

II SIMPÓSIO BRASILEIRO DE TOXOPLASMOSE

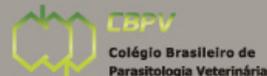


DE 30 DE JANEIRO A
01 DE FEVEREIRO
DE 2013

LOCAL: ANFITEATRO
DA FACULDADE
DE MEDICINA
VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA DA USP
SÃO PAULO - SP

ANAIS

apoio:



WWW.TOXOBRASIL.COM.BR

ÍNDICE

COMITÊ ORGANIZADOR	03
COMITÊ CIENTÍFICO	03
PROGRAMAÇÃO.....	04
CRONOGRAMA DAS APRESENTAÇÕES ORAIS	07
RESUMOS DAS APRESENTAÇÕES ORAIS/PAINÉIS	
PAINEL 1	08
PAINEL 2.....	18
PAINEL 3.....	26
PAINEL 4	35
PAINEL 5.....	43
CRONOGRAMA DOS PÔSTERES	50
RESUMOS DOS PÔSTERES	52
ÍNDICE DE AUTORES	137



COMITÊ ORGANIZADOR

COMITÊ ORGANIZADOR	
Presidente	Solange M. Gennari - FMVZ-USP-SP
Vice-Presidente	Vera L. P. Chioccola - IALutz - SP
Secretária	Luciana R. M. J. Ekman-IMTSP-USP-SP
Vice-Secretária	Lúcia E. O. Yai - CCZ-SP
Tesoureiro	Hilda F. J. Pena - FMVZ-USP - SP
Vice-Tesoureiro	José M. S. Cardoso - UNITAU - SP

COMITÊ CIENTÍFICO

COMITÊ CIENTÍFICO	
Andrés Jimenez Galisteo Jr.	IMTSP - USP - SP
Eleonor Lago	PUC - RS
Hilda F. J. Pena	FMVZ-USP-SP
Italmar T. Navarro	UEL - PR
João L. Garcia	UEL - PR
José R. Mineo	UFU - MG
Lilian Bahia Oliveira	UENF - RJ
Lucia E. O. Yai	CCZ-SP
Luciana R. M. J. Ekman	IMTSP - USP - SP
Regina Amendoeira	FIOCRUZ - RJ
Ricardo Vitor	UFMG - MG
Rubens Belfort Jr.	UNIFESP - SP
Vera L. Chioccola	IALutz-SP

30.01.2013

QUARTA-FEIRA

HORÁRIO	
8h00 - 9h00	Entrega de material
9h00 - 10h00	Cerimônia de Abertura
10h00 - 10h45	Palestra Magna Programa de controle da toxoplasmose na França M. L Dardé (França)
10h45 - 11h15	Intervalo para o café
11h15 - 12h30	Apresentações orais - 5
12h30 - 14h00	Almoço
14h00 - 15h30	Mesa Redonda Ferramentas utilizadas no estudo da epidemiologia de <i>T. gondii</i> Moderador: Hilda F. J. Pena (SP) Palestrantes - M. L. Dardé (França) - Microsatélite C. Su (USA) - PCR-RFRLP
15h30 - 15h45	Intervalo para o café
15h45 - 17h00	Apresentações orais - 5
17h00 - 18h00	Pôsteres
NOITE	Livre



31.01.2013

QUINTA-FEIRA

Horário	
9h00 - 10h30	Mesa Redonda Genotipagem de isolados brasileiros de <i>T. gondii</i> . Moderador: Vera L. Chioccola (SP) Palestrantes: Solange M. Gennari (SP) – Isolados animais Ana C. A. V. Carneiro (MG) – Isolados humanos
10h30 - 10h45	Intervalo para o café
10h45 - 12h30	Apresentações orais – 7
12h30 - 14h00	Almoço
14h00 - 15h30	Mesa Redonda Toxoplasmose Ocular e Congênita Moderadora: Eleonor G. Lago (RS) Palestrantes – Gláucia M. Q. Andrade (MG) – Toxoplasmose congênita – aspectos clínicos Rubens Belfort Jr (SP) – Toxoplasmose ocular – aspectos clínicos
15h30 - 17h00	Apresentações orais – 6
17h00 - 18h00	Pôsteres
NOITE	Coquetel



01.02.2013

SEXTA-FEIRA

Horário	
9h00 - 10h30	Mesa Redonda Diagnóstico Moderador: João L. Garcia (PR) Palestrantes: Dolores Hill (USA) - The sporozoite-specific antigen <i>T. gondii</i> its application for epidemiology studies of the parasite. Luciana Ekman (SP) - Diagnóstico da toxoplasmose através de extrato de tecidos animais.
10h30 - 10h45	Intervalo para o café
10h45 - 12h00	Rede Brasileira de Toxoplasmose Lilian Bahia Oliveira (RJ)
12h00 - 13h30	Almoço
13h30 - 15h00	Mesa Redonda - Patogenia da toxoplasmose Moderador: Heitor F. de Andrade Jr (SP) Palestrantes: M. Grigg (USA) Biology of <i>T. gondii</i> pathogenesis A. Commodaro (USA/BRASIL) Atypical strains of <i>T. gondii</i> inducing ocular toxoplasmosis in patients from Brazil.
15h00 - 15h15	Intervalo para o café
15h15 - 16h15	Apresentações orais - 4
16h15 - 17h00	Pôsteres
17h00 - 18h00	Premiação dos trabalhos e encerramento



30 de janeiro de 2013

Apresentação Oral - Paine 1

P 1.1	11h15m – 11h30m	TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM SERGIPE: PREVALÊNCIA AO NASCER E EVOLUÇÃO CLÍNICA.	Inagaki et al.
P 1.2	11h30m – 11h45m	ALTA FREQUÊNCIA DE DEPRESSÃO MEDULAR DURANTE A TERAPIA PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM UMA COORTE DE CRIANÇAS IDENTIFICADAS POR TRIAGEM NEONATAL EM MINAS GERAIS	Carelllos et al.
P 1.3	11h45m – 12h	INFECTION BY <i>Toxoplasma gondii</i> IS NOT ASSOCIATED WITH PRETERM BIRTH OR BIRTH WEIGHT	Fochi et al.
P 1.4	12h – 12h15m	SUSCETIBILIDADE A SULFADIAZINA E ANÁLISE DO GENE DHPS DE <i>T. gondii</i> - GENÓTIPO BrII - OBTIDO DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA HUMANA.	Silva et al.
P 1.5	12h15m – 12h30m	PARASITE LOAD AND <i>Toxoplasma gondii</i> GENOTYPES IN BRAZILIAN CONGENITAL INFECTIONS.	Targa et al.

Apresentação Oral - Paine 2

P 2.1	15h45m – 16h	GENOTYPING OF <i>Toxoplasma gondii</i> ISOLATES IN FREE-RANGE CHICKENS FROM BRAZILIAN CERTIFIED PIG FARMS	Rosa et al.
P 2.2	16h – 16h15m	DETERMINAÇÃO POR ABORDAGENS MOLECULARES E PROTEÔMICAS DA REINFECÇÃO OU REATIVAÇÃO DE CISTOS NA ENCEFALITE POR <i>Toxoplasma gondii</i> EM MODELOS EXPERIMENTAIS COM IMUNOSSUPRESSÃO	Meireles et al.
P 2.3	16h15m – 16h30m	GENETIC CHARACTERIZATION OF <i>Toxoplasma gondii</i> STRAINS ISOLATED FROM PIGEONS (<i>Zenaida auriculata</i>) FROM BRAZIL	Barros et al.
P 2.4	16h30m – 16h45m	GENETIC DIVERSITY AMONG <i>Toxoplasma gondii</i> ISOLATES FROM WILD ANIMALS FROM BRAZIL	Vitaliano et al.
P 2.5	16h45m – 17h	PRIMEIRO RELATO DE TOXOPLASMOSE CUTÂNEA CANINA NO BRASIL: CASO CLÍNICO, ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE <i>T. gondii</i>	Pena et al.

31 de janeiro de 2013

Apresentação Oral - Paine 3

P 3.1	10h45m – 11h	PRESENÇA DE <i>Toxoplasma gondii</i> NO SANGUE, SÊMEN E TECIDOS DE REPRODUTOR CAPRINO EXPERIMENTALMENTE INFECTADO COM OOCISTOS.	Wandereley et al.
P 3.2	11h – 11h15m	REAL-TIME PCR COMO FERRAMENTA DE PROGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA	Costa et al.
P 3.3	11h15m – 11h30m	ANÁLISE DO PROCESSO ANTI-APOPTÓTICO E DO METABOLISMO MITOCONDRIAL DE CÉLULAS ENDOTELIAIS HUMANAS DURANTE A INFECÇÃO POR <i>Toxoplasma gondii</i>	Silva et al.
P 3.4	11h30m – 11h45m	ÍNDICE DE APOPTOSE EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CEPAS DE <i>Toxoplasma gondii</i> DE DIFERENTES GENÓTIPOS	Falavigna-Guilherme et al.
P 3.5	11h45m – 12h	DESENVOLVIMENTO DE ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS PARA OTIMIZAÇÃO DA DETECÇÃO DE IgG ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> EM SALIVA HUMANA.	Carvalho et al.
P 3.6	12h – 12h15m	EXCRETED/SECRETED ANTIGENS OF <i>Toxoplasma gondii</i> : EVALUATION OF IFN- γ , TNF- α and IL-10 LEVELS IN CEREBRAL TOXOPLASMOSIS AND AIDS	Meira et al.
P 3.7	12h15m – 12h30m	CRITICAL EVALUATION OF THE USE OF RECOMBINANT SAG1 ANTIGEN IN SEROLOGY FOR TOXOPLASMOSIS IN HORSES	Costa et al.

Apresentação Oral - Paine 4

P 4.1	15h30m – 15h45m	ROLE OF TLR4 THR399ILE POLYMORPHISM IN OCULAR TOXOPLASMOSIS SUSCEPTIBILITY	Albuquerque et al.
P 4.2	15h45m – 16h	PERFIL DE ISOTIPOS ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE UVEÍTES TOXOPLÁSMICAS: AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE AS TÉCNICAS DE ELISA E CITOMETRIA DE FLUXO	Martins et al.
P 4.3	16h – 16h15m	INCREASED ANNUAL RAIN IS ASSOCIATED TO REACTIVATION OF TOXOPLASMIC RETINOCHOROIDITIS	Rudzinski e Couto
P 4.4	16h15m – 16h30m	EVENTOS ADVERSOS DA MEDICAÇÃO PARA TOXOPLASMOSE OCULAR: DADOS PRELIMINARES	Villar et al.
P 4.5	16h30m – 16h45m	PREVALENCE AND INCIDENCE OF TOXOPLASMA RETINOCHOROIDITIS IN PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS TAKING TNF- α BLOCKERS	Rodrigues et al.
P 4.6	16h45m – 17h	REPORT OF A FATAL AND ATYPICAL CASE OF AIDS-RELATED DISSEMINATED TOXOPLASMOSIS CAUSED BY A NEW BRAZILIAN <i>Toxoplasma gondii</i> STRAIN	Bastos-Silva et al.

01 de fevereiro de 2013

Apresentação Oral - Paine 5.

P 5.1	15h15m – 15h30m	INVESTIGAÇÃO SOBRE A ASSOCIAÇÃO DA INFECÇÃO PELO <i>Toxoplasma gondii</i> E DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV) EM GATOS DE ABRIGOS DO RIO DE JANEIRO	Almeida et al.
P 5.2	15h30m – 15h45m	<i>Toxoplasma gondii</i> : OUTCOMES OF AN EXPERIMENTAL INFECTION ON THE CONCENTRATION OF NEUROTRANSMITTERS AND NEUROMODULATORS	Tonin et al.
P 5.3	15h45m – 16h	RE-SHEDDING OF <i>Toxoplasma gondii</i> OOCYSTS IN EXPERIMENTALLY INFECTED CATS: A 36 MONTHS STUDY WITH DIFFERENT STRAINS CHALLENGE	Zulpo et al.
P 5.4	16h – 16h15m	ANALYSIS OF IgG SUBCLASSES (IgG1 AND IgG3) TO RECOMBINANT SAG2A PROTEIN FROM <i>Toxoplasma gondii</i> IN SEQUENTIAL SERUM SAMPLES FROM PATIENTS WITH TOXOPLASMOSIS	Santana et al.

RESUMOS DAS APRESENTAÇÕES
ORAIS/PAINÉIS

PAINEL 1



TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM SERGIPE: PREVALÊNCIA AO NASCER E EVOLUÇÃO CLÍNICA.

A DM Inagaki¹, RM Araújo¹, RQ Gurgel¹, CG Carneiro², MMM Pinhata²

¹Universidade Federal de Sergipe, ²Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. E-mail

Ana-dorcas@hotmail.com

Estimativas da ocorrência de toxoplasmose congênita (TC) em recém-nascidos brasileiros têm sido feitas por meio do rastreamento neonatal. O estudo objetivou estimar a prevalência de TC entre nascidos vivos no estado de Sergipe por meio da triagem neonatal e conhecer a frequência de acometimento visual e neurológico. Na primeira etapa do estudo, foi verificada a presença de IgM contra *Toxoplasma gondii* por meio da análise de sangue absorvido em papel filtro de 15.204 recém-nascidos. Utilizou-se um ensaio laboratorial do tipo ELISA por captura. Nesta etapa, 233 amostras revelaram-se reagentes e/ou duvidosas para a presença de IgM sendo repetidas em duplicata, utilizando-se o mesmo ensaio laboratorial e 53 permaneceram reagentes e/ou duvidosas, sendo esses pares, mãe-criança, convocados para a segunda fase do estudo, na qual foram submetidos à coleta de sangue periférico para confirmação diagnóstica por meio de detecção quantitativa de IgG e qualitativa de IgM contra o toxoplasma utilizando o ensaio laboratorial “Microparticle Enzyme Immunoassay”. Consultou-se o resultado do pré-natal para conhecer o estado sorológico das mães. Inicialmente as crianças foram submetidas ao exame clínico completo, oftalmológico, ultrassonográfico e exame de líquido cefalorraquídeo para verificação da extensão do acometimento e da necessidade de tratamento. Crianças que apresentaram sinais compatíveis com a infecção congênita foram submetidas à avaliação da função hepática, além de excluídas outras infecções perinatais, como sífilis, rubéola e citomegalovirose. Foram repetidos testes de IgG e IgM anti-*T.gondii* trimestralmente das crianças com provável TC, além do seguimento clínico, oftalmológico e da avaliação do crescimento e desenvolvimento. Seis crianças eram confirmadamente acometidas pela TC e nenhuma tinha sido diagnosticada durante o pré-natal. A Prevalência estimada de TC foi de 4/10.000 [IC 95%: 1,4 – 8,0/10.000] . Inicialmente três (50,0%) crianças apresentaram achados relacionados à infecção pelo *T.gondii*, uma com hepatoesplenomegalia, outra com coriorretinite e a terceira com calcificação cerebral. No decorrer do primeiro ano de vida mais duas crianças apresentaram coriorretinite, sendo uma anteriormente assintomática e a segunda já apresentava hepatoesplenomegalia, essa última desenvolveu coriorretinite em ambos os olhos. Nenhuma apresentou alterações neurológicas. As demais duas crianças permaneceram

assintomáticas após 20 meses de seguimento. A TC é um problema relevante em Sergipe com prevalência ao nascer e morbidade, havendo necessidade de investimentos em prevenção.

Palavras-chave: Toxoplasmose congênita, *Toxoplasma gondii*, Infecções congênitas, Prevalência

Financiamento: FAPITEC – SE; HEMOLACEN

**ALTA FREQUÊNCIA DE DEPRESSÃO MEDULAR DURANTE A TERAPIA
PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM UMA COORTE DE CRIANÇAS
IDENTIFICADAS POR TRIAGEM NEONATAL EM MINAS GERAIS**

EVM Carellos¹, JQ Andrade², RMC Romanelli¹, JD Tibúrcio³, JN Januário⁴, DV
Vasconcelos-Santos⁵, GMQ Andrade¹

¹ Departamento de Pediatria da FM/UFMG, ² Faculdade de Medicina da UFMG, ³
Departamento de Estatística da UFSJR, ⁴ Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio
Diagnóstico, ⁵ Departamento de Oftalmologia da FM/UFMG

Email: ericka@horizontes.net

A toxoplasmose congênita pode apresentar-se com manifestações oftalmológicas, auditivas, ou neurológicas ao nascimento, e/ou no decorrer da vida. Estudos mostram que o tratamento com a associação sulfadiazina/pirimetamina por um ano pode melhorar o prognóstico das crianças infectadas. O principal efeito adverso do tratamento é a depressão medular, principalmente em pacientes desnutridos, porém são escassas as informações acerca da frequência e controle desses eventos. Este estudo objetivou descrever as alterações hematológicas observadas em uma coorte de crianças diagnosticadas com toxoplasmose congênita, a partir do Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais, e tratadas com sulfadiazina (100mg/kg/dia) associada à pirimetamina (1mg/kg), diária por seis meses, seguida do uso por três vezes/semana até completar um ano. O ácido folínico foi usado desde o início do tratamento até uma semana após suspensão. Foi realizado hemograma basal, com 15 dias, e a cada dois meses, ou a intervalos menores se alterações nos exames. Entre 146.307 nascidos vivos testados (2006-2007), confirmou-se a infecção em 190. Destas, 171 crianças foram acompanhadas prospectivamente no serviço e 125 completaram um ano de tratamento regular. Alterações hematológicas ocorreram em 77/171 (45%) crianças, após uma mediana de 126 dias (P10 = 22, P75 = 204). Neutropenia inferior a 1000/mm³ ocorreu em 53/171 (31%), plaquetopenia em 14/171 (8,2%), e anemia macrocítica em 29/171 (17%) crianças. Observou-se associação entre a ocorrência de anemia macrocítica e menor escore Z de peso na primeira consulta (p = 0,01), e entre neutropenia grave (<500/mm³) e menor escore Z de peso ao final do tratamento (p = 0,04). Foi necessário ajuste da dose de ácido folínico em 44/171 pacientes (25,7%), e interrupção temporária do tratamento em 3/171 (1,7%). Não foram observadas infecções associadas à neutropenia. Apesar do uso concomitante do ácido folínico observou-se elevada

frequência de eventos adversos hematológicos, mais comuns nas crianças com menor escore Z para o peso. A proporção de crianças necessitando de ajustes nas doses foi alta reforçando a importância do monitoramento hematológico.

