



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE SANTA CRUZ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

LUANE ETIENNE BARRETO

**VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CLORETO DE SÓDIO
UTILIZADO EM PRODUTOS CÁRNEOS DESTINADOS AO
CONSUMO HUMANO, VENDIDOS EM FEIRAS LIVRES NA
REGIÃO SUL DA BAHIA, NA INATIVAÇÃO DE CISTOS DE
Toxoplasma gondii.**

**ILHÉUS-BA
2022**

LUANE ETIENNE BARRETO

**VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CLORETO DE SÓDIO
UTILIZADO EM PRODUTOS CÁRNEOS DESTINADOS AO
CONSUMO HUMANO, VENDIDOS EM FEIRAS LIVRES NA
REGIÃO SUL DA BAHIA, NA INATIVAÇÃO DE CISTOS DE
Toxoplasma gondii.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual
de Santa Cruz, como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em Ciência Animal

Área de concentração: Clínica e Sanidade Animal
Sub-área: Doenças Parasitárias dos Animais

Orientador: Prof Dr. George Rêgo Albuquerque
Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniele de Santana
Rocha

LUANE ETIENNE BARRETO

**VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CLORETO DE SÓDIO UTILIZADO EM
PRODUTOS CÁRNEOS DESTINADOS AO CONSUMO HUMANO, VENDIDOS EM
FEIRAS LIVRES NA REGIÃO SUL DA BAHIA, NA INATIVAÇÃO DE CISTOS DE
Toxoplasma gondii.**

Ilhéus – BA, 24/02/2022

BANCA EXAMINADORA

George Rêgo Albuquerque – Dsc.
DCAA/UESC
(Orientador)

Daniele de Santana Rocha, Dsc.
DCAA/UESC
(Co-orientadora)

Aristeu Vieira da Silva, Dsc.
UEFS.

Pedro Alexandre Gomes Leite, Dsc
DCAA/UESC.

**ILHÉUS-BA
2022**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus por ter me dado saúde para conseguir chegar até o final dessa etapa, afinal viver esses últimos anos em pandemia não têm sido fáceis diante de tantas perdas e preocupações.

Agradecer aos meus pais (Mireille e Arenilton Jr) por todo apoio e por sempre acreditarem em mim. A minha irmã (Maria Clara), por todo apoio moral e por sempre se mostrar presente diante de todas as dificuldades. Aos meus avós Arenilton, Nevolanda, Maria Lucia, Marie Claude e Georges (*in memoriam*). Meus tios, principalmente minha tia Dominique e minha tia Carol por sempre me ouvir e aconselhar. Ao meu padrasto e minha madrasta (Giba e Danyelle), por todos os momentos de descontração, jantares, presentes, cervejas, vinhos, churrascos e feijoadas. Ao Júnior (*in memoriam*), meu cachorro que me deixou ano passado (2021), mas que me acompanhou durante 15 anos de minha vida e sempre soube o momento adequado para dormir de conchinha comigo. Aos meus primos Matheus e Pedro por serem meus melhores amigos desde sempre e para sempre. A minha nova (não tão nova) prima e melhor amiga Ingrid que, nesse caso, me faltam palavras para descrever sua importância em minha vida, então só gostaria de agradecer por tudo que ela já fez e faz por mim.

A família Bittar, por me acolher tão grandemente e se tornar também parte de minha família e da minha história, em especial a Simone Bittar (minha sogra preferida), e a Thammy por todo apoio, por toda leveza, dedicação, carinho, amor, companheirismo, ajuda, compreensão.... Faltam adjetivos para descrever as suas qualidades e a nossa história.

Um agradecimento especial à minha terapeuta Márcia por todo trabalho desenvolvido, por me ajudar a me conhecer melhor e a aprender, cada vez mais, lidar com minhas questões.

As minhas amigas, por compreender a minha ausência em tantos momentos especiais, mas sempre me fazer presente em todos, através de chamadas de vídeos, *tbt* e marcações aleatórias no Instagram, em especial à Camila, Luana, Fernanda, Marianne, Karol, Ingrid, Suzanne, Katharine, Mírian e Maíra.

Gostaria de agradecer também aos meus “ICs” (Dhayla, Nicolli, Larissa e Brunno) por toda ajuda, pois com certeza sem vocês esses últimos 2 anos não seriam os mesmos e eu não conseguiria desenvolver esse trabalho da maneira que foi feito. Muito obrigada por toda preocupação, disponibilidade e aprendizado.

Aos meus orientadores Dani e George, por toda a orientação. Eu não poderia estar mais grata pela oportunidade de desenvolver um projeto com vocês, por acreditarem em mim e por todo aprendizado que adquiri nesses anos que, com certeza, levarei para sempre em minha vida.

Ao pessoal do LAFEM/UESC pelas manhãs, pela oportunidade de trabalhar em um projeto tão importante para a população da região e pelos aprendizados.

Meu muito obrigada a Hellen por sempre me ajudar nos momentos caóticos. Aos vigilantes da UESC que decoraram meu nome. Ao seu Zé do biotério e todos os funcionários da UESC que, de certa forma, estiveram presentes me ajudando nos momentos que precisei.

E, por último, mas não menos importante gostaria de agradecer a instituição financiadora FAPESB pela bolsa do mestrado durante esses 23 meses de trabalho.

**VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CLORETO DE SÓDIO UTILIZADO EM
PRODUTOS CÁRNEOS DESTINADOS AO CONSUMO HUMANO, VENDIDOS EM
FEIRAS LIVRES NA REGIÃO SUL DA BAHIA, NA INATIVAÇÃO DE CISTOS DE
Toxoplasma gondii.**

RESUMO

A toxoplasmose é uma enfermidade com distribuição mundial que acomete diversos animais, incluindo o homem, podendo causar desde infecção assintomática até sinais clínicos mais graves. A salga, cura e uso de conservantes nos produtos derivados de carnes já se mostraram úteis na inviabilização de cistos teciduais de *T. gondii*, entretanto devido a diversificação das técnicas aplicadas na elaboração desses produtos, como ocorre em diferentes locais, não existe a garantia de eficácia no controle da infecção. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi detectar *Toxoplasma gondii* em produtos cárneos comercializados em feiras livres da região sul da Bahia e avaliar a influência do sal na viabilidade do parasito. Foram utilizadas 125 amostras de diversos produtos cárneos vendidos em feiras livres de cidades da região sul da Bahia, coletados durante todo o ano de 2021. Nessas amostras a fim de avaliar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* foi realizada a técnica sorológica de hemaglutinação indireta (HAI), para avaliar a presença de DNA do parasito utilizou-se da técnica de análise molecular (PCR), e para a determinação da concentração de cloreto de sódio presente nas amostras foi realizado o Método de Möhr, além disso 21 amostras foram destinadas ao bioensaio na intenção de verificar a viabilidade de possíveis cistos teciduais presentes. Dos 125 produtos cárneos, 10 (8%) foram positivos na análise sorológica. Quando se trata da análise molecular e do ensaio biológico todas as amostras foram negativas. As concentrações de sal das amostras variaram de 2,2% a 17,7% a cada 100 gramas das amostras. Os resultados obtidos comprovam que as concentrações de sal dos produtos cárneos vendidos nas feiras livres da região sul da Bahia se mostraram suficientes para a inativação de possíveis cistos teciduais presentes.

Palavras-Chave: Método de Möhr; Produtos cárneos; Feiras livres; Sorologia; PCR; Toxoplasmose.

**EVALUATION OF THE INFLUENCE OF SODIUM CHLORIDE ON
INACTIVATION OF *Toxoplasma gondii* CYST IN MEAT PRODUCTS DESTINED TO
HUMAN CONSUMPTION SOLD AT STREET MARKET IN SOUTH BAHIA
REGION.**

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a disease that affects several animals and also human, and can cause from asymptomatic infection to more severe clinical signs. Salting, curing and the use of preservatives in meat products have already proved to be useful in preventing tissue cysts of *T. gondii*, however due to the diversification of techniques applied in the elaboration of these products, as occurs in different places, there is no guarantee of effectiveness in infection control. Thus, the objective of this research was to detect *Toxoplasma gondii* in meat products sold in street markets in the southern region of Bahia and to evaluate the influence of salt on the viability of the parasite. A total of 125 samples of several meat products sold at street markets in cities in the southern region of Bahia were used, collected throughout the year 2021. In these samples, to evaluate the presence of antibodies anti-*T. gondii*, the serological technique of indirect hemagglutination (HAI), to assess the presence of parasite DNA the molecular analysis technique (PCR) was used, and to determine the concentration of sodium chloride present in the samples the Mohr's Method was used, in addition 21 samples were destined for the bioassay in order to verify the viability of possible tissue cysts present. Of the 125 meat products, 10 (8%) were positive in the serological analysis. When it comes to molecular analysis and biological assay all samples were negative. The salt concentration of the samples varied from 2.2% to 17.7% per 100 grams of samples. The results obtained prove that the salt concentrations of meat products sold in street markets in the southern region of Bahia proved to be sufficient for the inactivation of possible tissue cysts present.

Keywords: Möhr's Method; Meat products; Street Market; Serology; PCR; Toxoplasmosis.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtos cárneos coletados nas feiras livres de cidades da região Sul da Bahia durante o ano de 2021.....	28
Tabela 2 - Concentração de sal nas amostras de produtos cárneos coletadas nas feiras livres dos municípios do sul da Bahia em 2021.....	34
Tabela 3 - Média de concentração de sal dos produtos cárneos das cidades coletadas.....	38

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Temperatura de manutenção das amostras coletadas nas feiras livres..... 34

Gráfico 2– Animais das amostras coletadas advindos de abatedouros ou criação própria34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Amostras de produtos cárneos coletadas, separadas e numeradas	28
Figura 2 - Estruturas das feiras livres nos municípios do sul da Bahia onde foram coletadas as amostras durante todo ano de 2021. Figura 2A – Carnes Expostas em temperatura ambiente. Figura 2B – Carnes expostas e produtos empilhados. Figura 2C – Carcaça de suíno em temperatura ambiente e em contato com tábua de madeira. Figura 2D – Barraca de madeira coberta por plástico e produtos expostos em temperatura ambiente.	32

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SIMBOLOS

%	Porcentagem
[]	Concentração
±	Mais ou Menos
°C	Graus Celsius
µg	Micrograma
µl.	Microlitro
®	Marca Registrada
CEUA	Comissão Ética na Utilização de animais
CO ₂	Dióxido de Carbono
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNTP's	Desoxirribonucleotideos Fosfatados
DT	<i>Dry test</i>
DTA	Doenças Transmitidas por Alimentos
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
g	Gramas
G	Giros
g/100g	Gramas por cem gramas
HAI	Hemoaglutinação Indireta
HCl	Ácido clorídrico
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
IFI	Imunofluorescência Indireta
IgG	Imunoglobulina G
LAT	Prova de Aglutinação em Latex
MAD	Teste de Aglutinação Direta
MAT	Teste de Aglutinação Indireta
mg	Miligrama
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
ml	Mililitro
N°	Número
PBS	Solução Fosfato Salina
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pH	Potencial Hidrogeniônico
PR	Paraná
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
RIISPOA	Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal
UESC	Universidade Estadual de Santa Cruz
UI	Unidades Internacionais

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	16
2.1	Objetivo Geral.....	16
2.2	Objetivos Específicos	16
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
3.1	Histórico do <i>Toxoplasma gondii</i>	17
3.2	Morfologia e Biologia do <i>Toxoplasma gondii</i>	17
3.2.1	Taquizoítos	17
3.2.2	Bradizoítos e cistos teciduais.....	18
3.2.3	Oocistos	18
3.3	Ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i>	19
3.4	Transmissão do <i>Toxoplasma gondii</i>	20
3.5	Sinais clínicos e sintomatologia da toxoplasmose	20
3.6	Detecção de <i>Toxoplasma gondii</i>	21
3.7	<i>Toxoplasma gondii</i> em animais domésticos destinados ao consumo humano	22
3.8	<i>Toxoplasma gondii</i> em produtos cárneos.....	24
4	MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1	Comitê de Ética.....	28
4.2	Coleta das amostras de produtos cárneos.....	28
4.3	Detecção sorológica de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	29
4.4	Digestão peptídica das amostras para ensaio biológico.....	29
4.5	Ensaio biológico	29
4.6	Extração de DNA.....	30
4.7	Detecção molecular de <i>Toxoplasma gondii</i>	30
4.8	Detecção dos teores de cloreto de sódio.	31
5	RESULTADOS	32
6	DISCUSSÃO	39

7 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS	43

1 INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório com característica zoonótica, capaz de infectar diversos hospedeiros animais e humanos (DUBEY; JONES, 2008). Os animais homeotérmicos, incluindo o homem, podem funcionar como hospedeiros intermediários ao se infectarem com o parasito. Já os felídeos domésticos e selvagens são os hospedeiros definitivos de *T. gondii*. A infecção pode ocorrer pela ingestão de uma das três formas infectantes do parasito: oocistos eliminados nas fezes pelos hospedeiros definitivos, que se tornam infectantes após esporulação no solo, taquizoítos em colônias celulares e bradizoítos contidos em cistos teciduais (DUBEY et al., 1998).

