalence and risk factors among inhabitants in two offshore islands from Taiwan. **Acta Medica Okayama**, v.55, p.301-308, 2001.

FARRAR, E.W. Especies de *Leptospira* (Leptospirosis) IN: **Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica**, Mandell, G.; Gordon, R; Bennett, J, Cuarta Edición, p.2396-2400, 1995.

FERNANDES, A.R.F. *et al.* Soroepidemiologia da leptospirose canina na região metropolitana de Natal, estado do Rio Grande do Norte. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.3, p.226, 2013.

FERNANDES, A.R.F. *et al.* Seropositivity and risk factors for leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis in the canine population of Paraíba state, northeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.38, n.5, p.957–966, 2018.

FERNANDES, L.G. *et al.* *Leptospira* spp.: Novel insights into host–pathogen interactions. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.176, p.50- 57, 2016.

FERREIRA, A.D.E.M. *et al.* Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR RFLP. **Infection Genetics and Evolution**, v.6, n.1, p.22-31, 2006.

FLATT, A.; SHETTY, N. Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis among antenatal women in London: a re-examination of risk in an ethnically diverse population. **Journal of the European Public Health**, v. 23, n.4, p.648–652, 2013.

FLEGR, J. *et al.* Toxoplasmosis – A global threat. Correlation of latente toxplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries. **PLoS ONE**, v.9, n.3, e90203, 2014.

FOULON, W.; SEMPRINI, A. E.; DUNN, D.T. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. **British Medical Journal**, v. 321, p. 142–147, 2000.

FRAGA, T.R. *et al.* Immune evasion by pathogenic *Leptospira* strains: the secretion of proteases that directly cleave complement protein. **Journal of Infectious Diseases**, v. 209, n. 6, p.876-886, 2014.

FREITAS, C.F. *et al.* Seroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women in a city in Rio Grande do Norte State, Brazil. **Revista de Patologia Tropical**, v.46, n.2, p.147-158, 2017.

FRENKEL, J.K. Pursuing *Toxoplasma*. **Journal of Infectious Diseases**, v.122, n.6, p. 553–559, 1970.

FRENKEL, J.K. *Toxoplasma* in and around Us. **BioScience**, v.23, n.6, p.343–352, 1973.

FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. *Toxoplasma gondii* in Cats: Fecal Stages Identified as Coccidian **Oocysts**. **Science**, v.167, n.3919, p.893 – 896, 1970.

FU, C.J. *et al.* *Toxoplasma gondii* infection: seroprevalence and associated risk factors among primary school children in the capital area of the Republic of the Marshall Islands. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v.67, p.405–410, 2014.

GALAT, N.; STARODUB, N.; GALAT, V. Toxoplasmosis: Prevalence and New Detection Methods. **Foodborne Diseases**, v.14, p.79-118, 2018.

GANOZA, C.A. *et al.* Brief Report: Mild self-resolving acute leptospirosis in an HIV-infected patient in the Peruvian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.73, p.67–68, 2005.

GARCIA-RAMIREZ, L.M. *et al.* Geographical and Occupational Aspects of Leptospirosis in the Coffee-Triangle Region of Colombia, 2007-2011. **Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery**, v.10, p. 42-50, 2015.

GARRIDO, J.A. **Toxoplasmosis**. 1ª ed. Espanha, Editorial Marban, p.15 – 18, 1978.

GAY, N.; SOUPÉ-GILBERT, M.E.; GOARANT, C. Though not Reservoirs, Dogs might Transmit *Leptospira* in New Caledonia. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 4, p.4316–4325, 17 abr. 2014.

GEBREMEDHIN, E.Z. *et al.* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in women of child-bearing age in central Ethiopia. **BMC Infectious Diseases**, v.13, p.101, 2013.

GERO, A, *et al.* Disasters and Climate Change in the Pacific: Adaptive Capacity of Humanitarian Response Organizations. **Climate and Development**, v.7, p.35–46, 2014.

GOARANT, C. *et al.* *Leptospira* and Leptospirosis. In: J.B. Rose and B. Jiménez-Cisneros, (eds) **Global Water Pathogen Project**, 2019.

GOARANT, C. Leptospirosis: risk factors and management challenges in developing countries. **Research and Reports in Tropical Medicine**, v.7, p.49–62, 28 set. 2016.

GONÇALVES, D.D. *et al.* Zoonoses in humans from small rural properties in Jataizinho, Parana, Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.44, n.1, p.125–131, 2013.

GUERNIER, V. *et al.* A systematic review of human and animal leptospirosis in the Pacific Islands reveals pathogen and reservoir diversity. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.12, n. 5, p.1–21, 2018.

GUERNIER, V. *et al.* Human Leptospirosis on Reunion Island, Indian Ocean: Are Rodents the (Only) Ones to Blame? **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.10, n.6, 2016.

GUIMARÃES, E.V. *et al.* Anionic sites on *Toxoplasma gondii* tissue cyst wall: expression, uptake and characterization. **Micron**, v.38, p.651–658, 2007.

HAAKE, D.A.; LEVETT, P.N.; Leptospirose em humanos. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.387, p.65–97, 2015.

HAGAN, J.E. *et al.* Spatiotemporal Determinants of Urban Leptospirosis Transmission: Four-Year Prospective Cohort Study of Slum Residents in Brazil. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 1, p. e0004275, 2016.

HAMILTON, C.M. *et al.* *Toxoplasma gondii* in livestock in St. Kitts and Nevis, West Indies. **Parasites & Vectors**, v.8, e.166, 2015.

HARTSKEERL, R.A.; COLLARES-PEREIRA, M.; ELLIS, W.A. Emergence, control and re-emerging leptospirosis: dynamics of infection in the changing world. **Clinical Microbiology and Infection, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Basel, Switzerland**, v.17, p.494-501, 2011.

HARTSKEERL, R.A.; SMYTHE, L.D. The Role of Leptospirosis Reference Laboratories. In: Adler B. (eds) *Leptospira* and Leptospirosis. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v. 387, p.277-288, 2015.

HEDMAN, K. *et al.* Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. **Journal of Infectious Diseases**, v.159, p.736 – 40, 1989.

HERNÁNDEZ-CORTAZAR, I. *et al.* Review Toxoplasmosis in Mexico: Epidemiological Situation in Humans and Animals. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 57, n.2, p.93–103, 2015.

HILL, D.E.; DUBEY, J.P. Toxoplasmosis: Reston, Va., U.S. **Geological Survey Circular 1389**, Apêndix 1, p.84, 2014.

HONG, S.J. *et al.* Maintained seroprevalence of toxoplasmosis among the residents of Jeju island, Korea. **Korean Journal of Parasitology**, v.49, p.309-11. 2011.

HOWE, D.K.; SIBLEY, L.D. *Toxoplasma gondii* comprises of parasite three clonal lineages : correlation with human disease genotype. **Journal of Infectious Diseases**, v. 172, n.6, p. 1561–6, 1995.

HÜBENER, E.A.; REITER, H.; BEITRÄGE ZUR, A. etiologie der Weilschen Krankheit. **Deutsche Medizinische Wochenschrift**, v.41, p.1275–1277, 1915.

HUTCHISON, W.M. *et al.* O ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. **British Medical Journal**, v.4, p.806, 1969.

HUTCHISON, W.M. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. **Nature**, v.206, p.962-962. 1965.

IBGE- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Estimativas da população residente** com data de referência 10 de julho de 2019. Disponível em: <<http://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/fernando-de-noronha/panorama/>>. Acesso em: 30. Julh. 2019.

IDDAWELA, D.; VITHANA, S.M.P.; RATNAYAKE, C. Seroprevalence of toxoplasmosis and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Sri Lanka: a cross sectional study. **BMC Public Health**, v.17, p.930, 2017.

JACOBS, L.; REMINGTON, J.S.; MELTON, M.L. A resistência da forma encistada de *Toxoplasma gondii*, **Journal of Parasitology**, v.46, p.11-21, 1960.

JAMES, A. *et al.* Serological evidence of exposure to *Leptospira* spp. in veterinary students and other university students in Trinidad and Tobago. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2013, p.719049, 2013.

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

JENUM, P.A. *et al.* Diagnosis of congenital *Toxoplasma gondii* infection by polymerase chain reaction (PCR) on amniotic fluid samples. The Norwegian experience. **Acta Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica**, v.106, n.7, p.680-6, 1998.

JONES, H.P. *et al.* Invasive mammal eradication on islands results in substantial conservation gains. **PNAS**, v.113, n.15, p.4033-8, 2016.

JONES, J.L.; DUBEY, J.P. Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. **Experimental Parasitology**, v. 124, p.10-25, 2010.

JONES, J.L.; KRUSZON-MORAN, D.; WILSON, M. *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999-2000. **Emerging Infectious Diseases journal**, v.9, p.1371-1374, 2003.

JORGE, S. *et al.* Human and animal leptospirosis in Southern Brazil: A five-year retrospective study. **Travel Medicine and Infectious Disease**, v. 18, p.46–52, 201

KAWARABAYASHI, M. *et al.* Levantamento sorológico para toxoplasmose na região do Baixo-Médio São Francisco, Estado da Bahia, Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.40, n.1, p.1-7, 1980.

KAWAZOE, U.; MINEO, J.R. *Toxoplasma gondii*, cap. 18 in NEVES, D. P. Parasitologia humana. 12. ed. SP, **Atheneu**, 2011.

KHALILI, M. *et al.* Serological evidence of leptospirosis in Iran; A systematic review and meta-analysis. **Microbial Pathogenesis**, v.138, p.103833, 2020.

KHAN, A. *et al.* Genetic analyses of atypical *Toxoplasma gondii* strains reveal a fourth clonal lineage in North America. **International parasitology**, v.41, p.645-655, 2011.

KHAN, K.; KHAN, W. Congenital toxoplasmosis: An overview of the neurological and ocular manifestations. **Parasitology International**, v.67, n.6, p.715–721, 2018.

KIM, Y.H. *et al.* Seroprevalence of toxoplasmosis with ELISA and rapid diagnostic test among residents in Gyodong-do, Incheon city, Korea: a four-year follow-up. **Korean Journal of Parasitology**, v.55, p.247–254, 2017.

KO, A.I.; GOARANT, C.; PICARDEAU, M. Leptosira: the dawn of the molecular genetics' era for an emerging zoonotic pathogen. **Nature Reviews Microbiology**, v.7, p.736-747, 2009.

KOE, S.L.; TAN, K.T.; TAN, T.C. Leptospirosis in pregnancy with pathological fetal cardiotocography changes. **Singapore Medical Journal**, v.55, n.2, p. 20–24, 2014.

KOHLER, S. *et al.* A plastid of probable green algal origin in Apicomplexan parasites. **Science**, v.275, p.1485-9, 1997.

KUPEK, E.; SOUSA SANTOS FAVERSANI, M.C.; SOUZA PHILIPPI, J.M. The relationship between rainfall and human leptospirosis in Florianopolis, Brazil, 1991–1996. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.4, p.131–4, 2000.

LAGADEC, E. *et al.* Pathogenic *Leptospira* spp. in bats, Madagascar and Union of the Comoros. **Emerging infectious disease**, v.18, n.10, p.1696–1698, 2012.

LASS, A. *et al.* The first detection of Echinococcus multilocularis DNA in environmental fruit, vegetable, and mushroom samples using nested PCR. **Parasitology Research**, v.114, p. 4023–4029, 2015.

LAU, C.L. *et al.* Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: Fuelling the fire? **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.104, n. 10, p.631–638, 2010.

LAU, C.L. *et al.* Human Leptospirosis Infection in Fiji: An Eco-epidemiological Approach to Identifying Risk Factors and Environmental Drivers for Transmission. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.10, n.1, p. e0004405, 2016.

LEFEVRE-PETTAZZONI, M. *et al.* Delayed maturation of immunoglobulin G avidity: implication for the diagnosis of toxoplasmosis in pregnant women. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.25, p.687–693, 2006.