Palavras chave: Toxoplasmose congênita, terapia, efeitos adversos

Apoios: NUPAD, SES-MG

INFECTION BY *Toxoplasma gondii* IS NOT ASSOCIATED WITH PRETERM BIRTH OR BIRTH WEIGHT

M Fochi¹, S Baring¹, CC Brandão de Mattos¹, LC de Mattos¹

¹Molecular Biology Department, Immunogenetics Laboratory, Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. E.mail: marianafochi@gmail.com

Infection by *Toxoplasma gondii* is considered an important risk factor for miscarriages, preterm births and low birth weights in animals. However, studies of humans focusing on this subject are scarce. The aim of this study was to determine if different serological profiles of infection by *T. gondii* are associated with preterm birth or low birth weight in humans. Two hundred and thirteen pregnant women who received medical attention in the High-Risk Antenatal Clinic and gave birth in Hospital de Base in São José do Rio Preto, SP, Brazil, were enrolled in this study. All had serological profiles of *T. gondii* infection (IgM-/IgG+; IgM-/IgG-; IgM+/IgG+) determined by the ELISA test. Data on the age of the women, gestational age and birth weight of the baby were collected at birth. Preterm birth was defined as less than 37 gestational weeks and low birth weight as less than 2499 grams. The t-test was used to compare values ($p < 0.05$). The mean age of the women was 27.6 ± 6.6 years old. Overall, 56.3% (120/213) were IgM-/IgG+, 36.2% (77/213) were IgM-/IgG- and 7.5% (16/213) were IgM+/IgG+. The mean age of the women with the IgM+/IgG+ serological profile (22.3 ± 3.9 years old) was significantly different to those with IgM-/IgG+ (27.9 ± 6.7 years old; $p = 0.0011$) and IgM-/IgG- (27.9 ± 6.4 years old; $p = 0.0012$). There were no statistically significant differences detected between the groups in respect to preterm birth ($p = 0.6742$) and low birth weight ($p = 0.7186$). The results demonstrate that infection by *T. gondii* is not associated with preterm birth or low birth weight in our region. Although infection by this parasite increases the risk for miscarriages, preterm births and low birth weights in animals it does not seem to affect humans.

Key words: Birth weight, Preterm birth, *Toxoplasma gondii*, Toxoplasmosis.

Financial support: PIBIC-CNPq.

SUSCETIBILIDADE A SULFADIAZINA E ANÁLISE DO GENE *DHPS* DE *T. gondii* - GENÓTIPO BrII - OBTIDO DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA HUMANA.

LA Silva, DC Bartholomeu, RWA Vitor

Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, MG. leticiaazs@hotmail.com

A sulfadiazina (SDZ) é amplamente utilizada para o tratamento da toxoplasmose. Falhas no tratamento podem estar relacionadas às diferenças de suscetibilidade entre cepas de *T. gondii* geneticamente divergentes ou ao desenvolvimento de resistência do parasito causada por mutações no gene que codifica a enzima alvo da SDZ. A atividade da SDZ tem sido demonstrada em cepas de genótipos clonais I, II e III, e pouco se sabe sobre a ação dessa droga sobre cepas recombinantes brasileiras. Os objetivos desse estudo foram: avaliar a suscetibilidade à SDZ de um isolado virulento de *T. gondii* pertencente ao genótipo brasileiro BrII e verificar polimorfismos alélicos no gene *dhps* desse isolado. O isolado TgCTBr8 foi previamente obtido de caso humano de toxoplasmose congênita em Minas Gerais. Taquizoítos foram purificados por filtração em membrana de policarbonato com poro de 3µm e contados ao microscópio. Quatro grupos de 10 camundongos Swiss foram inoculados pela via intraperitoneal com 10⁴ taquizoítos e, após dois dias, tratados com diferentes doses de SDZ pela via oral, durante 10 dias: 80 (grupo A), 160 (grupo B) e 320 mg/Kg/dia (grupo C). O grupo controle (D) recebeu apenas o diluente. Após 30 dias, os sobreviventes foram avaliados por ELISA. As taxas de sobrevivência e o número de cistos cerebrais também foram avaliados. Para o bioensaio, o cérebro de cada sobrevivente foi subinoculado pela via intraperitoneal em outro camundongo normal. As taxas de sobrevivência observadas foram de 100%, 80%, 100% e 0%, (grupos A a D, respectivamente). Todos sobreviventes apresentaram anticorpos IgG anti-*T. gondii*. O número médio de cistos cerebrais foi de 112±90, 256±170 e 330±323 (grupos A a C), tendendo ao aumento de parasitos quanto maior dosagem de SDZ utilizada, contudo, não houve diferença estatística. O isolado virulento BrII foi suscetível à SDZ nas diferentes dosagens utilizadas, já que o tratamento aumentou consideravelmente as taxas de sobrevivência dos camundongos infectados. Experimentos com outros quatro isolados estão em andamento. Para identificação de sítios polimórficos foi realizada amplificação dos seis éxons do gene *dhps* através de PCR e sequenciamento para os cinco isolados de *T. gondii*. As sequencias serão

analisadas pelo alinhamento múltiplo e correlacionadas com os resultados de susceptibilidade *in vivo* à SDZ.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; Sulfadiazina; Cepas recombinantes; *dhps*

Órgão de financiamento: CNPq

PARASITE LOAD AND *TOXOPLASMA GONDII* GENOTYPES IN BRAZILIAN CONGENITAL INFECTIONS.

LS Targa, L Yamamoto, LM Sumita, JC Rodrigues, PT Shimokawa, LE Teixeira, W Domingues, KA Kanunfre, TS Okay.

Laboratory of Seroepidemiology and Immunobiology, Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo, Brazil. E-mail: thelma.okay@usp.br

The genotype and the parasite load are factors associated with pathogenesis in congenital toxoplasmosis. South America seems to have a higher frequency of more pathogenic, non clonal genotypes. The parasite load appears to be related to fetal prognosis. The study aimed to standardize a quantitative amplification (qPCR) with B1 gene primers to assess the parasite load; perform genotyping by multiplex-nested-PCR-RFLP of 5' and 3'-SAG2, SAG3 and GRA6 markers, followed by sequencing to confirm RFLP and analyze mutations, and determine association between parasite loads and parasite genotypes. We analyzed 76 amniotic fluid samples from pregnancies with toxoplasmosis and 31 controls. The qPCR presented LOD of 10 parasites/mL, detected the 76 study samples and no control. Parasite loads ranged from 222 to 808,328 parasites/mL, and two samples were above 10^4 , despite treatment. SAG3 amplified 55 samples (54 type III and 1 type II); 5' and 3' - SAG2 amplified 54 samples (all type I); and GRA6, amplified 20 samples (all type III). The only SAG3 - type II sample showed the highest number of mutations (n=4), parasite load of 958 parasites/mL, and the newborn was asymptomatic. Sequencing confirmed 100% of RFLP results; found 24 samples with and 52 without mutations, and no differences between parasite loads of these two groups (Mann-Whitney, $p=0.085$). More than one mutation was observed in 5 samples. A total of 37 mutations were detected: 26 heterozygotes/synonymous and 11 homozygous/synonyms, and no hot spot regions. All 76 newborns showed positive IgM at birth, and 75 were asymptomatic. The only symptomatic newborn presented the Sabin's triad and one of the two higher parasite loads (309.574), SAG3-type III allele and no mutations. The other sample with parasite load above 10^4 belonged to an asymptomatic newborn with a SAG3-type III allele and no mutations. The study concluded that the qPCR was successfully standardized, SAG3 and 5' and 3'-SAG2 were genotyped more frequently than GRA6; sequencing confirmed RFLP and found a high frequency of mutations, not associated with the parasite load. There was a high

variability in parasite loads, however great homogeneity of parasite genotypes, with no association between parasite loads and genotypes in this study.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, congenital toxoplasmosis, genotyping, parasite load

Funding: FAPESP 2010/15022-1; CNPq 2011-0/471479

RESUMOS DAS APRESENTAÇÕES
ORAIS/PAINÉIS

PAINEL 2



GENOTYPING OF *Toxoplasma gondii* ISOLATES IN FREE-RANGE CHICKENS FROM BRAZILIAN CERTIFIED PIG FARMS

RC Rosa¹, RJ Mattei¹; FR Piassa¹; JB Araújo¹, RC da Silva²; VB Richini-Pereira², H Langoni², C Su³; AV da SILVA⁴

¹Universidade Paranaense, UNIPAR, Umuarama, PR. ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. ³College of Arts and Sciences, University of Tennessee, Knoxville, TN. ⁴Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, BA. E-mail: aristeuvsilva@uefs.br

Genotypic profiles of 38 *Toxoplasma gondii* were obtained from strains isolated from chickens raised outdoors in certified pig farms in Toledo, the State of Parana, Brazil. The strains were obtained from the infection of mice with brain and heart of chickens from 10 farms, and in eight farms *T. gondii* was isolated and typed. Total DNA was extracted from the brain or peritoneal fluid of mice and genotyping was performed using 12 RFLP markers: SAG1, 5-3', SAG2, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico and CS3. Thirteen genotypes were found, including five of them had already been described previously and eight new genotypes. Virulence of *T. gondii* was tested in 27 strains, the mortality in mice ranges from 0 to 57.1 %. Despite the chance of mortality be 2.7 times greater in mice inoculated with strains of allele II in CS3 locus, this result was not significant (P-value=0.5819). Mortality rate of 57.1 % was associated with a strain with marker CS3 type I. As in other studies carried out with Brazilian isolates, there is high variability of virulence in the isolated strains, and there is no clear association of genetic markers with virulence in mice. In spite of chickens do not share exactly the same environment occupied by the pigs, which are created in intensive system, the sharing of common sources of infection, such as water to drink, and the presence of other animals, such as rats and cats, may transmit the same pool of *T. gondii* strains to pigs on the farms. It is important to emphasize that the farms studied, although strictly controlled according to the standards of the Ministry of Agriculture, Livestock and Food Supply also have substantial rates of infection by *T. gondii* in the pigs. As a chronic infection, the effects of *Toxoplasma* on reproduction and production of these animals is now not clear. However, based on infection in chickens on the same farms, it is obvious that *T. gondii* is a serious risk to public health in this region.

Key words: *Toxoplasma gondii*; Chickens; Genotyping; Pig Farming.

Financial Support: Universidade Paranaense, Universidade Estadual de Feira de Santana, FAPESB, FAPESP, CNPq

**DETERMINAÇÃO POR ABORDAGENS MOLECULARES E PROTEÔMICAS
DA REINFECÇÃO OU REATIVAÇÃO DE CISTOS NA ENCEFALITE POR
Toxoplasma gondii EM MODELOS EXPERIMENTAIS COM
IMUNOSSUPRESSÃO**

LRM Meireles¹, TCC Santos¹, HF Andrade Jr¹

¹ Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, USP, São Paulo, SP.

Email: lrmeirel@usp.br

A origem da cepa infectante de *Toxoplasma gondii* na encefalite de indivíduos imunossuprimidos é controversa, já que a doença pode ocorrer devido à reativação da cepa original, que cronicamente infecta o indivíduo, ou por reinfecção com novas cepas. Estudamos modelos experimentais de reinfecção por cepas geneticamente distintas de *T.gondii* em camundongos Balb/c, submetidos à imunossupressão por dexametasona, com determinação do genótipo prevalente nos cistos cerebrais e avaliação da produção de anticorpos cepa-específicos. A quantificação de cistos cerebrais foi realizada por microscopia e PCR em tempo real, com avaliação dos genótipos por *nested* PCR RFLP. Além disso, identificamos cistos teciduais por imunohistoquímica, utilizando conjugados produzidos com peptídeos sintéticos cepa-específicos e detectamos anticorpos circulantes específicos contra estes peptídeos, por ELISA, antes e durante a imunossupressão. Nossos dados mostram que a infecção primária pela cepa ME49 (Tipo II) foi incapaz de prevenir a colonização de cistos pela cepa VEG (Tipo III), sendo encontrados cistos das duas cepas pelo PCR-RFLP, independentemente do estado imunológico dos animais. Ao contrário, a infecção pela cepa VEG preveniu a colonização de cistos da cepa ME49. Estes achados têm uma implicação muito importante para indivíduos portadores de imunodeficiências, em especial, a AIDS, já que muitos trabalhos atribuem a reativação de cistos teciduais latentes, como a principal causa de reagudização da doença. Nossos dados mostram que a toxoplasmose cerebral em imunossuprimidos pode ocorrer tanto pela reativação de cistos, como pela reinfecção por cepas heterólogas. Assim, acreditamos que as novas ferramentas fenotípicas, advindas dos estudos moleculares de linhagens isoladas de *T.gondii*, são uma abordagem promissora para a compreensão dos fenômenos decorrentes da complexa relação hospedeiro-parasita como demonstrado em nossos estudos de reinfecção de camundongos por diferentes linhagens.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, Genotipagem, Sorotipagem, Imunossupressão.

Órgão de financiamento: CNPq

**Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strains isolated from pigeons
(*Zenaida auriculata*) from Brazil**

LD Barros¹, A Taroda¹, DL Zulpo¹, IAL Cunha¹, ST Cardim¹, ACF Miura¹, AS Sammi¹, C Su², RZ Machado³, O Vidotto¹, JL Garcia¹

¹ Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR. ² University of Tennessee, Knoxville, USA. ³ Universidade Estadual Paulista, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP.

Email: daniel_vetuel@hotmail.com

Toxoplasma gondii is an intracellular parasite which has worldwide distribution and can infect all warm-blooded animals including birds. Because of their feeding habits, the birds are an important indicator of environmental contamination. The pigeons *Zenaida auriculata* are very abundant in many regions of Brazil, and could constitute a food source for stray cats. Furthermore, in countries of South America, *T. gondii* has a much higher diversity, with predominantly genotypes atypical and mixed clonal. The aim of the present study was to evaluate the prevalence of anti-*T. gondii* antibodies and genetically characterize isolates from pigeons (*Z. auriculata*) from Brazil. Two hundred and six free-ranging pigeons (*Z. auriculata*) from Londrina, Paraná state, Brazil, were trap captured. The prevalence of anti-*T. gondii* antibodies was obtained by the modified agglutination test (MAT) and titer ≥ 16 were considered as positive. The mouse bioassay was used to isolate *T. gondii* from the pigeons. Genotyping was performed using a multilocus PCR-RFLP including 12 genetic markers, SAG1, SAG2, alt. SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico and CS3. The results were compared, identified and classified according to the genotypes present in ToxoDB (<http://toxodb.org/toxo/>). *T. gondii* antibodies were detected in 46 out of 206 (22,3%) animals, where the titer 16 was more frequent 16 (13.5%). Regarding the capture area, there was a statistically significant difference ($p < 0,05$), with positive rate of 56%, 12,1% and 6,2% to university campus, urban area and small farm. There was no statistically significant difference between the sex. *T. gondii* was isolated from 12 pigeons. Seven different genotypes were detected, three of them were not described before this work, and four matched at genotypes #1, #6, #17 and #63 from ToxoDB. Two isolates did not amplify all markers and it was not possible to determine their genotypes. This study confirmed the genetic diversity of Brazilian isolates of *T. gondii*, and it was observed the clonal type II, genotype rare in Brazil. Moreover, is the first report of isolation of *T. gondii* in pigeons *Z. auriculata*.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; Pigeons; Genotype; *Z. auriculata*

Financial Support: CAPES; FAPESP

GENETIC DIVERSITY AMONG *Toxoplasma gondii* ISOLATES FROM WILD ANIMALS FROM BRAZIL

SN Vitaliano¹, HS Soares¹, AHH Minervino¹, HFJ Pena¹, VC Geraldi², ALQ Santos³, K Werther⁴, DB Siqueira⁵, MFV Marvulo⁵, RM Soares¹, SM Gennari¹

¹FMVZ/USP, São Paulo, SP, Brazil. ²DEPAVE, São Paulo, SP, Brazil. ³FAMEV/UFU, Uberlândia, MG, Brazil. ⁴UNESP, Jaboticabal, SP, Brazil. ⁵Parque Estadual Dois Irmãos, Recife, PE, Brazil.

Email: sergiovitaliano@yahoo.com.br

Toxoplasma gondii is an intracellular protozoan parasite that infects almost all warm-blooded animals, including humans. Although *T. gondii* infections in wild animals are frequent, the role of wild life in this parasite's epidemiology is not well understood. The aim of this paper was to genetically characterize *T. gondii* isolates from free-living and captive wild birds and mammals from different locations from Brazil, by PCR- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), using 12 genetic markers (SAG1, SAG2, *new*SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L258, PK1, Apico and CS3). 229 DNA samples obtained from brain and heart homogenates were screened by PCR based on 18S coding sequences and the positive samples were genotyped by using PCR-RFLP. Among the twenty-two PCR positive samples; in 15 *T. gondii* were successfully isolated after bioassay in mouse. Thus, PCR-RFLP was used to genotype *T. gondii* from 15 strains isolated in mouse and 7 DNA samples directly extracted from wild animal tissues. These 22 DNA samples revealed 17 genotypes of *T. gondii*. Thirteen of the 17 genotypes revealed from wild animals are newly described genotypes and 11 of them each have single isolate. The Brazilian clonal lineages BrI and BrII were found in three samples. In this study, it was possible to genotype *T. gondii* from 7 armadillos, 3 collared anteater (*Tamandua tetradactyla*), 3 whited-lipped peccary (*Tayassu pecari*), 2 pacas (*Cuniculus paca*), one oncilla (*Leopardus tigrinus*), one hoary fox (*Pseudalopex vetulus*), one red-winged tinamou (*Rynchotus rufescens*), one lineated woodpecker (*Dryocopus lineatus*), one maned wolf (*Chrysocyon brachyurus*), one black howler monkey (*Alouatta caraya*) and from cattle egrets (2 pools of 5 animals each). None genotype was associated to the host or local of isolation. The results obtained here corroborate previous studies on *T. gondii* isolates in Brazil, thus confirming their diversity and atypicality. As far as we are concerned, this is the largest collection of *T. gondii* isolates from wild animals from Brazil.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; genotype; wild animals; PRC/RFLP

Financial Support: FAPESP; CNPq

**PRIMEIRO RELATO DE TOXOPLASMOSE CUTÂNEA CANINA NO
BRASIL: CASO CLÍNICO, ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO
MOLECULAR DE *T. gondii***

HFJ PENA¹, LR MOROZ², RKB SOZIGAN³

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), USP, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, SP. ²FMVZ, USP, Departamento de Cirurgia Animal. ³Médica Veterinária Autônoma, São Paulo, SP. Email: hfpna@usp.br