A toxoplasmose é a enfermidade com distribuição mundial causada pelo parasito *T. gondii* (AMATO NETO et al., 1995). Indivíduos imunocompetentes normalmente apresentam sinais clínicos mais brandos e comuns à outras enfermidades, como febre, cefaléia e linfadenopatia. Entretanto, indivíduos imunossuprimidos, tais como pacientes em tratamentos quimioterápicos, recém transplantados, soropositivos para HIV, além de mulheres gestantes e bebês infectados congenitamente, os sinais podem ser mais graves, como sonolência, desorientação, hemiparesia, alterações reflexas, convulsões, hemorragias, alterações oculares e problemas reprodutivos (DUBEY, 2010).

A ingestão de cistos teciduais é uma das principais formas de transmissão do parasito, seja pelo carnivorismo dos animais ou pelo costume dos humanos de ingerir carnes cruas ou malcozidas. Relativamente resistentes à digestão gástrica e mudanças de temperatura, os cistos teciduais podem permanecer infecciosos sob refrigeração (1 a 4°C) por até três semanas e congelamento entre -1 e -8°C por mais de uma semana. Porém, muitos são inativados a temperaturas de -12°C ou menor, por 24 horas e em temperatura de aquecimento uniforme à 67°C. Se o processo de cozimento da carne for desigual, como por exemplo, com o uso de micro-ondas alguns cistos podem permanecer infecciosos (LUDÉN; UGGLA, 1992; DUBEY, 1998; TENTER et al., 2000).

No Brasil, existem cerca de 5.500 municípios sem inspeção sanitária no abate de animais. Em 2019, um estudo realizado pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, estimou que o volume total de animais abatidos no Brasil sem fiscalização em 2015 correspondeu a cerca de 3,83% a 14,1% do total abatido (IBGE, 2015; CEPEA, 2019). De acordo com Oliveira e Boere (2021), cerca de 1,1 milhão de bovinos foram abatidos clandestinamente em 2016, desse total, o Nordeste foi responsável por cerca de 3,8% (41.800 cabeças), porém sabe-se que esses números não retrata a verdadeira realidade justamente devido a subnotificações de abates não fiscalizados.

A criação de animais em condições sanitárias precárias e o abate sem inspeção sanitária, pode favorecer o consumo de carnes e produtos cárneos de animais contaminados por *T. gondii*. A identificação de *T. gondii* em tecidos animais é comum no Brasil. Na Bahia, diversos estudos em animais domésticos revelaram uma alta prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* provenientes de infecção natural, assim como também foi possível isolar o parasito dos tecidos e detecta-lo molecularmente (DUBEY et al., 2008, BEZERRA et al., 2012, GUIMARÃES et al., 2013, MACIEL et al., 2014, ROCHA et al., 2018).

Os derivados cárneos, tais como curados, maturados, salgados, embutidos, entre outros, também podem influenciar no elevado nível de toxoplasmose humana. A salga, cura e uso de conservantes nos produtos derivados de carnes já se mostraram úteis na inviabilização de cistos teciduais de *T. gondii*, entretanto devido a diversificação das técnicas aplicadas na elaboração desses produtos, como ocorre em diferentes locais, não existe a garantia de eficácia no controle da infecção (LUDÉN; UGGLA, 1992; POTT et al., 2013).

Diante disso, visando o possível risco a saúde do consumidor, a avaliação da influência do cloreto de sódio, utilizados em produtos cárneos vendidos em feiras livres na região Sul da Bahia, na inviabilização de cistos teciduais de *Toxoplasma gondii* se torna fundamental tanto para a elucidação do tema na região quanto para o fornecimento de novos dados sobre o parasito em questão.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Detectar *Toxoplasma gondii* em produtos cárneos comercializados em feiras livres da região sul da Bahia e avaliar a influência do sal na viabilidade do parasito.

2.2 Objetivos Específicos

- Detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em produtos cárneos destinados ao consumo humano, vendidos em feiras livres, na região Sul da Bahia, através da técnica de sorologia (HAI).

- Avaliar a influência da salga em produtos cárneos, destinados ao consumo humano, vendidos em feiras livres no Sul da Bahia na inativação de cistos teciduais de *T. gondii*.

- Avaliar a presença de *Toxoplasma gondii* nos produtos cárneos coletados através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

- Isolar *Toxoplasma gondii* em camundongos através da técnica de digestão peptídica, dos produtos cárneos coletados.

- Detectar anticorpos anti-*T. gondii* nos camundongos inoculados através da técnica de sorologia (HAI).

- Detectar *Toxoplasma gondii* nos órgãos dos camundongos inoculados através da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Histórico do *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii é um protozoário que parasita animais homeotérmicos e pode ser encontrado em vários tipos de tecidos, células nucleadas e líquidos orgânicos (ROCHA, 2017). Foi encontrado e descrito quase que simultaneamente pela primeira vez por Nicolle e Manceaux em 1908, na Tunísia, em tecidos de um roedor africano *Ctenodactylus gundi*, que estava sendo utilizado em pesquisas no laboratório do Instituto Pasteur de Tunes e por Splendore (1908) em um coelho (*Oryctolagus cuniculus*), no Brasil.

O parasita, que inicialmente foi confundido com *Leishmania* pelos pesquisadores, foi caracterizado no ano seguinte como um novo organismo e denominado de *Toxoplasma gondii*, baseado em sua morfologia (*toxos* = arco, *plasma* = forma) e no hospedeiro encontrado (FERGUSON, 2009; DUBEY, 2020).

No Brasil, a toxoplasmose humana foi relatada pela primeira vez por Torres em 1927, em uma criança de dois dias de idade que possuía espasmos musculares como principal sintoma. Após a realização da necropsia observou-se lesões semelhantes a infecção por *Toxoplasma gondii*, assim como a presença do parasito em cortes histológicos de diversos órgãos (TORRES, 1927 *apud* ROCHA, 2013).

3.2 Morfologia e Biologia do *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii é um parasito eucarioto intracelular com baixa especificidade capaz de contaminar qualquer animal homeotérmico, incluindo o homem (DUBEY et al., 1998). Estruturalmente, o que difere o *T. gondii* dos demais protozoários é a presença de uma organela chamada roptria, que auxilia na invasão e manutenção na célula hospedeira (SMITH, 1995).

O mecanismo de invasão celular é considerado rápido e ativo, durando apenas alguns segundos e se inicia quando a porção anterior do parasito reconhece e se conecta a célula hospedeira com firmeza (BLACK; BOOTHROYD, 2000).

Esse parasito se apresenta de três formas: taquizoítos em colônias celulares, bradizoítos em cistos celulares e esporozoítos em oocistos esporulados. Todas as formas possuem a característica de serem altamente infectantes tanto em hospedeiros intermediários quanto em hospedeiros definitivos (DUBEY et al., 1998).

3.2.1 Taquizoítos

Os taquizoítos tem um formato semilunar, medem aproximadamente 2x6µm e tem por característica a possibilidade de infectar praticamente qualquer célula do corpo. São

encontrados no período agudo a infecção em forma livre ou proliferativa dentro da célula hospedeira. Penetram a célula através de um mecanismo de penetração ativa da membrana sendo envolvido por um vacúolo parasitóforo que irá proteger o parasito dos mecanismos de defesa do hospedeiro (DUBEY 2004; DUBEY 2020). Sua multiplicação ocorre de forma rápida e assexuada por endodiogenia que após um determinado número de divisões irão se diferenciar em bradizoítos (DUBEY, 2004; ROCHA, 2013;)

Esta forma desempenha um papel importante na transmissão vertical de *T. gondii* pela placenta, transfusão de sangue ou leite (TENTER, et al., 2000, ROCHA 2013;), porém não é muito resistente, sendo muito sensível a condições ambientais, e facilmente destruída por desidratação, variações de osmolaridade, aquecimento, pasteurização, além de uma menor resistência a tripsina ou pepsina (DUBEY, 1998; TENTER et al., 2000).

3.2.2 Bradizoítos e cistos teciduais

O termo “Bradizoíta” foi proposto pela primeira vez por Frenkel em 1973 para descrever o estágio em que se formam cistos do parasita nos tecidos do hospedeiro, cujo tamanho pode variar de 5 a 70µm (DUBEY, 2020). Esses cistos crescem intracelularmente e são imunologicamente inertes, podendo conter centenas de bradizoítos que permanecem se multiplicando lentamente por endodiogenia (DUBEY, 1998, DUBEY, 2008, JONES; DUBEY, 2010).

Os bradizoítas se diferem dos taquizoítos pela localização do núcleo que está situado na direção posterior final, enquanto em taquizoítos o núcleo é centralizado. Os cistos teciduais podem se desenvolver em diversos órgãos como pulmões, baço e fígado, com maior prevalência em olhos, tecidos musculares e nervosos devido ao acesso restrito dos anticorpos nesses locais podendo persistir durante toda a vida do hospedeiro, sendo uma ótima via de transmissão para predadores carnívoros (DUBEY et al., 1998).

Essa forma é razoavelmente resistente a digestão gástrica e mudanças de temperatura podendo permanecer infeccioso sob uma refrigeração de 1 a 4°C por até três semanas e congelamento entre -1 e -8°C por mais de uma semana, porém são inativados em temperaturas menores ou iguais a -12°C por mais de 24 horas e quando aquecidos a uma temperatura maior ou igual a 67°C (DUBEY et al., 1998; TENTER et al., 2000).

3.2.3 Oocistos

Através da reprodução sexuada do parasita denominada gametogonia, tem-se a formação dos oocistos. Esse processo ocorre no interior das células do epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos, os felídeos. Se apresentam de forma esférica e medem

aproximadamente 10 a 12 μm de diâmetro (DUBEY, 2004, ROCHA, 2013). São excretadas em grande número através das fezes, porém só apresentam potencial de infecção aos seus hospedeiros intermediários após sofrerem um processo de esporulação que irá depender de temperatura, e níveis de umidade e oxigenação favoráveis para se tornar infectantes em até 5 dias. Cada oocisto esporulado irá conter 2 esporocistos com 4 esporozoítos cada (TENTER et al., 2000). Um hospedeiro definitivo do parasito pode chegar a eliminar mais de 100 milhões de oocistos no ambiente, principalmente após a infecção primária (DUBEY, 2004).

Os oocistos são resistentes aos agentes químicos e físicos da água que são aplicados em estações de tratamento, incluindo o cloro (JONES; DUBEY 2010). Por ter uma parede dupla de proteção, os oocistos podem permanecer viáveis no ambiente por até 18 meses em condições favoráveis, sendo assim caracterizado como uma forma resistente e importante para a disseminação do parasito (TENTER et al., 2000).

3.3 Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*

O ciclo de vida do *T. gondii* foi esclarecido apenas da década de 70, após a descoberta dos estágios sexuais no intestino dos hospedeiros definitivos. Posteriormente ficou esclarecido que esses estágios eram provenientes da reprodução sexual no intestino dos felídeos. *Toxoplasma gondii* possui um ciclo de vida heteróxico facultativo, com duas fases distintas: a fase sexuada ou gametogonia, na qual uma irá ocorrer exclusivamente no intestino de seus hospedeiros definitivos e a fase assexuada que pode ocorrer em quaisquer hospedeiros (DUBEY, 1998, TENTER et al., 2000).