LEMGRUBER, L. *et al.* *Toxoplasma gondii*: further studies on the subpellicular network. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n. 5, p. 706–709, 2009.

LETTIERI, C. *et al.* Prevalence of *Leptospira* Antibodies in U.S. Army Blood Bank Donors in Hawaii. **Military Medicine**, v. 169, n.9, p.687–690, 2004.

LEVET, P.N. Systematics of *Leptospiraceae*. In: Adler B. (eds) *Leptospira* and Leptospirosis. **Current Topics in Microbiology and Immunology**, v.387, p.11-20, 2015.

LEVETT, P. N. Leptospirosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LIMA, D.C.V. *et al.* *Toxoplasma gondii* in invasive animals on the Island of Fernando de Noronha in Brazil: Molecular characterization and mouse virulence studies of new genotypes. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.67, p.101347, 2019.

LINDSAY, D.S. *et al.* Survival of *Toxoplasma gondii* oocysts in eastern oysters (*Crassostrea virginica*). **Journal of Parasitology**, v. 90, n.5, p.1054-1057, 2004.

LIU, Q. *et al.* Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. **Parasit & Vectors**, v.8, p.292. 2015.

LOPEZ, A. *et al.* Preventing Congenital Toxoplasmosis. Recommendations regarding selected conditions affecting women's Health. **Morbidity and mortality weekly report /Centers for Disease Control**, v.31, p.57-75, 2000.

LÓPEZ, M.S. *et al.* Spatio-temporal analysis of leptospirosis incidence and its relationship with hydroclimatic indicators in northeastern Argentina. **Science of the Total Environment**, v. 694, p.133651, 2019.

LUCHEIS, S.B.; FERREIRA JR, R.S. Ovine leptospirosis in Brazil. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v.17, n.4, p.394-405. 2011.

MAGALHÃES F.J.R. *et al.* High prevalence of toxoplasmosis in free-range chicken of the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. **Acta Tropica**, v.159, p.58–61, 2016b.

MAGALHÃES, F.J.R. *et al.* Seroprevalence and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* infection in cats, dogs, pigs and equines of the Fernando de Noronha 1837 Island, Brazil. **Parasitology International**, v.66, p.43–46. 2017.

MAGALHÃES, F.J.R. *et al.* Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in sheep and cattle from Fernando de Noronha Island, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 25, p.511-515, 2016a.

MAI, K. *et al.* Oocyst wall formation and composition in coccidian parasites. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.2, p.281-9, 2009.

MAREZE, M. *et al.* Socioeconomic vulnerability associated to *Toxoplasma gondii* exposure in southern Brazil. **PLoS ONE**, v.14, n.2, e0212375, 2019.

MCAULEY, JAMES B. Congenital Toxoplasmosis. **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v.3, n. 1, p.30-5, 2014

MCFADDEN, G.I.; ROOS, D.S. Apicomplexan plastids as drug targets. **Trends in Microbiology**, v.7, p.328–333. 1999.

MENG, K. *et al.* Development of colloidal gold-based immunochromatographic assay for rapid detection of *Mycoplasma suis* in porcine plasma. **journal Biosensors & Bioelectronics**, v.55, p.396–399,2014.

MINBAEVA, G. *et al.* *Toxoplasma gondii* infection in Kyrgyzstan: Seroprevalence, risk factor analysis, and estimate of congenital and AIDS-related toxoplasmosis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.7, e.2043, 2013.

MOHAN, A.R. *et al.* Epidemiology of human leptospirosis in Trinidad and Tobago, 1996–2007: a retrospective study. **Acta Tropica**, v.118, p.260-265, 2009.

MONTAZERI, M. *et al.* Systematic Review of In vitro and In vivo Activities of Anti-*Toxoplasma* Drugs and Compounds (2006–2016). **Frontiers in Microbiology**, v.8, n.25, 2017.

MONTOYA, J.G.; BOOTHROYD, J.C.; KOVACS, J.A. *Toxoplasma gondii*. **Oncohem Key**, p.280, 2018.

MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, London. v. 363, n. 9425, p.1965-1976, 2004.

MORAIS, E.G.F. *et al.* Geo-epidemiological study of *Leptospira* spp. infection in cattle, feral cats and rodents of the Fernando de Noronha Island, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 46, n. 1, p.1–9, 2018.

MORAIS, R.A.P.G. *et al.* Surto de toxoplasmose aguda no Município de Ponta de Pedras, Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil: características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.7, p.143-152, 2016.

- MOURA, L. *et al.* Waterborne outbreak of toxoplasmosis Brazil from field to gene. **Emerging Infectious Diseases**, v.12, n.2, p.326– 329, 2006.
- MWACHUI, M.A. *et al.* Environmental and Behavioural Determinants of Leptospirosis Transmission: A Systematic Review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.9, n.9, 2015.
- NASCIMENTO, T.L. *et al.* Prevalência de *Toxoplasma gondii* em gestantes atendidas pelo Sistema Único de Saúde. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v.10, n.2, p.96-101. 2017.
- NASCIMENTO. M.D.S.B. *et al.* Toxoplasmose na ilha de São Luís - Estado do Maranhão - Brasil. **Revista Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.2, n.3, p.287-293,1983.
- NEDUNCHELLIYAN, S.; VENUGOPALAN, A.T. Blood transfusion and leptospirosis. **Indian Veterinary Journal**, v.74, p.790–791, 1997.
- NGUI, R. *et al.* Seroprevalence and sources of toxoplasmosis among Orang Asli (indigenous) communities in Peninsular Malaysia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.85, n.4, p.660-666, 2011.
- NICOLLE, M.C.; MANCEAUX, L. On a new protozoan in gundis (*Toxoplasma* N. Gen). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n. 2, p.1–3, 2009.
- NISSAPATORN, V. *et al.* Toxoplasmosis-serological evidence and associated risk factors among pregnant women in Southern Thailand. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.85, n.2, p.243-7, 2011.
- NOGUCHI, H. Spirochaeta icterohaemorrhagiae in American wild rats and its relation to the Japanese and European strains: first paper. **Journal of Experimental Medicine**, v.25, p.755–763, 1917.
- OLARIU, T.R. *et al.* Severe congenital toxoplasmosis in the United States: clinical and serologic findings in untreated infants. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v.30, p. 1056–1061, 2011.

OLIVEIRA, C. *et al.* Pathogenicity and phenotypic sulfadiazine resistance of *Toxoplasma gondii* isolates obtained from livestock in northeastern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.111, p.391–398, 2016.

OLIVEIRA, M.A.A. *et al.* Human leptospirosis: occurrence of serovars of *Leptospira* spp. in the state of Minas Gerais, Brazil, from 2008 to 2012. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.48, n.3, p.483–488, 2017.

OLIVEIRA, V.P. *et al.* Toxoplasmose Congênita: características clínico-epidemiológicas dos recém-nascidos no surto de toxoplasmose em Santa Maria/RS. In: **IV Simpósio Brasileiro de Toxoplasmose: Departamento de Vigilância de Doenças Transmissíveis - Brasília: Ministério da Saúde, 2018.** Disponível em:[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/simposio_toxoplasmose_resumos.pdf]. Acessado em julho de 2018.

OPSTEEGH, M. *et al.* Low predictive value of seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle for detection of parasite DNA. **International Journal for Parasitology**, v.41, p.343–354, 2011.

PAKOA, J.G. *et al.* High incidence of leptospirosis in an observational study of hospital outpatients in Vanuatu highlights the need for improved awareness and diagnostic capacities. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.12, n.6, p.e0006564, 2018.

PAPPAS, G.; ROUSSOS, N.; FALAGAS, M.E. Toxoplasmosis snapshots: Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. **International Journal for Parasitology**, v.39, p.1385–1394, 2009.

PAREDES-SANTOS, T.C.; DE SOUZA, W.; ATTIAS, M.M. Dynamics and 3D organization of secretory organelles of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Structural Biology**, v. 177, n.2, p.420–430, 2012.

PEREIRA, B.I. *et al.* Transfusion-transmitted protozoal infections: what is the risk in non-endemic countries? **Acta Médica Portuguesa**, v.24, p.897–906, 2011.

PETERS, A. *et al.* Leptospirosis in the Caribbean: a literature review. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v.41, p.1-9, 2017.

PEYRON, F. *et al.* Toxoplasmosis. Remington and Klein's Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. **Elsevier**, p. 939–1042, 2015.

PFEFFERKORN, L.C.; PFEFFERKORN, E.R. *Toxoplasma gondii* : Genetic recombination between drug resistant mutants: **Experimental Parasitology**, v.50, p. 305–316, 1980.

PICARDEAU, M. Diagnosis and epidemiology of leptospirosis. **Médecine et Maladies Infectieuses**, v.43, n. 1, p.1–9, 2013.

PICARDEAU, M. Virulence of the zoonotic agent of leptospirosis: Still terra incognita? **Nature Reviews Microbiology**, v.15, n.5, p.297–307, 2017.

PINHEIRO, Valdelice de Lourdes Corrêa. **Toxoplasmose humana e canina em uma região insular de Belém, Pará, Amazônia brasileira**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) - Universidade Federal do Pará, Belém-Pará. 2018. 83f.

POLACHINI, C.O.; FUJIMORI, K. Leptospirose canina e humana, uma possível transmissão conjuntival no Município de São Paulo, Estado de São Paulo, Brasil. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.6, n.3, p.59–65, 2015.

POLO, N. *et al.* A one health approach to investigating *Leptospira* serogroups and their spatial distributions among humans and animals in Rio Grande do Sul, Brazil, 2013-2015. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v.4, n.1, 2019.

PRADO, A.A.F. *et al.* **Toxoplasmose: o que o profissional da saúde deve saber**. Enciclopédia biosfera, Centro científico conhecer, Goiânia – GO, v.7, n.12, maio, 2011, p.30.

RAJENDRAN, C.; SU, C.; DUBEY, J.P. Molecular genotyping of *Toxoplasma gondii* from Central and South America revealed high diversity within and between populations. **Infection, Genetics and Evolution**, v.12, p.359–368, 2012.

RAMÍREZ, M.L.G.; OROZCO, L.V.S.; RAMÍREZ, C.G.T. The laboratory diagnosis in *Toxoplasma* infection. **Toxoplasmosis**, v.14, p.89-104, 2017.

REMINGTON, J.S. *et al.* Toxoplasmosis. In *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 7th Edn. **Elsevier Saunders**, Pennsylvania, USA. p.918–1041, 2011.

REMINGTON, J.S.; McLEOD, R.; DESMONTS, G. **Toxoplasmosis**. In: REMINGTON, J.S.; KLEIN, J. O. *Infectious diseases of the fetus & newborn infant*. 4. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, p.140-267, 1995.

REN, J. *et al.* Study on a monitoring program regarding leptospirosis in some fore-and-after flood-affected along large rivers in Anhui province. **Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi**, v.26, p.690-693, 2005.

ROBERT-GANGNEUX, F.; DARDE, M.L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v.25, p.264-96, 2012.

RODRIGUES, M.C. O círculo vicioso da negligência da leptospirose no Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.76, n. September, p.1–11, 2017.

ROSTAMI, H. *et al.* Co-utilization of a TRL5 agonist and nano-formulation of HIV-1 vaccine candidate leads to increase vaccine immunogenicity and decreased immunogenic dose: a preliminary study. **Immunology Letters**, v.187, p.19-26, 2017.

SAADATNIA, G.; GOLKAR, M.A. review on human toxoplasmosis. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.44, n.11, p.805-14, 2012.

SABIN, A. B.; FELDMAN, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v.108, n.2815, p. 660–663, 1948.

SABIN, A.B.; OLITSKY, P.K. *Toxoplasma* and obligate intracellular parasitism. **Science**, v.85, n. 2205, p.336–338, 1937.

SAKIKAWA, M. *et al.* Anti-Toxoplasma antibody prevalence, primary infection rate, and risk factors in a study of toxoplasmosis in 4,466 pregnant women in Japan. **Clinical and Vaccine Immunology**, v.19, n.3, p.365-7, 2012.

SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, R. *et al.* Virulence in mice of *Toxoplasma gondii* type II isolate does not correlate with the outcome of experimental infection in pregnant sheep. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.8, p.436. 2019.

SANTOS, A.L.C. *et al.* Serological study on toxoplasmosis in the Haliti-Paresí community of the Utiariti indigenous territory, Campo Novo do Parecis, Mato Grosso, Brazil. **Parasite Epidemiology and Control**, v.5, p. e00097, 2019.

SAVILL, P. **The animal health status of Tonga**, Noumea, New Caledonia: Secretariat of the Pacific Community, 1996.

SCHULLER, S. *et al.* European consensus statement on leptospirosis in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 56, n.3, p. 159–179, 2015.

SHEFFIELD, H.G.; MELTON, M.L. *Toxoplasma gondii*: oocisto, esporozoíto e infecção de células cultivadas. **Science**. v.167, p.892-893. 1970.

SIBLEY, L.D. *et al.* Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. **Philosophical Transactions of the Royal Society**, v. 364, n.1530, p.2749-2761, 2009.

SIBLEY, L.D.; BOOTHROYD, J.C. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. **Nature**, v. 359, n. 6390, p.82–85, 1992.

SILVA JUNIOR, G. *et al.* Acute kidney injury in leptospirosis: Overview and perspectives. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.11, n.10, p.549–554, 2018.

SILVA, G.M. *et al.* Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp. em grupos ocupacionais no Estado de Pernambuco. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v.73, n.2, p.252-259, 2014.

SILVA, L.A. *et al.* Seroprevalence of and risk factors for leptospirosis in the city of Manaus, State of Amazonas, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.49, n. 5, p.628–631, 2016.

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

SOBRAL, C.A. *et al.* Seroprevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in indigenous Brazilian population. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.72, n.1, p.37-41, 2005.

SOO, Z. M.P.; KHAN, N.A.; SIDDIQUI, R. Leptospirosis: Increasing importance in developing countries. **Acta Tropica**, v.201, p.105183, 2020.

SOUZA, A.I.; NOGUEIRA, J.M.D.R.; PEREIRA, M.M. Anticorpos anti-*Leptospira* em pacientes de Mato Grosso do Sul com suspeita clínica de dengue ou hepatite viral. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.40, n.4, p.431–435, 2007.

SOUZA, W. *et al.* Organização estrutural do taquizoíto de *Toxoplasma gondii* . **Scientia**, v.20, n.1, p. 131–143, 2010.

SOUZA, W.; BELFORT, J.R.R. **Toxoplasmose e *Toxoplasma gondii*/ Toxoplasmosis and *Toxoplasma gondii***. Rio de Janeiro; Editora. Fiocruz. 2014. 214p.

SPLENDRE, A.M.D. On a new protozoan parasite of rabbits. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, n.2, p.1–2, 2009.

SULLIVAN, W.J.J.; JEFFERS, V. Mechanisms of *Toxoplasma gondii* persistence and latency. **FEMS Microbiology Reviews**, v.36, n.3, p.717–733, 2012.

SUWANPAKDEE, S. *et al.* Spatio-temporal patterns of leptospirosis in Thailand: is flooding a risk factor? **Epidemiology and Infection**, v. 43, n.10, p.2106-2115, 2015.

TABOR, A.; ALFIREVIC, Z. Update on procedure-related risks for prenatal diagnosis techniques. **Fetal Diagnosis and Therapy**, v. 27, n.1, p.1-7, 2010.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, v.30, n.12–13, p.1217–1258, 2000.

TIBAYRENC, M. *et al.* Are eukaryotic microorganisms clonal or sexual? A population genetics vantage: **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.88, p.5129–5133. 1991.

TORGERSON, P.R. *et al.* Global Burden of Leptospirosis: Estimated in Terms of Disability Adjusted Life Years. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.9, n.10, p. e0004122, 2015.

TURNIER, P.; EPELBOIN, L. Mise au point sur la leptospirose. **La Revue de Médecine Interne**, v.40, n.5, p.306–312, 2019.

UHLENHUTH, P.; FROMME, W. Experimentelle Untersuchungen über die sogenannte Weilsche Krankheit (ansteckende Gelbsucht). **Medizinische Klinik**, v.44, p.1202–1203, 1915.

VASCONCELOS, C.H. *et al.* Fatores ambientais e socioeconômicos relacionados à distribuição de casos de leptospirose no Estado de Pernambuco, Brasil, 2001–2009. **Caderno de Saúde Coletiva**, v. 20, n.1, p.49–56, 2012.

VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**, 2 Volumes - 4ª Edição, Editora Atheneu, 2009.

VIMAL RAJ, R. *et al.* Changing trend in the seroprevalence and risk factors of human leptospirosis in the South Andaman Island, India. **Zoonoses and Public Health**, v.65, n.6, p.683–689, 2018.

VINCENT, A.T. *et al.* Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.13, n.5, 2019.

VITALE, M.; DI MARCO LO PRESTI, V. Food safety or typical dishes? *Toxoplasma gondii* and educational preventive campaign. **Foodborne Pathogens and Disease**, v. 10, p.196, 2013.

VIVIER, E.; PETITPREZ, A. The outer membrane complex and its development at the time of the formation of daughter cells in *Toxoplasma gondii*. **The Journal of cell biology**, v.43, p.329-342, 1969.

WALCHER, D.L.; COMPARSI, B.; PEDROSO, D. Toxoplasmose gestacional: uma revisão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, p. 2448-3877, 2016.

WALLACE, G.D.; MARSHALL, L.; MARSHALL, M. Cats, rats and toxoplasmosis on a small Pacific Island. **American Journal of Epidemiology**, v.95, n.5, p.475-482, 1972.

WALLE, F. *et al.* Seroprevalence and risk factors for Toxoplasmosis in HIV infected and non-infected individuals in Bahir Dar, Northwest Ethiopia. **Parasites & Vectors**, v.6, p.15–22, 2013.

WASIŃSKI, B.; DUTKIEWICZ, J. Leptospirosis—current risk factors connected with human activity and the environment. **Annals of agricultural and environmental medicine**, v.20. p. 239–244, 2013.

WEINMAN, D.; CHANDLER, A. - Toxoplasmosis on swine and rodents. **Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine**, v.87 p.211-216, 1954.

WEISS, L.M.; KIM, K. The development and biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. **Frontiers in Bioscience**, v.5, n. 4, p. D391–D405, 2000.

WENJUN, L.; DIDIER, R.; FOURNIER, P.E. Bacterial strain typing in the genomic era. **FEMS microbiology reviews**, v.33, n.5, p.892-916, 2009.

WHO - World Health Organization. Human Leptospirosis: Guidance for Diagnosis, Surveillance and Control. **World Health Organization**, 2003.

WILKING, H. *et al.* Prevalence, incidence estimations, and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection in Germany: a representative, cross-sectional, serological study. **Scientific Reports**, v.6, p.22551, 2016.

WIT, L.A. *et al.* Estimating Burdens of Neglected Tropical Zoonotic Diseases on Islands with Introduced Mammals. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.96, n.3, p.749-757, 2017.

WIT, L.A. *et al.* Potential public health benefits from cat eradications on islands. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.13, n.2, e.0007040, 2019.

WITTE, H.M.; PIEKARSKI, G. Die Oocysten-Ausscheidung bei experimentallis infizierten Katzen in Abhängigkeit von *Toxoplasma*- Stamm. **Z Parasitenkd**, v.33, p.358-360, 1970.

WOLF, A; COWEN, D. Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalitozoon (encephalitozic ancephalomyelitis): a new protozoan disease of man. **Bull Neurological Institute of New York**, v.6, p.306-335, 1937.

WOODS, K. *et al.* A comparison of two molecular methods for diagnosing leptospirosis from three different sample types in patients presenting with fever in Laos. **Clinical microbiology and infection**, v.24, n.9, p.1017.e1–1017.e7, 2018.

WULFF, C.B. *et al.* Risk of fetal loss associated with invasive testing following combined first-trimester screening for Down syndrome: a national cohort of 147 987 singleton pregnancies. **Ultrasound in Obstetrics & Gynecology**, v.47, n.1, p.38-44, 2016.

YANG, Z. *et al.* A surge in the seroprevalence of toxoplasmosis among the residents of islands in Gangwha-gun, Incheon, Korea. **Journal of Parasitology**, v.50, p.3, 191–197. 2012.

YBAÑEZ, R.H.D. *et al.* Endemicity of *Toxoplasma* infection and its associated risk factors in Cebu, Philippines. **PLoS ONE**, v.14, n.6, e.0217989, 2019.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivos geral

Realizar um levantamento soropidemiológico da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. na população humana da Ilha de Fernando de Noronha.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar a prevalência da infecção por *T. gondii* na população humana na Ilha de Fernando de Noronha.

- Identificar os fatores de risco associados à infecção por *T. gondii* em humanos da Ilha de Fernando de Noronha.

- Determinar a prevalência da infecção por *Leptospira* spp. na população humana na Ilha de Fernando de Noronha.

5. CAPÍTULO 1

Artigo submetido ao periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

Fator de impacto: 2.833 (2017)

***Toxoplasma gondii* infection in the human population on the island of Fernando de Noronha, Brazil: a cross-sectional study**

Maria da Conceição Carvalho^{a†}, Müller Ribeiro-Andrade^{b†}, Renata Pimentel Bandeira de Melo^a, Dandara Matias Guedes^c, José Wilton Pinheiro Junior^a, Erika Fernanda Torres Samico Fernandes Cavalcanti^a, Fernando Jorge Rodrigues Magalhães^c, Rinaldo Aparecido Mota^a

^a Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

^b Departamento de Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, PE, Brazil.

^c Superintendência em Saúde, Administração do Distrito Estadual de Fernando de Noronha, Fernando de Noronha, PE, Brazil.

[†] Equal contributors

ABSTRACT

Toxoplasmosis, caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*, is an important zoonotic disease in humans and is one of the most important foodborne parasitic diseases globally. The prevalence in humans is highly variable, being influenced by cultural habits, socioeconomic, and environmental conditions. The objective of this study was to estimate the prevalence of *T. gondii* infection in humans on the archipelago of Fernando de Noronha, Pernambuco State, Brazil, and to identify the risk factors associated with this infection. The seroprevalence of immunoglobulin G *anti-T. gondii* antibodies was

Corresponding author Maria da Conceição Carvalho

E-mail Address: mc81carvalho@hotmail.com

Financial support: CNPq (APQ-0531-5.05/14), Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco-FACEPE (PNPD-0725-5.05/16) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES.

50.4%. Factors associated with the infection were consumption of well water or rainwater (odds ratio [OR]: 2.43, p=0.020) and consumption of game meat (OR: 1.80, p=0.026). The ingestion of oocysts or tissue cysts containing bradyzoites were risk factors identified. This study is important to provide information for the adoption of prevention and control measures in island environments.

Keywords: Insular environment; Seroepidemiology; Toxoplasmosis

1. INTRODUCTION

Toxoplasmosis, caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*, is an important zoonotic disease that causes severe problems in humans, including reproductive, ophthalmic, neurological changes and behavioral disorders (1,2,3). The seroprevalence of *T. gondii* infection in humans varies worldwide between 10% and 90% (4), which is attributed to several factors such as dietary habits, age, and sanitary conditions (1,4,5). However, these data are mainly from studies conducted in continental regions, epidemiological data in insular environments, particularly in Brazil, are scarce.

The Fernando de Noronha Archipelago, belonging to the state of Pernambuco, comprises 21 islands and islets of volcanic origin located 350 km off the coast of the Brazilian northeast in the South Atlantic. The main island that names the Archipelago has one of the highest densities of cats described in island environments worldwide (6-8) has previously assessed infection by this coccidian in companion and production animals raised on Fernando de Noronha Island and found high seropositivity prevalence in sheep, cattle, dogs, cats, and especially free-range chickens, which may indicate a high rate of environmental contamination by oocysts of the protozoan since chickens act as sentinels (9). Moreover, isolates of *T. gondii* have been obtained from animals from

the island and molecularly characterized (9,10), indicating that there are a variety of genotypes of the protozoan in the insular environment.