A toxoplasmose cutânea é rara e já foi relatada em humanos, gatos e em apenas três cães ao redor do mundo, sem relatos no Brasil. O objetivo deste trabalho é descrever o caso de um cão adulto tratado com terapia imunossupressora que desenvolveu lesões cutâneas nodulares causadas por *T. gondii*. Um cão sem raça definida, macho, com aproximadamente dois anos de idade, foi diagnosticado com aplasia medular grave de séries eritróide e mielóide, aplasia de série megacariocítica e fibrose grau II. Após dois meses do início de terapia imunossupressora com prednisona e ciclosporina, o animal apresentou alterações dermatológicas, inicialmente caracterizadas por pequenos nódulos enrijecidos epidérmicos levemente eritematosos que evoluíram para grandes nódulos enrijecidos, eritematosos, ulcerados, com drenagem de material purulento. A citologia aspirativa por agulha fina destes nódulos revelou a presença de taquizoítas. O soro do cão foi submetido à Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* (≥ 16) e anti-*Neospora caninum* (≥ 50). O título de anticorpos para *T. gondii* foi de 65.536 e para *N. caninum* foi < 50 . Iniciou-se o tratamento com sulfa e trimetropim (Bactrim®) na dose de 30mg/kg/BID. Houve desaparecimento das alterações cutâneas 28 dias após início do tratamento. O animal continua o tratamento imunossupressor com ciclosporina (2,5mg/kg/SID) e, paralelamente, com o Bactrim® (30mg/kg/). O material obtido dos nódulos por punção aspirativa foi inoculado subcutaneamente em dois camundongos, três gerbilos e diretamente em cultivo celular, utilizando a linhagem CV-1. Todos os animais vieram a óbito 9 a 11 dias pós-inoculação (P.I.) com quadro de toxoplasmose aguda e presença de taquizoítas no lavado peritoneal. O cultivo celular foi positivo a partir de 23 dias P.I. A amostra da punção nodular também foi examinada por PCR para detecção de um fragmento de 155pb do gene B1 de *T. gondii* e para detecção de um fragmento de 227pb do gene Nc-5 de *N. caninum*, confirmando também o diagnóstico de *T. gondii*. A genotipagem deste isolado, denominado

TgDgBr20, pela PCR-RFLP revelou o tipo BrI, o mais frequentemente encontrado no Brasil, e, pela primeira vez, associado a um quadro clínico em um animal naturalmente infectado.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; cão; nódulos cutâneos; genotipagem

Apoio Financeiro: CNPq



RESUMOS DAS APRESENTAÇÕES
ORAIS/PAINÉIS

PAINEL 3



PRESENÇA DE *Toxoplasma gondii* NO SANGUE, SÊMEN E TECIDOS DE REPRODUTOR CAPRINO EXPERIMENTALMENTE INFECTADO COM OOCISTOS

FS Wanderley¹, WJN Porto², DR Câmara², JL Garcia⁴, PC Kim³, OL Souza Neto³, AAF Oliveira³, RA Mota³

¹Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. ²Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa, AL. ³Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. ⁴Departamento de Medicina Veterinária preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR. Email: flavianasw@hotmail.com

O objetivo deste estudo foi estudar a presença do DNA de *Toxoplasma gondii* em amostras de sangue, sêmen e tecidos de um reprodutor caprino infectado com 2×10^5 oocistos da cepa ME-49. As amostras de sangue e sêmen foram coletadas nos dias 0, 3, 5, 7, 11, 14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63 e 70 e os fragmentos dos tecidos foram coletados após a eutanásia (dia 70 pós-infecção). Para confirmar a infecção foi realizado exame clínico e pesquisa de anticorpos por meio da reação de imunofluorescência indireta e para a detecção do DNA do parasito foi utilizada a reação em cadeia da polimerase. Entre os dias 3 e 9 pós-infecção, o animal apresentou taquicardia, taquipnéia, apatia, hiporexia, tosse e hipertermia (máxima de $41,3^{\circ}\text{C}$), recuperando-se após esse período. A soroconversão foi observada no dia 7 (título 64) e aos 11 dias apresentou título máximo de 1024, mantido até 70 dias. O DNA de *T. gondii* também foi detectado no sangue e sêmen a partir do dia 3 até o dia 70 pós-infecção. O baço e rim foram os únicos órgãos positivos na PCR. Conclui-se que o reprodutor caprino infectado via oral com oocistos de *T. gondii* elimina o parasito no sêmen por longo período após a infecção experimental e outros estudos devem ser realizados para comprovar a viabilidade do parasito e sua capacidade infectante.

Palavras -chave: Toxoplasmose, sêmen, caprino

Orgãos de financiamento: FAPEAL, FACEPE, CNPq



REAL-TIME PCR COMO FERRAMENTA DE PROGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

JGL Costa¹, ACAV Carneiro¹, AT Tavares¹, GMQ Andrade², DV Vasconcelos-Santos²,
D Menezes-Souza¹, RT Fujiwara¹, RWA Vitor¹.

¹Instituto de Ciências Biológicas, UFMG, Belo Horizonte, MG. ²Faculdade de
Medicina, UFMG, Belo Horizonte, MG. Email: costa.jgl@gmail.com

A transmissão congênita do *Toxoplasma gondii* em humanos tem sido associada à ocorrência de abortos, natimortos e mortalidade neonatal. Recém-nascidos infectados podem apresentar retinocoroidite, calcificações cerebrais, hidrocefalia e retardo mental. A retinocoroidite é a seqüela mais prevalente. Na América do Sul, estas lesões oculares são mais frequentes e mais graves (lesões múltiplas e mais extensas) quando comparadas às crianças infectadas da América do Norte e Europa. Esse trabalho teve por objetivo identificar a presença do *T. gondii*, através de real time PCR (qPCR), no DNA extraído do sangue periférico de recém-nascidos infectados e comparar os resultados obtidos à presença e tipo de lesões retinocoroideanas apresentadas pelas crianças. A seqüência repetitiva do genoma do parasito (rep529) foi utilizada como alvo, sendo esta amplificada pelos iniciadores descritos por Menotti e colaboradores (2010). O gene da β -globina humana foi empregado como controle interno da reação. Participaram deste estudo 150 crianças triadas após o nascimento para toxoplasmose congênita, pelo teste do IgM anti-*T.gondii* em papel filtro, e que tiveram a infecção confirmada pela persistência de IgG anti-*T.gondii* após 12 meses de vida. O DNA dessas crianças foi extraído de 300 μ L de sangue periférico. A idade média de vida das crianças no momento da coleta era de 58 dias. A qPCR foi positiva em 54% (61/113) das crianças com lesões retinocoroideanas, enquanto que naquelas que não apresentavam lesões a positividade foi de apenas 29% (11/37) ($p=0,013$). Considerando os tipos de lesão foi demonstrado que, dentre as crianças com retinocoroidite ativa, 68% (13/19) foram positivas por qPCR, resultado estatisticamente diferente daquelas sem lesão (29%) ($p=0,009$). Também foi observada diferença entre as proporções de crianças sem lesão ocular e aquelas com lesões retinocoroideanas cicatrizadas (21/37, 56,8%) ($p=0,034$). Apesar da positividade da qPCR nas crianças com lesões retinocoroideanas simultaneamente ativas e cicatrizadas (27/57, 47%) ser maior do que nas sem lesão, a diferença não foi significativa. Conclui-se, portanto, que existe associação entre o tipo de lesão e o resultado da qPCR-rep529.

Palavras-chave: toxoplasmose congênita, retinocoroidite, qPCR.

Suporte financeiro: CAPES

ANÁLISE DO PROCESSO ANTI-APOPTÓTICO E DO METABOLISMO MITOCONDRIAL DE CÉLULAS ENDOTELIAIS HUMANAS DURANTE A INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii*

CL Silva¹, ISX Dias¹, RS Marinho¹, SN Carvalho¹, AA Thole¹, L Carvalho¹, AS Moura², EAC Cortez^{1,2}, AC Stumbo¹

¹Laboratório Cultura de Células, DHE - UERJ, Rio de Janeiro, RJ. ²Departamento de Ciências Fisiológicas - UERJ, Rio de Janeiro, RJ. Email: camila_lunanit@hotmail.com

Estudos anteriores do nosso grupo demonstraram que células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) infectadas por taquizoítos de *Toxoplasma gondii* por 2h apresentaram fissão da rede mitocondrial. Entretanto, após 6h de infecção, observou-se a reestruturação da rede mitocondrial que se manteve em 20h. A mudança na morfologia mitocondrial está relacionada a alterações fisiológicas da célula como a apoptose. Esse processo é regulado por proteínas pró (Bax) e anti (Bcl-XL) apoptóticas da família Bcl-2, e já está descrito que o *T. gondii* possui capacidade de interferir nessa via de sinalização. Com o objetivo de caracterizar o processo anti-apoptótico e o metabolismo mitocondrial durante a evolução da infecção por *T. gondii* em HUVEC, taquizoítos da cepa RH foram isolados do lavado peritoneal de camundongos e utilizados nos experimentos de interação. Após os tempos de 2, 6 e 20h foi feita a quantificação das proteínas Bax e Bcl-XL por imunoblotting, e o consumo de oxigênio foi avaliado por respirometria de alta resolução no sistema OROBOROS® Oxygraph-2k. Os parâmetros respiratórios foram definidos como: taxa respiratória da célula íntegra - Rotina; taxa respiratória máxima estimulada por ADP (5 mM) - Estado 3; e taxa respiratória na ausência de fosforilação de ADP, após a adição de oligomicina (2 µg/ml) - Estado 4. A razão do controle respiratório (RCR) foi calculada como Estado 3/Estado 4. Nossos resultados mostraram que a razão Bax/Bcl-XL diminuiu no tempo de 6h em relação ao tempo de 2h, o que caracteriza um perfil anti-apoptótico das células hospedeiras já em tempos iniciais de infecção. Após 20h de infecção, a respiração mitocondrial da célula endotelial foi significativamente maior quando comparada ao tempo de 2h, tanto nas situações de Rotina e Estado 3 como também para o RCR, demonstrando maior eficiência e acoplamento mitocondrial em tempos tardios da infecção. Esses dados indicam que o parasito inicialmente interfere na função mitocondrial da célula hospedeira e, ainda modula a expressão das proteínas da família Bcl-2 retardando a apoptose. Assim, com o estabelecimento da infecção, o metabolismo energético é restaurado, o que permite a manutenção do ciclo intracelular do parasito.

Palavras-chave: HUVEC; *Toxoplasma gondii*; mitocôndria; respirometria

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq e FAPERJ.

ÍNDICE DE APOPTOSE EM CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CEPAS DE *Toxoplasma gondii* DE DIFERENTES GENÓTIPOS

AL Falavigna-Guilherme^{1,3}, DL Aleixo¹, SM Araújo¹, A Bortoluci¹, C Zangari¹, CF Braga¹, PF Massini¹, GJ Falkowski¹, GF Guilherme², L Higa¹, JL Garcia³.

¹Universidade Estadual de Maringá, PR. ²Pontifícia Universidade Católica do Paraná, PR.

³Universidade Estadual de Londrina, PR. Email: alfguilherme@uem.br

T. gondii é uma espécie cuja análise genética revelou alta complexidade em hospedeiros e áreas geográficas distintas. As células T efectoras CD8 são essenciais para o controle da infecção e estão envolvidas em inúmeras respostas fisiológicas. O objetivo do trabalho foi avaliar experimentalmente o índice de apoptose em camundongos infectados por cepas de *T. gondii* de diferentes genótipos. Foram utilizados camundongos Balb/C, infectados experimentalmente com taquizoítas da cepa tipo I (RH) e cistos das cepas tipo II (ME-49) e III (VEG). A apoptose foi investigada pela técnica TUNEL (TdT dUTP-biotin Nick End Labeling), com o kit comercial para detecção da mesma (ApopTag® Peroxidase-Chemicon), a partir do cérebro e fígado dos camundongos. Nas células nervosas os animais infectados com a cepa ME-49 apresentaram maior índice de apoptose em comparação ao grupo controle (CNI) e as demais cepas, ($p < 0.015$). Com relação às diferentes regiões do tecido encefálico (*Pia mater*, Camada medular, Células de Purkinge e Camada granulosa), não foi observada distribuição uniforme no índice de apoptose. A cepa ME-49 não apresentou diferença no índice de apoptose entre as camadas ($p > 0.05$), com exceção das células de Purkinge em que houve menor índice de apoptose ($p < 0.000$). Para a cepa RH houve maior índice de apoptose na região da *Pia mater*, na camada medular e granulosa em relação ao observado nas células de Purkinge ($p < 0.000$). Os animais com a cepa VEG também apresentaram maior índice de apoptose na região da *Pia mater* do tecido encefálico ($p = 0.032$). No fígado, o número de focos apoptóticos foi maior para os animais infectados com as três cepas estudadas (RH, $p < 0.000$; ME-49, $p = 0.007$ e VEG, $p = 0.013$), comparados ao grupo controle. Não houve diferença no índice de apoptose entre as cepas RH, ME-49 e VEG ($p > 1.000$). Foi observado maior índice de apoptose entre os animais infectados. No cérebro a cepa ME-49 promove a diferença. No fígado tanto o número de focos apoptóticos quanto o índice de apoptose acontecem igualmente entre as três cepas investigadas, diferentemente do controle.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, Apoptose, Balb/C, Genótipos I,II,III

Apoio Financeiro: Fundação Araucária e CNPq



**DESENVOLVIMENTO DE ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS PARA
OTIMIZAÇÃO DA DETECÇÃO DE IgG ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM
SALIVA HUMANA.**

Carvalho BE, Meireles LR, Andrade Jr HF. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
– USP. E-mail: bcarvalho@usp.br

A toxoplasmose afeta cerca de um bilhão de pessoa em todo mundo, é geralmente assintomática, apesar de doença ocular ou doenças grave e letal em fetos, pacientes com HIV e transplantados. A sorologia é a principal ferramenta para o diagnóstico e determinação de incidência, que é uma tarefa difícil, devido à alta prevalência na maioria dos países. Estudos de incidência são ideais em crianças, mas este grupo é protegido pela sociedade e de difícil abordagem por métodos invasivos como a punção venosa. A saliva pode ser uma ótima alternativa por sua coleta não ser invasiva, aceitável para crianças, e conter pequenas quantidades de IgG, eliminada através da mucosa gengival e fluido crevicular. Métodos de detecção de anticorpos disponíveis no mercado estão focados em amostras de soro, com baixa sensibilidade e são raros os relatos de pesquisas com material biológico alternativo, como a saliva. Sendo assim, padronizamos imunoenaios com alta sensibilidade para detecção de anticorpos anti-T. gondii na saliva frente a amostras de soro de 20 voluntários adultos. A sensibilidade e especificidade dos nossos dot-ELISA e ELISA de captura com proteína A foram semelhantes entre soro e saliva. Também testamos 100 amostras de saliva de universitários em nossos ensaios, onde mostramos uma frequência da toxoplasmose de 19% (IC 95% 12-28%). Imunoenaios para detecção de IgG anti-T. gondii em saliva são uma ferramenta muito promissora para estudos epidemiológicos da toxoplasmose em crianças ou outros grupos protegidos.

Palavras-chave: detecção de IgG; proteína A; saliva humana; imunoenaios.

EXCRETED/SECRETED ANTIGENS OF *Toxoplasma gondii*: EVALUATION OF IFN- γ , TNF- α and IL-10 LEVELS IN CEREBRAL TOXOPLASMOSIS AND AIDS

CS Meira¹, JE Vidal², G Motoie¹, VL Pereira-Chioccola¹

¹Laboratório de Biologia Molecular de Parasitas, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

²Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo, SP. Email: crismeira@ig.com.br

The host immune response to toxoplasmosis is complex and involves both cellular and humoral mechanisms. Several patterns of cytokines are secreted in response to different forms of infection, resulting in different effector responses. The present study assessed the levels of cytokines in cerebral toxoplasmosis (CT/AIDS) using the excreted/secreted antigens (ESA) of *T. gondii* compared to the tachyzoite lysate antigen (TLA). The levels of IFN- γ , TNF- α and IL-10 were evaluated in 35 blood samples divided into three groups: group I – 15 patients with CT/AIDS, II-10 seropositive for toxoplasmosis and III-10 seronegative for HIV and *T. gondii*. Peripheral blood mononuclear cells were stimulated *in vitro* with 5 μ g/well of ESA and 1 μ g/well of TLA. The levels of TNF- α , IL-10 and IFN- γ in culture supernatants were determined by ELISA after 24 and 48 h (post-stimulus) respectively. High levels of IFN- γ were produced in Group II samples using both TLA and ESA. In patients with CT/AIDS was observed that there is a deficiency in production of IFN- γ upon stimulation with both antigens. In addition, high levels of TNF- α were detected in these samples compared to seropositive individuals. This production has shown a statistically significant result in both employed antigens ($p < 0.05$). Regarding the production of IL-10, there was a small production of this cytokine in patients with CT/AIDS but higher in group II and III. These findings suggest that low levels of IFN- γ are associated with the reduction and/or deficiency in the ability of TCD4⁺ cells of patients with CT/AIDS in producing such cytokine. In addition, high levels of TNF- α found in these patients reflect a high inflammatory response triggered by the parasite. In contrast, the presence of IL-10 suggests an immunoregulatory effect in groups II and III and susceptibility to infection in patients with CT/AIDS, since this cytokine is associated with an increased susceptibility to infection, caused by deficiency in the number of TCD4⁺.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; ESA; cytokines; cerebral toxoplasmosis

Financial Support: FAPESP

CRITICAL EVALUATION OF THE USE OF RECOMBINANT SAG1 ANTIGEN IN SEROLOGY FOR TOXOPLASMOSIS IN HORSES

A Costa¹, R M Hiramoto², R P Carvalho³, S O Angel⁴, M L Yacono⁴, L M Becher⁴, J P Rodrigues⁵, A J. Galisteo Jr.⁵, H F Andrade Jr.⁵

Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo¹, Instituto Adolfo Lutz São Paulo², Laboratório Regional do Instituto Biológico de Bauru³, Instituto de Ciências Biotecnológicas de Chascomús, Argentina⁴, Instituto de Medicina Tropical de São Paulo⁵.

e-mail: andreacosta@usp.br

The parasitological diagnosis is complex and serology is the preferred method for detection of *Toxoplasma gondii* infection with dependent methods with high sensitivity and specificity, for prevention and treatment of acute or congenital toxoplasmosis, which is important in lost production high-value animals such as horses. These tests are based on antigens agent, obtained from extracts or from other sources. The use of recombinant proteins for this purpose are numerous, but has proved ineffective, including tests comparing the same recombinant protein produced by different methods. Present in large quantities in different stages, especially tachyzoites, the SAG1 of *T. gondii* is expressed on the surface of the parasite and is a candidate for use in these tests. From equine serum bank already defined by MAT or ELISA, we evaluated a test using recombinant SAG1, reagent in Western Blot, ELISA antigen as compared to in-house testing with total antigen of tachyzoites. The definition serologic samples was significant but not when the discriminant SAG1 was used, in the population positive by ELISA or MAT were differentiated in the medium by the new test, but without a proper discrimination of individual samples. SAG1 ELISA was able to recognize negative sera in the same way that the total extract, but in relation to the group of positive sera had false positives and false negatives in significant number. Our results are similar to those found in commercial products where a single recombinant protein is not suited for all assays. These findings occur by different spatial conformation of the recombinant protein or the presence of functional peptides such as histidine tail Improper assembly can produce inactive species, deformed or aggregated protein, hiding epitopes or spatially impairing recognition of the antibody. Our data reinforce the need for a critical appraisal systematic and organized before the widespread use of recombinant proteins in diagnostic tests for toxoplasmosis or feed.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Recombinat Protein, SAG1, MAT, ELISA Financial Suport: LIMHCFMUSP &CAPES

RESUMOS DAS APRESENTAÇÕES
ORAIS/PAINÉIS

PAINEL 4



**ROLE OF TLR4 THR399ILE POLYMORPHISM IN OCULAR
TOXOPLASMOSIS SUSCEPTIBILITY**

MC Albuquerque¹, ALQC Aleixo², EI Benchimol², JL Nicolau¹, LB Neves¹, MG
Bonecini-Almeida², MRR Amendoeira¹.