A gametogonia dá origem aos gametas masculinos e femininos no intestino delgado dos felídeos, que após ocorrer a fecundação tem-se a formação tanto do ovo ou zigoto como da parede do oocisto, que ao atingir a maturidade, se desvincula das células do epitélio intestinal e é liberado para o meio ambiente junto com as fezes do hospedeiro. No ambiente tem-se a esporogonia, onde o oocisto se torna infectante com dois esporocistos e quatro esporozoítos cada (DUBEY, 1998, DUBEY et al., 1998).

A fase assexuada do ciclo ou extra-intestinal se dá por duas fases. A primeira caracteriza a fase aguda, onde os taquizoítos realizam sucessivas endodiogonias gerando duas células filhas, que irão romper a célula-mãe e se disseminar através da corrente sanguínea ou linfa do hospedeiro, sendo assim esse processo pode culminar em aparecimentos dos sinais clínicos. A segunda fase é definida como fase crônica, onde os taquizoítos de última geração irão se refugiar para dentro das células do hospedeiro por um processo de diferenciação para bradizoítos, após a atuação do sistema imune no parasito. Dentro do cisto, os bradizoítos irão

se multiplicar lentamente por endodiogenia permanecendo assim em estado de latência (DUBEY et al., 1998).

Somente os felídeos exercem o papel de hospedeiros definitivos e intermediário do parasito. Após a ingestão dos cistos teciduais suas paredes são digeridas por enzimas proteolíticas do estomago e do intestino delgado, liberando assim os bradizoítos que por sua vez, irão penetrar as paredes do intestino e se diferenciar em taquizoítos. Após algumas horas, o parasito pode se difundir para os tecidos extra-intestinal. Já os bradizoítos que vierem a permanecer nas células epiteliais do intestino delgado se desenvolvem em até cinco gerações de merogonias para depois realizar a reprodução sexuada (DUBEY, 2004, ROCHA, 2017).

3.4 Transmissão do *Toxoplasma gondii*

As principais vias de transmissão do parasito se dão pela via horizontal e a via vertical, ocorrendo com a participação das três formas infectantes: A via horizontal ocorre através da ingestão de oocistos esporulados presentes em água e alimentos contaminados ou pela ingestão de cistos teciduais encontrados em carne ou vísceras cruas ou malcozidas. Já a via vertical ocorre com os taquizoítos circulantes que irão penetrar a placenta durante a primo-infecção aguda materna (TENTER et al., 2000, DUNCANSON et al., 2001).

A infecção em humanos depende principalmente do seu estilo de vida, o qual irá representar um importante papel na forma em que o indivíduo pode vir a se infectar com o parasito. Hábitos alimentares como o consumo de carne crua ou malcozida, ou leite não pasteurizado aumentam as chances de ingestão de cistos teciduais e taquizoítos, respectivamente. Já para os vegetarianos a maior chance a adquirir o parasito é através de legumes e vegetais contaminados com oocistos esporulados (FERGUSON, 2009). Dessa forma, os animais ou humanos onívoros são os que tem maior chance e susceptibilidade de contaminação por *Toxoplasma gondii* em quaisquer formas infectantes (ROCHA, 2017).

Outras vias de transmissão que podem ocorrer, embora em menor frequência, se baseiam em transplante de órgãos ou medula (TENTER et al., 2000), onde pode ocorrer reativação da infecção pela susceptibilidade ou a transferência do parasito do doador para o receptor e a via venérea que de acordo com Moraes e colaboradores (2010) também pode ser uma porta de transmissão do parasito.

3.5 Sinais clínicos e sintomatologia da toxoplasmose

A toxoplasmose é considerada uma zoonose de distribuição mundial e é capaz de afetar diversos hospedeiros. Algumas espécies de animais como cães, caprinos e ovinos são os mais susceptíveis à infecção e apresentam principalmente alterações oculares (coriorretinite e

inflamação do nervo óptico), neurológicas (ataxia e encefalite não supurativa) e reprodutivas (nascimento de filhotes fracos, natimortos e abortamentos) (DUBEY et al., 2010).

Apesar de não apresentar uma sintomatologia grave ou evidente, outros animais também são susceptíveis a infecção por *T. gondii*. De acordo com Dubey e colaboradores (2010) os pássaros são mais susceptíveis que as aves domésticas e quando se fala dos equinos, por exemplo, ainda não se tem uma elucidação completa dos mecanismos envolvidos, não confirmando a associação entre a sintomatologia e presença do parasito (DUBEY et al., 2012).

Já nos humanos, indivíduos imunocompetentes apresentam sinais clínicos mais brandos e comuns a outras enfermidades, como febre, cefaleia e linfadenopatia. Entretanto, indivíduos imunossuprimidos tais como pacientes em tratamentos quimioterápicos, recém transplantados, soropositivos para HIV, mulheres gestantes e bebês infectados congenitamente, apresentam sinais mais graves da infecção como sonolência, desorientação, hemiparesia, alterações reflexivas, convulsões e hemorragias (DUBEY, 2010).

3.6 Detecção de *Toxoplasma gondii*

O diagnóstico clínico da toxoplasmose é difícil mesmo nos animais sensíveis à infecção, pois as sintomatologias da toxoplasmose geralmente são inespecíficas, necessitando da utilização de técnicas laboratoriais para a confirmação (COSTA et al., 2007). O diagnóstico laboratorial de *T. gondii* pode ser realizado através de testes parasitológicos, imunológicos ou pela biologia molecular (FIALHO et al., 2009), além da possibilidade de realizar o isolamento do parasito através de ensaio biológico em camundongos ou em culturas celulares que proporcionam o seu crescimento (DEROUIN et al., 1987).

A detecção de anticorpos anti-*T. gondii* ainda é considerada a técnica mais eficaz para o diagnóstico de toxoplasmose, pois fornece informações epidemiológicas do parasito, visto que o quadro clínico da infecção pode ser confundido com outras doenças (DA SILVA et al., 2002). Os testes mais utilizados para este diagnóstico se baseiam em teste de corante Sabin-Feldman (Dye-Test - DT), hemaglutinação indireta (HAI), imunofluorescência indireta (IFI), aglutinação direta (MAD), teste de aglutinação indireta (MAT), teste de aglutinação de látex (LAT), ensaio imunoenzimático (ELISA) (DUBEY, 2010).

A necessidade de testes simples para diagnóstico sorológico fez com que os testes de aglutinação se estabelecessem e tem auxiliado consideravelmente na detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* em humanos e animais. Nessa técnica pode ser testada em plasma sanguíneo ou sangue total (DUBEY, 2010, BELTRAME et al., 2012).

O teste de hemoaglutinação indireta também é um teste de execução simples, com velocidade de resultado mais rápida que o MAT, e também pode-se perder infecções agudas

neste teste. Foi verificado que o HAI apresentou 83% de especificidade e 78% de sensibilidade quando comparado ao MAT na detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas, podendo ser utilizado na ausência do MAT (BELTRAME et al., 2012).

Entretanto, a maior dificuldade da utilização desses testes sorológicos é a falta de padronização na diluição utilizada, havendo diversos estudos com variados pontos de corte, podendo favorecer conseqüentemente, a sub ou supernotificação da ocorrência (ROCHA, 2017).

Para o isolamento de cepas de *T. gondii*, o protocolo padrão adotado internacionalmente é a técnica de bioensaio feita geralmente em camundongos (*Mus musculus*), utilizada na finalidade de caracterização gênica e análise de virulência das cepas (DUBEY, 2010). A técnica basicamente consiste em macerar o tecido alvo do qual se deseja identificar o parasito em solução salina e submeter essa solução a um processo de digestão em pepsina ácida, seguida de neutralização e lavagem, e inoculação dessa solução em camundongos *Swiss*, que serão observados quanto os aparecimentos de sinais clínicos sugestivos de toxoplasmose, tais como ascite, pelos eriçados, enterite, letargia, pneumonia, linfadenopatia e encefalite (DUBEY, 2010, PENA et al., 2011).

Já o diagnóstico molecular tem sido amplamente realizado e é considerado muito eficaz na identificação de DNA específico do agente de diversos tecidos ou secreções dos animais. A PCR (Reação em cadeia da Polimerase) tem como base amplificar o material genético do agente a ser pesquisado utilizando *primers* específicos, facilitando a visualização do mesmo. Porém, essa técnica possui um custo mais elevado, o que restringe a sua utilização em diagnóstico de rotina (SINGH, 1997, ABU-DALBOUH et al., 2012).

3.7 *Toxoplasma gondii* em animais domésticos destinados ao consumo humano

Em um trabalho experimental Dubey em 1983, concluiu que *T. gondii* pode permanecer viável nos tecidos de bovinos até a idade de abate desses animais. A literatura mostra uma grande divergência nos resultados dos estudos socioepidemiológicos para *T. gondii* no Brasil, variando ente 1,03% a 48,51% (GONDIM et al., 1999, MARANA et al., 1995). Já no estudo realizado com Spagnol e colaboradores (2009) na região da Bahia, o resultado foi de 19,1% positividade na região de Ilhéus, 9,8% na cidade de Itabuna e 6,7% de prevalência em Jequié.

Já nos pequenos ruminantes, ou seja, ovinos e caprinos, *T. gondii* se caracteriza como um importante parasita por causar distúrbios reprodutivos (MASALA et al., 2003; DUBEY; JONES, 2008). Com relação as ovelhas, anticorpos de *T. gondii* foram encontrados em todo o mundo e a taxa de soroprevalência no Brasil varia de 7,0% a 54,6% (MOURA et al., 2007, OGAWA et al., 2003). Na região Sul da Bahia, após um estudo realizado por Guimarães e

colaboradores (2013), foi observado uma prevalência de 15,4% na cidade de Itabuna, 33,5% em Ilhéus e 23,9% na cidade de Canavieiras.

Diversos estudos soro-epidemiológicos já foram realizados em várias regiões do Brasil sobre a soropositividade dos caprinos e os resultados variam de 28,93% a 92,4% (MAINARDI et al., 2000). Já na Bahia, apesar do estado ser um grande produtor e possuir um grande rebanho de cabras, existe pouca informação sobre a prevalência da infecção. Em um estudo realizado por Gondim e colaboradores (1999), foi observada uma soroprevalência de 28,93% nas cabras da região. Outro levantamento realizado na Bahia, Uzêda e colaboradores (2004), identificou 16,4% de animais soropositivos para o parasito, e um estudo mais recente de Chaves (2017) realizado na região sisaleira da Bahia identificou uma soropositividade em caprinos de 31,0%.

Particularmente em suínos, a infecção por *T. gondii* provoca alterações clínicas como hipotermia, anorexia, prostração e corrimento nasal, no entanto o principal problema também é de ordem reprodutiva assim como os ovinos e caprinos (BEZERRA et al., 2009). No Brasil, a soroprevalência de em suínos varia de 0% a 90% (BRANDÃO et al., 2006, GUIMARÃES et al., 1992) e na Bahia, Bezerra e colaboradores (2009), encontrou uma soroprevalência de 18,27%.

Nas galinhas, embora a infecção seja assintomática esses animais são considerados eficientes hospedeiros intermediários e bons indicadores de contaminação ambiental pelo hábito de se alimentar diretamente no solo (DUBEY et al., 2002, DUBEY et al., 2003, DUBEY et al., 2010). No Nordeste, Fernandes e colaboradores (2016), obteve um resultado de 40,56% de positividade e na Bahia, ao analisar 504 amostras de sangue de galinha em vida livre Rocha (2017) identificou uma soropositividade de 27%.

Nos dias de hoje, nota-se uma necessidade de maior praticidade, conveniência e economia de tempo e esforço dos consumidores na hora da preparação dos alimentos, com isso alimentos *in natura* vem deixando de ser prioridade dando espaço a alimentos processados como produtos cárneos (OLIVEIRA, 2015).