Due to the absence of studies related to the epidemiology of *T. gondii* in the human population in the archipelago of Fernando de Noronha, the objective of this study was to determine the prevalence and risk factors associated with infection in individuals living on this island.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1 Ethical aspects

The study strictly followed the ethical principles in research with humans and was approved by the Research Ethics Committee of Universidade de Pernambuco (n. 19344819.4.0000.5207).

2.2 Study Area

The study area was the Fernando de Noronha Archipelago (Figure 1), which comprises 21 islands and islets and has an area of 17,017 km² and an estimated population of 3,061 (11). It has tropical climate comprising two seasons, one dry (August–January) and another rainy (February–July), with an average annual temperature of 26–27°C.

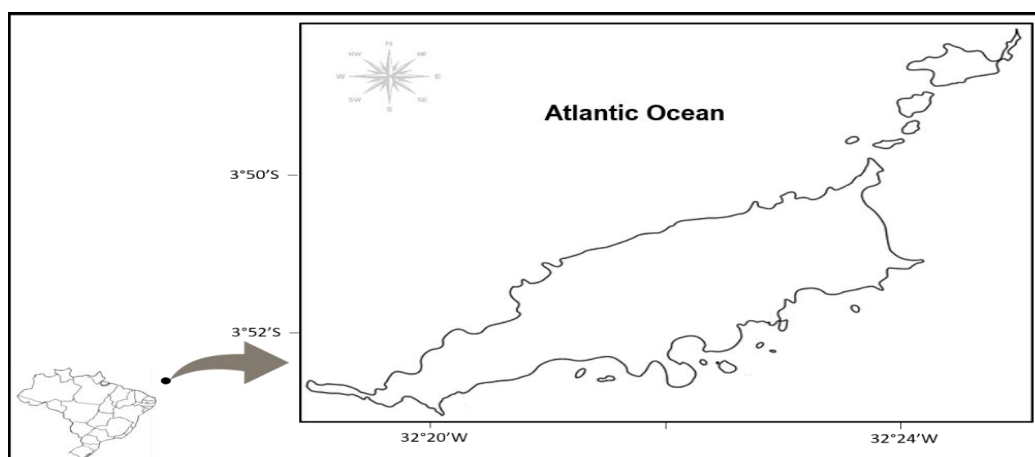


Figure 1: Map of the archipelago of Fernando de Noronha, Pernambuco, Brazil

2.3 Sampling

This study was a cross-sectional epidemiological study. In order to determine the representative sample size, we applied the calculation for finite populations considering an estimated population of 3,061 individuals residing on the island of Fernando de Noronha in 2019, according to the Brazilian Institute of Geography and Statistics (11). Furthermore, an expected prevalence of *T. gondii* infection of 50% was assumed given the non-existence of previous data at a confidence interval (CI) of at least 95% with a statistical error of 5% (12). This calculation resulted in a sample of 341 individuals.

The inclusion criteria for the study included both male and female individuals who were residents of the island for at least 6 months and were older than two years of age. Non-residents of the island were excluded from the study. Participants were informed about the research objectives, and those who agreed to participate in the study received and signed a copy of the Informed Consent Form (ICF), according to Resolution No. 466/12 of the National Health Council (13).

2.4 Collection of blood samples

Approximately 5 mL blood samples were harvested using clot separator gel tubes (BD Vacutainer[®], USA) with disposable syringes and needles, the samples were kept at room temperature (25°C) until the visible retraction of the clot. The samples were centrifuged at 1500 xg for 5 min, and serum aliquots were obtained and placed in microtubes, identified, and stored at -20°C until further processing.

2.5 Serological analysis

Serum samples were evaluated by the indirect fluorescent antibody test (IFAT) to detect the presence of immunoglobulin G (IgG) anti-*T. gondii* antibodies according to the method proposed by Camargo (14). A cut-off point of 16 was adopted Dubey (1), and known positive and negative controls were included in all reactions. *T. gondii* tachyzoites from strain ME49 were used as antigens in slide preparation.

The sera were diluted in phosphate buffered solution (PBS, pH 7.2) at room temperature and were placed in slide wells and incubated at 37°C for 30 min in a moist

chamber. The slides were washed three times for 10 min in PBS, followed by incubation (37°C for 30 min in a moist chamber) with IgG monoclonal anti-human conjugated to fluorescein isothiocyanate (Sigma Chemical®, USA), diluted 1:100 in PBS containing 0.05% Evans Blue (Sigma Chemical®, USA). The slides were washed again, dried in an oven, and covered with buffered glycerol and coverslips. Finally, the slides were examined using an epifluorescence microscope (Axio Vert.A1 Zeiss, 40× objective) by double blind reading by two independent and previously trained individuals. If the results differed, a third individual performed a final reading.

Descriptive statistical analysis was used to calculate the absolute and relative frequencies of the results obtained in the serology.

2.6 Analysis of risk factors

Pre-structured questionnaires were applied to assess the risk factors associated with *T. gondii* infection comprising objective questions that addressed demographic information (age, address, and schooling) and the hygienic sanitary habits and dietary habits of individuals associated with the epidemiology of toxoplasmosis. The questionnaires were administered by staff trained for this purpose.

In order to identify the risk factors associated with *T. gondii* infection in humans on the island of Fernando de Noronha, a univariate analysis was initially conducted by Fisher's exact test, adopting a confidence interval [CI] of 95%. Variables with $p < 0.25$ were used for reassessment in logistic regression models. Calculations were performed using Epi Info 7.2.3.0 (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), with significance set at $p < 0.05$).

3. RESULTS

The prevalence of IgG anti-*T. gondii* antibodies in humans living on the island of Fernando de Noronha was 50.4% (172/341, 95% CI: 45.2%–55.7%). The sample

studied was mostly composed of females 56.8% (194/341) aged 21–40 years 54,6% (106/194) and had studied up to high school 47,9 % (93/194).

The analysis of risk factors revealed that individuals who consumed well water or rainwater were about 2.43-fold more likely to be infected (p=0.020) compared to those who drank bottled or tap water. Individuals who consumed game meat had 1.80-fold increased likelihood of infection by *T. gondii* (p=0.026) (Table 1).

Table 1- Univariate and multivariate analysis of infection by *T. gondii* in individuals residing on the island of Fernando de Noronha, Pernambuco, Brazil

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis	
	n	Positive (%)	p	OR	p
Sex					
Male	147	74 (50.3%)	0.487	-	-
Female	194	98 (50.5%)			
Schools					
Elementary	73	50 (68.5%)	0.000	-	-
High school	166	89 (53.6%)			
University	92	26 (28.3%)			
Age range (yr)					
0 – 20	17	4 (23.5%)	0.000	-	-
21 – 40	174	70 (40.2%)			
41 – 60	123	80 (65.0%)			
> 60	17	11 (64.7%)			
Water Consumption					
Bottled	294	139 (47.3%)	0.041	2.43 (1.14 – 5.14)	0.020
Tap	6	4 (66.7%)			
Well/Rain	35	24 (68.6%)			
Place where you have your meals					
Home	236	121 (51.3%)	0.245	-	-

Restaurants and Cafeterias	97	45 (46.4%)			
Disinfection of vegetables					
Water (only)	171	85 (49.7%)			
Water + vinegar	58	32 (55.2%)	0.582	-	-
Water + hypochlorite	105	49 (46.7%)			
How you eat meat					
Rare	64	34 (53.1%)			
Well-done	180	93 (51.7%)	0.554	-	-
Medium	83	37 (44.6%)			
Do not consume	6	2 (33.3%)			
Consumption of meat during cooking					
Yes	136	75 (55.2%)	0.067	-	-
No	199	92 (46.2%)			
Consumption of game					
Yes	77	47 (61.0%)	0.017	1.80 (1.07 – 3.02)	0.026
No	258	120 (46.5%)			
Presence of cats at home					
Yes	109	54 (49.5%)	0.515	-	-
No	226	113 (50.0%)			
Contact with cats					
Yes	141	64 (45.4%)	0.091	-	-
No	193	103 (53.4%)			
Practice gardening					
Yes	103	56 (54.4%)	0.162	-	-
No	232	111 (47.8%)			

OR = odds ratio

4. DISCUSSION

This is the first epidemiological study of *T. gondii* infection in humans on the island of Fernando de Noronha. The seroprevalence of antibodies found in human on

this island (50.4%) differs from the prevalence rates found in other insular environments in different regions of the world: Islands of Gangwha-gun (ELISA: 25.8%) (15), both in South Korea, Island of Cebu, in the Philippines (Latex Agglutination Test - LAT: 26.4%) (16), Island of Sri Lanka (ELISA: 29.9%) (17), Island of Pulau Pangkor, Malaysia (ELISA: 59.7%) (18), Island of São Tomé and Príncipe, in West Africa (LAT: 63.1%) (19), 10 island countries (Modified Agglutination Test - MAT: 39.8) (20), located in the Caribbean, San Carlos Island, Venezuela (Indirect Haemagglutination Assays - IHA, 49.8%) (21).

Importantly, due to the wide dissemination of *T. gondii*, the seroprevalence in humans varies significantly across different regions of the world whether continental or insular. In Brazil, the prevalence of infection by this coccidium in humans is particularly high and can reach more than 90% in some regions. In addition to the environmental characteristics, cultural and biological factors also influence rates of *T. gondii* infection, and the serological test chosen is influenced by its sensitivity and specificity (1,22). In an attempt to understand the reasons for the variations in the prevalence even in geographically close areas, it is important to investigate the risk factors associated with this infection.

The analysis of risk factors identified the consumption of well water or rainwater (OR=2.43) and consumption of game meat (OR=1.80) as being associated with increased likelihood of *T. gondii* infection.

The storage conditions of well water or rainwater are usually precarious and may be accessible to animals, for example cats that are able shed *T. gondii* oocysts into the environment. Taking into account the high density of cats on the island of Fernando de Noronha, the large number of oocysts eliminated in the feces of cats can be disseminated to storage tanks by rainwater and can even contaminate surface water and

thereby serve as an important source of infection in the population, particularly when water intended for consumption is not filtered or boiled (1,23). This finding can be related to data from the Island of San Carlos in Venezuela, which raised the problem of islet infection from water contaminated by oocysts due to the close proximity of the cats to their homes, and consequently the water source of their inhabitants (21). Oocysts are resistant forms of the parasite and can remain viable for up to 54 months in cold water (24). In Brazil, outbreaks of toxoplasmosis and serological surveys have demonstrated the importance of untreated, filtered or boiled water as the main source of infection in humans, as noted in major outbreaks in Rio de Janeiro, Paraná, Pará and Rio Grande do Sul (25-28).

Game hunting for subsistence is a common activity in island environments as a way to meet the protein needs of the population (15). Hunting and consumption of animals such as the rock cavy (*Kerodon rupestris*) and the tegu lizard (*Salvator merianae*) is common among the residents of the Island of Fernando de Noronha. A recent study carried out on the Island of Fernando de Noronha reported 58.3% positivity for anti-*T. gondii* antibodies in rock cavies (10). The high prevalence of antibodies in rock cavies indicates that the consumption of this animal could be a potential source of *T. gondii* infection among the inhabitants of the island. Previous studies conducted on the island of Fernando de Noronha showed high *T. gondii* seropositivity in livestock (7,8,10). Although it does not represent the main source of meat in the island, these animals are a part of the diet and when infected by *T. gondii* can contribute to its transmission. Despite the fact that the ingestion of raw and/or rare meat was not identified as a significant risk factor for *T. gondii* infection in our study, it is important to highlight that there were higher frequencies of infection between individuals who

consumed rare meat (53.1%) or those who the meat during preparation/cooking (55.2%).