¹Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro Brazil; ² Instituto de Pesquisa Clínica
Evandro Chagas, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil. Email: amendoei@ioc.fiocruz.br

Toxoplasmosis is a worldwide zoonosis which prevalence ranges from 15 to 85%. In most cases, the infection is asymptomatic but ocular toxoplasmosis can cause visual impairment and retinochoroiditis. Host immune response plays an important role in the course of *Toxoplasma gondii* infection and toll like receptors (TLR) initiate a signaling intracellular cascade that stimulate host defense by induction of nitrogen species and pro inflammatory cytokine production leading to a parasite infection control. Polymorphisms in genes involved in immune response have been associated with susceptibility or resistance to infectious and parasitic diseases. The aim of this study was to analyze the association of *TLR4* Thr399Ile polymorphism and ocular toxoplasmosis in IgG specific-*T. gondii* serum positive individuals with or without ocular lesions. The study included 34 individuals with ocular toxoplasmosis (ocular group) and 134 individuals (control group) from a rural population at Rio de Janeiro. The participants of ocular group had only cicatrized lesions. Polymorphism genotyping was analysed by ARMS-PCR. Control group was in Hardy-Weinberg (HW) equilibrium (p-value=0.86) but it was not possible evaluate in ocular group due to absence of carriers of CT and TT genotypes. In ocular group, 34 (100%) presented CC genotype and in control group, 130 (97%) presented CC genotype and 4 (3%) CT genotype. Allele C distribution was 68/68 (100%) in ocular group and 264/268 (98.5%) in control group. Allele T distribution was 4/268 (1.5%) in control group. There was no significant statistical difference (p-value=0.18) between genotype distribution or allele frequencies and ocular toxoplasmosis susceptibility suggesting that there is no association between TLR4 Thr399Ile and ocular toxoplasmosis.

Keywords: Toxoplasmosis, TLR, polymorphism

Financial Support: Faperj; Fiocruz

PERFIL DE ISOTIPOS ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM INDIVÍDUOS PORTADORES DE UVEÍTES TOXOPLÁSMICAS: AVALIAÇÃO COMPARATIVA ENTRE AS TÉCNICAS DE ELISA E CITOMETRIA DE FLUXO

Martins, L. M.¹, Peixe, R. G.², Bahia-Oliveira, L.M.G.¹

1 Universidade Estadual do Norte Fluminense – Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ. 2 Faculdade de Medicina de Campos, Campos dos Goytacazes, RJ.
Email: liviamm@uenf.br

A toxoplasmose ocular responde como agente etiológico principal das uveítes posteriores no Brasil. A influência da resposta imunológica no desenvolvimento de lesões oculares vem sendo estudada nas últimas décadas, porém a participação de imunoglobulinas nesse processo tem sido pouco investigada. O estudo do papel das imunoglobulinas nesse contexto pode trazer avanços tanto para o entendimento da relação entre resposta imunológica e o surgimento de doença ocular quanto subsidiar o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico mais precisas e auxiliadoras no prognóstico e ou classificação das lesões de retina causadas pela infecção pelo *Toxoplasma gondii*. Testes baseados na técnica de ELISA e suas variações são os mais comumente utilizados na rotina de diagnóstico de toxoplasmose. A avaliação de imunoglobulinas anti-taquizoítas fixados por meio de citometria de fluxo é uma técnica em consolidação e que tem se mostrado viável para o diagnóstico sorológico da toxoplasmose. Os soros de 87 indivíduos foram avaliados para os níveis de imunoglobulinas A, E, M e G total, bem como suas sub-classes IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄. A relação das classe e dos isotipos das imunoglobulinas com a presença de lesões oculares, bem como a sua comparação com testes de ELISA foi investigada. Observou-se que pacientes sem lesões oculares apresentam níveis elevados de IgG₃ quando comparados a pacientes portadores de lesão ocular. Pacientes com lesão ocular apresentaram níveis significativamente elevados de IgG total, IgG₁ e IgM.. Observou-se que testes realizados por citometria de fluxo apresentaram melhor desempenho, em termos de especificidade, sensibilidade e razão de verossimilhança, para todas as imunoglobulinas analisadas, exceto para a imunoglobulina IgE. Tais resultados sugerem que esta metodologia poderá se tornar importante, principalmente para o desenvolvimento de técnicas para diagnóstico diferencial da toxoplasmose.

Palavras chave: Toxoplasmose ocular, imunoglobulinas, citometria de fluxo. ELISA.

Suporte: FAPERJ

Increased annual rain is associated to reactivation of toxoplasmic retinochoroiditis

Rudzinski M¹, Couto C^{1,2}

¹ Grupo de estudio de la toxoplasmosis en la zona centro de Misiones, GETOZCEM, Oberá, Misiones, Argentina

² Hospital de Clínicas José de San Martín, departamento oftalmología, jefe sección uveítis, Buenos Aires, Argentina

marcelor1@hotmail.com

Introduction: The province of Misiones is in the northeast of Argentina and has a high incidence of ocular toxoplasmosis in its center - east region. More than 90% of patients with active ocular toxoplasmosis consult due to the symptoms produced by reactivation of their retinochoroiditis

Misiones belongs to the Brazilian massif and has subtropical climate without dry season. During the last decade the region was exposed to successive El Niño and La Niña periods.

Purpose: To verify if there is a statistically significant correlation between reactivation of toxoplasmic retinochoroiditis (RTR) and total annual rain.

Methods: Charts from all patients seen at the ophthalmologic clinic Rudzinski oftalmologia in Oberá, Misiones were screened for toxoplasmic retinochoroiditis reactivation. Data from daily precipitation as rain was obtained from the years 2004 to 2011 from the Servicio Meteorológico Nacional (SMN)

Results:

The years 2006 and 2009 were years with rain precipitation higher than 1800mm in Oberá, Misiones whereas in 2004, and 2008 annual precipitation in Oberá was less than 1450mm. In 2006 and 2009, 19 cases of RTR were seen each year, while only 9 patients consulted with RTR in 2005 and 8 cases in of RTR in 2008.

There is a statistically significant correlation between total annual precipitation as rain and RTR.

Conclusion: Rainy years correlate with more patients attending the ophthalmic office with RTR whereas dry years were associated with less patients consulting for RTR.

Retinochoroiditis – reactivation – rain- Misiones

EVENTOS ADVERSOS DA MEDICAÇÃO PARA TOXOPLASMOSE**OCULAR: DADOS PRELIMINARES**

BBL Villar¹, MSB Quintana¹, AL Curi¹, ALQC Aleixo¹, IAR Lima¹, EI Benchimol¹,
L GUARALDO¹, ES Neves¹

¹IPEC/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ. Email: bianca.balzano@ipec.fiocruz.br

O desenvolvimento das lesões oculares secundárias à toxoplasmose adquirida é descrito em cerca de 10% dos casos. São lesões potencialmente recidivantes, podendo causar comprometimento da acuidade visual. Atualmente, o tratamento farmacológico preconizado e distribuído pelo SUS é composto pela associação de sulfadiazina, pirimetamina, ácido fólico e prednisona. Sabe-se que esses fármacos de forma isolada possuem toxicidade associada, entretanto o uso conjunto deles ainda não é bem descrito na literatura. Foi realizada uma busca ativa de 50 pacientes acompanhados no ambulatório de Oftalmologia Infeciosa do IPEC/Fiocruz, no período de janeiro a setembro de 2012, com diagnóstico de Retinocoroidite em atividade por toxoplasmose e tratados com o esquema clássico (sulfadiazina + pirimetamina + ácido fólico + prednisona). Observamos que 88% (44) desses pacientes apresentou algum tipo de evento adverso, sendo que 2,3% (1) deles necessitou de internação hospitalar devido à gravidade do quadro clínico e que 29,5% (13) necessitou de um tratamento farmacológico para melhora do evento adverso apresentado. Foram relatados no total 23 tipos diferentes de eventos adversos, sendo que os mais frequentes foram: epigastralgia (13,5%), insônia (12,6%) e acne (9,2%). Além disso, percebemos que a ocorrência dos eventos adversos foi maior em mulheres (95,3%) do que em homens (82,8%), e que a faixa etária entre 36 a 50 anos foi a mais acometida, na qual todos os pacientes tiveram pelo menos um evento adverso. As faixas etárias entre 12 a 20 anos, 21 a 35 anos e maiores de 50 anos, apresentaram frequência dos eventos adversos de 90%, 84% e 50%, respectivamente. Observamos, portanto, que eventos adversos secundários ao uso do esquema clássico para Toxoplasmose ocular apresentam uma frequência considerável, o que nos leva a sugerir a necessidade de uma maior farmacovigilância nesses pacientes, objetivando reduzir os eventos adversos, assim como, abandono do tratamento.

Palavras chaves: Toxoplasmose, Eventos Adversos, Retinocoroidite.

PREVALENCE AND INCIDENCE OF TOXOPLASMA RETINOCHOROIDITIS IN PATIENTS WITH ANKYLOSING SPONDYLITIS TAKING TNF- BLOCKERS

KFP Rodrigues, TEF Arantes, JL Andrade Neto, C Muccioli, MM Pinheiro.

Universidade Federal de São Paulo / Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP. E-mail: joaolins@yahoo.com

TNF- α blockers are associated with reactivation of latent granulomatous infections and almost 6% of the world population has some chorioretinitis (CR) caused by *Toxoplasma gondii*. Thus, the blockade of TNF- α could reactivate a latent toxoplasmosis infection (LTxI). This study was conducted to evaluate the prevalence and incidence of chronic and active CR related to *T. gondii* in patients with ankylosing spondylitis (AS). A total of 74 eyes from 37 active AS outpatients starting TNF α blockers were compared with 35 AS patients, matched to age and sex, under conventional therapy in a prospective and controlled trial. All patients underwent serological tests for *T. gondii*, as well as periodic ophthalmologic examination during 12 months. Active CR was defined if a white, focal retinochoroidal lesion with overlying vitreous inflammation had been found. Retinochoroidal lesions with sharp edges, hyperpigmented borders and atrophic center were defined as CR scars. At baseline, no patient had active CR. From the 144 eyes examined, almost 6% had CR scars and only 2.1% had a typical toxoplasmic CR scar and all of them were negative for HLA-B27. During 12 months of follow-up, no recurrence or new CR were observed. AS patients using TNF- α blockers do not have a higher risk of acute or chronic CR caused by *T. gondii*, particularly if they were negative for HLA-B27.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, retinochoroiditis, ankylosing spondylitis, TNF- α blockers

**REPORT OF A FATAL AND ATYPICAL CASE OF AIDS-RELATED
DISSEMINATED TOXOPLASMOSIS CAUSED BY A NEW BRAZILIAN
Toxoplasma gondii STRAIN**

I Bastos-Silva¹, RA Brasil², IMR Ferreira¹, G Motoie¹, TPA Batista³, MDN De Paula³,
JE Vidal³ Pereira-Chioccola VL¹

¹Centro de Parasitologia e Micologia e ²Centro de Patologia do Instituto Adolfo Lutz;

³Instituto de Infectologia Emílio Ribas. São Paulo, SP, Brasil.

E mail: inara.bastos@hotmail.com

We report a case of an atypical disseminated toxoplasmosis in a 40 years old Brazilian patient with AIDS. The patient was admitted to emergency department of “Instituto de Infectologia Emilio Ribas” in São Paulo, because he was encountered unconscious. Three month ago he was diagnosed as seropositive for HIV and one month before, he presented rotator vertigo, mental confusion and fever. Brain computed tomography scan showed focal lesions in basal ganglia. Laboratorial investigation showed CD4 cell count=1 cell/mm³, HIV-viral load=309.500 copies/mm³, and positive serology for toxoplasmosis (IgG). The patient presented acute respiratory insufficiency and hemodynamic instability and was sent to Intensive Care Unit where was underwent to orotracheal intubation. Empirical treatment with rifampin, isoniazid, pyrazinamide, ethambutol, clarithromycin, and trimethoprim –sulfamethoxazole were started. Despite efforts, the patient did not improved and it was required of peritoneal dialysis due to acute renal failure. Six days after hospital admission, the patient’s hemodynamic status declined and eventually died. Necropsy was performed and the histopathological study diagnosed severe disseminated toxoplasmosis, including cerebral and pulmonary involvement. DNA was extracted from a lung fragment included in paraffin. *T. gondii* genotyping was performed using the 12 PCR-RFLP markers including SAG1, 5’3’SAG2, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1 and Apico. A new genotype was identified. Although speculative, this report suggests a possible relation among unusual clinical presentation, fatal outcome and the presence of an atypical and more virulent strain of *T. gondii*.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; cerebral toxoplasmosis; Brazilian genotype.

Financial Support: FAPESP and CNPq.

RESUMOS DAS APRESENTAÇÕES
ORAIS/PAINÉIS

PAINEL 5



INVESTIGAÇÃO SOBRE A ASSOCIAÇÃO DA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E DO VÍRUS DA LEUCEMIA FELINA (FeLV) EM GATOS DE ABRIGOS DO RIO DE JANEIRO

NR de Almeida¹, MK Hagiwara², CR Strignolo²; MRR Amendoeira³

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ; ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP; ³Instituto Oswaldo Cruz/Fiocruz-RJ. E-mail: nadia.ufrj@gmail.com

O objetivo do presente estudo foi avaliar a possível associação entre a infecção pelo FeLV e a infecção pelo *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos pertencentes ao grupo de risco para ambas as infecções. Amostras de 101 gatos oriundos de quatro abrigos do Rio de Janeiro foram previamente testadas pela técnica de imunofluorescência indireta (IFI) (*kit VRMD inc.*) e/ou pelo *kit* comercial de imunocromatografia SNAP *combo* FIV/FeLV (IDEXX *Laboratories*), ambas para a pesquisa do antígeno p27 do FeLV. Para o diagnóstico por IFI foram confeccionados esfregaços de sangue e para a imunocromatografia foram utilizados soros obtidos através de venopunção cefálica no volume de 3mL, os quais foram armazenados em tubo de bioquímica sob refrigeração para posterior separação do soro e realização do teste. Uma alíquota do soro também foi utilizada para a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (IgM e IgG) na diluição de 1:64, também pela IFI (*kit* SEROTEC). O teste de qui-quadrado (χ^2) foi utilizado para a análise bivariada ($p < 0,05$). De acordo com a tabela 1, das 101 amostras analisadas, 5,9% (6/101) apresentaram sorologia (IgG) reagentes para o *Toxoplasma gondii*, das quais somente 2 também foram reagentes para o FeLV. As 6 amostras reagentes foram analisadas nas diluições de 1:64 à 1:4096. Somente em uma amostra foi observada IgM específico reagentes pela IFI (título 1:64), apresentando-se também reagentes para IgG no título 1:1024. A análise estatística mostrou fraca associação entre a infecção pelo FeLV e a presença de anticorpos antitoxoplasma ($\chi^2=0,22$; $p < 0,05$), concluindo-se que, embora o FeLV seja um retrovírus altamente imunossupressor, não há predisposição à infecção pelo *Toxoplasma gondii*.

Tabela 1: Distribuição dos gatos FeLV reagentes ou não reagentes segundo à sorologia para a toxoplasmose (IgG)

Toxoplasmose Título de IgG	FeLV	
	Reagente	Não reagente
Não reagente	41	54
1:64	0	1
1:256	0	1
1:1024	2	2

Palavras-chave: Leucemia viral felina, toxoplasmose, gatos.

Apoio: CAPES.

***Toxoplasma gondii*: OUTCOMES OF AN EXPERIMENTAL INFECTION ON THE CONCENTRATION OF NEUROTRANSMITTERS AND NEUROMODULATORS**

AA Tonin¹, CF Barbosa², G Camillo³, AS Da Silva⁴, FF Vogel³, ML de La Rue², STA Lopes¹.

¹. Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS, Brazil. ². Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS, Brazil. ³. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS, Brazil. ⁴. Departamento de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, SC, Brazil. E-mail: tonin.aat@gmail.com

Toxoplasmosis is a disease widely distributed geographically in domestic animals, as well as a zoonosis that causes various functional disturbances. Therefore, the objective of this study was to investigate directly or indirectly the concentration of neurotransmitters and neuromodulators in the brain of mice experimentally infected with *Toxoplasma gondii* (RH strain). In this study 24 mice were used divided into two groups: not-infected (n=12) and infected (n=12). The infection was performed intraperitoneally using a dose of 1.32×10^7 tachyzoites / mL in order to reach the acute phase of the disease. Sample collection were carried out on two distinct periods [days 4 and 6 post-infection (PI)] to assess the disease evolution, using homogeneous subgroups (n=6). Acetylcholine levels (acetylcholinesterase activity - AChE) in the brain were measured indirectly, as well as nitric oxide levels (nitrite/nitrate NO_x). Thus, the AChE activity in the brain significantly increased ($P < 0.05$) on days 4 and 6 PI, similar fact happened to the levels of NO_x. On day 4 PI, on HPLC analysis, an increase in the levels of ATP, ADP, AMP, adenosine and hypoxanthine, associated with a reduction in the concentration of inosine was observed in the infected group. On day 6 PI, the results in the concentration of purines in the brain were similar of the ones from day 4 PI, except for the xanthine and uric acid levels which also significantly increased ($P < 0.05$) on the second period of sampling. Brain of animals infected did not show alterations and/or histological lesions; however lipid peroxidation and protein oxidation were detected through the analysis of biochemical parameters. Therefore, it was possible to conclude that the acute infection by *T. gondii* interferes significantly in the concentration of neurotransmitters and neuromodulators in mice, which can directly influence the pathogenesis of the disease.

Keywords: Toxoplasmosis; Purines; Acetylcholine; Oxidative stress.