Os produtos cárneos são definidos como toda carne na qual as propriedades de carne fresca tenham sido alteradas por um ou mais dos seguintes processos: floculação, emulsão, moagem, adição de temperos, adição de agentes de cura ou tratamentos térmicos, como por exemplo a mortadela, salame, presunto, linguiça, salsicha, bacon, hambúrguer, almondegas, empanados e etc... (CONCEIÇÃO; GONÇALVES, 2009).

A grande variedade de produtos cárneos de fácil preparo, disponibilizados no comércio tornou-se um grande atrativo para os consumidores, contribuindo para que este tipo de alimento seja cada vez mais presente na mesa das famílias no Brasil e no mundo (OLIVEIRA et al., 2013)

3.8 *Toxoplasma gondii* em produtos cárneos

De acordo com o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal (RIISPOA), a regularização e certificação dos abatedouros frigoríficos através do sistema de inspeção, auxilia na garantia a segurança da população de forma que as medidas de inspeção e fiscalização higiênico-sanitária e tecnológica aplicadas por diferentes serviços de inspeção permitem alcançar a inocuidade e qualidade dos produtos elaborados, conforme disposto na Lei nº 8.171, de 1991, e em suas normas regulamentadoras (BRASIL, 2020).

No Brasil, existem cerca de 5.500 municípios sem inspeção sanitária no abate de animais. Em 2019, um estudo realizado pelo Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, estimou que o volume total de animais abatidos no Brasil sem fiscalização em 2015 correspondeu a cerca de 3,83% a 14,1% do total abatido (IBGE, 2015; CEPEA, 2019). De acordo com Oliveira e Boere (2021), cerca de 1,1 milhão de bovinos foram abatidos clandestinamente em 2016, desse total, o Nordeste foi responsável por cerca de 3,8% (41.800 cabeças), porém sabe-se que esses números não retrata a verdadeira realidade justamente devido a subnotificações de abates não fiscalizados. O abate de animais sem inspeção sanitária pode favorecer o consumo de carne de animais de origem clandestina e de derivados elaborados em locais inapropriados e com utilização de sal e condimentos sem padronização e em condições mínimas de higiene, favorecendo o consumo de carnes e produtos cárneos contaminados por *Toxoplasma gondii*.

Estudos com carnes curtidas mostraram que a ingestão desses derivados foram fator de risco para a infecção por *T. gondii* (BUFFOLANO et al., 1996, COOK et al., 2000) e Warnekulasuriya e colaboradores (1998) conseguiram isolar o parasito a partir de produtos cárneos curados. Dias e colaboradores (2005) avaliaram 143 linguiças suínas do tipo frescal proveniente de oito frigoríficos da região, demonstrando viabilidade de cistos teciduais do parasita em 13 amostras (8,7%), conseguindo inclusive obter um isolado de *T. gondii* através do ensaio biológico em camundongos, o que demonstra uma ineficiência na execução dos processos tecnológicos de fabricação desses produtos.

Uma pesquisa realizada em Passo Fundo, no Rio grande do Sul, realizou teste sorológico para *Toxoplasma gondii* em 50 suínos encaminhados para o abate e PCR em 18 salames (linguiças defumadas) vendidos no comércio da região, obtendo 8% de positividade no teste sorológico e 0% de positividade no diagnóstico molecular das amostras coletadas (VANSETTO et al., 2018). Em Botucatu, 70 amostras de linguiças suínas foram analisadas e ao realizar o teste sorológico não foi detectada nenhuma positividade nas amostras. Ao realizar o bioensaio desses produtos coletados, todos se mostraram inviáveis para infectar os camundongos, porém na análise molecular 33 amostras se mostraram positivas. Nesse estudo, não foi realizada

nenhuma análise de concentração de cloreto de sódio, sendo assim, não se sabe se a negatividade do teste sorológico se deu a uma alta concentração do sal nas amostras (MENDONÇA et al., 2004).

Langoni e colaboradores, também em Botucatu, coletaram 49 amostras de pernil suíno, 48 amostras de pernil bovino e 44 amostras de quibe cru comercializados na região, onde foi realizado o bioensaio de todas as amostras como também a análise molecular de cada uma. No bioensaio todas as amostras se mostraram inviáveis de infectar os camundongos inoculados, porém, na PCR dos produtos 4 amostras foram positivas para *T. gondii* sendo 3 amostras de pernil de porco e uma amostra de quibe cru (LANGONI et al., 2021). Em um estudo populacional da cidade de Londrina – PR, foi identificado que das pessoas positivas através do teste sorológico para *T. gondii*, 17,8% consumiam esporadicamente quibe cru, evidenciando a importância do cuidado da verificação da procedência dos produtos cárneos (BENITEZ et al., 2017).

A detecção de *Toxoplasma gondii* em amostras de carnes utilizadas para o consumo humano é fundamental para o conhecimento do grau de risco dessa fonte de infecção para o ser humano e atualmente, o melhor teste capaz de demonstrar a presença e viabilidade dos cistos teciduais em produtos cárneos é o ensaio biológico em camundongos, apesar de ser um teste demorado e que depende de animais para ser utilizado, é um teste eficaz e que já foi utilizado em diversos estudos (GARCIA et al., 2006, TSUTSUI et al., 2007, DUBEY, 2010)

3.9 Inativação de *Toxoplasma gondii* por processos tecnológicos

A salga, cura e uso de conservantes em produtos cárneos já se mostraram úteis na inviabilização de cistos teciduais de *T. gondii*, entretanto devido a diversificação das técnicas aplicadas na elaboração desses produtos, não existe garantia do controle da infecção (LÚDEN; UGGLA, 1992, POTT et al., 2013). Até então, o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Carne (RTIQ) vigente, não define a todos os produtos cárneos existentes no mercado uma quantidade mínima ou máxima de sal para a elaboração dos mesmos, sendo assim na hora da preparação de alguns produtos, a proporção de sal em cada item elaborado acaba ficando a critério do produtor (BRASIL, 1988). Alguns dos produtos cárneos vendidos em feitas livres que possuem uma instrução normativa sobre a quantidade mínima de sal necessária para a elaboração do produto são a Charque, Carne Salgada Curada Dessecada (*Jarked Beef*), Miúdo Salgado Dessecado e Miúdo Salgado Curado Dessecado, onde a concentração mínima de sal deve ser de 12% de acordo com a Instrução Normativa N° 92 de 18 de setembro de 2020 (BRASIL, 2020b).

Jamra e colaboradores (1991) testaram a concentração de sal de 2,2%, 2,5% e 3,0%, nos períodos de 24-48 horas, 3-5 e 7 dias, ambos a 4°C, revelando que, a concentração de 3%, durante o período mínimo de 3 dias são eficientes na inativação do parasito, e as demais concentrações e tempos ainda representam um risco para a infecção.

Em 1992, foi realizada uma pesquisa em linguiças suínas advindas de animais experimentalmente infectados, a fim de verificar a resistência dos cistos de *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e a condimentos (pimenta do reino e alho). Quando realizado o bioensaio da amostra de linguiça sem sal, mas com condimentos, obteve-se positividade na análise sorológica e foi observado a presença de taquizoítos no exsudato peritoneal de camundongos inoculados, porém nas linguiças salgadas na concentração de 2% e 2,5%, após 48 horas de salga já se observou a inativação dos cistos, não desenvolvendo sintomatologia ou apresentando positividade no teste de sorologia dos camundongos infectados (NAVARRO et al., 1992).

Alves testou a viabilidade de cistos de *T. gondii* em carnes maturadas a 0°C nos períodos de 14, 21 e 28 dias, através do ensaio biológico em camundongos. Tal estudo demonstrou que a maturação de 14 dias ainda permite que o parasito esteja viável para infectar o consumidor, o que não ocorreu nos períodos de 21 e 28 dias, tornando-os inativos (ALVES, 2017).

3.9.1 Influência do cloreto de sódio (NaCl) na viabilidade de *Toxoplasma gondii*

O cloreto de sódio é amplamente utilizado no processamento industrial ou clandestino da carne, seja como condimento (palatabilizante) ou como agente conservante, a fim de garantir a estabilidade da cor, a ação oxidante, além de se caracterizar como antimicrobiano até certo ponto (CARVALHO et al., 2015).

Dependendo da concentração de sal, o mesmo pode fazer com que a carne perca água, sendo assim, quanto maior a concentração de sal, maior será a perda da água (PIGNATA et al., 2010). O tipo de granulometria do sal também é importante, pois quanto menor cristal salino, ou seja, quanto mais fino o sal, mais facilmente o produto se difundirá nos tecidos e, conseqüentemente, mais eficiente será a salga (PARDI, 2001). A mistura entre nitrito, nitrato e cloreto de sódio é de extrema importância na indústria cárnea, sendo denominada como sal de cura, que atua como potente inibidor de crescimento bacteriano e auxilia no retardo do ranço oxidativo (STRASBURG et al., 2010).

Em um estudo realizado por Venkatachalam & Zimmerman (1976) houve a tentativa falha de reisolar *T. gondii* em camundongos, os produtos cárneos tais como linguiça, presunto e bacon, elaborados a partir de suínos experimentalmente infectados com o parasito e diante dos resultados encontrados os autores concluíram que os parasitos foram inativados pela ação

do sal, nitritos e nitratos, visto que o parasita se apresentou estável em outros produtos que não tinham esses condimentos, mas que sofreram processamento térmico superior a estes citados.

Mendonça e colaboradores (2004), observaram em sua pesquisa que ao utilizar a técnica sorológica do RIFI não foi verificada a presença do *T. gondii* em nenhuma das amostras, porém a PCR identificou que 47,14% das amostras estavam positivas para o parasito, fazendo com que esse resultado pudesse ser interpretado de duas maneiras diferentes, sendo uma delas a possibilidade da técnica de PCR utilizada possuir uma baixa especificidade ou que a presença do sal e condimentos auxiliaram na inativação do parasita nos produtos estudados.

Warnekulasuriya et al. em 1998 após coletarem 67 amostras de presuntos curados, linguiças fermentadas e linguiças curadas, a tentativa de detecção do parasito através da análise molecular (PCR) e do isolamento cultura de células se mostrou falha justamente devido à alta concentração de sal dos alimentos, que exerceu um efeito citopático nas células do isolamento, como também produziram uma inibição significativa da enzima polimerase (WARNEKULASURIYA et al., 1998).

Marciano e colaboradores (2018), utilizaram exsudato de 10 amostras de carne de sol elaboradas em laboratório provenientes de bovinos experimentalmente infectados para a realização da técnica sorológica ELISA, a fim de identificar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* nas amostras. Nesse estudo, os autores evidenciaram a importância da presença de sangue no exsudato das carnes, que pode ser reduzido devido à alta concentração de sal nas amostras levando a resultados falso-negativos na análise sorológica.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de Ética

Esse projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animais da Universidade Estadual de Santa Cruz (número de registro 026/19).

4.2 Coleta das amostras de produtos cárneos.

Foram coletadas 125 amostras, durante todo o ano de 2021, de diversos produtos cárneos vendidos em feiras livres de cidades da região Sul da Bahia (Tabela 1). No momento da aquisição das amostras, essas foram separadas em sacos plásticos individuais e identificadas com seu respectivo número (Figura 1), além disso também fez-se perguntas e observações acerca dos procedimentos tecnológicos aplicados e dos locais onde eram armazenadas as carnes tais como estrutura da barraca, temperatura de manutenção do produto (ambiente ou refrigerado), dia da salga, se a salga foi realizada pelo próprio vendedor, procedência da carne (abatedouro fiscalizado ou abate ilegal), entre outros aspectos relevantes.

Figura 1 - Amostras de produtos cárneos coletadas, separadas e numeradas



Fonte: Arquivo Pessoal

Tabela 1 - Produtos cárneos coletados nas feiras livres de cidades da região Sul da Bahia durante o ano de 2021.