With respect to gender, the study sample comprised mainly women (56.8%), the majority being of reproductive age, and 49.5% presenting negative serology for *T. gondii*. This suggests that there is a significant number of women susceptible to primary infection, which is worse if it occurs during the gestational period, as transplacental transmission can occur, which may pose a risk to the fetus (29).

The univariate analysis showed a significant association between increasing age and seropositivity for *T. gondii*. This result corroborates with other studies, which found that increasing positivity is directly related to age, probably because older individuals have a greater chance of contact with the agent than do younger individuals (16,21), but the rate of infection with age can also vary according to the environment and socioeconomic level (30).

With respect to schooling, a higher prevalence of infection was observed in individuals with elementary schooling (68.5%). Previous studies have reported that the higher the schooling, the higher the information on preventive care for toxoplasmosis that reduces the risk of infection (30), which reiterates the importance of education and health promotion to prevention of this disease.

5. CONCLUSION

This is the first study to provide epidemiological information of *T. gondii* infection among the residents of the Island of Fernando de Noronha, revealing a considerable antibody seroprevalence in this population. The risk factors identified in this study suggest that the population should be advised not to consume wild animals on

the island and as well as promote the use of quality water. Appropriate treatment methods for well water or rainwater should be a priority for health authorities.

Acknowledgement

The author would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for the financial support (APQ-0531-5.05/14).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Authors' Contribution

MCC, MRA and RAM conceived the study; MCC, MRA and EFTSFC, designed the study protocol; DMG Collection of blood samples; MCC, DMG, MRA, RPBM, EFTSFC and FJRM collected epidemiological information; MCC, MRA wrote the manuscript; WPJ responsible for statistical analysis; RAM critically revised the manuscript for intellectual content. All authors read and approved the final manuscript.

References

01. Dubey JP. Toxoplasmosis of Animals and Humans. Maryland: CRC Press, 2010.
02. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet 2004, 363(9425): 1965-1976.
03. Flegr J, Prandota J, Sovicková M, Israili ZH. Toxoplasmosis – A global threat. Correlation of latente toxplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries. PLoS ONE 2014, 9 (3), e90203.

04. Pappas G, Roussos N, Falagas ME, Toxoplasmosis snapshots: Global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 2009, 39 (12): 1385-1394.
05. 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, 139(11): 1375-1424.
06. Dias RA, Abrahão CR, Micheletti T, Mangini PR, Gasparotto VPO, Pena HFJ, et al. Prospects for domestic and feral cat management on an inhabited tropical island. *Biol Invasions* 2017, 19: 2339.
07. Magalhães FJR, Silva JG, Ribeiro-Andrade M, Pinheiro-Junior Jw, Mota RA. High prevalence of toxoplasmosis in free-range chicken of the Fernando de Noronha Archipelago, Brazil. *Acta Trop* 2016b, 159: 58-61.
08. Magalhães FJR, Ribeiro-Andrade M, Souza FM, Lima Filho CDF, Biondo AW, Vidotto O, et al. Seroprevalence and spatial distribution of *Toxoplasma gondii* infection in cats, dogs, pigs and equines of the Fernando de Noronha Island, Brazil. *Parasitol Int* 2017, 66(2):43-46.
09. Melo RPB, Almeida JC, Lima DCV, Pedrosa CM, Magalhães FJR, Alcântara AM, et al. Atypical *Toxoplasma gondii* genotype in feral cats from the Fernando de Noronha Island, northeastern Brazil. *Vet Parasitol* 2016, 224: 92-95.
10. Lima DCV, Melo RPB, Almeida JC, Magalhães FJR, Ribeiro-Andrade M, De Moraes Pedrosa C, et al. *Toxoplasma gondii* in invasive animals on the Island of Fernando de Noronha in Brazil: Molecular characterization and mouse virulence studies of new genotypes. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2019, 67: 101347.

11. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística- IBGE. Diretoria de Pesquisas, Coordenação de População e Indicadores Sociais, Estimativas da população residente. com data de referência 10 de julho de 2019. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/brasil/pe/fernando-de-noronha/panorama>, accessed in jul.16, 2019.
12. Thrusfield M. Veterinary epidemiology. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 2007.
13. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução CNS nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Incorpora, sob a ótica do indivíduo e das coletividades, referenciais da bioética, tais como, autonomia, não maleficência, beneficência, justiça e equidade, dentre outros, e visa a assegurar os direitos e deveres que dizem respeito aos participantes da pesquisa, à comunidade científica e ao Estado. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 13 ago. 2013. Seção 1, p.59. Disponível em: [<http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>]. Acesso em: 20 out 2019.
14. Camargo ME. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. Rev Inst Med Trop 1964, 6: 117-118.
15. Yang Z, Cho PY, Ahn, SK, Ahn, HJ, Kim TS, Chong C, et al. A surge in the seroprevalence of toxoplasmosis among the residents of islands in Gangwha-gun, Incheon, Korea. Korean J Parasitol 2012, 50(3): 191-197.
16. Ybañez RHD, Busmeon CGR, Viernes ARG, Langbid JZ, Nuevarez JP, Ybañez AP, et al. Endemicity of *Toxoplasma* infection and its associated risk factors in Cebu, Philippines. PLoS ONE 2019, 14(6): e0217989.

17. Iddawela D, Vithana SMP, Ratnayake C. Seroprevalence of toxoplasmosis and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Sri Lanka: a cross sectional study. BMC Public Health 2017,17(1): 930.
18. Ahmad AF, Ngui R, Muhammad Aidil R, Lim YAL, Rohela M. Current status of parasitic infections among Pangkor Island community in Peninsular Malaysia. Trop. Biomed 2014, 31 (4): 836-843.
19. Fan CK, Lee LW, Liao CW, Huang YC, Lee YL, Chang YT. et al. *Toxoplasma gondii* infection: relationship between seroprevalence and risk factors among primary schoolchildren in the capital areas of Democratic Republic of São Tome and Principe, West Africa Parasit Vectors 2012, 5:141.
20. Dubey JP, Verma, SK, Villena I, Aubert D, Geers R, Su C, et al. Toxoplasmose nas ilhas do Caribe: revisão da literatura, soroprevalência em gestantes em dez países, isolamento de *Toxoplasma gondii* viável de cães de St. Kitts, Índias Ocidentais, com relato de novos tipos genéticos de *T. gondii*. Parasitol Res 2016, 115 (4): 1627-34.
21. Chacín-Bonilla L, Sánchez Y, Estévez J, Larreal Y, Molero E. Prevalence of human toxoplasmosis in San Carlos Island, Venezuela. Interciencia 2003, 28: 457–462.
22. Carmo EL, Morais RAPB, Oliveira AS, Figueiredo JE, Figueiredo MC, Silva AV, et al. Soroepidemiologia da infecção pelo *Toxoplasma gondii* no município de Novo Repartimento, Estado do Pará, Brasil. Rev Pan-Amaz Saude 2016, 7(4):79-87.
23. Robert-Gangneux F, Dardé ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. Clin Microbiol Rev 2012, 25(2): 264-296.

24. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. J. Parasitol 1998, 84 (4): 862-865.
25. Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Oréface F, Addiss DG. Toxoplasmose transmitida pela água, altamente endêmica no norte do estado do Rio de Janeiro, Brasil. Emerg Infect Dis 2003, 9 (1): 55–62.
26. 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(2): 326-329.
27. Morais RAPB, Freire ABC, Barbosa DRL, Silva LCT, Pinheiro AF, Costa SS, et al. Surto de toxoplasmose aguda no Município de Ponta de Pedras, Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil: características clínicas, laboratoriais e epidemiológicas. Rev Pan-Amaz Saude 2016, 7(esp): 143- 152.
28. Rio Grande do Sul. Centro Estadual de Vigilância em Saúde/ RS- CEVS/RS. Boletim de Investigação de Surto da Toxoplasmose. Investigação de surto de toxoplasmose em Santa Maria/ RS. Disponível em: <https://cevs.rs.gov.br/upload/arquivos/201807/02173249-toxoplasmose.pdf>. Accessed in out. 19, 2019.
29. Walcher DL, Comparsi B, Pedroso D. Toxoplasmose gestacional: uma revisão. Rev. bras. anal. clin 2017, 49(4): 323-327.
30. Mareze M, Benitez ADN, Brandão APD, Pinto-Ferreira F, Miura AC, Martins FDC, et al. Socioeconomic vulnerability associated to *Toxoplasma gondii* exposure in southern Brazil. PLoS One. 2019, 14(2): e0212375.

6. CAPÍTULO 2

Artigo submetido ao periódico *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*

Fator de impacto: 1.871 (2018)

Serological evidence of *Leptospira* spp. in humans from Fernando de Noronha Island, Brazil

Maria da Conceição Carvalho^a; Müller Ribeiro-Andrade^b; Pollyanne Raysa Fernandes de Oliveira^a; Renata Pimentel Bandeira de Melo^a; Breno Bezerra Aragão^a, Maiara Pôrto Viana^c; Sergio Santos de Azevedo^c; Fernando Jorge Rodrigues Magalhães^d; Rinaldo Aparecido Mota^a

^a Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

^b Departamento de Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, PE, Brazil.

^c Departamento de Medicina Veterinária Universidade Federal De Campina Grande, Patos, PB, Brazil

^d Superintendência em Saúde, Administração do Distrito Estadual de Fernando de Noronha, Fernando de Noronha, PE, Brazil.

ABSTRACT: The prevalence of leptospirosis in humans is highly variable, being influenced by climatic factors, the presence of reservoirs, occupational exposure, recreational activity, and socioeconomic conditions. The objective of this study was to estimate the prevalence of *Leptospira* spp. and identify the predominant human serovars on the island of Fernando de Noronha, Brazil, based on a microscopic agglutination test. The prevalence of anti-*Leptospira* antibodies was 1.17% (4/341; I.C. 0.46%–2.98%),

Corresponding author Maria da Conceição Carvalho

E-mail Address: mc81carvalho@hotmail.com

Financial support: CNPq (APQ-0531-5.05/14), Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco-FACEPE (PNPD-0725-5.05/16) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-CAPES.

with the predominance of serovars Icterohaemorrhagiae, Javanica, Mini and Louisiana. This is the first study on the occurrence of antibodies against *Leptospira* spp. in humans in Fernando de Noronha and highlights the need to implement control and prevention strategies in this island environment.

Keywords: Leptospirosis; Epidemiology; Public Health; Island Environment.

1. Introduction

Leptospirosis is a neglected zoonotic disease caused by bacteria of the genus *Leptospira* spp. [1], comprising more than 260 serovars of pathogenic and intermediate species and responsible for affecting more than 1 million individuals a year in developed and developing countries [2–4]. Leptospirosis causes severe symptoms such as fever, headache, vomiting, pneumonia, meningitis, uveitis, Weil's syndrome, and multiple organ failure [5,6]. These clinical signs make it difficult to diagnose other tropical febrile diseases, like dengue and chikungunya, especially in island settings where access to health services is limited and disease awareness is low [7].

In the archipelago of Fernando de Noronha, Brazil, seropositivity for anti-*Leptospira* spp. antibodies has been reported in cattle, rodents, and dogs [8], indicating that this island is home to a variety of serovars of this bacterium. These animals are potential carriers and are important in transmitting the bacteria to humans who become infected by direct or indirect contact with the urine of infected animals [9–11]. According to the Brazilian Ministry of Health, seven cases with two deaths from leptospirosis in humans were confirmed on the island of Fernando de Noronha from 2001 to 2017 [12].

The objective of this study was to determine the prevalence of *Leptospira* spp. in humans on Fernando de Noronha Island, Brazil.

2. Material and methods

2.1 Ethics aspects

The study strictly followed the ethical principles regarding research with humans and was approved by the Research Ethics Committee of Universidade de Pernambuco (n. 19344819.4.0000.5207).

2.2 Area study

The study area was the Fernando de Noronha Archipelago (Figure 1), which comprises 21 islands and islets and has an area of 17.017 km² and an estimated population of 3.061 [13]. It has a tropical climate comprising two seasons: one dry (August–January) and another rainy (February–July), with an average annual temperature of 26–27°C [14].