**RE-SHEDDING OF *TOXOPLASMA GONDII* OOCYSTS IN EXPERIMENTALLY
INFECTED CATS: A 36 MONTHS STUDY WITH DIFFERENT STRAINS
CHALLENGE**

**D.L. Zulpo¹; J.R. Santos¹; A.S. Sammi¹; M.C.D.C. Paiva¹; I.A.L. Cunha¹; A. Taroda¹;
L.D. Barros¹; J.L.Garcia¹.**

1–Departamento de Medicina Veterinária Preventiva; UEL; Londrina-PR. E-mail:

dlzulpo@pucpr.br

Cats are definitive hosts of *Toxoplasma gondii*, and they are considered the key in the life cycle of this parasite. There is just one study that evaluated long-term immunity in cats against *T. gondii* oocyst excretion. Thus, the aim of the present study was to evaluate re-shedding of *T. gondii* oocysts in cats fed with tissue cysts from different strains until 36 months apart. Ten *T. gondii* negative shorthair cats were used. These animals were grouped in G1 (n=5), G2 (n=3), and G3 (n=2). All animals (n=10) were firstly infected with 800 cysts of ME-49 strain (type II strain). Twelve months later animals from G1 and G3 were re-infected with 800 cysts of Pb-1 (type II strain isolated from Brazilian pigeons) and VEG strains (type III strain), respectively, G2 was kept without infection. Thirty six months after first infection for G2, and 24 months after re-infection for G1, these animals were re-infected with 800 cysts of VEG strain. All animals had their feces evaluated during 20 days after infections, and they were serologically evaluated (IFA). After first infection the average of shedding considering all groups was $\cong 461.000$ oocysts/g/feces. Animals from G1 did not shed oocysts after re-infection one year later, however, one animal from G3 (50%) excreted $\cong 118.000$ oocysts/g/feces. Three (75%) out of four cats (one animal died before third challenge) excreted a average of $\cong 209.000$ oocysts/g/feces, and two (67%) out of three animals from G2 excreted a average of $\cong 19.500$ oocysts/g/feces, after re-infection with VEG strain, after third and second challenge, respectively. All animals had antibody titers ≥ 256 by IFA in all challenges. We could assume that the quantity of oocyst shedding in the first infection was lower considering re-infections, however, the amount of feces that an older cat produce is much higher than a young one. In conclusion, the excretion of *T. gondii* oocysts may kept high in experimentally re-infected cats during the years, mainly

when different stains are used, what is more probably to happen in natural conditions, and the potential of environmental contamination from a cat may be much higher than is thought.

Key words: definitive host, toxoplasmosis, vaccine.



ANALYSIS OF IGG SUBCLASSES (IGG1 AND IGG3) TO RECOMBINANT SAG2A PROTEIN FROM *TOXOPLASMA GONDII* IN SEQUENTIAL SERUM SAMPLES FROM PATIENTS WITH TOXOPLASMOSIS.

SS Santana^a, DAO Silva^a, LD Vaz^a, CP Pirovani^b, GB Barros^c, EM Lemos^c, R Dietze^c, JR Mineo^a, JP Cunha- Júnior^a.

^a Laboratory of Immunoparasitology, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlândia, 38400-902 Uberlândia, MG, Brazil

^b Laboratory of Proteomic, Center of Biotechnology and Genetics, State University of Santa Cruz, 45662-000 Ilhéus, BA, Brazil

^c Infectious Disease Center, Federal University of Espirito Santo, 29040-091 Vitória, Espírito Santo, Brazil

The kinetics of the humoral immune response was evaluated using the recombinant SAG2A protein comparatively to soluble *Toxoplasma* antigen (STAg) by ELISA in sequential serum samples of patients with toxoplasmosis up to 12 months of illness onset. The follow up of IgM and IgA levels to STAg showed a gradual decrease, with the majority of patients (88%) seropositive for IgM up to 12 months of infection, whereas IgA seropositivity was relatively low (78%) compared to IgM (100%) in the first 3 months of infection. The follow up of IgG and IgG1 antibodies showed a similar increasing profile for both SAG2A and STAg, with slightly higher seropositivity for STAg. The kinetics of IgG3 to STAg was similar to that of IgG1, contrasting with the kinetics of IgG3 to SAG2A that showed high levels up to 6 months of infection, with continuous decreasing over the time. Higher IgG3 seropositivity to SAG2A than STAg was also observed in the initial phases of infection. A higher IgG3/IgG1 ratio for SAG2A than STAg was detected in the first 3 months of infection, with decreasing profile over the time. The associations of IgG3/IgG1 ratio > 1.0 with positive IgM or IgA antibodies were predominantly found in the first 3 months of infection, whereas associations of IgG3/IgG1 ratio < 1.0 with positive IgM or negative IgA antibodies were mostly observed from 3 to 12 months of infection. In conclusion, our results demonstrate a differential kinetics of IgG3 antibodies to SAG2A and STAg in patients with toxoplasmosis up to 12 months of infection. Also, the IgG3/IgG1 ratio to SAG2A in association with classical serological markers of acute phase could be potential tools to distinguish early acute from convalescent phases of *Toxoplasma gondii* infection.

Key words: Antibodies, recombinant antigen, *Toxoplasma gondii*.

Financial support: CAPES, CNPq, FAPEMIG.

30 de janeiro de 2013 - 17h00 - 18h00

Número do pôster	Título do trabalho	Autores
PO 01	VERIFICAÇÃO DA REAÇÃO CRUZADA DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS, ANTI - <i>Neospora caninum</i> NC-1, PRODUZIDOS PELO CLONE 1E1 E12 A11, COM O <i>Toxoplasma gondii</i>	Devens et al.
PO 02	ANTICORPOS CONTRA <i>Toxoplasma gondii</i> EM GATOS APREENDIDOS PELO CENTRO DE CONTROLE DE ZONÓSES DE LAGES, SC	Trevisani et al.
PO 03	TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM MINAS GERAIS - ASSOCIAÇÃO COM CONDIÇÕES SÓCIOECONÔMICAS ADVERSAS E FATORES DE RISCO RELACIONADOS À INGESTÃO DE OOCISTOS	Carellós et al.
PO 04	ASSOCIATION BETWEEN IgG SUBCLASSES AGAINST <i>Toxoplasma gondii</i> AND CLINICAL SIGNS IN NEWBORNS WITH CONGENITAL TOXOPLASMOSIS	Souza-e-Silva et al.
PO 05	REPRODUCTIVE ALTERATIONS IN EXPERIMENTALLY REINFECTED GOATS BY <i>Toxoplasma gondii</i> OOCYSTS	da Silva et al.
PO 06	ANÁLISE DE CÉLULAS DE PANETH EM RATOS Wistar infectados com <i>Toxoplasma gondii</i> CEPA ME-49	Vicentino et al.
PO 07	CORRELATION BETWEEN <i>Toxoplasma gondii</i> INFECTION AND RECURRENT MISCARRIAGES IN HUMANS	Ferreira et al.
PO 08	DETECTION OF MOLECULAR AND SEROLOGICAL <i>Toxoplasma gondii</i> INFECTION IN BLOOD DONORS	Nakashima et al.
PO 09	OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> EM ANIMAIS SILVESTRES RECEBIDOS EM UM CETAS	Fournier et al.
PO 10	SEROPREVALENCE AND VARIABLES ASSOCIATED TO <i>Toxoplasma gondii</i> INFECTION IN CATS AND DOGS ATTENDED BY THE BIRTH CONTROL PROJECT OF THE UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA (UEL) – PR	Caldart et al.
PO 11	CONCEITOS DE MORADORES DO MUNICÍPIO DE ARAÇATUBA, SP SOBRE A INFECÇÃO POR <i>Toxoplasma gondii</i>	Viol et al.
PO 12	PREVALENCE OF TOXOPLASMOSIS IN A RURAL AREA OF SANTA TERESA, ESPÍRITO SANTO	Buery et al.
PO 13	ISOLAMENTO DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM GESTANTES DO MUNICÍPIO DE MARINGÁ, PARANÁ, BRASIL	Higa et al.
PO 14	RELAÇÃO ENTRE A VULNERABILIDADE DE AQUÍFEROS E A PREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE HUMANA E ANIMAL EM CAMPOS DOS GOYTACAZES - RJ	Vieira et al.
PO 15	EFEITO DA PIRIMETAMINA E SULFADIAZINA, ISOLADAMENTE E EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE CEPAS RECOMBINANTES DE <i>Toxoplasma gondii</i> OBTIDAS DE CASOS HUMANOS DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA: RESULTADOS PRELIMINARES.	Fernandes et al.
PO 16	TOXOPLASMOSE EM ESCOLARES DE JATAIZINHO, PARANÁ, BRASIL	Cezar et al.
PO 17	ABSENCE OF TOXOPLASMIC RETINOCHOROIDITIS IN MBYA ABORIGINES WITH POSITIVE SEROLOGY AGAINST TOXOPLASMA GONDII FROM MISIONES, ARGENTINA	Meyer et al.
PO 18	BILATERAL OCULAR TOXOPLASMIC RETINOCHOROIDITIS IN YOUNG HIV NEGATIVE PATIENTS FROM MISIONES, ARGENTINA	Rudzinski e Couto
PO 19	INVESTIGAÇÃO PARASITOLÓGICA E SEROLÓGICA DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM GESTANTES COM SUSPEITA LABORATORIAL DE TOXOPLASMOSE AGUDA, PARANÁ, BRASIL	Zangari et al.
PO 20	PERFIL IMUNOLÓGICO EM RECÉM-NASCIDOS COM TOXOPLASMOSE CONGÊNITA NO ESTADO DE MINAS GERAIS: RESULTADOS PRELIMINARES	Machado et al.
PO 21	OCORRÊNCIA DA INFECÇÃO POR <i>T. gondii</i> EM GALINHAS-D'ANGOLA CRIADAS EXTENSIVAMENTE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL	Ferreira et al.
PO 22	MEAT AND TRANSMISSION OF <i>Toxoplasma gondii</i> : WHAT IS THE RISK FROM BEEF, PORK, AND SHEEP?	Ewald et al.

31 de janeiro de 2013 - 17h00 - 18h00

Número do pôster	Título do trabalho	Autores
PO 23	VIABILITY OF <i>Toxoplasma gondii</i> IN RAM SEMEN AFTER FREEZING	Silva et al.
PO 24	<i>Toxoplasma gondii</i> IN HORSES FROM RIO DE JANEIRO STATE, BRAZIL	Venturi et al.
PO 25	PERDAS EMBRIONÁRIAS EM CABRAS EXPERIMENTALMENTE INFECTADAS COM SÊMEN CONTAMINADO COM TAQUIZOÍOTOS DE <i>Toxoplasma gondii</i>	Wanderley et al.
PO 26	A MULTIPROFISSIONALIDADE NO CUIDADO AO BINÔMIO MÃE-FILHO EXPOSTOS A TOXOPLASMOSE	Nagahama et al.
PO 27	INDUCTION OF TH2 IMMUNE RESPONSE IN IMMUNIZED A/SN MICE WITH <i>Toxoplasma gondii</i> EXCRETED/SECRETED ANTIGENS (ESA)	Costa-Silva et al.
PO 28	PERFIL DOS CASOS DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA DO PARANÁ	Capobianco et al.
PO 29	T AND B CELLS MEMORY OF IMMUNIZED BALB/C MICE WITH IRRADIATED TACHYZOITES OF <i>Toxoplasma gondii</i>	Zorgi et al.
PO 30	INVESTIGAÇÃO DE PROVAVEL SURTO DE TOXOPLASMOSE HUMANA EM ANGRA DOS REIS, RIO DE JANEIRO, BRASIL, 2012	Barroso et al.
PO 31	DINÂMICA DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA EM FELINOS INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA.	Zanutto et al.
PO 32	TRANSMISSÃO CONGÊNITA DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM CABRA EXPERIMENTALMENTE INFECTADA COM SÊMEN CONTAMINADO COM TAQUIZOÍOTOS DA CEPA "CPG"	Wanderley et al.
PO 33	5,7,8-TRIMETHYL-1,4-BENZOXAZINE ANALOGUES ARREST <i>Toxoplasma gondii</i> PROLIFERATION IN VITRO	Martins-Duarte et al.
PO 34	IDENTIFICATION OF <i>Toxoplasma gondii</i> IN LIVER OF OVINE DESTINED FOR HUMAN CONSUMPTION IN RIO DE JANEIRO, BRAZIL	Silva et al.
PO 35	LINFADENOPATIA ASSOCIADA À TOXOPLASMOSE AGUDA: DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO EM UM GRUPO DE PACIENTES ATENDIDOS NO INSTITUTO EVANDRO CHAGAS, ANANINDEUA, PARÁ – RESULTADOS PRELIMINARES	Mota et al.
PO 36	ESTUDO BIOLÓGICO E MOLECULAR DE ISOLADOS DE <i>Toxoplasma gondii</i> OBTIDOS DE RECÉM-NASCIDOS COM TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM MINAS GERAIS REVELAM ISOLADO INCOMUM	Pinheiro et al.
PO 37	SOROPREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE HUMANA NO MUNICÍPIO DE NOVO REPARTIMENTO ESTADO DO PARÁ, BRASIL.	Carmo et al.
PO 38	IgG AND SUBCLASSES EVALUATION IN CEREBRAL TOXOPLASMOSIS/AIDS USING TWO <i>Toxoplasma gondii</i> ANTIGENS	Motoie et al.
PO 39	EVALUATION OF NESTED PCR FOR MOLECULAR DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS	Gava et al.
PO 40	EPIDEMIOLOGY OF TOXOPLASMOSIS IN CHILDREN AND THE RESPECTIVE MOTHER IN HIGHLY ENDEMIC AREAS IN BRAZIL	Mangiavacchi et al.
PO 41	CANINE TOXOPLASMOSIS ON THE BORDER OF BRAZIL, ARGENTINA AND PARAGUAY: SEROPREVALENCE IN DOMICILED DOGS FROM FOZ DO IGUAÇU CITY, BRAZIL	Dias et al.
PO 42	OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA <i>Toxoplasma gondii</i> EM EQUINOS DAS MESORREGIÕES SERRANA E LITORÂNEA DO ESTADO DE SANTA CATARINA	Silva et al.
PO 43	VIGILANCIA DA TRANSMISSÃO VERTICAL DA TOXOPLASMOSE	Castilho-Peres et al.

PO 44	RESULTADOS PRELIMINARES DA OCORRÊNCIA DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM OVINOS CRIADOS NO ESTADO DE SERGIPE	Gaeta et al.
PO 45	MAGNETIC MICROSPHERES FOR FLUORIMETRIC SPECIFIC IgG DETECTION IN HUMAN TOXOPLASMOSIS	Rodrigues et al.
PO 46	DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS EM CABRAS EXPERIMENTALMENTE INFECTADAS COM SÊMEN CONTAMINADO POR <i>Toxoplasma gondii</i>	Wanderley et al.

01 de fevereiro de 2013 - 17h00 - 18h00

Número do pôster	Título do trabalho	
PO 47	PERFORMANCE OF DIFFERENT METHODS FOR MOLECULAR DIAGNOSIS OF CONGENITAL TOXOPLASMOSIS	Teixeira et al.
PO 48	ROLE OF ANTIBODIES OF IMMUNIZED ANIMALS WITH <i>Toxoplasma gondii</i> IRRADIATED TACHYZOITES TO PROTECT AGAINST BRAIN CYSTS IN C57BL/6J MICE	Forgoso et al.
PO 49	PESQUISA DE IgG ANTI - <i>Toxoplasma gondii</i> EM EXSUDATO CÁRNEO PARA MONITORAMENTO DA QUALIDADE DA CARNE BOVINA	Marciano et al.
PO 50	INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR <i>Toxoplasma gondii</i> EM CASCANEL (<i>Caudisona durissa collilineatus</i>)	Lopes et al.
PO 51	DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA <i>Toxoplasma gondii</i> EM CÃES URBANOS E RURAIS DO MUNICÍPIO DE CAXIAS DO SUL, RS, BRASIL	Teixeira et al.
PO 52	OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> EM GALINHAS DESUBSISTÊNCIA DO ENTORNO DA RESERVA BIOLÓGICA GUARIBAS, ESTADO DA PARAÍBA	Oliveira et al.
PO 53	IMMUNOSUPPRESSION BY DEXAMETHASONE IN A INBRED MICE LINEAGE (A/Sn) CHRONICALLY INFECTED WITH <i>Toxoplasma gondii</i>	Zanna et al.
PO 54	SERUM PREVALENCE OF <i>Toxoplasma gondii</i> AND <i>Neospora caninum</i> IN FREE RANGE CHICKENS IN URBAN AREA FROM UBERLÂNDIA- MG	Gebrim et al.
PO 55	OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> EM FELÍDEOS SILVESTRES DO BRASIL	Soares et al.
PO 56	RELAÇÃO DIAGNÓSTICA DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADO (MAT) E DA REAÇÃO DE IMUNOFLOURESCÊNCIA INDIRETA (RIFI) NA DETECÇÃO DE IgG ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> EM FELINOS SILVESTRES NEOTROPICAIS	Cañón-Franco et al.
PO 57	FIRST GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF <i>Toxoplasma gondii</i> FROM CALIFORNIA QUAIL (<i>Callipepla californica</i>)	Cabral et al.
PO 58	SOROPREVALÊNCIA DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM HUMANOS DO SUL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL	Farias et al.
PO 59	DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E ISOLAMENTO DE <i>Toxoplasma gondii</i> EM SUÍNOS NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL – Nota Prévia	Cademartori et al.
PO 60	SUBSTÂNCIAS ULTRADILUÍDAS COMO IMUNOMODULADORAS NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR <i>Toxoplasma gondii</i> : EFEITO SOBRE OS NEURÔNIOS MIENTÉRICOS	Suhett et al.
PO 61	COMPARISON OF THREE METHODS FOR RESEARCH SERUM ANTI- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG ANTIBODIES IN INDIVIDUALS FROM RONDÔNIA STATE, BRAZIL	Pagliari et al.
PO 62	PRODUCTION, CHARACTERIZATION AND APPLICATIONS FOR <i>Toxoplasma gondii</i> -SPECIFIC POLYCLONAL CHICKEN EGG YOLK IMMUNOGLOBULINS	Ferreira Júnior et al.
PO 63	SAG2A MOLECULE FROM <i>Toxoplasma gondii</i> CONTAINS AN INTRINSICALLY UNSTRUCTURED PROTEIN DOMAIN THAT INTERACTS WITH THE IMMUNE SYSTEM OF INFECTED HOSTS	Macedo Júnior et al.
PO 64	MULTIPLICAÇÃO DE INFORMAÇÕES POR DOCENTES DO ENSINO FUNDAMENTAL I PARA A PREVENÇÃO DE TOXOPLASMOSE APÓS CURSO ONLINE	Rodrigues et al.
PO 65	PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF CHITINASE ENZYME PRESENT IN TOTAL SOLUBLE ANTIGEN OF <i>Toxoplasma gondii</i> TACHYZOITES	Santiago et al.
PO 66	SILICON TREATMENT ON <i>Artemisia annua</i> GLANDULAR TRICHOME AND ARTEMISININ CONTENT: ROLE OF THE PLANT INFUSION IN THE CONTROL OF <i>Toxoplasma gondii</i> REPLICATION	Rostkowska et al.
PO 67	PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF TWO <i>Toxoplasma gondii</i> ISOLATES IN FREE RANGE CHICKENS (<i>Gallus domesticus</i>) FROM UBERLÂNDIA, MG, BRAZIL	Lopes et al.
PO 68	DIFFERENTIAL OCCURRENCE OF <i>Toxoplasma gondii</i> AND <i>Neospora caninum</i> INFECTIONS IN SERUM SAMPLES FROM BLOOD DONORS FROM CATALÃO - GO	Costa et al.
PO 69	INVESTIGAÇÃO DA INFECÇÃO POR <i>Toxoplasma gondii</i> e <i>Leishmania</i> spp. EM FELINOS DOMÉSTICOS NO MUNICÍPIO DE ARAÇATUBA, SÃO PAULO	Silveira-Neto et al.
PO 70	E-NTPDASE AND E-ADA: EVALUATION OF THEIR ACTIVITIES IN LYMPHOCYTES OF RATS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH <i>Toxoplasma gondii</i>	Barbosa et al.