Cidade	Linguiça Curada Suína	Carne de Sol Bovina	Carne de Sol Suína	Linguiça Mista Frescal	Linguiça Frescal de Frango	Quantidade Total
Ilhéus	15	12	-	1	1	29
Itabuna	9	10	5	-	-	24
Buerarema	-	18	3	-	-	21
Itajuípe	2	12	5	-	-	19
Floresta Azul	1	14	3	-	-	18
Uruçuca	-	10	4	-	-	14
Total	27	76	20	1	1	125

4.3 Detecção sorológica de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*.

Para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii* nos produtos cárneos coletados, pesou-se 1g de cada amostra individualmente e para a obtenção do exsudato das amostras, as mesmas foram maceradas com 4ml de PBS (Solução Fosfato Salina) e em seguida centrifugadas a 2000G por 10 minutos a 4°C, assim passou-se o soro adquirido através desse processo para um eppendorf de 2ml e o mesmo foi utilizado para a realização da análise sorológica das amostras.

A técnica utilizada para a detecção sorológica de anticorpos anti-*T. gondii* foi a Hemoaglutinação Indireta (HAI) por meio do Kit TOXOTEST HAI – Wiener Lab, 2000®, seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante, considerando o ponto de corte de 1:16. Para a leitura da placa, as amostras de soro em que foi observada a aglutinação semelhante ao controle positivo foram consideradas positivas, e as amostras que não aglutinaram formando um botão vermelho ao fundo da placa com fundo “V”, assim como o controle negativo, foram consideradas negativas.

4.4 Digestão peptídica das amostras para ensaio biológico.

Das 125 amostras de produtos cárneos coletadas, 21 foram destinadas para o ensaio biológico, onde foi pesado 50g de cada e triturada em um liquidificador para homogeneizar a amostra com PBS para facilitar o procedimento. Em seguida, seguindo o protocolo proposto por Dubey (1998), com modificações, colocou-se em um Erlenmeyer de 200 ml, e completou o volume do mesmo com pepsina ácida. Para simular a digestão gástrica utilizou-se uma incubadora refrigerada “*Shaker*” orbital de bancada, CT-712RN.2, Cientec® á 37°C por uma hora. Decorrido este tempo, cada amostra digerida foi filtrada por um tamiz com gaze dupla e o filtrado de cada uma foi centrifugado a 1200G por 10 minutos. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e ao material restante adicionou-se uma solução neutralizadora até completar um volume de 50ml. Novamente o material foi centrifugado a 1200G por 20 minutos e o sobrenadante descartado. A cada uma das amostras foi adicionado 20ml de solução antibiótica com 2400UI de penicilina G potássica e 100ug de estreptomicina.

4.5 Ensaio biológico

Para esse estudo foram utilizados 126 camundongos *Mus musculus*, fêmeas, adultas, com aproximadamente 90 dias de vida em média, da linhagem Swiss albina, oriundos do Laboratório de Recria, Manutenção e Experimentação Animal da Universidade Estadual de Santa Cruz (LaBio - UESC). Os camundongos foram alojados durante 42 dias, e cada grupo de 6 animais inoculados por uma amostra foram colocados em microisoladores de policarbonato devidamente identificados e alojados em um Rack Ventilado da Scienlabor® com temperatura

controlada a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, circulação de ar alta, com 12 horas de ciclo claro e 12 horas de ciclo escuro, comida e água *ad libitum* durante todo o experimento. Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UESC sob o n° 029/19.

Foram utilizados 6 camundongos albinos por amostra, onde 3 receberam 1ml de inoculação subcutânea e 3 receberam 1,5ml de inoculação intraperitoneal durante dois dias com um intervalo de 24 horas da primeira a segunda inoculação. Os animais foram mantidos com ração comercial própria para a espécie e água *ad libitum* e observados diariamente por cerca de 6 semanas. Os que morreram antes do tempo pré-estabelecido foi feita a coleta do sangue e em seguida necropsiados para a coleta dos órgãos (Fígado, Baço, Coração, Pulmão e Cérebro), assim como os que apresentaram aumento do volume abdominal, ou qualquer sinal que veio a sugerir infecção por *T. gondii*. Os que não vieram a óbito até 42 dias depois da inoculação, após a coleta de sangue, foram eutanasiados em câmara de CO₂.

4.6 Extração de DNA.

Tanto as amostras de produtos cárneos coletados, quanto os órgãos coletados dos camundongos necropsiados foram encaminhados para a Extração de DNA. As amostras de produtos cárneos que na detecção de teores de sódio (tópico 4.8) obtiveram resultados inferiores a 4%, a PCR foi realizada em duplicata. Para isso, pesou-se 100mg de tecido macerado em nitrogênio líquido e foi utilizado o protocolo n°3 do Kit comercial Easy-DNA® (Invitrogen). Após todo o procedimento o DNA extraído foi mantido em eppendorfs de 2ml a -20°C até a realização da PCR.

4.7 Detecção molecular de *Toxoplasma gondii*.

A amplificação do DNA de *T. gondii* foi realizada utilizando os primers Tox4 (CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG) e Tox5 (CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT), resultando em um fragmento com 529 bp (Genebank N0AFI46527) do DNA de *T. gondii*. A PCR foi desenvolvida com o DNA extraído, acrescido de uma mistura de cada primer, dNTPs® (Invitrogen), Tris-HCl (pH 9,0), MgCl₂ e Taq DNA polimerase® (Invitrogen). A reação foi feita em 35 ciclos, após a sua padronização, utilizando as seguintes condições: 5 minutos a 94°C para desnaturação em um ciclo único, seguindo-se 35 ciclos de um minuto a 94°C para desnaturação, um minuto a 60°C para anelamento e um minuto a 72°C para extensão da Taq DNA Polimerase, seguido por uma extensão final de 7 minutos a 72°C . Os produtos de cada PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose à 2%, corados com brometo de etídio e fotodocumentados. Como controle positivo foi utilizado DNA de taquizoíto de *T. gondii* e água ultrapura como controle negativo da PCR.

4.8 Detecção dos teores de cloreto de sódio.

Para a determinação de concentração de Cloreto de Sódio (NaCl) nas amostras coletadas utilizou-se a técnica de titulação do protocolo 5.7 fornecido pelo Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal (BRASIL, 2019). A técnica se baseia no princípio em que o sal é extraído com água da amostra. Após a precipitação das proteínas, a concentração de cloretos é determinada pela titulação de uma alíquota da solução com nitrato de prata padronizado (Método de Möhr) e calculado através da fórmula (1) como Cloreto de Sódio. O ensaio foi conduzido em duplicata de cada amostra analisada e tirou-se a média das duplicatas para resultado final de concentração, sendo expresso em gramas de NaCl a cada 100g de carne (g/100g).

$$\text{NaCl, em g/100g} = \frac{(V - Vv) \cdot f \cdot 0,1 \cdot 58,45 \cdot 250 \cdot 100}{m \cdot A \cdot 1000} \quad (1)$$

5 RESULTADOS

No momento da aquisição das amostras observou-se que nenhuma das feiras tinham uma estrutura adequada e não se enquadravam nos padrões de qualidade para vendas de produtos de origem animal, com barracas de madeira ou alvenaria mal finalizada, presença de animais e produtos expostos ou empilhados (Figura 2).

Figura 2 - Estruturas das feiras livres nos municípios do sul da Bahia onde foram coletadas as amostras durante todo ano de 2021. Figura 2A – Carnes Expostas em temperatura ambiente. Figura 2B – Carnes expostas e produtos empilhados. Figura 2C – Carcaça de suíno em temperatura ambiente e em contato com tábua de madeira. Figura 2D – Barraca de madeira coberta por plástico e produtos expostos em temperatura ambiente.



Fonte: Arquivo Pessoal



Fonte: Arquivo Pessoal



Fonte: Arquivo Pessoal



Fonte: Arquivo Pessoal

Das 125 amostras coletadas nas feiras livres da região sul da Bahia, apenas 24 (19,2%) amostras estavam em temperatura de refrigeração (Gráfico 1), todas as amostras coletadas foram elaboradas pelos próprios comerciantes, sendo assim foi possível saber o dia em que cada uma foi feita. A procedência das amostras também foi um dos questionamentos realizados no momento da aquisição e 46/125 (36,8%) amostras advinham de criação própria e abate não inspecionado realizado pelos próprios donos das barracas das feiras (Gráfico 2).

Na análise sorológica para identificação de anticorpos anti-*T. gondii* dos produtos cárneos coletados, 8% (10/125) se mostraram positivos. Quando realizada a análise molecular (PCR) das amostras, nenhuma delas foram positivas para a presença de *T. gondii*. Dentre os 10 produtos cárneos positivos na análise sorológica de anticorpos anti-*T. gondii*, 4 eram linguças curadas suínas, 5 eram carne de sol bovina e 1 era linguça frescal mista, desses produtos 4 estavam em temperatura de resfriamento, 6 estavam em temperatura ambiente, foram elaborados na madrugada do dia da coleta e advinham da mesma cidade (Ilhéus), dessas amostras positivas 50% (5/10) eram animais de criação própria e abate não fiscalizado e o restante de abatedouros-frigoríficos

Foram inoculadas em camundongos 21 amostras na intenção de realizar o bioensaio, das 125 coletadas, sendo 10 positivas na sorologia e 11 que se apresentaram negativas. Dos 126 camundongos (seis camundongos por amostra) inoculados, 6 (de amostras distintas) não conseguiram chegar até o dia 42 de observação e tiveram que ser eutanasiados antes por apresentarem alterações clínicas. Os restantes dos camundongos inoculados não apresentaram nenhuma sintomatologia específica para infecção de *T. gondii* durante os 42 dias de acompanhamento. Após a eutanásia e a coleta dos órgãos dos camundongos, foram realizadas a sorologia e a PCR de todos na intenção de verificar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* nos camundongos assim como a presença do parasito nos órgãos dos mesmos, porém todos os camundongos foram negativos tanto na análise sorológica quanto na análise molecular.

A fim de detectar os teores de sódio de cada amostra coletada, foi realizado o Método de Möhr e os resultados variaram de 2,2% a 17,7% de concentração de sal a cada 100 gramas de produto cárneo. Todos os resultados se encontram na Tabela 2, e a média de cada cidade com seus respectivos produtos estão na Tabela 3.

Gráfico 1 - Temperatura de manunha das amostras coletadas nas feiras livres

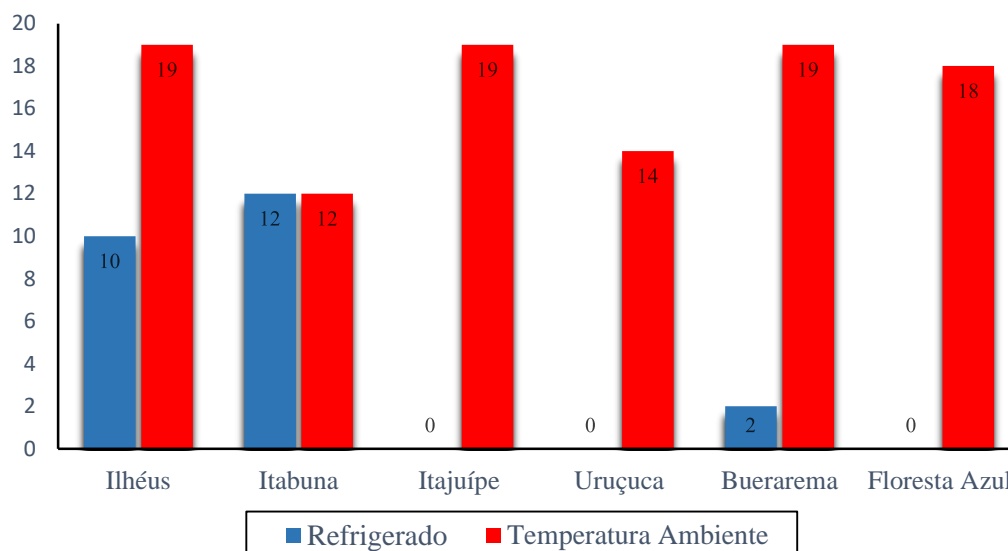


Gráfico 2- Animais das amostras coletadas advindos de abatedouros ou criação própria

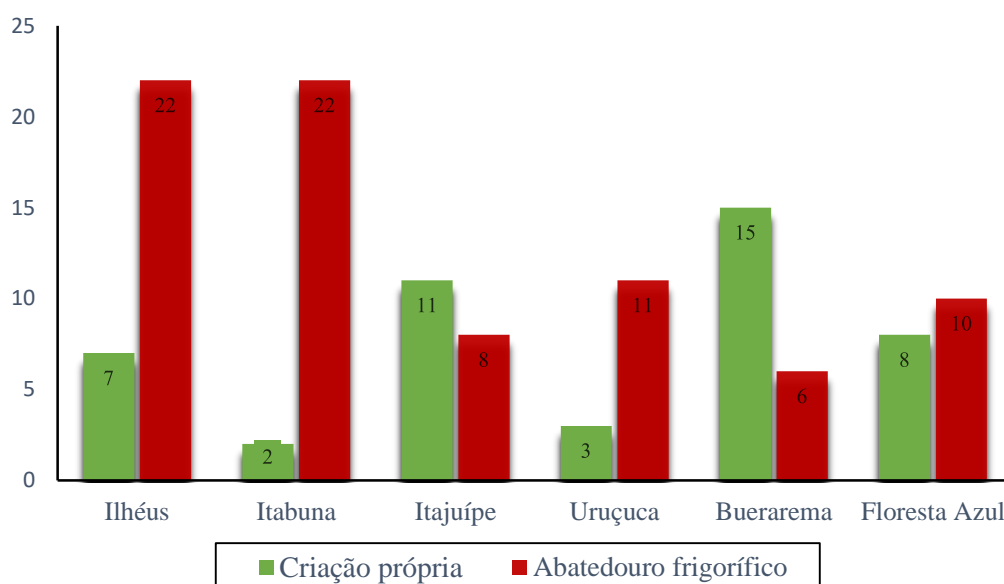


Tabela 2 - Concentração de sal nas amostras de produtos cárneos coletadas nas feiras livres dos municípios do sul da Bahia em 2021.