2.3 Sampling

To determine the sample size, the finite population calculation was applied considering the population estimate of 3.061 individuals residing in Fernando de Noronha Island in 2019, according to the Brazilian Institute of Geography and Statistics [13]. Furthermore, an expected prevalence of *Leptospira* of 50% was assumed given the non-existence of previous data at a confidence interval (CI) of at least 95% with a statistical error of 5% (IC) [15]. This calculation resulted in a sample of 341 individuals.

As inclusion criteria, individuals should have been residents with a minimum stay of 6 months on the island, of both sexes, older than 2 years of age, and expressed interest in participating voluntarily in the research. Tourists were excluded from the study.

Participants were informed about the research objectives, and those who agreed to participate in the study received and signed a copy of the Informed Consent Form, according to Resolution No. 466/12 of the National Health Council [16].

2.4 Collection of blood samples

Approximately 5mL blood samples were harvested using clot separator gel tubes (BD Vacutainer[®], USA); the samples were stored at room temperature (25°C) until visible retraction of the clot. The samples were centrifuged at 1500 ×g for 5 min, and serum aliquots were obtained and placed in microtubes, identified, and stored at -20°C until further processing.

2.5 Serological analysis

For the detection of anti-*Leptospira* spp. antibodies among serum samples, a microscopic agglutination test (MAT) was conducted using a collection of live antigens grown on Ellinghausen–McCullough–Johnson–Harris medium, free from contamination and self-agglutination, represented by the following serogroups: *Leptospira interrogans* (serovars Bratislava, Copenhageni, Canicola, Djasiman, Grippotyphosa, Hebdomadis Hardjoprajitno, Icterohaemorrhagiae, Pomona, , Pyrogenes, and Wolffi); *Leptospira borgpetersenii* (serovars Autumnalis, Ballum, Castellonis, Celledoni, Javanica, Mini, and Tarassovi); *Leptospira santarosai* (serovars Canalzone, Guaricura and Shermani); *Leptospira kirschneri* (serovars Cynopteri); and *Leptospira noguchii* (serovars Panama and Louisiana) [18].

Positive and negative control serum samples were included in the reactions. Initially, the sera were screened at a 1:50 dilution and then subjected to a series of two-fold geometric dilutions. Samples with titers $\geq 1:50$ were considered positive with 50% or more bacterial agglutination under a dark-field microscope. To calculate antibody prevalence, the reactive sample for one or more serovars was used, and to determine the predominant serovars, we considered those with higher titers [17, 18].

Descriptive statistical analysis was used to calculate the absolute and relative frequencies of the serology results.

3. Results

The prevalence of anti-*Leptospira* antibodies in humans in Fernando de Noronha Island was 1.17% (4/341; IC 0.46%–2.98%). A higher prevalence was observed in men (2.04%; 3/147) belonging to the age group of 29–68 years, and for women, the prevalence was 0.51% (1/194) in the same age range. Regarding the level of education, 75% (3/4) of the individuals with positive results had studied up to fundamental school level. The frequencies of serovars for *Leptospira* spp. are described in Table 1.

Table 1- Frequencies of serovars in serum samples from humans residing on the Fernando de Noronha Island, Pernambuco, Brazil.

Sorovar	Titers	
	50	100
Icterohaemorrhagiae	¼ (25%)	-
Javanica	¼ (25%)	-
Mini	-	¼ (25%)
Louisiana	-	¼ (25%)

4. Discussion

This was the first serological study of *Leptospira* spp. in humans on the Fernando de Noronha Island, Brazil. The low prevalence of anti-*Leptospira* antibodies (1.17%) is similar to that found on Oahu Island (MAT/100: 1.4%) located in the EUA [19] and diverges from the prevalences found in other island environments in different regions of the world, including Barbados Islands (MAT/50: 12.5%) [13], Trinidad

Island (MAT/20: 7.1%), and Tobago Island located in the Caribbean (ELISA: 20.3%) [14]; Fiji Island (MAT/50: 19.4%) [22] in the EUA; Mayotte Island in France (MAT/100: 7.8%) [24]; Andaman Island in India (MAT/100: 10.9%) [17]; and Vanuatu Island in the South Pacific Ocean (MAT/100: 11.5%), [18].

Variations in the prevalence in humans is associated with the increased spread of leptospire worldwide, especially in tropical regions where large outbreaks can occur after heavy rainfall and flooding. In addition to climatic factors, the high reservoir population, occupational exposure, recreational activities, and socioeconomic circumstances contribute to human infection with *Leptospira* spp. [9-11].

Serological analysis identified the occurrence of Icterohaemorrhagiae, Javanica, Mini, and Louisiana serovars with 25% frequency for each and MAT titers of 50 and 100. These data resemble those of other serological surveys conducted in island environments that revealed the presence of these same serovars: Icterohaemorrhagiae [21, 25], Javanica [27], Mini [24], and Louisiana [18]. Most human epidemiological studies show that the most frequent serogroup is Icterohaemorrhagiae [19]. However, serological surveys conducted throughout Brazil show a large variability in serovars in different geographic locations of the country, with a high prevalence of serovar Copenhageni [29].

A recent study in Fernando de Noronha Island revealed anti-*Leptospira* antibody positivity in 28.7% of cattle and 12.7% of rodents with a predominance of Icterohaemorrhagiae serovars, followed by Djasiman and Bratislava serovars [8]. Another serological survey on the same island identified anti-*Leptospira* antibodies in 10.1% of dogs and identified the occurrence of serovars Copenhageni, Grippotyphosa, and Autumnalis [30]. This information confirms the importance of serovar

Icterohaemorrhagiae and others in animals and humans on the island and indicates that cattle and rodents may contribute to the *Leptospira* transmission chain.

The natural reservoirs of leptospires are rodents, domestic animals [23,31,32], and wild animals [33]. Javanica and Louisiana serovars have already been identified in rodents (*Rattus rattus* and *Rattus norvegicus*) [21,22], and Mini serovar has been reported in rodents (*Rattus rattus*) in addition to cattle and dogs [24].

Regarding sex, this study showed higher positivity in men (2.04%), most of them in productive age and with a low level of education. These results corroborate other studies in island environments that indicate greater positivity in men, probably because these individuals perform some occupational activity that exposes them to the agent [2,24]. Another relevant factor for contracting the infection is the lack of information about the agent. Reports indicate that a lower education level is associated with a greater lack of knowledge about prevention measures [2,36].

5. Conclusion

This was the first serological survey on *Leptospira* spp. in humans on Fernando de Noronha Island, Brazil. There is a low prevalence of antibodies, however different serovars are circulating in humans on this environment. Nevertheless, it is important to alert health authorities to make local individuals aware of the risks and harmful impact of leptospirosis.

Acknowledgement

The authors would like to thank the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), and Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) for the financial support (APQ-0531-5.05/14-PRONEX).

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- [1] A.M. Tenter, A.R. Heckerroth, L.M. Weiss, *Toxoplasma gondii*: From animals to humans, *Int. J. Parasitol.* 30 (2000) 1217–1258. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00124-7](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00124-7).
- [2] F. Costa, J.E. Hagan, J. Calcagno, M. Kane, P. Torgerson, M.S. Martinez-Silveira, C. Stein, B. Abela-Ridder, A.I. Ko, Global Morbidity and Mortality of Leptospirosis: A Systematic Review, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9 (2015) 0–1. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003898>.
- [3] P.N. Levett, *Leptospira* and Leptospirosis. Systematics of Leptospiraceae, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 387 (2015) 11–20. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-45059-8>.
- [4] A.T. Vincent, O. Schiettekatte, C. Goarant, V.K. Neela, E. Bernet, R. Thibeaux, N. Ismail, M.K.N.M. Khalid, F. Amran, T. Masuzawa, R. Nakao, A.A. Korba, P. Bourhy, F.J. Veyrier, M. Picardeau, Revisiting the taxonomy and evolution of pathogenicity of the genus *Leptospira* through the prism of genomics, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 13 (2019). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007270>.
- [5] G. Da Silva Junior, N. Srisawat, G. Galdino, Ê. Macedo, J. Pinto, G. Farias, R. Alencar, R. Pires Neto, E. Barros, E. De Francesco Daher, Acute kidney injury in leptospirosis: Overview and perspectives, *Asian Pac. J. Trop. Med.* 11 (2018) 549–554. <https://doi.org/10.4103/1995-7645.244514>.
- [6] M. Picardeau, Diagnosis and epidemiology of leptospirosis, *Médecine Mal. Infect.* 43 (2013) 1–9. <https://doi.org/10.1016/J.MEDMAL.2012.11.005>.
- [7] V. Guernier, C. Goarant, J. Benschop, C.L. Lau, A systematic review of human

- and animal leptospirosis in the Pacific Islands reveals pathogen and reservoir diversity, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006503>.
- [8] E.G.F. De Moraes, F.J. Rodrigues Magalhães, C.D.F. De Lima Filho, D.F. Brandespim, P.R.F. De Oliveira, D.F. Da Costa, S.S. De Azevedo, R.A. Mota, Geo-epidemiological study of *Leptospira* spp. Infection in cattle, feral cats and rodents of the Fernando de Noronha Island, Brazil, *Acta Sci. Vet.* 46 (2018) 1–9. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.79176.88400>.
- [9] A.R. Bharti, J.E. Nally, J.N. Ricaldi, M.A. Matthias, M.M. Diaz, M.A. Lovett, P.N. Levett, R.H. Gilman, M.R. Willig, E. Gotuzzo, J.M. Vinetz, Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance, *Lancet Infect. Dis.* 3 (2003) 757–771. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(03\)00830-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(03)00830-2).
- [10] F. Bertelloni, G. Cilia, B. Turchi, P. Pinzauti, D. Cerri, F. Fratini, Epidemiology of leptospirosis in North-Central Italy: Fifteen years of serological data (2002–2016), *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 65 (2019) 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.04.001>.
- [11] C.L. Lau, L.D. Smythe, S.B. Craig, P. Weinstein, Climate change, flooding, urbanisation and leptospirosis: Fuelling the fire?, *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 104 (2010) 631–638. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2010.07.002>.
- [12] C. Lettieri, J. Moon, P. Hickey, M. Gray, B. Berg, D. Hospenthal, Prevalence of *Leptospira* Antibodies in U.S. Army Blood Bank Donors in Hawaii, *Mil. Med.* 169 (2004) 687–690. <https://doi.org/10.7205/MILMED.169.9.687>.
- [13] C.O.R. Everard, R.J. Hayes, C.N. Edwards, Leptospiral infection in school-children from Trinidad and Barbados, *Epidemiol. Infect.* 103 (1989) 143–156. <https://doi.org/10.1017/S0950268800030442>.
- [14] A. James, K. Siele, N. Harry, S. Suepaul, A. Stewart-Johnson, A. Adesiyun,