**VERIFICAÇÃO DA REAÇÃO CRUZADA DOS ANTICORPOS MONOCLONAIS,
ANTI - *Neospora caninum* NC-1, PRODUZIDOS PELO CLONE 1E1 E12 A11, COM O
*Toxoplasma gondii***

BADevens¹, MIVVilória², JHPSalcedo ²

¹ Centro Universitário do Espírito Santo- UNESC-ES. ² Universidade Federal de Viçosa-MG
brudevans@yahoo.com.br

A toxoplasmose é uma doença de caráter universal e cosmopolita, que acomete uma variedade de animais, variando de infecções simples a fatais. O agente etiológico é o *Toxoplasma gondii* que é um protozoário coccídeo intracelular obrigatório, família *Sarcocystidae*, subfamília *Toxoplasmatinae*, gênero *Toxoplasma*. O *T. gondii* é um parasito morfológicamente semelhante ao *Neospora caninum*, diferindo deste apenas pela imunogenicidade e patogenicidade. As duas doenças são de grande importância na medicina veterinária. Diante disso, o objetivo do presente trabalho foi à produção de anticorpos monoclonais de alta afinidade contra o *Neospora caninum* (cepa Nc-1) e a verificação da sua reação cruzada com o *T. gondii*, para a sua utilização em testes imunodiagnósticos como imunofluorescência, imunohistoquímica ou *enzyme-linked immunosorbent assay*. Os taquizoítos do *N. caninum* foram utilizadas na imunização dos camundongos BALB/c, imunizaram-se os animais com quatro doses de antígeno, com intervalo de 21 dias. Em seguida, realizaram-se a fusão das células esplênicas, provenientes dos camundongos imunizados e sorologicamente positivos, com as células de mieloma SP2/0. Resultou-se hibridomas secretores de anticorpos anti-Nc-1, que após a diluição limitante dos híbridos, obtiveram-se clones secretores de anticorpos anti-Nc-1. Através da técnica de Western blotting identificou-se o peso molecular das proteínas as quais os sobrenadantes dos clones estariam reconhecendo, as mesmas eram de 25 kDa. Foram cultivados *T. gondii* para o preparo das lâminas para imunofluorescência indireta, eletroforese e Western blotting. Estas técnicas foram utilizadas para testar uma possível reação cruzada do *T. gondii* com o sobrenadante do clone 1E1 E12 A11. Os resultados obtidos na reação de imunofluorescência indireta foram negativos ao *T. gondii*. E no Western blotting os anticorpos não reconheceram nenhuma proteína deste parasita. Logo, os anticorpos monoclonais secretados pelo clone 1E1 E12 A11 poderão ser utilizados para diagnóstico *in situ* da infecção por *N. caninum*, estudo de amostras em surtos de doença quanto ao tropismo tecidual e avaliação da situação atual da neosporose no campo, com a redução do risco da reação cruzada com a toxoplasmose.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; clones; hibridomas; anticorpo monoclonal.

Órgãos de financiamento: FAPEMIG; CAPES; CNPq.



ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EM GATOS APREENDIDOS PELO CENTRO DE CONTROLE DE ZOONOSES DE LAGES, SC

N Trevisani¹, RQ Marinho², G Ledo³, AP Souza¹, AA Sartor¹, V Bellato¹, AB Moura¹

¹Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, Lages, SC. ²Universidade do Planalto Catarinense, UNIPLAC, Lages, SC. ³Centro de Controle de Zoonoses, Lages, SC. Email: nanatrevisani@yahoo.com.br

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* capaz de infectar os animais homeotérmicos. O gato doméstico tem papel importante na transmissão da doença por atuar como hospedeiro definitivo, eliminando oocistos que contaminam o ambiente. A sorologia em gatos pode ser considerada um reflexo da contaminação ambiental, pois o animal soropositivo em alguma fase da sua vida eliminou as formas infectantes no ambiente. Com os objetivos de determinar a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* e identificar possíveis fatores de risco para a infecção em gatos apreendidos pelo Centro de Controle de Zoonoses de Lages, SC, 107 amostras de sangue foram colhidas e remetidas ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias CAV/UDESC. A pesquisa de anticorpos foi realizada por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) utilizando como antígeno taquizoítos da cepa RH do protozoário. Foram consideradas positivas amostras reagentes na diluição $\geq 1:64$. Os dados foram analisados pelos testes exato de Fisher e χ^2 ($P < 0,05$) para verificar correlação entre soropositividade e o sexo e a idade dos animais. Do total de amostras, 38 (35,51%) foram positivos para *T. gondii*. A alta sorocorrência observada era esperada devido a procedência dos animais. Houve correlação estatística significativa entre idade e soropositividade ($P = 0,002126$), com 43,64% (24/55) dos adultos (13 meses a seis anos) apresentando anticorpos contra o protozoário.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; Gatos; Centro de Controle de Zoonoses; RIFI

**TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM MINAS GERAIS - ASSOCIAÇÃO COM
CONDIÇÕES SÓCIOECONOMICAS ADVERSAS E FATORES DE RISCO
RELACIONADOS À INGESTÃO DE OOCISTOS**

EVM Carellos¹, GMQ Andrade^{1,3}, DV Vasconcelos-Santos², JN Januário³, RMC Romanelli¹, MNS Abreu⁴, FM Silva⁵, IRC Loures⁵, JQ Andrade⁶, WT Caiaffa⁷

¹ Departamento de Pediatria da FM/UFMG, ² Departamento de Oftalmologia da FM/UFMG, ³ Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico, ⁴ Departamento de Estatística da FM/UFMG, ⁵ Hospital Infantil João Paulo II – FHEMIG, ⁶ Faculdade de Medicina da UFMG, ⁷ Departamento de Medicina Preventiva e Social da FM/UFMG.

Email: ericka@horizontes.net

A transmissão vertical do *Toxoplasma gondii* ocorre quando a mulher adquire a infecção durante a gestação, pela ingestão de cistos (carne mal cozida) ou oocistos (água, solo, vegetais ou frutas contaminadas com fezes de gatos). Considerando a multiplicidade de fonte de infecção do parasito, foi realizado esse estudo com objetivo de determinar os principais fatores de risco associados à toxoplasmose congênita em Minas Gerais. O delineamento foi caso-controle, onde foi estudado o binômio mãe/filho participante do Programa de Triagem Neonatal em Minas Gerais. Os casos foram 175 mães de crianças infectadas e os controles foram 278 mães de crianças sem suspeita de infecção. As associações foram avaliadas pelo modelo de regressão logística binário, considerando-se significativas as variáveis com $p \leq 0,05$. As variáveis associadas com maior chance de toxoplasmose congênita no modelo multivariado foram: manusear terra na gestação (OR=2,29; IC95%=1,32-3,96), ser proprietário ou frequentar casas onde residem gatos (OR=1,90; IC95%=1,09-3,31), presença de gatos na vizinhança (OR=2,27; IC95%=1,27-4,06), e consumir carne sem congelamento prévio (OR=3,97; IC95%=2,17-7,25). Associaram-se com menor chance de toxoplasmose congênita: maior idade materna (OR=0,89; IC=0,85-0,93), maior escolaridade (OR=0,85; IC95%=0,78-0,92), presença de sanitário com descarga na residência (OR=0,18; IC95%=0,04-0,78), e uso de água tratada para consumo (OR=0,21; IC95%=0,08-0,51). Estratificados por região de residência, as variáveis “consumo de água não tratada” e “residência sem instalações sanitárias” mantiveram associação com ocorrência de toxoplasmose congênita apenas no meio rural. As variáveis que mantiveram associação, independente da região de moradia, foram: idade materna e presença de gatos na vizinhança. Em Minas Gerais a toxoplasmose congênita associou-se com condições

socioeconômicas adversas e com fatores de risco relacionados predominantemente à ingestão de oocistos. A associação encontrada com a presença de gatos no peridomicílio, tanto no meio urbano quanto no rural, aponta para o meio contaminado onde as mulheres residem.

Palavras chave: *Toxoplasma gondii*; Toxoplasmose congênita; Epidemiologia; Fatores de risco.

Apoios: NUPAD, SES-MG, OSU-BH, FAPEMIG

**ASSOCIATION BETWEEN IgG SUBCLASSES AGAINST *Toxoplasma gondii*
AND CLINICAL SIGNS IN NEWBORNS WITH CONGENITAL
TOXOPLASMOSIS**

CH Souza-e-Silva¹, DV Vasconcelos-Santos², GQ Andrade², EVM Carellos², RMC Romanelli², LM Resende², JN Januário², M Carneiro¹, ACAV Carneiro¹, RWA Vitor¹

¹Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas; UFMG, Belo Horizonte, MG. ²Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte, MG. E-mail: carloshenryque@ef.ufop.br

The aim of this study was to evaluate the association between clinical signs of congenital toxoplasmosis and IgG subclasses found in newborns participating in the Minas Gerais State Neonatal Screening Program from November/2006 to May/2007. Neonates with confirmed congenital toxoplasmosis underwent standardized ophthalmologic evaluation, neuroimaging studies and hearing assessment, as well as enzyme-linked immunosorbent assay testing for total IgG and its subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4) against soluble (STAg) and recombinant (rSAG1 and rMIC3) antigens of *Toxoplasma gondii*. Newborns with congenital toxoplasmosis but without ocular lesions were more likely to present anti-rMIC3 total IgG when compared with those newborns with active or cicatricial retinochoroidal lesions. Detection of anti-rMIC3 IgG2 and IgG4 was associated with presence of retinochoroidal lesions and intracranial calcifications, with higher mean reactivity index values than unaffected newborns with congenital toxoplasmosis. Anti-STAg IgG3 was associated with newborns without neurologic damage. No association was observed between results of enzyme-linked immunosorbent assay for total IgG and its subclasses and hearing impairment of newborns with congenital toxoplasmosis. Specific subclasses of IgG antibodies reacting with recombinant antigens of *T. gondii* may serve as biomarkers of neurologic and ocular changes in newborns with congenital toxoplasmosis.

Key Words: congenital toxoplasmosis, IgG subclasses, retinochoroiditis, intracranial calcifications

Financial Support: Secretaria do Estado de Saúde de Minas Gerais (SES-MG), FAPEMIG, CNPq.

**REPRODUCTIVE ALTERATIONS IN EXPERIMENTALLY REINFECTED
GOATS BY *Toxoplasma gondii* OOCYSTS**

HM da Silva¹, MM Pereira¹, TA Oliveira¹, HMS Almeida¹, KDS Bresciani², LF Santana³, JL Garcia⁴, V Soares⁵, CR Esper⁶, PH Franceschini⁶, AJ da Costa¹.

¹CPPAR/FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP. ²FMVA/UNESP, Araçatuba, SP. ³IFTM, Uberaba, MG. ⁴CCA/UEL, Londrina, PR. ⁵UniCastelo, Descalvado, SP.

⁶FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP. Email:helenarasilva@yahoo.com.br

Congenital transmission in experimentally infected and reinfected goats by *T. gondii* was evaluated in three stages of pregnancy. Out of 25 females selected, negative for *T. gondii*, 20 were inoculated (ME 49 strain) and, out of these, 15 reinoculated (VEG strain) with oocysts of *T. gondii*. They were distributed in five experimental groups (n = 5): GI, GII and GIII - reinoculation at 40, 80 and 120 days of gestation, respectively. GIV - inoculation (positive control) and GV - no inoculation (negative control). On days 0 (before inoculation), three, six, nine, 15, 21 and seven days post-inoculation (DPI) and the 3rd day and every seven days post-reinoculation (DPR), were conducted clinical and serological (IFAT - IgG). When the females showed evidence IgG <1024 began the reproductive management. At 9th DPI there was hyperthermia in all inoculated goats (P≤0.05) at 21st DPI seroconversion occurred with IgG titers between 1024 and 16384 and 119 DPI there was stabilization of the chronic phase of toxoplasmosis (IgG <1024). Antibody increases (IgG ≥1024) occurred on the 28th, 7th and 3rd DPR, in groups I, II, III, respectively (P<0.05). The reproductive alterations were observed only during the calving females reinfected by *T. gondii* with preterm delivery, stillbirth, birth deformities and bodily weak animals, with involvement of 57.14%, 75.00% and 16.66% of the offspring of reinfected goats by *T. gondii* at 40, 80 and 120 days of gestation, respectively. Thus, it was shown that the reproductive alterations affect only the goats suffering from toxoplasmic reinfection.

Keywords: Pregnant goats, Reproductive problems, Congenital toxoplasmosis

Financial Support: CAPES; FAPESP

ANÁLISE DE CÉLULAS DE PANETH EM RATOS WISTAR INFECTADOS COM *Toxoplasma gondii* CEPA ME-49

SL Vicentino¹, MB Gois², JL Garcia³, EJA Araújo³; DMG Sant'Ana¹

¹ Pós-graduação em Biociências Aplicadas a Farmácia – PBF; Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá, PR, ²Pós-graduação em Biologia Comparada, Universidade Estadual de Maringá, UEM, ³Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR, Email: suellen.lais@hotmail.com

As células de Paneth localizam-se na base das criptas do epitélio intestinal. A exposição da superfície intestinal à bactérias, fungos e protozoários induz a liberação de grande número de moléculas com propriedades antimicrobianas no lúmen das criptas por estas células, contribuindo para a manutenção da barreira protetora gastrointestinal. Todavia, poucos são os estudos que correlacionam esta população celular e a infecção pelo *T. gondii*. Em estudo prévio realizado verificou-se que as células de Paneth tiveram sua população aumentada em gatos infectados por cistos teciduais de *Toxoplasma gondii* (ME-49). Neste estudo, objetivou-se analisar se a infecção pelo *T. gondii* altera a população de Paneth em ratos. Foram analisadas as células de Paneth de ratos Wistar infectados com *Toxoplasma gondii* cepa ME-49. Utilizou-se 14 ratos Wistar machos de 60 dias de idade com peso médio de 245,86±18,38 g. Os animais foram distribuídos em grupo controle (GC; n=7) e grupo infectado (GI; n=7). Os animais GI receberam suspensão contendo dez oocistos de *T. gondii* (cepa ME-49) por via oral enquanto os do GC receberam 1 mL de solução salina. Após 30 dias os animais foram anestesiados com vapor de halotano. Foi coletado o jejuno dos animais, fixados em paraformaldeído tamponado a 4% por 24 horas e posteriormente emblocados em parafina. Foram obtidos quatro cortes semi-seriados de 4µm de espessura. Os cortes foram corados pela técnica histológica de hematoxilina-eosina. Cada corte foi dividido em quatro quadrantes sendo contadas as células de Paneth presente na base de quatro criptas de cada quadrante, totalizando 64 criptas por animal. A infecção foi confirmada por técnica sorológica de imunoaglutinação direta. Foi obtida uma média para o GC de 111±34,86 e GI 127±36,67 células de Paneth (p<0.5) por animal. A comparação destes resultados demonstram que houve um aumento no número de células de Paneth no grupo infectado pelo parasito. Provavelmente este aumento é derivado de um estímulo na produção de substância antimicrobianas realizadas por estas células para controlar possíveis invasões microbianas que podem ocorrer durante a infecção pelo *Toxoplasma gondii*.

Palavras-chaves: *Toxoplasma gondii* cepa ME-49; Ratos Wistar.

Suporte financeiro: CAPES



**CORRELATION BETWEEN *Toxoplasma gondii* INFECTION AND
RECURRENT MISCARRIAGES IN HUMANS**

CP Ferreira^{1,2}, CC Brandão de Mattos², CS Meira³, LCJF Spegiorin⁴, VL Pereira-Chioccola³,
DCM Vaz-Oliani⁴, AH Oliani⁴, LC de Mattos²

¹Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas – UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil; ²Molecular Biology Department, Immunogenetics Laboratory, Medicine School in São José do Rio Preto – FAMERP, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil; ³Service of Parasitology, Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, Brazil; ⁴Gynecology and Obstetrics Department – FAMERP/Hospital de Base – FUNFARME. Email: mcvcamila@gmail.com

Toxoplasma gondii is a cause of miscarriages in mammals, but there are few reports on humans. The detection of specific antibodies against *T. gondii* is important for the laboratory diagnosis of toxoplasmosis with the presence of IgG being related to past infections. The aim of this study was to correlate *T. gondii* infection to recurrent miscarriages in humans. Sixty serum samples were selected from women attended in the Gynecology and Obstetrics Clinic of Hospital de Base (FUNFARME), São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. The samples were allocated to two groups: G1 (recurrent miscarriages; n = 30) and G2 (without recurrent miscarriages; n = 30). The identification of IgG antibodies against *T. gondii* was achieved by an in-house ELISA test. The Fisher exact test (p-value < 0.05) was used to compare the results. There was no statistically significant difference in respect to age between G1 (29.5 ± 6.12 years) and G2 (31.3 ± 6.04 years; p-value = 0.2567). IgG antibodies anti *T. gondii* were found in 73.3% (22/30) of G1 and 60.0% (18/30) of G2 (p-value = 0.4118; OR: 1,833; 95% CI: 0.6162-5.455). Thus, there was no correlation between *T. gondii* infection and recurrent miscarriages. Although there are reports showing that infection with *T. gondii* contributes to miscarriages in humans; the results of this study does not confirm this in respect to recurrent miscarriages. It is possible that the multifactorial nature of recurrent miscarriages obscures the influence of *T. gondii* infection and reduces the impact of this parasite. In addition, the small sample size of this study may reduce the strength of the statistical tests used to compare G1 and G2.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Recurrent Miscarriages, Toxoplasmosis

Financial Support: BAP-FAMERP and FAPESP # 2012-05367-7

**DETECTION OF MOLECULAR AND SEROLOGICAL *Toxoplasma gondii*
INFECTION IN BLOOD DONORS**

F Nakashima¹, SML Fernandes², CC Brandão de Mattos¹, O Ricci Jr², LC Mattos¹

¹ Molecular Biology Department, Immunogenetics Laboratory, Medicine School in São José do Rio Preto (FAMERP), São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. ²Department of Medicine II – FAMERP, Regional Blood Center – FUNFARME, São José do Rio Preto, São Paulo, Brazil. E-mail: nakashima.f@gmail.com

Toxoplasma gondii, the etiologic agent of toxoplasmosis, is transmitted by different routes including the transfusion of blood components. Recent studies using serological methods draw attention to the high prevalence of infection by this parasite in blood donors. However few studies based on the molecular detection of *T. gondii* in individuals considered fit to donate blood have examined this issue. The aim of this study was to detect *T. gondii* infection in blood donors using ELISA, cPCR and Nested PCR. A total of 312 serum samples were selected and genomic DNA [100 ng/uL] was extracted from peripheral blood of donors of the Regional Blood Center in São José do Rio Preto, SP, Brazil. An ELISA test (DiaSorin, Italy) was used to identify the serological profiles **I**: IgG positive and IgM negative; **II**: IgG and IgM negative; **III**: IgG and IgM positive; **IV**: IgG negative and IgM positive. Analyses of cPCR and Nested PCR to detect the B1 gene of *T. gondii* were performed in all serum samples presenting the serological profiles **III** and **IV**. Overall, 157 (50.3%) samples presented serological profile **I**, 140 (44.9%) profile **II**, 11 (3.5%) profile **III** and 4 (1.3%) profile **IV**. Of the 11 donors with profile **III**, 3 (27.3%) were positive by cPCR and 8 (72.7%) by Nested PCR. All 4 donors with profile **IV** were negative by cPCR and only 1 (25.0%) was positive by Nested PCR. The serological results demonstrate a high prevalence of *T. gondii* infection and the molecular analysis indicate that a considerable percentage of blood donors present parasitemia. This finding confirms that donated blood is an important source for the dissemination of *T. gondii* and calls attention to the adoption of strategies to minimize the transmission risk for this parasite through blood products.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, toxoplasmosis, blood transfusion, blood components.