Amostra	Produto Carne	Dias de Maturação até o processamento das amostras	Sal g/100g
01	Linguiça curada Suína*	5 horas	5,7
02	Carne de sol Bovina*	6 horas	7,9
03	Linguiça Frescal Mista*	5 horas	3,7
04	Linguiça curada Suína*	7 horas	2,9
05	Linguiça curada Suína*	5 horas	6,3
06	Carne de sol Bovina*	6 horas	8,0

[] Sal g/100g = Concentração de sal em gramas a cada 100 gramas de carne.

* Amostras positivas na sorologia

Tabela 2 - Concentração de sal nas amostras de produtos cárneos coletadas nas feiras livres dos municípios do sul da Bahia em 2021 (Continuação)

Amostra	Produto Carne	Dias de Maturação até o processamento das amostras	[] Sal g/100g
07	Carne de sol Bovina*	8 horas	7,1
08	Carne de sol Bovina*	9 horas	5,7
09	Carne de sol Bovina*	5 horas	4,2
10	Linguiça curada Suína	2 dias	6,5
11	Linguiça curada Suína*	6 horas	6,4
12	Linguiça curada Suína	2 dias	4,3
13	Linguiça curada Suína	1 dia	5,5
14	Carne de sol Bovina	1 dia	6,1
15	Carne de sol Bovina	1 dia	13,1
16	Carne de sol Bovina	1 dia	4,3
17	Linguiça curada Suína	2 dias	4,8
18	Linguiça curada Suína	4 dias	5,7
19	Carne de sol Bovina	1 dia	3,7
20	Linguiça curada Suína	6 dias	6,7
21	Carne de sol Bovina	1 dia	8,6
22	Carne de sol Bovina	1 dia	5,3
23	Carne de sol Bovina	1 dia	4,1
24	Carne de sol Suína	1 dia	15,0
25	Linguiça curada Suína	3 dias	4,4
26	Linguiça curada Suína	3 dias	3,6
27	Carne de sol Bovina	1 dia	7,3
28	Carne de sol Bovina	1 dia	7,0
29	Carne de sol Suína	1 dia	14,6
30	Carne de sol Suína	1 dia	11,7
31	Carne de sol Bovina	3 dias	10,1
32	Carne de sol Bovina	1 dia	4,8
33	Carne de sol Bovina	1 dia	4,6
34	Carne de sol Bovina	1 dia	6,0
35	Carne de sol Bovina	1 dia	5,4
36	Carne de sol Bovina**	1 dia	5,2
37	Carne de sol Bovina	1 dia	3,8
38	Carne de sol Bovina	1 dia	5,7
39	Carne de sol Bovina**	1 dia	4,5
40	Carne de sol Bovina	1 dia	3,5
41	Carne de sol Suína**	2 dias	7,8
42	Carne de sol Bovina**	1 dia	6,7
43	Carne de sol Bovina	1 dia	6,6
44	Linguiça curada Suína	1 dia	4,7
45	Carne de sol Bovina	1 dia	6,3
46	Carne de sol Bovina	3 dias	7,1

[] Sal g/100g = Concentração de sal em gramas a cada 100 gramas de carne.

* Amostras positivas na sorologia; ** Amostras negativas utilizadas no bioensaio.

Tabela 2 – Concentração de sal nas amostras de produtos cárneos coletadas nas feiras livres dos municípios do sul da Bahia em 2021. (Continuação)

Amostra	Produto Carne	Dias de Maturação até o processamento das amostras	[] Sal g/100g
47	Linguiça curada Suína**	5 dias	2,8
48	Linguiça curada Suína	3 dias	4,2
49	Linguiça curada Suína	1 dia	4,0
50	Linguiça curada Suína	1 dia	5,3
51	Linguiça curada Suína**	2 dias	3,7
52	Linguiça curada Suína**	1 dia	4,6
53	Linguiça curada Suína	1 dia	4,4
54	Linguiça Frescal Frango**	3 dias	4,3
55	Carne de sol Suína**	5 dias	17,6
56	Linguiça curada Suína	9 dias	5,2
57	Linguiça curada Suína**	2 dias	4,6
58	Linguiça curada Suína	2 dias	5,2
59	Carne de sol Suína	1 dia	7,6
60	Linguiça curada Suína**	2 dias	3,3
61	Carne de sol Bovina	1 dia	4,6
62	Carne de sol Suína	1 dia	8,8
63	Carne de sol Suína	1 dia	8,9
64	Carne de sol Bovina	1 dia	8,0
65	Carne de sol Bovina	8 horas	5,5
66	Carne de sol Bovina	8 horas	4,3
67	Carne de sol Bovina	8 horas	6,4
68	Linguiça curada Suína	1 dia	4,6
69	Carne de sol Bovina	1 dia	3,5
70	Carne de sol Bovina	3 dias	9,1
71	Carne de sol Bovina	1 dia	3,3
72	Carne de sol Bovina	4 dias	4,4
73	Linguiça curada Suína	4 dias	4,5
74	Carne de sol Suína	3 dias	3,8
75	Carne de sol Suína	1 dia	8,6
76	Carne de sol Bovina	1 dia	14,8
77	Carne de sol Bovina	7 dias	12,0
78	Carne de sol Bovina	1 dia	8,3
79	Carne de sol Bovina	1 dia	4,9
80	Carne de sol Suína	1 dia	7,4
81	Carne de sol Bovina	8 horas	3,0
82	Carne de sol Bovina	8 horas	4,6
83	Carne de sol Suína	1 dia	8,6
84	Carne de sol Bovina	8 horas	4,2
85	Carne de sol Bovina	7 dias	7,0
86	Carne de sol Bovina	1 dia	6,6

[] Sal g/100g = Concentração de sal em gramas a cada 100 gramas de carne.

** Amostras negativas utilizadas no bioensaio.

Tabela 2 – Concentração de sal nas amostras de produtos cárneos coletadas nas feiras livres dos municípios do sul da Bahia em 2021. (Continuação)

Amostra	Produto Cárneo	Dias de Maturação até o processamento das amostras	[] Sal g/100g
87	Carne de sol Suína	1 dia	5,8
88	Carne de sol Suína	1 dia	6,3
89	Linguiça curada Suína	1 dia	2,2
90	Carne de sol Bovina	7 dias	12,5
91	Carne de sol Bovina	1 dia	4,9
92	Carne de sol Bovina	1 dia	3,3
93	Carne de sol Suína	1 dia	5,3
94	Carne de sol Suína	1 dia	5,6
95	Carne de sol Bovina	1 dia	4,0
96	Carne de sol Suína	1 dia	8,4
97	Carne de sol Suína	1 dia	4,9
98	Carne de sol Suína	6 dias	14,7
99	Carne de sol Bovina	6 dias	12,2
100	Carne de sol Bovina	3 dias	17,7
101	Carne de sol Bovina	8 dias	5,6
102	Carne de sol Bovina	1 dia	7,0
103	Carne de sol Bovina	2 dias	2,7
104	Carne de sol Bovina	2 dias	10,7
105	Carne de sol Bovina	2 dias	12,5
106	Carne de sol Bovina	1 dia	6,6
107	Carne de sol Bovina	1 dia	7,5
108	Carne de sol Bovina	1 dia	3,2
109	Carne de sol Bovina	1 dia	2,5
110	Carne de sol Bovina	1 dia	17,2
111	Carne de sol Bovina	1 dia	4,6
112	Carne de sol Bovina	1 dia	3,9
113	Carne de sol Bovina	3 dias	10,7
114	Carne de sol Bovina	3 dias	6,2
115	Carne de sol Bovina	1 dia	3,7
116	Carne de sol Bovina	1 dia	2,6
117	Carne de sol Bovina	1 dia	5,2
118	Carne de sol Bovina	1 dia	5,1
119	Carne de sol Bovina	1 dia	3,4
120	Carne de sol Bovina	1 dia	5,5
121	Carne de sol Bovina	8 dias	4,4
122	Carne de sol Suína	8 dias	15,8
123	Carne de sol Bovina	1 dia	5,8
124	Carne de sol Bovina	1 dia	7,2
125	Carne de sol Bovina	1 dia	3,8

[] Sal g/100g = Concentração de sal em gramas a cada 100 gramas de carne.

Tabela 3 - – Média de concentração de sal dos produtos cárneos das cidades coletadas

Cidade	Média [] Sal	Média [] Carne de Sol Bovina	Média [] Carne de Sol Suína	Média [] Linguça Curada Suína
Ilhéus	5,32	6,25	-	4,65
Itabuna	7,43	6,83	13,30	4,83
Itajuípe	5,76	5,98	6,16	3,40
Uruçuca	7,40	6,99	8,43	-
Buerarema	7,67	7,39	9,33	-
Floresta Azul	5,78	5,09	9,40	-

[] = Concentração.

6 DISCUSSÃO

A precariedade das condições higiênico-sanitárias das feiras livres onde foram coletados os produtos cárneos, evidencia a falta de informação dos comerciantes sobre o assunto e essas circunstâncias acabam constituindo um importante vetor no processo de contaminação e proliferação de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) para população consumidora. As barracas, em sua maioria, quando não eram de madeira cobertas por um plástico, estavam em alvenaria com azulejos quebrados e em péssimas condições de higiene com freezer sem funcionar ou desligado, produtos expostos, empilhados, além da presença de insetos e animais. Infelizmente, essa é a realidade da maioria das feiras livres no Brasil (TOSCANO et al. 2009; MATOS et al. 2015).

A falta de uma legislação vigente para a quantidade mínima e/ou máxima de sal que venha a abranger todos os produtos cárneos existentes do mercado, é evidenciada quando se encontra uma variação de concentração tão alta diante dos produtos cárneos coletados (2,2% a 17,7%). Algumas amostras mesmo sendo do mesmo produto e coletadas na mesma cidade mostraram uma variação de concentração muito grande, como por exemplo a Carne de sol Bovina que chegou a variar de 3,0% a 17,7%, ou então amostras de Carne de Sol Suína que teve uma variação de 8,6% a 17,6%, e quando se compara com os valores fornecidos pela Instrução Normativa N°92 de 18 de setembro de 2020, em que os valores da Charque e *Jarked Beef* devem ser de no mínimo 12% (BRASIL, 2020b), reparamos que a Carne do sol, apesar de, teoricamente, ser menos salgada que a charque, por exemplo, nessas amostras apresentaram valores muito maiores que 12%. Quando compara a média da concentração de sal dos produtos cárneos coletados em cada cidade, se observa a mesma grande variação de concentração, onde a menor média de concentração de sal de Carne de sol Bovina foi de 5,09% da cidade de Floresta Azul e a maior foi de 7,39% da cidade de Buerarema. Já a Carne de sol Suína variou de 6,16% na cidade de Itajuípe a 13,3% na cidade de Itabuna.