- Serological evidence of exposure to *Leptospira* spp. in veterinary students and other university students in Trinidad and Tobago, *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* 2013 (2013). <https://doi.org/10.1155/2013/719049>.
- [15] C.L. Lau, C.H. Watson, J.H. Lowry, M.C. David, S.B. Craig, S.J. Wynwood, M. Kama, E.J. Nilles, *Leptospirose humana Infecção em Fiji: Um Ecoepidemiological Abordagem para identificar fatores de risco e factores ambientais para a Transmissão*, 10 (2016) 1–29.
- [16] P. Bourhy, L. Collet, T. Lernout, F. Zinini, R.A. Hartskeerl, H. van der Linden, J.M. Thiberge, L. Diancourt, S. Brisse, C. Giry, F. Pettinelli, M. Picardeau, *Human Leptospira Isolates Circulating in Mayotte (Indian Ocean) Have Unique Serological and Molecular Features*, *J. Clin. Microbiol.* 50 (2012) 307–311. <https://doi.org/10.1128/JCM.05931-11>.
- [17] R. Vimal Raj, K. Vinod Kumar, C. Lall, K. Vedhagiri, A.P. Sugunan, I.P. Sunish, S. Sharma, P. Vijayachari, *Changing trend in the seroprevalence and risk factors of human leptospirosis in the South Andaman Island, India*, *Zoonoses Public Health.* 65 (2018) 683–689. <https://doi.org/10.1111/zph.12478>.
- [18] J.G. Pakoa, M.-E. Soupé-Gilbert, D. Girault, D. Takau, J. Gaviga, A.-C. Gourinat, A. Tarantola, C. Goarant, *High incidence of leptospirosis in an observational study of hospital outpatients in Vanuatu highlights the need for improved awareness and diagnostic capacities*, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 12 (2018) e0006564. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006564>.
- [19] P. Le Turnier, L. Epelboin, *Mise au point sur la leptospirose*, *La Rev. Médecine Interne.* 40 (2019) 306–312. <https://doi.org/10.1016/J.REVMED.2018.12.003>.
- [20] M. Dietrich, D.A. Wilkinson, V. Soarimalala, S.M. Goodman, K. Dellagi, P. Tortosa, *Diversification of an emerging pathogen in a biodiversity hotspot:*

- Leptospira in endemic small mammals of Madagascar, *Mol. Ecol.* 23 (2014) 2783–2796. <https://doi.org/10.1111/mec.12777>.
- [21] A. Desvars, F. Naze, G. Vourc'h, E. Cardinale, M. Picardeau, A. Michault, P. Bourhy, Similarities in *Leptospira* serogroup and species distribution in animals and humans in the Indian ocean island of Mayotte, *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 87 (2012) 134–140. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2012.12-0102>.
- [22] C.O.R. Everard, G.M. Fraser-Chanpong, L.J. Bhagwandin, M.W. Race, A.C. James, LEPTOSPIRES IN WILDLIFE FROM TRINIDAD AND GRENADA, *J. Wildl. Dis.* 19 (1983) 192–199. <https://doi.org/10.7589/0090-3558-19.3.192>.
- [23] P.R. Torgerson, J.E. Hagan, F. Costa, J. Calcagno, M. Kane, M.S. Martinez-Silveira, M.G.A. Goris, C. Stein, A.I. Ko, B. Abela-Ridder, Global Burden of Leptospirosis: Estimated in Terms of Disability Adjusted Life Years, *PLoS Negl. Trop. Dis.* 9 (2015) e0004122. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004122>.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo traz os primeiros relatos sobre infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp.* em humanos residentes da Ilha de Fernando de Noronha. Os resultados obtidos indicam que os humanos estão expostos a esses patógenos, evidenciado pela presença de anticorpos. Os fatores de risco associados à infecção por *T. gondii* alertam para o não consumo de animais silvestres e para uso de água potável nesse ambiente para reduzir o risco de infecção por este protozoário. A ocorrência de infecção de diferentes sorovares de *Leptospira spp.* circulando neste ambiente, reforça a necessidade de vigilância ativa para identificação de casos suspeitos e prevenir e controlar o agente por meio de vacinação dos animais.

As autoridades de saúde local devem promover a educação em saúde com a população, alertando sobre os riscos e o impacto prejudicial da leptospirose e toxoplasmose, além de divulgar ações de proteção entre a população vulnerável por meio de palestras e cartilhas. Manter a vigilância ativa com monitoramento sorológico em animais e humanos, assim como implementar medidas estratégicas e integradas na prevenção e controle dessas zoonoses por meio de controle da população de gatos ferais e roedores.

8. APÊNDICE

8.1 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) fornecido aos voluntários residentes da Ilha de Fernando de Noronha, Brasil.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

O Sr.(a) esta sendo convidado(a) a participar da pesquisa **“Soroepidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em humanos no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil”**, sob responsabilidade do pesquisador Rinaldo Aparecido Mota e sua equipe (Erika Fernanda Torres Samico Cavalcanti, Maria da Conceição Carvalho, Muller Ribeiro de Andrade, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Pollyanne Raysa Fernandes, Breno Bezerra Aragão e Renato Amorim da Silva). Neste estudo pretendemos realizar a caracterização epidemiológica da toxoplasmose e leptospirose, com vistas ao estudo do impacto destas enfermidades em humanos e implementar ações de vigilância ativa, prevenção e controle das doenças na Ilha de Fernando de Noronha, PE. O motivo que nos leva a realizar este estudo é a ocorrência de morbidade hospitalar e casos naturais de abortos na espécie humana e em animais de produção nesta ilha, sendo necessária a realização de um estudo mais detalhado com a detecção da soroprevalência e as prováveis fontes de infecção para o homem. Para este estudo adotaremos o seguinte procedimento: será realizado o inquérito soroepidemiológico da toxoplasmose e leptospirose em humanos, além do estudo dos fatores de risco.

Serão incluídos no estudo os indivíduos residentes a no mínimo 6 meses na área de abrangência do estudo com idade acima de 2 anos, de ambos os sexos, mulheres gestantes ou não. Serão excluídos os indivíduos não residentes da Ilha de Fernando de Noronha.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade

ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador. Quanto aos riscos e desconfortos aos participantes, o projeto oferece risco mínimo, mas os participantes podem sentir algum desconforto (ansiedade, ardência, hematoma no local de coleta) tendo em vista que a coleta sanguínea é um procedimento invasivo. Entretanto, como medida protetiva, o membro da equipe responsável pela coleta é devidamente qualificado e pode minimizar os possíveis desconfortos (coleta segura e tranquila).

Quanto aos riscos e desconfortos aos pesquisadores, o projeto oferece risco mínimo, tais como: perfuração com perfurocortante, constrangimento no momento da coleta e risco de infecção por agentes infecciosos no momento da coleta. Como medidas protetivas será realizado o treinamento dos pesquisadores, cada pesquisador receberá os equipamentos de proteção individual (EPI's) e no início e término de cada procedimento de coleta será realizada a antisepsia do local de coleta. Todo o material utilizado para a realização do procedimento de coleta será estéril e descartável, visando assim, a proteção de todos os envolvidos na pesquisa.

Apoio aos participantes:

Todos residentes que participarem do projeto terão direito ao exame e o resultado serão entregue em mãos para que possa iniciar as medidas cabíveis em relação ao tratamento. Aos participantes que apresentaram soropositividade indica que foram expostos ao agente, mas muitos desses pacientes não desenvolvem sintomas clínicos. Cerca de 90% dos casos de infecção aguda por *Toxoplasma gondii* em imunocompetentes é, em geral, assintomática e não precisa de tratamentos (KRAVETZ; FEDERMAN, 2005), apenas acompanhamento pela vigilância de saúde da Ilha de Fernando de Noronha e em caso de comprometimento da saúde esses pacientes serão direcionados ao Sistema Único de Saúde-SUS para o devido tratamento. Já os pacientes que apresentarem soropositividade para leptospirose, esses serão minuciosamente acompanhados vigilância de saúde da Ilha e direcionados ao SUS para dar início ao tratamento a base de antibióticos e as devidas atenção em caso de comprometimento da saúde. Todos os moradores da Ilha de Fernando de Noronha serão contemplados constantemente com palestras educativas com informação sobre as formas de transmissão de *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. E medidas preventivas sobre essas enfermidades. Essas palestras serão fornecidas pelos pesquisadores integrados neste projeto. A forma mais efetiva de controlar o agente é a educação sobre os fatores de risco para a exposição ao *Toxoplasma gondii* e

Leptospira spp., é importante para prevenir infecções nos níveis populacional e individual. Assim, uma questão fundamental para a adoção de políticas de saúde pública é a identificação dos fatores de risco que devem ser abordados para otimizar os programas de prevenção e como deve ser sua importância relativa, com base na proporção de infecções devido a esse fator. Vários estudos demonstraram que os programas de educação devem se concentrar nas realizações necessárias, em termos de comportamentos e estilo de vida saudável, e um conhecimento pertinente a patógenos com elevada frequência na população.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão a sua disposição quando finalizada. Seu nome ou material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. O senhor(a) não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar desse estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Nos casos de dúvidas e esclarecimentos o (a) senhor (a) deve procurar os pesquisadores Rinaldo Aparecido Mota, Erika Fernanda Torres Samico Cavalcanti, Maria da Conceição Carvalho, Muller Ribeiro de Andrade, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Pollyanne Raysa Fernandes, Breno Bezerra Aragão e Renato Amorim da Silva na Rua Dom Manoel de Medeiros s/n Dois Irmãos, Recife-PE, telefone 81-3320-6425 ou através do e-mail: rinaldo.mota@hotmail.com.

Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco, localizado à Av. Agamenon Magalhães, S/N, Santo Amaro, Recife-PE, telefone 81-3183-3775 ou ainda através do e-mail: comite.etica@upe.br.

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, portador do documento de identidade _____ fui informado (a) dos objetivos da Soroepidemiologia da toxoplasmose e leptospirose na população humana de Fernando de Noronha de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a

qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim eu desejar.

Declaro que concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

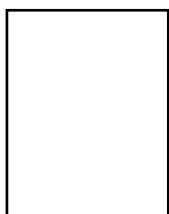
Local:

Data: ____/____/

Assinatura do participante
pesquisador

Assinatura do

Espaço para impressão digital



8.2 Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) fornecido aos responsáveis daqueles voluntários com idade inferior a 18 anos, residentes da Ilha de Fernando de Noronha.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

Seu filho está sendo convidado (a) a participar da pesquisa **“Soroepidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira spp.* em humanos no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil”**, sob responsabilidade do pesquisador Rinaldo Aparecido Mota e sua equipe (Erika Fernanda Torres Samico Cavalcanti, Maria da Conceição Carvalho, Muller Ribeiro de Andrade, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Pollyanne Raysa Fernandes, Breno Bezerra Aragão e Renato Amorim da Silva). Neste estudo pretendemos realizar a caracterização epidemiológica da toxoplasmose e leptospirose, com vistas ao estudo do impacto destas enfermidades em humanos e implementar ações de vigilância ativa, prevenção e controle das doenças na Ilha de Fernando de Noronha, PE. O motivo que nos leva a realizar este estudo é a ocorrência de morbidade hospitalar e casos naturais de abortos na espécie humana e em animais de produção nesta ilha, sendo necessária a realização de um estudo mais detalhado com a detecção da soroprevalência e as prováveis fontes de infecção para o homem. Para este estudo adotaremos o seguinte procedimento: será realizado o inquérito soroepidemiológico da toxoplasmose e leptospirose em humanos, além do estudo dos fatores de risco.

Serão incluídos no estudo os indivíduos residentes a no mínimo 6 meses na área de abrangência do estudo com idade acima de 2 anos, de ambos os sexos, mulheres gestantes ou não. Serão excluídos os indivíduos não residentes da Ilha de Fernando de Noronha.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido(a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador. Quanto aos riscos e

desconfortos aos participantes, o projeto oferece risco mínimo, mas os participantes podem sentir algum desconforto (ansiedade, ardência, hematoma no local de coleta) tendo em vista que a coleta sanguínea é um procedimento invasivo. Entretanto, como medida protetiva, o membro da equipe responsável pela coleta é devidamente qualificado e pode minimizar os possíveis desconfortos (coleta segura e tranquila).

Quanto aos riscos e desconfortos aos pesquisadores, o projeto oferece risco mínimo, tais como: perfuração com perfurocortante, constringimento no momento da coleta e risco de infecção por agentes infecciosos no momento da coleta. Como medidas protetivas será realizado o treinamento dos pesquisadores, cada pesquisador receberá os equipamentos de proteção individual (EPI's) e no início e término de cada procedimento de coleta será realizada a antissepsia do local de coleta. Todo o material utilizado para a realização do procedimento de coleta será estéril e descartável, visando assim, a proteção de todos os envolvidos na pesquisa.