Financial Support: FAPESP # 2012/07750-2

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM ANIMAIS SILVESTRES RECEBIDOS EM UM CETAS

GFSR Fournier¹, DMP Oliveira², DAR Vilela³, SM Gennari⁴

^{1,2}Instituto de Ciências Biomédicas, USP, São Paulo, SP. ²Instituto de Pesquisas Waita, ³Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis. local. ⁴Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP. E-mail: gifournier@usp.br

A presença de anticorpos séricos contra *Toxoplasma gondii* foi pesquisada pela Técnica de Aglutinação Modificada em amostras de 15 diferentes espécies de animais silvestres recebidos pelo Centro de Triagem de Animais Silvestres (CETAS) do IBAMA em Belo Horizonte, Minas Gerais no período de agosto a outubro de 2012. Foram examinados 30 animais silvestres e destes 12 (40%) foram reagentes. Entre os mamíferos positivos estão: um indivíduo pertencente à ordem Primata, espécie *Sapajus libidinosus* (macaco-prego), um pertencente à ordem Rodentia, espécie *Hydrochoerus hydrochaeris* (capivara) e um da ordem Testudine, *Phrynops geoffroanus* (cágado-de-barbicha). Entre as Aves foram soropositivos animais das espécies: *Amazonas aestiva* (papagaio verdadeiro - 2 indivíduos), *Caracara plancus* (carcará - 2 indivíduos), *Rupornis magnirostris* (gavião carijó - 1 indivíduo), *Milvago chimachima* (gavião carrapateiro - 1 indivíduo) e três indivíduos pertencentes a espécie *Ramphastos toco* (tucano-açu). O ponto de corte estabelecido para o teste foi de 1:25, sendo que a espécie *S. libidinosus* apresentou o maior título (3200), seguido das espécies *H. hydrochaeris*, *M. chimachima* e um indivíduo da espécie *A. aestiva* com título de 200. Os indivíduos da família Ramphastidae apresentaram título de 25 e o *P. geoffroanus* apresentou título de 100. Todos estes animais estavam em cativeiro a pelo menos um mês, não sendo possível a determinação do local de infecção, isto é, vida livre ou cativeiro. Os resultados apontam para a necessidade de estudos mais detalhados da epidemiologia deste agente, uma vez que algumas destas espécies são mais susceptíveis a infecção por este coccídio, em especial quando sob estresse, fato comum em animais de vida livre que sofrem captura ou são recolhidos e mantidos em cativeiro.

Palavras chave: *Toxoplasma gondii*, animais silvestres, CETAS.

Órgãos de financiamento: CNPq, Waita

SEROPREVALENCE AND VARIABLES ASSOCIATED TO *Toxoplasma gondii* INFECTION IN CATS AND DOGS ATTENDED BY THE BIRTH CONTROL PROJECT OF THE UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA (UEL) - PR
ET Caldart¹, C Constantino¹, AKS Pasquali¹, RCF Dias¹, IT Navarro¹, MFN Mascarenhas¹, RL Freire¹

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR. E-mail: eloiza.vet@gmail.com

The aim of this study was to determine the prevalence of IgG anti-*Toxoplasma gondii* antibodies and analyze variables associated to the infection in animals attended by the Birth Control Project of the Universidade Estadual de Londrina (UEL) from 2004 to 2012. During this period serum samples of 687 animals were submitted to the Indirect Immunofluorescence Assay (IFAT-IgG). Of the 687 animals, 36.6% were dogs and 60.4% were cats. Of this total 20.8% showed titers of IgG anti-*T. gondii* antibodies equal or higher to 16; 20.6% of dogs and 21.0% of cats. The canine population was consisted of: 51.5% of females, 69.5% without a defined breed; 69.0% between one to eight years old and 90.3% from urban origin. The feline population was consisted of: 51.5% of females, 85.3% without a defined breed; 49.8% between one to eight years old and 93.2% from urban origin. Epidemiological questionnaires were obtained from 39.9% of the animals and were analyzed using the Epi-Info 3.4.3 software. There was a higher prevalence of *T. gondii* infection in dogs without a defined breed ($p = 0.0009$); which were feeded by raw meat ($p = 0.0101$) and who have not received the polyvalent vaccine ($p = 0.0147$). Regarding to cats, the highest prevalence was observed in those who hunt mice ($p = 0.0388$) and do not receive treated water ($p = 0.0294$). The results confirm the importance of risk factors already known for toxoplasmosis as the ingestion of raw meat, drinking untreated water and predation of rodents. Factors such as the non-vaccination and the absence of breed in dogs do not directly affect the risk of contracting the parasite, but these animals may belong to owners with less purchasing power and become more susceptible to the risk factors already mentioned.

Keywords: Toxoplasmosis, IFAT, risk factors

Financial Support: PROEX



CONCEITOS DE MORADORES DO MUNICÍPIO DE ARAÇATUBA, SP SOBRE A INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii*.

MA Viol¹, LVS Matos¹, MCC Aquino¹, BCM Oliveira¹, SHV Perri¹, KDS Bresciani¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP, Araçatuba, SP.

Email: milenaviol@hotmail.com

Considerando a importância da toxoplasmose, o presente trabalho analisou conceitos de moradores araçatubenses sobre esta zoonose. Em relação ao grau de escolaridade, todas as pessoas eram alfabetizadas, sendo que 69,9% (86/123) não cursaram ensino superior e 30,8% (37/123) completaram um curso de graduação. De acordo com os entrevistados, 10,6%, citaram a disseminação de *T. gondii* por via intra-uterina, 18,7% incriminaram a ingestão de carne crua ou mal cozida e de alimentos contaminados por fezes de cães (5,69%) e de gatos (34,9%), assim como a mordida dos mesmos (2,4%). Também, 54,5% ignoravam os meios de transmissão desta doença. Entre as pessoas que possuíam grau superior completo 10, 11, duas, 16 e três, atribuíram a transmissão pela placenta, ingestão de carne mal cozida, consumo de alimentos contaminados por fezes de cães, alimentos contaminados por fezes de gatos e pela mordida dos animais, respectivamente. Neste mesmo grupo, 13 desconheciam outras formas de contágio desta enfermidade. No que se refere à profilaxia desta infecção, 23,6% (29/123) indicaram que gestantes deveriam evitar o contato direto com felinos, 31,7% recomendaram lavar as mãos após manipular a caixa de areia dos gatos, 16,3% consideraram importante ingerir vegetais bem lavados e 55,3% (68/123) não souberam informar nenhuma medida preventiva. Por meio destes resultados, pode-se concluir que a informação sobre este assunto é deficitária, havendo necessidade de campanhas de conscientização comunitária sobre coccidiose.

Palavras-chave: toxoplasmose, conhecimento, população

**PREVALENCE OF TOXOPLASMOSIS IN A RURAL AREA OF SANTA
TERESA, ESPIRITO SANTO**

BUERY JC¹; SARTORI FM²; FUX B^{1,2}, VITOR RW⁴; CERUTTI JR C^{1,3}

¹ Programa de Pós-graduação em Doenças Infecciosas, ² Departamento de Patologia,³ Unidade de Medicina Tropical - Universidade Federal do Espírito Santo – Vitória, ES; ⁴ Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Minas Gerais – Belo Horizonte, MG. E-mail:
julyanabuery@gmail.com

Toxoplasma gondii is one of the most common zoonotic infectious agents worldwide. Epidemiological data show many individuals with toxoplasmosis and the prevalence of the disease can vary from different regions of Brazil. In Espírito Santo, investigations were directed to specific cohorts (congenital and ocular toxoplasmosis) and do not represent true situation in the state. The present study revealed the frequency and the factors related with toxoplasmosis in Santa Teresa city, located in Espírito Santo state. We evaluated 311 samples by ELISA from 78 individuals followed during a concomitant study about malaria, considering that both infectious agents belong to the same phylum: Apicomplexa. Demographic and socioeconomic factors associated with toxoplasmosis were obtained using questionnaires. Our results demonstrated that the mean age of the participants was 46 years old; of whom, 40 were male (51.30%) and 38 females (48.70%). No pregnant woman was found in this study. Out of 78 selected individuals, only three had knowledge about toxoplasmosis infection (3.85%). In addition, 54 (69.20%) persons reported activities related to rural environment. Besides, 38 (48.70%) have at least one animal at home; 26 (68,42 %) of them did not know where such animals defecate. Only five (6.41%) admitted meat from wild animals consumption and 60 (76.93%) of these individuals eat pork beef / sausage at least once a week. Eighteen (23.07%) eat occasionally raw meat. IgG ELISA assays demonstrated that 58 individuals (73,91%) of the investigated population are infected. The IgG avidity assay showed that 51 (89,13%) developed a late chronic infection and 7 (10,86%) seemed to have recently acquired toxoplasmosis. This study suggests that the inhabitants of rural communities in Espírito Santo are extremely exposed to the parasite.

Therefore, a preventive action must be reinforced in specific regions aimed at early diagnosis to minimize the risk of toxoplasmosis infection.

Keywords: Toxoplasmosis, risk factors, Brazil, rural communities

Financial support: CAPES, FAPES



ISOLAMENTO DE *TOXOPLASMA GONDII* EM GESTANTES DO MUNICÍPIO DE MARINGÁ, PARANÁ, BRASIL.

LT HIGA¹, JC ALMEIDA², BSL NINO², DL ZULPO², A TARODA², JL GARCIA², A L G FALAVIGNA¹

¹UEM, Maringá, PR. ²UEL, Londrina, PR. E-mail: aletaroda@gmail.com

A toxoplasmose é uma importante zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. O presente trabalho teve como objetivo realizar o isolamento do *T. gondii* em gestantes sorologicamente indicativas de uma infecção recente (IgM positivas e IgG fraca avidéz) por meio de bioensaio e PCR. Entre novembro de 2008 à novembro de 2012 foram colhidas por amniocentese um total de 35 amostras de Líquido Amniótico (LA) de gestantes oriundas do município de Maringá, Paraná, Brasil. As amostras foram mantidas refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório de Zoonoses e Saúde Pública da Universidade Estadual de Londrina. Após a centrifugação o *pellet* foi resuspenso em solução salina estéril e inoculado via intraperitoneal em dois camundongos os quais foram submetidos à imunossupressão com dexametasona 5% na água de bebida. Após seis dias de inoculação procedia-se o lavado peritoneal, o qual era reinoculado em dois novos camundongos. O procedimento foi repetido três vezes. Após 45 dias da terceira passagem, os camundongos foram eutanasiados para colheita de sangue para obtenção de soro, cérebro, fígado e pulmão. O soro foi testado pela RIFI, cérebro e demais órgãos foram submetidos a processo de extração de DNA e PCR baseado no segmento TOX4 e TOX5. Das 35 gestantes estudadas, em apenas uma conseguiu-se o isolamento do parasita. Porém, outras duas apresentaram bioensaio positivo, tanto na sorologia como na PCR. Uma paciente apresentou resultado positivo na PCR, mas negativa no bioensaio. O isolamento de cepas de *T. gondii* em mulheres gestantes é importante para conhecermos a virulência e o genótipo desses parasitas. Um entendimento global das características desse parasita poderá no futuro proporcionar um prognóstico da probabilidade de infecção fetal por diferentes tipos de cepas. Atualmente, o projeto ainda pretende isolar um número maior de cepas, avaliar a virulência, genes de virulência e genotipagem.

Palavras-chaves: toxoplasmose; gestação; bioensaio; PCR.

Órgão de Financiamento:

**RELAÇÃO ENTRE A VULNERABILIDADE DE AQUÍFEROS E A
PREVALÊNCIA DA TOXOPLASMOSE HUMANA E ANIMAL EM CAMPOS
DOS GOYTACAZES - RJ**

PO 14

FP Vieira¹, LS Elias¹, MG Alves², LMGB Oliveira¹

¹Laboratório de Biologia do Reconhecer e ²Laboratório de Engenharia Civil da
Universidade Estadual Do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Email: flaviapvieira@gmail.com

A ingestão de água contaminada por oocistos de *Toxoplasma gondii* é considerada o principal fator de risco para a alta soropositividade da toxoplasmose humana em Campos dos Goytacazes. Estudos prévios evidenciam que o ambiente desta região, principalmente solo e água, contém oocistos do parasita em níveis elevados. À luz dessas observações desenvolvemos uma abordagem inédita de investigação da contaminação ambiental por oocistos do *T. gondii*, a qual relaciona a vulnerabilidade de aquífero com a prevalência da toxoplasmose humana e animal. Para tanto, o município de Campos dos Goytacazes, que exhibe as quatro categorias de aquíferos: aquíferos de baixa, moderada, alta e extrema vulnerabilidade de contaminação ambiental, foi dividido em sete áreas para fins de amostragem de água de poços para consumo humano e animal (A1, A2, A3, A4, A5, A6 e A7). Amostras de sangue humano e animal foram coletadas das respectivas regiões. A análise do perfil sorológico dos indivíduos foi realizada por meio de Kit Vidas Bimèriux® e dos animais por meio de Teste de Aglutinação Modificado (MAT). De um total de 66 indivíduos analisados 57 (86,4%) apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose. A maior prevalência foi observada nas áreas A4 e A7 (100%), ambas apresentando aquíferos com alta vulnerabilidade para contaminação ambiental. Dos 97 animais (45 cachorros, 38 aves peridomiciliares, 5 gatos, 4 porcos, 3 patos, 1 cavalo e 1 ganso) investigados, 58 (59,8%) apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose. A maior prevalência animal foi observada na área A5 (77,7%), também de alta vulnerabilidade. Interessantemente, quando a idade dos indivíduos foi considerada em função da soroprevalência da toxoplasmose, foi observada que todos os indivíduos com idade maior que 24 anos que viviam em áreas de alta e extrema vulnerabilidade de aquíferos apresentaram sorologia positiva para a toxoplasmose. A prevalência da toxoplasmose em aves peridomiciliares foi de 63,1%. Esses resultados indicam que a relação entre a vulnerabilidade de aquíferos e a prevalência da toxoplasmose humana e animal é uma estratégia importante a ser considerada para estudo de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*.

Palavras chaves: *Toxoplasma gondii*, vulnerabilidade de aquíferos, oocistos.

Suporte Financeiro: FAPERJ

EFEITO DA PIRIMETAMINA E SULFADIAZINA, ISOLADAMENTE E EM ASSOCIAÇÃO, SOBRE CEPAS RECOMBINANTES DE *Toxoplasma gondii* OBTIDAS DE CASOS HUMANOS DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA: RESULTADOS PRELIMINARES.

MD Fernandes, LF Neves, LA Silva, RWA Vítor

Departamento de Parasitologia, ICB, UFMG, Belo Horizonte, MG. Email:

matheusdelgado@hotmail.com

Sulfadiazina (SDZ) e Pirimetamina (PM) são os principais medicamentos usados no tratamento da toxoplasmose e agem bloqueando o metabolismo do ácido para-aminobenzóico pelo *T. gondii*, inibindo a síntese dos ácidos nucleicos. A eficácia destes medicamentos sobre cepas clonais do parasito (Tipos I, II e III) já é conhecida, mas são poucos os estudos que avaliam a ação destes medicamentos sobre cepas de genótipo recombinante, como os isolados que predominam no Brasil. Sendo assim, o objetivo deste trabalho é avaliar a susceptibilidade de cepas de *T. gondii* a SDZ e PM, isoladamente e em associação, em modelo murino. Para isso, serão avaliados sete isolados de *T. gondii* obtidos de casos humanos de toxoplasmose congênita no Brasil, denominados TgCTBr1, 4, 9, 13, 17, 23 e 25. Grupos de oito camundongos Swiss foram inoculados via intraperitoneal com 10^4 taquizoítos de *T. gondii* e tratados com 10, 40, 160 ou 640mg/Kg de peso corporal/dia (SDZ) ou 3.1, 12.5 ou 50mg/kg/dia (PM) durante 10 dias, iniciando 48h após a infecção. Um grupo controle infectado com cada um dos isolados, mas não tratado, recebeu apenas o diluente do medicamento (carboximetilcelulose) e um grupo recebeu doses associadas da menor concentração dos medicamentos: SDZ - 10mg/Kg e PM - 3.1mg/kg. A mortalidade dos animais foi acompanhada durante 30 dias após a infecção. Camundongos sobreviventes foram avaliados para determinar a eficácia dos esquemas terapêuticos, com realização de pesquisa anticorpos IgG anti-*T. gondii* por ELISA, contagem de cistos cerebrais, bioensaio por inoculação em camundongos normais e PCR em DNA extraído do cérebro. Os resultados prévios para duas cepas (TgCTBr 4 e TgCTBR 9) indicam diferenças importantes quanto à resistência a ação das drogas, sendo a cepa TgCTBR 9 consideravelmente mais susceptível, ocasionando em aumento da taxa de sobrevivência. Apesar da presença de anticorpos específicos, a pesquisa de cistos no cérebro dos

animais foi predominantemente negativa, requerendo a realização de bioensaio para confirmação da infecção dos sobreviventes. Em relação aos medicamentos, é possível notar uma maior tendência de sobrevivência de animais tratados com pirimetamina, embora seja necessária confirmação dos resultados.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, sulfadiazina, pirimetamina, cepas recombinantes

Financiamento: FAPEMIG



TOXOPLASMOSE EM ESCOLARES DE JATAIZINHO, PARANÁ, BRASIL

TLC Cezar¹, FMR Lopes-Mori², RL Freire³, BSL Nino³; AKS Pasquali³; F Evers³, IT Navarro³, JW Breganó⁴, R Mitsuka-Breganó¹

¹Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Patológicas, UEL, Londrina, PR.