Dentre os 10 produtos cárneos positivos na sorologia cinco eram carne de sol bovina, e corrobora a afirmação de Menucci e colaboradores (2010), onde relatam a importância do monitoramento da carne do sol sobre a toxoplasmose, visto que a mesma é elaborada sem padrões oficiais de identidade e qualidade, muitas vezes em condições sanitárias inadequadas e a comercialização é facilitada por se dispensar o armazenamento refrigerado justamente por ser uma carne salgada, representando assim um importante problema de Saúde Pública.

Todas as amostras positivas foram na cidade de Ilhéus, nesta mesma cidade já foram identificados produtos cárneos *in natura* positivos para *Toxoplasma gondii* e com cepas patogênicas quando inoculadas em camundongos (BEZERRA et al. 2012; ROCHA et al. 2018).

Pesquisas anteriores evidenciam a importância da concentração de sal e tempo de maturação dos produtos cárneos antes das vendas de no mínimo 3% a partir de 3 dias (JAMRA et al., 1991) ou de acordo com Navarro e colaboradores (1992) a partir de 2% por no mínimo 2 dias a fim de garantir a inativação dos cistos teciduais de *T. gondii*. Apesar da concentração de sal dos produtos cárneos positivados estarem entre 2,9% a 8%, deve-se levar em consideração o tempo de maturação que foi de poucas horas (desde a elaboração até a coleta e realização da análise) sendo assim o sal ainda não tinha tido tempo de ação suficiente para interferir no exsudato das amostras. Dependendo da concentração de sal, o mesmo pode fazer com que a carne perca água, sendo assim, quanto maior a concentração de sal, maior será a perda de água (PIGNATA et al., 2010). Marciano e colaboradores (2018), relataram a possibilidade da interferência do sal no exsudato quando obtiveram resultados falso-negativos dos produtos cárneos, ao realizar a análise sorológica ELISA em carnes de sol advindas de bovinos experimentalmente infectados.

Apesar dos 10 produtos cárneos positivos na análise sorológica, nenhum dos 125 produtos coletados foram positivos na análise molecular, porém esse resultado pode ter sido, mais uma vez, falso-negativo visto que é importante ressaltar que os cistos não possuem uma distribuição homogênea, podendo não estar presentes no corte coletado, ou na amostra de 100mg utilizada para realizar a análise de PCR (MECCA et al., 2011; MARCIANO et al., 2018).

Todas as 10 amostras positivas na sorologia e mais 11 amostras negativas escolhidas aleatoriamente, foram utilizadas para o bioensaio, levando em consideração a possibilidade de a análise sorológica ter apresentado resultados falso-negativo (MARCIANO et al., 2018). As concentrações de sal das amostras inoculadas variaram de 2,8% a 17,6% (a cada 100g de carne). Os resultados do bioensaio dos produtos cárneos coletados, estão de acordo com outros estudos (VENKATACHALAM & ZIMMERMAN 1976; WARNEKULASURIYA et al., 1998; MENDONÇA, et al., 2004; LANGONI et al., 2021). Nenhuma das 70 amostras de língua suína coletadas por Mendonça e colaboradores (2004) foram capazes para infectar os camundongos bioensaiados, porém 33 amostras foram positivas na análise molecular (PCR). Esse estudo, não realizou o teste de concentração de sal das amostras, mas os autores deixam claro a possibilidade da alta concentração de sal das amostras terem inviabilizado os cistos teciduais para o bioensaio.

Esses resultados evidenciam que mesmo as amostras positivas na sorologia, onde o tempo de maturação foi de apenas 6 horas em média, a concentração de sal dessas (2,9% a 8%), foi suficiente para inativar possíveis cistos nas amostras, dado que os camundongos estavam negativados na análise molecular e sorológica, o que mostra que, por consequência, clientes

que viessem a consumir esses produtos não correriam risco algum de se infectar pelo parasita *Toxoplasma gondii*. Porém, mesmo que a salga, cura e uso de conservantes em produtos cárneos já tenham se mostrado uteis na inviabilização de cistos teciduais de *Toxoplasma gondii*, não existe garantia para o controle da infecção justamente devido a essa diversificação das técnicas aplicadas nos mesmos (LÚDEN; UGGLA, 1992, POTT et al., 2013).

7 CONCLUSÃO

A determinação da concentração de sal das amostras coletadas foi essencial para uma melhor elucidação dos resultados obtidos, comprovando que as concentrações de sal dos produtos cárneos vendidos nas feiras livres da região Sul da Bahia se mostraram suficientes para a inativação de possíveis presentes cistos teciduais do parasito, porém mais estudos sobre diferentes concentrações de sal em produtos cárneos advindos de animais experimentalmente infectados se faz necessário, para uma melhor determinação da variável tempo de maturação/concentração de cloreto de sódio, a fim de melhor garantir a qualidade dos produtos e assegurar a saúde do consumidor.

REFERÊNCIAS

ABU-DALBOUH, M.A.; ABABNEH, M.M.; GIADINIS, N.D.; LAFLI, S.Q. Ovine and caprine toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*) in aborted animals in Jordanian goat and sheep flocks. **Tropical Animals Health Production**, v.44, p.49–54, 2012.

ALVES, B. F. **Viabilidade de cistos de *Toxoplasma gondii* em carnes suínas processadas por maturação provenientes de animais experimentalmente infectados**. 2017, 48 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

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

BELTRAME, M.A.V; PENA, H. F. J; TON, N. C; LINO, A. J. B; GENNARI, S, M; DUBEY, J. P; PEREIRA, F. E. L. Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens from Espírito Santo state, southeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.188, p.225– 230, 2012.

BENITEZ, A. N.; MARTINS, F. D. C.; MAREZE, M.; SANTOS, N. J. R.; FERREIRA F. P.; MARTINS, C. M.; GARCIA, J. L.; MITSUKA-BREGANÓ, R.; FREIRE, R. L.; BIONDO, A. W.; NAVARRO, I. T. Spatial and simultaneous representative seroprevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in owners and their domiciled dogs in a major city of southern Brazil. **PLoS One**, v. 12, n. 7, 2017.

BEZERRA, R. A; PARANHOS, E. B; DEL'ARCO, A. E; ALBUQUERQUE, G. R. Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em suínos criados e abatidos no Estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 78-80, 2009.

BEZERRA R. A.; CARVALHO F. S.; GUIMARÃES L. A.; ROCHA D. S.; MACIEL B. M.; WENCESLAU A. A.; LOPES C. W. G.; ALBUQUERQUE G. R. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from pigs intended for human consumption in Brazil, **Veterinary Parasitology**, v.189, p.153-161, 2012.

BLACK, M.W.; BOOTHROYD, J.C. Cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.64, n.3, p. 607- 623, 2000.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Inspeção de Produto Animal. **Portaria n° 5, de 8 de novembro de 1988. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de carnes e seus derivados**. Sistema Unificado da Atenção à Sanidade Agropecuária, 1988. Disponível em <<https://bityli.com/JNGju>>. Acesso dia 04/02/2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Manual de Métodos Oficiais para Análise de Alimentos de Origem Animal**. 2ª ed, Brasília, 2019. Disponível em <<https://bityli.com/gtEoi>>. Acesso dia 05/02/2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Decreto n° 9.013, de 29 de março de 2017 – Atualizado pelo Decreto 10.468 de 18 de agosto de 2020. RIISPOA – Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal**. Diário Oficial da União, 2020. Disponível em: <<https://bityli.com/tCyLv>>. Acesso dia 01/02/2022.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Instrução Normativa n°92, de 18 de setembro de 2020**. Diário Oficial da União, 2020b. Disponível em

<<https://bityli.com/mjywm>>. Acesso dia 04/02/2022.

BUFFOLANO, W.; GILBERT, R. E.; HOLLAND, F. J.; FRATTA, D.; PALUMBO, F.; ADES, A. E. Risk factors for recent toxoplasma infection in pregnant women in Naples. **Epidemiology and Infection**, v. 308, p. 347-351, 1996.

CARVALHO, C. B., MADRONA, G. S.; CESTARI, L. A.; GUERRERO, A.; SOUZA, N.E.; PRADO, I.N. Sensory profile of beef burger with reduced sodium content. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 37, n. 2, p. 301-305, 2015.

CEPEA – Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada, Universidade de São Paulo. **Pecuária/CEPEA: Abate não fiscalizado no País corresponde de 3,83% a 14,1% do total**, 2019. Disponível em: <<https://bityli.com/POBLw>>. Acesso dia 04/02/2022.

CHAVES, A. C. R. **Investigação soroepidemiológica de *Toxoplasma gondii*, em caprinos criados na região sisaleira da Bahia**. 2017. 54 f. Dissertação (Programa de mestrado profissional em Defesa Agropecuária). Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 2017.

CONCEIÇÃO, F. V. E.; GONÇALVES, É. C. B. A. Qualidade físico-química de mortadelas e carnes moídas e conhecimento dos consumidores na conservação destes produtos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.2, p.283-290, 2009.

COOK, A. J. C.; GILBERT, R. E.; BUFFOLANO, W.; ZUFFEREY, J.; PETERSEN, E.; JENUM, P. A.; FOULON, W.; SEMPRINI, A. E. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. **BMJ**, v. 321, p. 142–147, 2000.

COSTA, T. L.; SILVA, M. G.; RODRIGUES, I. M. X.; BARBARESCO, A. A.; AVELINO, M. M.; CASTRO, A. M. Diagnóstico Clínico e Laboratorial da Toxoplasmose. **NewsLab**, 85ª ed., p.88-104, 2007.

DA SILVA, A.V; COUTOLO, A. A; LANGONI, H.. Comparação da Reação de Imunofluorescência Indireta e o Método de Aglutinação Direta na detecção de anticorpos anti-Toxoplasma em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.69, p.7-11, 2002.

DEROUIN, F.; MAZERON, M. C; GARIN, V. J. F. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Clinical Microbiology**, v.25, p.1597-1600, 1987.

DIAS R. A. F.; FREIRE, R. L. Surtos de toxoplasmose em seres humanos e animais. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 26, n. 2, p. 239-247, 2005.

DUBEY, J. P. Distribution of cysts and tachyzoites in calves and preagnant cows inoculated with *Toxoplasma gondii* oocysts. **Veterinary Parasitology**, v. 13, n. 3, p. 99-211, 1983.

DUBEY, J.P. Refinement of pepsin digestion method for isolation of *Toxoplasma gondii* from infected tissues. **Veterinary Parasitology**, v.74, p. 75–77, 1998.

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, p.267-299, 1998.

DUBEY, J. P.; GRAHAM, D. H.; BLACKSTON, C. R.; LEHMANN, T.; GENNARI, S. M.; RAGOZO, A. M. A.; NISHI, S. M.; SHEN, S. K.; KWOK, O. C. H.; HILL, D. E.; THULLIEZ,

P. Biological and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*) from São Paulo, Brazil: unexpected findings. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 1, p. 99-105, 2002.

DUBEY, J. P.; GRAHAM D. H.; DA SILVA, D. S.; LEHMANN, T.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. *Toxoplasma gondii* isolates of free-ranging chickens from Rio de Janeiro, Brazil: mouse mortality, genotype, and oocyst shedding by cats. **Journal of Parasitology**, v. 89, p. 851-853, 2003.

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

DUBEY, J.P. The History of *Toxoplasma gondii*—The First 100 Years. **The Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 467–475, 2008.

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

DUBEY, J.P; VELMURUGAN, G. V; CHOCKALINGAM, A; PENA, H. F. J; NUNES DE OLIVEIRA, L; LEIFER, C. A; GENNARI, S. M; BAHIA OLIVEIRA, L. M. G; SU, C. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.157, p. 299–305, 2008

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis of Animals and Humans. 2^a ed. Beltsville, Maryland, U.S.A: **CRC Press**. 338p., 2010.