Apoio aos participantes:

Todos residentes que participarem do projeto terão direito ao exame e o resultado serão entregue em mãos para que possa iniciar as medidas cabíveis em relação ao tratamento. Aos participantes que apresentaram soropositividade indica que foram expostos ao agente, mas muitos desses pacientes não desenvolvem sintomas clínicos. Cerca de 90% dos casos de infecção aguda por *Toxoplasma gondii* em imunocompetentes é, em geral, assintomática e não precisa de tratamentos (KRAVETZ; FEDERMAN, 2005), apenas acompanhamento pela vigilância de saúde da Ilha de Fernando de Noronha e em caso de comprometimento da saúde esses pacientes serão direcionados ao Sistema Único de Saúde-SUS para o devido tratamento. Já os pacientes que apresentarem soropositividade para leptospirose, esses serão minuciosamente acompanhados vigilância de saúde da Ilha e direcionados ao SUS para dar início ao tratamento a base de antibióticos e a devida atenção em caso de comprometimento da saúde. Todos os moradores da Ilha de Fernando de Noronha serão contemplados constantemente com palestras educativas com informação sobre as formas de transmissão de *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. E medidas preventivas sobre essas enfermidades. Essas palestras serão fornecidas pelos pesquisadores integrados neste projeto. A forma mais efetiva de controlar o agente é a educação sobre os fatores de risco para a exposição ao *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp., é importante para prevenir infecções nos níveis populacional e

individual. Assim, uma questão fundamental para a adoção de políticas de saúde pública é a identificação dos fatores de risco que devem ser abordados para otimizar os programas de prevenção e como deve ser sua importância relativa, com base na proporção de infecções devido a esse fator. Vários estudos demonstraram que os programas de educação devem se concentrar nas realizações necessárias, em termos de comportamentos e estilo de vida saudável, e um conhecimento pertinente a patógenos com elevada frequência na população.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão a sua disposição quando finalizada. Seu nome ou material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. O senhor (a) não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar desse estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você. Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Nos casos de dúvidas e esclarecimentos o(a) senhor(a) deve procurar os pesquisadores Rinaldo Aparecido Mota, Erika Fernanda Torres Samico Cavalcanti, Maria da Conceição Carvalho, Muller Ribeiro de Andrade, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Pollyanne Raysa Fernandes, Breno Bezerra Aragão e Renato Amorim da Silva na Rua Dom Manoel de Medeiros s/n Dois Irmãos, Recife-PE, telefone 81-3320-6425 ou através do e-mail: rinaldo.mota@hotmail.com.

Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco, localizado à Av. Agamenon Magalhães, S/N, Santo Amaro, Recife-PE, telefone 81-3183-3775 ou ainda através do e-mail comite.etica@upe.br.

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, _____, portador do documento de identidade _____ fui informado (a) dos objetivos da Soroepidemiologia da toxoplasmose e leptospirose na população humana de Fernando de Noronha de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim eu desejar.

Declaro que concordo em participar deste estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

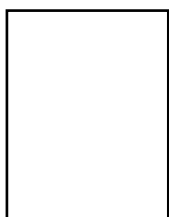
Local:

Data: ___/___/___

Assinatura do responsável
pesquisador

Assinatura do

Espaço para impressão digital



8.3 Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) fornecido aos voluntários residentes da Ilha de Fernando de Noronha, Brasil.

TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

Você está sendo convidado(a) a participar da pesquisa **“Soroepidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em humanos no Arquipélago de Fernando de Noronha, Pernambuco, Brasil”**, sob responsabilidade do pesquisador Rinaldo Aparecido Mota e sua equipe (Erika Fernanda Torres Samico Cavalcanti, Maria da Conceição Carvalho, Muller Ribeiro de Andrade, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Pollyanne Raysa Fernandes, Breno Bezerra Aragão e Renato Amorim da Silva). Neste estudo pretendemos realizar a caracterização epidemiológica da toxoplasmose e leptospirose, com vistas ao estudo do impacto destas enfermidades em humanos e implementar ações de vigilância ativa, prevenção e controle das doenças na Ilha de Fernando de Noronha, PE. O motivo que nos leva a realizar este estudo é a ocorrência de morbidade hospitalar e casos naturais de abortos na espécie humana e em animais de produção nesta ilha, sendo necessária a realização de um estudo mais detalhado com a detecção da soroprevalência e as prováveis fontes de infecção para o homem. Para este estudo adotaremos o seguinte procedimento: será realizado o inquérito soroepidemiológico da toxoplasmose e leptospirose em humanos, além do estudo dos fatores de risco.

Serão incluídos no estudo os indivíduos residentes a no mínimo 6 meses na área de abrangência do estudo com idade acima de 2 anos, de ambos os sexos, mulheres gestantes ou não. Serão excluídos os indivíduos não residentes da Ilha de Fernando de Noronha.

Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido(a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador. Você terá os seguintes benefícios ao participar da pesquisa: serão contemplados constantemente com

palestras educativas com informação sobre as formas de transmissão de *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. E medidas preventivas sobre essas enfermidades. Além de obter informações sobre sua própria saúde em relação a essas enfermidades. Os resultados das análises serão entregues em mãos para que possa iniciar as medidas cabíveis em relação ao tratamento, com acompanhamento pela vigilância de saúde da Ilha de Fernando de Noronha e em caso de comprometimento da saúde esses pacientes serão direcionados ao sistema único de saúde-SUS para os devidos tratamentos.

Quanto aos riscos e desconfortos aos participantes, o projeto oferece risco mínimo, mas os participantes podem sentir algum desconforto (ansiedade, ardência, hematoma no local de coleta) tendo em vista que a coleta sanguínea é um procedimento invasivo. Entretanto, como medida protetiva, o membro da equipe responsável pela coleta é devidamente qualificado e pode minimizar os possíveis desconfortos (coleta segura e tranquila).

Quanto aos riscos e desconfortos aos pesquisadores, o projeto oferece risco mínimo, tais como: perfuração com perfurocortante, constrangimento no momento da coleta e risco de infecção por agentes infecciosos no momento da coleta. Como medidas protetivas será realizado o treinamento dos pesquisadores, cada pesquisador receberá os equipamentos de proteção individual (EPI's) e no início e término de cada procedimento de coleta será realizada a antissepsia do local de coleta. Todo o material utilizado para a realização do procedimento de coleta será estéril e descartável, visando assim, a proteção de todos os envolvidos na pesquisa.

O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão a sua disposição quando finalizada. Seu nome ou material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão.

O menor (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar desse estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável e a outra será fornecida a você.

Caso haja danos decorrentes dos riscos previstos, o pesquisador assumirá a responsabilidade pelos mesmos.

Nos casos de dúvidas e esclarecimentos o(a) senhor(a) deve procurar os pesquisadores Rinaldo Aparecido Mota, Erika Fernanda Torres Samico Cavalcanti,

Maria da Conceição Carvalho, Muller Ribeiro de Andrade, Renata Pimentel Bandeira de Melo, Pollyanne Raysa Fernandes, Breno Bezerra Aragão e Renato Amorim da Silva na Rua Dom Manoel de Medeiros s/n Dois Irmãos, Recife-PE, telefone 81-3320-6425 ou através do e-mail: rinaldo.mota@hotmail.com.

Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Pernambuco, localizado à Av. Agamenon Magalhães, S/N, Santo Amaro, Recife-PE, telefone 81-3183-3775 ou ainda através do e-mail: comite.etica@upe.br

Consentimento Livre e Esclarecido

Eu _____, após ter recebido todos os esclarecimentos e ciente dos meus direitos, e meu responsável ter assinado o TCLE, concordo em participar desta pesquisa. Bem como, autorizo a divulgação e a publicação de toda informação por mim transmitida, exceto dados pessoais, em publicações e eventos de caráter científico. Desta forma, assino este termo, juntamente com o pesquisador, em duas vias de igual teor, ficando uma via sob meu poder e outra em poder do(s) pesquisador(es).

Local: _____ Data: ___/___/___

Assinatura do menor participante
principal

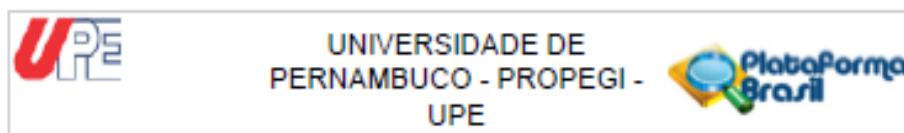
Assinatura do pesquisador

Espaço para impressão digital



9. ANEXOS

9.1 Pareceres de aprovação do comitê de ética para pesquisa da soroprevalência da toxoplasmose e leptospirose na população humana de Fernando de Noronha.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: SOROEPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE E LEPTOSPIROSE NA POPULAÇÃO HUMANA DE FERNANDO DE NORONHA

Pesquisador: Rinaldo Aparecido Mota

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 19344819.4.0000.5207

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO

Patrocinador Principal: FUNDAÇÃO DE AMPARO A CIÊNCIA E TECNOLOGIA - FACEPE

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.748.468

Apresentação do Projeto:

A toxoplasmose e leptospirose são zoonoses mais comuns em todo o mundo e as estimativas de soroprevalência para populações humanas e animais apresentam grandes variações até mesmo dentro de uma mesma região. Estudos relacionados a toxoplasmose e leptospirose em humanos nos estados do Nordeste do Brasil são poucos e nenhum trabalho neste sentido foi encontrado na literatura no que diz respeito a ilha de Fernando de Noronha. Neste trabalho, objetiva-se realizar um levantamento soropidemiológico da infecção por *T. gondii* e principais sorovares de *Leptospira* spp. na população humana da ilha de Fernando de Noronha. Para o diagnóstico sorológico dos agentes infecciosos será utilizado a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e técnica de Soroprecipitação Microscópica (SAM). Para o estudo dos fatores de risco associados à infecção por *T. gondii* e *Leptospira* spp., serão aplicados questionários, com perguntas objetivas que incluam informações demográficas e epidemiologia da toxoplasmose e leptospirose. Este projeto de pesquisa apresenta forte impacto socioambiental, pois propõe realizar o mapeamento e ocorrência das infecções por *T. gondii* e *Leptospira* spp., e sua distribuição espacial na ilha de Fernando de Noronha, pode prevenir os fatores de risco associados a essa doença e consequência na saúde pública. Desta forma, medidas de controle e prevenção poderão ser implementadas.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Endereço: Av. Agamenon Magalhães, s/nº
Bairro: Santo Amaro CEP: 50.100-010
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)3183-3775 Fax: (81)3183-3775 E-mail: comite.etica@upe.br

9.2 Questionário de investigação epidemiológica sobre toxoplasmose aplicado nos voluntários residentes da Ilha de Fernando de Noronha.

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA SOBRE TOXOPLASMOSE

NOME: _____

Endereço: _____

Bairro: _____ Fone: _____ ACS: _____ Micro: _____

DADOS DO PACIENTE

1. Idade: _____ 2. Escolaridade: () 1º grau () 2º grau () superior () não tem

3. Profissão: _____

4. Renda: () < 1 salário () 1 salário () entre 1 e 2 salários () entre 2 e 4 salários () > que 4 salários

5. Sinais ou sintomas:

() febre () exantema () mialgia () cefaleia () adenomegalia

() oftálmicos: _____

FATORES DE RISCO PARA TOXOPLASMOSE

6. Como prefere ingerir a carne? () mal passada () bem passada () ao ponto

7. Costuma experimentar a carne durante o cozimento? () sim () não

8. Costuma ingerir legumes crus ou cozidos? () crus () cozidos () ambos

9. Como higieniza legumes e verduras? () só água () água + vinagre () água + hipoclorito

10. Qual o tipo de água que costuma tomar? () mineral () torneira () poço/chuva

11. Tem gatos em casa? () sim () não

12. Existe relação com eles? () sim () não

13. Realiza práticas de jardinagem ou hortas? () sim () não

14. Se realiza, utiliza luvas durante as práticas? () sim () não

15. Hábitos de alimentação (local): () casa () fora de casa

16. Costuma consumir animais silvestres? () não () sim _____

Observações: _____