DUBEY J. P, C. RAJENDRAN, D. G. C. COSTA, L. R. FERREIRA, O. C. H. KWOK, D. QU, C. SU, M. F. V. MARVULO, L. C. ALVES, R. A. MOTA e J. C. R. SILVA. New *Toxoplasma gondii* genotypes isolated from free-range chickens from the Fernando de Noronha, Brazil: unexpected findings. **Journal of Parasitology**, v.96, p.709-712, 2010.

DUBEY, J.P.; LAGO, E. G; GENNARI, S. M; SU, C.; JONES, J. L. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. **Parasitology**, v.139, p.1375-1424, 2012.

DUBEY, J. P. **Chapter 1 - The history and life cycle of *Toxoplasma gondii***. 3. ed. [s.l.] Academic Press, 2020.

DUNCANSON, P.; TERRY, R.S.; SMITH, J.E.; HIDE, G. High levels of congenital transmission of *Toxoplasma gondii* in a commercial sheep flock. **International Journal for Parasitology**, v. 31, n.14, p. 1699-1703, 2001

FERGUSON, D. J. P. *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104, p.133-148, 2009.

FERNANDES, M. F. T. S.; CAVALCANTI, E. F. T. S. F.; DA SILVA, J. G.; MOTA, A. R.; NETO, O. L. S.; SANTOS, A. S.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; DE LIMA, D. C. V.; MOTA, R. A. Occurrence of anti- *Toxoplasma gondii* antibodies and parasite DNA in backyard chicken breeding in Northeast, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, v. 25, n. 1, p. 105-108, 2016.

FIALHO, C.G.; TEIXEIRA, M. C; DE ARAÚJO, F. A. P. Toxoplasmose animal no Brasil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.37, p.1-23, 2009.

GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GENNARI, S. M.; MACHADO, R. Z.;

PEREIRA, A. B. L.; SINHORINI, I. L. *Toxoplasma gondii*: Comparison of a rhoptry-ELISA with IFAT and MAT for antibody detection in sera of experimentally infected pigs. **Experimental Parasitology**, v. 113, n. 2, p. 100-105, 2006.

GONDIM, L. F. P, BARBOSA, H. V.; RIBEIRO FILHO, C. H. A.; SAEKI, H. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 273-276, 1999.

GUIMARÃES, L. A; BEZERRA, R. A; ROCHA, D. S; ALBUQUERQUE, G. R. Prevalence and risk factors associated with anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sheep from Bahia, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária** (Impresso), v. 22, p.220-224, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE; Estatística da Produção Pecuária, Out.-Dez. 2015. **Indicadores IBGE**. 2015. Disponível em: < <https://bityli.com/rDgOg>>. Acesso dia 04/02/2022.

JAMRA, L.M.F; MARTINS, M. C.; VIEIRA, M. P. L. Ação do sal de cozinha sobre o *Toxoplasma gondii*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.33, n.5, p.359-363, 1991.

JONES, J.L.; DUBEY, J. P. Waterborne toxoplasmosis – Recent Developments. **Experimental Parasitology**. v.124, n.1, p.10–25, 2010.

LANGONI, H.; GENEROSO, D.; HAYASAKA, E. Y.; MANTOVAN, K. B.; MENOZZI, B. D.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; DA SILVA, R. C. Molecular characterization of *Toxoplasma gondii* and *Sarcocystis* spp. in raw kibbeh and other meat samples commercialized in Botucatu, Southeastern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v. 30, n. 2, 2021.

LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. **International Journal of Food Microbiology**, v.15, p. 357-363, 1992.

MACIEL, B. M.; MOURA, R. L. S; CARVALHO, F. S; COSTA, E. A; ALBUQUERQUE, G. R. Identification and genetic characterization of a new Brazilian genotype of *Toxoplasma gondii* from sheep intended for human consumption. **Parasitology Internacional**, 63, 567-570, 2014.

MAINARDI, R. S.; STACCHISSINI, A. V. M.; LANGONI, H.; PADOVANI, C. R.; MODOLO, J. R. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em rebanhos caprinos no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 97-99, 2000.

MARANA, E. R. M.; VENTURINI, A. C. H.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; NAVARRO, I. T. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos de leite, do norte do Paraná-Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 16, n. 1, p. 40-42, 1995

MARCIANO, M. A. M.; ANDRADE, J. H. F.; MEIRELES, L. R. Avaliação da técnica de ELISA para pesquisa de IgG anti-*Toxoplasma gondii* em exsudatos de carnes de sol. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, n. 1, p. 1-6, 2018.

MASALA, G.; PORCU, R.; MADAU, L.; TANDA, A.; IBBA, B.; SATTA, G.; TOLA, S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 1-2, p. 15-21, 2003.

MATOS, J. C, BENVINDO, L. R. S., SILVA, T. O, CARVALHO, L. M. F. Condições

- higiênico-sanitárias de feiras livres: uma revisão integrativa. **Revista eletrônica Gestão & Saúde**. v. 06, n. 03, p. 2884-2893, 2015.
- MECCA, J. N., MEIRELES, L. R., AANDRADE, J. H. F. Quality control of *Toxoplasma gondii* in meat packages: standardization of an ELISA test and its use for detection in rabbit meat cuts. **Meat Science**, v. 88, n. 3, p. 584-589, 2011.
- MENDONÇA, A. O.; DOMINGUES, P. F.; DA SILVA, A. V.; PEZERICO, S. B.; LANGONI, H.; Detection of *Toxoplasma gondii* in swine sausages. **Parasitologia Latinoamericana**, v. 59, p. 42-45, 2004.
- MENUCCI, T. A.; MARCIANO, M. A. M.; ATUI, M. B. Avaliação da contaminação por matérias estranhas em carnes-de-sol comercializadas em casas do norte. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 1, p. 47-54, 2010.
- MORAES, E. P. B. X.; FARIA, E. B.; BATISTA, A. M.; FREITAS, A. C.; SILVA, J. C. R.; ALBUQUERQUE, P. P. F.; MOTA, R. A. Detecção de *Toxoplasma gondii* no sêmen de ovinos naturalmente infectados. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.11, p.915-917, 2010.
- MOURA, A. B.; OSAKI, S. V.; ZULPO, D. L.; MARANA, E. R. M. Ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em suínos e ovinos abatidos no município de Guarapuava, PR, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 1, p. 54-56.
- NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R. Resistência do *Toxoplasma gondii* ao cloreto de sódio e aos condimentos em linguiça de suínos. **Boletim of Sanit. Panam.**, v. 112, n. 2, p. 138-143, 1992.
- OGAWA, L.; NAVARRO I. T.; FREIRE, R. L.; OLIVEIRA, R. C.; VIDOTTO, O. Occurrence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep from the Londrina Region of the Paraná State, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 24, n. 1, p. 57-62, 2003.
- OLIVEIRA, D. F.; COELHO, A. R.; BURGARDT, V. V. F.; HASHIMOTO, E. H.; LUNKES, A. M.; MARCHI, J. F.; TONIAL, I. B. Alternativas para um produto cárneo mais saudável: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 16, n. 3, p. 163-174, 2013.
- OLIVEIRA, L. G. F & BOERE, V. Health of Illegal workers from cattle slaughterhouses in Northeast Brazil. **Rural and Remote Health**. v. 21, 2021.
- OLIVEIRA, T. L. **Desenvolvimento e Validação de Método para Determinação de sódio e Potássio em Produtos Cárneos prontos para o consumo**. 2015. 46 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química). Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2015.
- PARDI, M. C.; SANTOS, I. F. S.; SOUZA, E. R.; PARDI, H. S. **Ciência, Higiene e Tecnologia da Carne**. 2. ed. Goiânia: UFG, 2001.
- PENA H. F. J; MARVULO M. F. V; HORTA M. C; SILVA M. A; SILVA J. C. R; SIQUEIRA D. B; LIMA, P. A. C. P.; VITALIANO, S. N; GENNARI, S. M. Isolation and genetic characterisation of *Toxoplasma gondii* from a red-handed howler monkey (*Alouatta belzebul*), a jaguarundi (*Puma yagouaroundi*), and a black-eared opossum (*Didelphis aurita*) from Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 175, n. 3-4, p. 377-381. 2011.
- PIGNATA, M.C.; VIANA, P. T.; COVRE, L.; PIGNATA, M. C.; LACERDA, E. C. Q.; RECH, J. L. Avaliação físico-química e microbiológica na determinação da qualidade da carne de sol. **PUBVET**, v. 4, n. 40, 2010.

POTT, S.; KOETHE, M.; BANGOURA, B.; ZOLLER, B.; DAUGSCHIES, A.; STRAUBINGER, R. K.; FEHLHABER, K.; LUDEWIG, M. Effects of pH, sodium chloride and curing salt on the infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **Journal of Food Protection**, v.76, n.6, p.1056-1061, 2013.

ROCHA, Daniele de Santana. **Identificação molecular de *Toxoplasma gondii* em leite de ovelhas criadas no sul da Bahia**. 2013. 54 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2013.

ROCHA, Daniele de Santana. **Levantamento Sorológico, isolamento e caracterização genética de *Toxoplasma gondii* (NICOLLE E MANCEAUX, 1909) em galinhas de vida livre (*Gallus domesticus*) abatidas na Bahia**. 2017. 67 f. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2017.

ROCHA, D.S.; NILSSON, M. G; MACIEL, B. M; PENA, H. F. J.; ALVES, B. F.; SILVA, A. V.; GONDIM, L. F. P.; ALBUQUERQUE, G. R. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from free-range chickens in Bahia, Brazil. **The Journal of Parasitology**, v.104, n.4, p.377–382, 2018.

SINGH, B. Molecular methods for diagnosis and epidemiological studies of parasitic infections. **International Journal for Parasitology**, v.27, p.1135- 1145, 1997.

SMITH, J.E. A ubiquitous intracellular parasite: the cellular biology of *Toxoplasma gondii*. **International Journal of Parasitology**, v. 25, n. 11, p. 1301-1309, 1995.

SPAGNOL, F. H.; PARANHOS, E. B.; OLIVEIRA, L. L.; De MEDEIROS, D. M.; LOPES, C. W. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em bovinos abatidos em matadouros do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 2, p. 42-45, 2009.

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

STRASBURG, Gale; XIONG, Youling L; CHIANG Wen. **Fisiologia e química dos tecidos musculares comestíveis**. In: DAMODARAN, S.; PARKIN K. L.; FENNEMA O. R. Química de Alimentos de Fennema, Artmed, Porto Alegre, 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.

TOSCANO F., PENAFORTE A., MOTA M. J. Análise das condições higiênico- sanitárias do comércio informal de alimentos e programa de sensibilização dos ambulantes da feira do Bom Jesus. **Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão**, p.1-3, 2009.

TSUTSUI, V. S.; FREIRE, R. L.; GARCIA, J. L.; GENNARI, S. M.; VIEIRA, D. P.; MARANA, E. R. M.; PRUDÊNCIO, L. B.; NAVARRO, I. Detection of *Toxoplasma gondii* by PCR and mouse bioassay in commercial cuts of pork from experimentally infected pigs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 1, p. 30–34, 2007.

UZÊDA, R. S.; FERNANDES, S. Y.; JESUS, E. E. V.; PINHEIRO, A. M.; AYRES, M.C. C.; SPINOLA, S.; BARBOSA JUNIOR, H. V.; ALMEIDA, M. A. O. Fatores Relacionados a Presença de Anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em Caprinos Leiteiros do Estado da Bahia. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 5, n. 1, p. 1-8. 2004

VANSETTO, D. E. **Detecção sorológica de *Toxoplasma gondii* em suínos da região norte do Rio Grande do Sul e, pesquisa de *T. gondii* em linguiças Suínas defumadas através de PCR.** 2018. 52 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação), Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2018.

VENKATACHALAM, R.; ZIMMERMAN, W.J. Viability of *Toxoplasma gondii* in relation to processing of meat. **Journal of Animal Science**, v.42, n.5, p.1346, 1976.

WARNEKULASURIYA, M. R.; JOHNSON, J. D.; HOLLIMAN, R. E. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. **International Journal of Food Microbiology**, v. 45, p. 211–215, 1998.