²Centro Universitário Filadélfia, UNIFIL, Londrina, PR. ³Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, UEL, Londrina, PR. ⁴Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, UEL, Londrina, PR. E-mail:

rbregano@uel.br

O objetivo deste trabalho foi verificar a prevalência da toxoplasmose em alunos do ensino infantil e fundamental do município de Jataizinho – PR e os fatores de risco associados à infecção. No período entre agosto de 2011 à outubro de 2012 foram avaliadas 243 crianças, com idades entre quatro e 13 anos, por meio da técnica de Imunofluorescência Indireta (IFI) para a detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, foram considerados reagentes os títulos iguais ou superiores a 16. A medida da associação das variáveis pesquisadas foi determinada pela razão de chances (*Odds Ratio* – OD) com intervalo de confiança (IC) de 95% e nível de significância de 5%. Das 243 crianças analisadas, 84 (36,4% – IC 95% = 28,6% – 40,9%) foram positivas. Houve associação da infecção com o baixo grau de escolaridade da mãe (P = 0,001; OD = 3,39; IC 95% = 1,57 – 7,47), baixa renda per capita (P = 0,037; OD = 1,96; IC 95% = 1,07 – 3,61), habito de pescar ou nadar em rios e lagoas (P = 0,041; OD = 2,12; IC 95% = 1,08 – 4,16) e a presença de cães na residência (P = 0,008; OD = 2,45; IC 95% = 1,29 – 4,65). Não houve associação com a ingestão de carnes cruas ou mal cozidas e vegetais crus, brincar na terra ou areia e presença de gato na residência. Esses resultados demonstraram que a toxoplasmose é comum nesta população e reforçam a necessidade da adoção de medidas profiláticas através da educação em saúde visando diminuir a prevalência desta infecção na população estudada.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, prevalência, epidemiologia, fatores de risco.

Órgãos de financiamento: PROEXT-MEC/SESu, Ministério da Saúde, CNPq, Fundação Araucária, Fundo Paraná/SETI.

Absence of toxoplasmic retinochoroiditis in mbya aborigines with positive serology against toxoplasma gondii from Misiones, Argentina

Meyer A.¹, Rudzinski M¹, Rudzinski C¹, Carral L.², Couto C³.

¹ GETOZCEM, Grupo de estudio de la Toxoplasmosis en la Zona centro de Misiones, Argentina

² Centro Nacional de referencia de Toxoplasmosis, Hospital Alemán, Buenos Aires, Argentina

³ Hospital de clínicas José de San Martín, departamento oftalmología, sección uveítis, Universidad de Buenos Aires, Argentina

meyerlab@hotmail.com

Introduction: Eighty one percent of the patients that attend the APTM clinic in the small city of 25 de mayo are seropositive for toxoplasma gondii. Twenty percent of the patients have retinochoroidal scars. The majority of the patients with toxoplasmic retinochoroiditis (53%) have German or Eastern European ancestry.

A small mbya aborigine community of 150 people called Tamandua is located at twelve kilometers from the center of the city 25 de mayo. In Argentina there were neither records of mbya aborigine's eye problems nor the prevalence of toxoplasma retinochoroiditis in their communities. Aborigines with vision problems from the Tamandua community were offer the possibility to undergo ophthalmic examination.

Material and Methods: A complete eye examination including, visual acuity, autorefractometry, anterior biomicroscopy, and indirect ophthalmoscopy were performed in aborigines with decrease visual acuity and their direct relatives. A blood sample was taken from all aborigines that consented. Antibodies against toxoplasma gondii were screen by indirect hemagglutination and later confirmed by Sabin Feldman.

Results: A total of 40 aborigines underwent ophthalmic examination, 37 of them were also tested for toxoplasma gondii antibodies. None of them had retinochoroidal scars or lesions compatible with toxoplasmic retinochoroiditis. Fifty seven percent of them tested positive for toxoplasma gondii antibodies when samples were tested by Sabin Feldman.

Conclusions: Although the number of patients tested is small. There seems to be a difference in the prevalence of toxoplasmic retinochoroidal lesions between the Caucasian versus the Mbya population of the center-east region of Misiones. More studies are needed to verify if the difference in toxoplasmic retinochoroidal prevalence is cultural or genetically determined.

Mbya –retinochoroiditis- toxoplasmosis- Sabin Feldman

Bilateral ocular toxoplasmic retinochoroiditis in young HIV negative patients from Misiones, Argentina

Rudzinski M¹, Couto C²

¹Grupo de estudio de la toxoplasmosis en la zona centro de Misiones, GETOZCEM, Oberá, Misiones, Argentina

²Hospital de Clínicas José de San Martín, departamento de oftalmología, jefe sección uveítis, Universidad de Buenos Aires, Argentina

marcelor1@hotmail.com

Purpose: To analyze the clinical characteristics of patients with bilateral active ocular toxoplasmosis

Methods: This is a clinical retrospective study where charts from patients with ocular toxoplasmosis from Rudzinski oftalmologia from Oberá, Misiones were reviewed. Including criteria: concomitant bilateral retinochoroiditis or bilateral successive retinochoroiditis or unilateral retinochoroiditis with contralateral uveitis, plus positive serology for toxoplasmosis.

Results: The patients were two males and two females between the ages of 30 to 47 years old. In three cases the uveitis presented concomitantly in both eyes. All patients responded positively to oral classical treatment.

Conclusion: Although a rare clinical presentation, bilateral toxoplasmic retinochoroiditis can occur in young HIV negative patients without an underlying known immunosuppressive disease. Bilaterality of the disease did not condition oral medical treatment.

Bilateral- toxoplasmosis- retinochoroiditis – HIV negative-

**INVESTIGAÇÃO PARASITOLÓGICA E SOROLÓGICA DE *Toxoplasma gondii*
EM GESTANTES COM SUSPEITA LABORATORIAL DE TOXOPLASMOSE
AGUDA, PARANÁ, BRASIL**

C Zangari¹, LT Higa², EEI Nagahama², VG Dourado², R Rossini², AL Falavigna-Guilherme¹,

¹ Universidade Estadual de Maringá, Pr. ² Hospital Universitário de Maringá, Pr.

O objetivo deste estudo foi realizar a investigação parasitológica e sorológica em seis gestantes com suspeita clínica/laboratorial de toxoplasmose aguda, atendidas entre março e julho de 2012, no Ambulatório de Gestação de Alto Risco do HU/UEM, em qualquer trimestre gestacional, sem uso de medicação específica. Foram pesquisadas no sangue periférico imunoglobulinas IgM, IgA e IgG anti-*T. gondii* seguida pelo teste de avidéz da IgG na mesma amostra para confirmação diagnóstica de toxoplasmose aguda gestacional. Em 4,0mL do sangue periférico foi avaliada a pesquisa de taquizoítas a partir do creme leucocitário, após coloração por Giemsa. No líquido amniótico foi realizada a reação em Cadeia da Polimerase (PCR) utilizando primers que amplificam genes específicos (B1). Foi realizado o bioensaio em camundongos Balb/C inoculando três animais com 0,5mL cada, creme leucocitário e líquido amniótico, separadamente, e com duas passagens sucessivas num intervalo de sete dias. No final, analisado o lavado peritoneal. Quatro gestantes se encontravam no primeiro trimestre, com IgM, IgA e IgG reagentes, duas com baixa avidéz e duas com intermediária avidéz. Não foi detectada a presença de taquizoítos no sangue periférico de nenhuma gestante bem como não observado material genético de *T. gondii* no líquido amniótico de quatro delas que concordaram em realizar a amniocentese. As gestantes investigadas tiveram pouca probabilidade de transmissão fetal, mas devido ao resultado sorológico foram todas tratadas. Este trabalho reforçou a importância de garantir diversos exames laboratoriais para que o profissional tenha melhores informações, permitindo assim um diagnóstico precoce, seguro, para acompanhamento e intervenção junto às gestantes.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; Gestantes, Anticorpos, PCR, Taquizoitos.

Financiamento: CNPq, PPSUS/Fundação Araucária

**PERFIL IMUNOLÓGICO EM RECÉM-NASCIDOS COM TOXOPLASMOSE
CONGÊNITA NO ESTADO DE MINAS GERAIS: RESULTADOS
PRELIMINARES**

AS Machado¹, ACAV Carneiro¹, RWA Vitor¹, GMQ Andrade², DV Vasconcelos-Santos², JN Januário³, OAM Filho⁴

¹Departamento de Parasitologia, ICB, UFMG; ²Faculdade de Medicina, UFMG;
³NUPAD, UFMG; ⁴Instituto de Pesquisa René-Rachou, FIOCRUZ, Belo Horizonte, MG.

Email: andersondabio@yahoo.com.br

A transmissão congênita da toxoplasmose tem sido responsabilizada pela ocorrência de abortos, natimortos e comprometimento variável do feto. Em estudos anteriores, nosso grupo demonstrou que aproximadamente 80% das crianças apresentam algum sinal clínico ao nascimento, sendo a retinocoroidite a sequela mais comum. O objetivo deste trabalho é analisar o perfil fenotípico de recém-nascidos com toxoplasmose congênita correlacionando com a ocorrência de retinocoroidite. Ao todo, 146.307 crianças participantes do Programa Estadual de Triagem Neonatal em Minas Gerais foram submetidas à pesquisa de anticorpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* em sangue seco em papel filtro. Destas, 105 crianças foram selecionadas para este estudo, sendo 83 com toxoplasmose congênita confirmada (infectadas) e 22 com toxoplasmose congênita descartada (não infectadas). Os resultados iniciais mostram que houve um aumento no número absoluto de linfócitos T e B em recém-nascidos infectados. A análise das subpopulações de linfócitos T nos recém-nascidos infectados mostrou aumento nos linfócitos T citotóxicos, auxiliares ativados e citotóxicos ativados. Observou-se aumento na população de monócitos e nas subpopulações de monócitos pró-inflamatórios e monócitos ativados, além da diminuição de monócitos senescentes nos recém-nascidos infectados. Observou-se ainda aumento na população de células NK e nas subpopulações de células pré-NK, NK madura, NK ativada, NKT1 e NKT2. Foi verificado ainda se havia associação entre o perfil imunológico das crianças com a análise clínica oftalmológica. Observou-se que as crianças com retinocoroidite ativa (RA) apresentavam aumento de linfócitos T, linfócitos T auxiliares, linfócitos T citotóxicos, linfócitos T auxiliares ativados, T citotóxicos ativados, células NK, NK ativadas, NKT1, NKT2 e

monócitos pró-inflamatórios em relação às crianças não infectadas. As crianças com retinocoroidite ativa e cicatrizada (RAC) apresentavam aumento de linfócitos T citotóxicos, linfócitos T auxiliares ativados, T citotóxicos ativados e células NKT1 em relação às crianças não infectadas. As crianças com lesões retinocoroidianas cicatrizadas (RC) apresentavam aumento de linfócitos T citotóxicos ativados, células NK maduras, NKT2, monócitos ativados, além da diminuição de monócitos senescentes em relação às não infectadas. As crianças sem lesão oftalmológica (SL) apresentavam aumento de linfócitos T citotóxicos ativados e diminuição de monócitos senescentes em relação às não infectadas. Os dados preliminares sugerem aumento na população de células da imunidade inata e de células ativadas nos estágios iniciais da infecção congênita em recém-nascidos.

Palavras-chave: Toxoplasmose congênita, perfil imunológico, ex-vivo, cultura.

Órgãos de Financiamento: FAPEMIG e CAPES

OCORRÊNCIA DA INFECÇÃO POR *T. gondii* EM GALINHAS-D'ANGOLA CRIADAS EXTENSIVAMENTE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO, BRASIL

LC Ferreira¹, L Casartelli-Alves¹, RC da Silva², H Langoni², LB das Neves³, JL Nicolau³,
MR Amendoeira³, RC Menezes¹

¹Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ. ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu, SP. ³Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ. Email: rodrigo.menezes@ipecc.fiocruz.br

As galinhas-d'angola (*Numida meleagris*) são aves galiformes, originárias da África, de ampla distribuição mundial e criadas para produção de carnes e ovos, ornamentação e controle biológico de insetos. No Brasil, foram trazidas pelos colonizadores portugueses e são criadas principalmente na forma extensiva. As galinhas-d'angola podem desenvolver a toxoplasmose e o consumo de sua carne pode representar um risco de infecção humana. Entretanto, são escassos os estudos sobre a ocorrência de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola. Nesse contexto, o presente estudo teve por objetivo avaliar a ocorrência de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola criadas extensivamente no estado do Rio de Janeiro, Brasil. No período de junho a outubro de 2008, amostras de sangue de 114 galinhas-d'angola adultas foram coletadas por punção da veia braquial. As aves eram oriundas de seis criações extensivas: quatro no município de Maricá, uma em Silva Jardim e uma em Mangaratiba. O soro foi separado e armazenado a -20°C até a realização de reação de técnica de aglutinação modificada para detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Foram realizadas as diluições de 1:16, 1:64, 1:256, 1:1024 e 1: 4096. Títulos iguais ou maiores que 16 foram considerados positivos. Foi encontrada uma frequência de 12,3% (14/114) de infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola do estado do Rio de Janeiro. Três (50%) das seis propriedades estudadas apresentavam galinhas-d'angola soropositivas para *T. gondii*. Os títulos de anticorpos encontrados foram: 16 (42,9%), 64 (35,7%) e 125 (21,4%). Pela primeira vez no estado do Rio de Janeiro foi constatada a infecção por *T. gondii* em galinhas-d'angola, indicando contaminação ambiental e a possibilidade de infecção humana pelo consumo da carne mal cozida dessas aves. As frequências de infecção por *T. gondii* encontradas em galinhas-d'angola no presente estudo foram inferiores às relatadas em

galinhas domésticas no mesmo estado. Esses resultados indicam que essas aves podem ser menos susceptíveis à infecção por *T. gondii* e, portanto, indicadoras da contaminação ambiental menos eficientes que as galinhas domésticas.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; Galinhas-d'angola; Ocorrência; Brasil.

MEAT AND TRANSMISSION OF *Toxoplasma gondii*: WHAT IS THE RISK FROM BEEF, PORK, AND SHEEP?

MPC EWALD¹, PML SICUPIRA¹, ACF MIURA¹, LD BARROS¹, F EVERS¹, JL GARCIA¹

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, PR. Email: mpaulaewald@gmail.com

Humans can become infected by ingesting raw or undercooked meat containing tissue cyst *Toxoplasma gondii*. This way is considering one of the most important infection sources for human being. However, what is the potential of transmission from different consume species? This answer is yet enigmatic. Thus, the aim of the present study was to evaluate the potential risk for toxoplasmosis from beef, pork, and sheep. Blood and muscle samples (heart, diaphragm, masseter, and tongue) from 400 cattle, 250 pigs, and 50 sheep were obtained from slaughterhouses from Londrina municipality, Parana state. Antibodies anti-*T. gondii* were tested by IFAT and MAT, and the animals were considered positive when titers ≥ 64 . All positive animals in one of the tests had their muscles mouse bioassayed. Additionally, 100 beef samples were collected from 50 butcherries and mouse bioassayed. Thirty five cattle (8.75%), 23 pigs (9.2%), and six (12%) sheep were positive for *T. gondii* in serology. Two sheep (33%) out of 35, and eight pigs (34.8%) out of 23 had *T. gondii* isolated from their meat. Presently we are taking meat samples from pigs and sheep from butcherries to evaluate the risk of *T. gondii* contamination from these commercial cuts of meat. Herein, we observed that the serum prevalence of antibodies in those species were lower than observed previously. As a summary, the present study shown that the risk for consumers to acquire toxoplasmosis from meat is higher in pork and sheep than beef.

Keywords: slaughterhouses; butcherries; mouse bioassay; toxoplasmosis.

VIABILITY OF *TOXOPLASMA GONDII* IN RAM SEMEN AFTER FREEZING

A.F. SILVA^{1*}; L.F. MATOS²; E. FRAZÃO-TEIXEIRA²; F.C.R. OLIVEIRA²; F.Z. BRANDÃO¹; S.S. VENTURI¹; A.L. JIMENEZ-SANZ²; A.M.R. FERREIRA¹

¹Universidade Federal Fluminense (UFF), ²Universidade Estadual do Norte Fluminense

Darcy Ribeiro (UENF). E-mail: anatopatovet@vm.uff.br

Toxoplasma gondii is a zoonotic agent of great importance in veterinary and public health. We tested the viability of *T. gondii* tachyzoites after freezing and thawing experimentally contaminated ram semen. A seronegative ram by MAT was used as semen donor. The ejaculate, was diluted with cryoprotector (Botu-Bov®, Botupharma, São Paulo) and divided into two parts. One part was experimentally contaminated by addition of tachyzoites of the RH strain to a final concentration of 2.8×10^8 tachyzoites/ straw and the other part was tachyzoite-free, serving as control. Semen aliquots were frozen by slow-freezing protocol in 0.25 ml plastic straws with a concentration of 50 million/spermatozoa/straw and stored in liquid nitrogen at -196°C (for one month). For thawing, the samples were submitted to water bath at 37°C for 30s. To study the infectivity of frozen/thawed tachyzoites, 1ml of each suspension was inoculated intraperitoneally in five mice per group. After 42 days the animals that died or became sick had organs collected for histopathological and parasite's DNA extraction processing. Semen parasite's DNA was also extracted from contaminated semen. DNA extraction was performed using DNeasy® kit from Qiagen Biotecnologia Brasil Ltda., São Paulo, and histopathology followed the routine technique previously described (SILVA *et al.*, 2012). Mice inoculated with semen without tachyzoites did not died nor got sick within 42 days of observation. On the other hand, mice inoculated with experimentally contaminated semen developed acute infection, with tachyzoites observed in peritoneal exsudate, and tachyzoites and pseudocysts histopathology demonstrated in liver and stomach. Additionally, the parasite's DNA was detected in the organs of mice that died or became sick and in contaminated semen. It was concluded that *T. gondii* remains infective after freezing/thawing in ram

semen experimentally contaminated and that tachyzoites can be cryopreserved using the same protocol used for ram semen freezing.

Keywords: zoonosis, semen, toxoplasmosis, infection

Acknowledgements: We would like to thank Dr. J.P. Dubey, for kindly providing antigen for the MAT.

Financial support: FAPERJ, CAPES, CNPq

TOXOPLASMA GONDII IN HORSES FROM RIO DE JANEIRO STATE, BRAZILS.S. Venturi^{1*}, A.F. Silva¹, E. Teixeira², F.Z. Brandão¹, F.R. Oliveira²,A.M.R. Ferreira¹¹Universidade Federal Fluminense, ²Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, E-mail: *anatopatovet@vm.uff.br

Toxoplasma gondii is a zoonotic pathogen that causes abortion and congenital disease in several species of intermediate hosts. Felides, are definitive hosts and warm-blooded animals, including horses, are intermediate hosts. The infectivity and pathogenicity vary with the species of hosts and parasite strain. Horses are considered less susceptible to the infection; but once infected it is associated with encephalomyelitis and reproductive problems. Taking into account the economic losses caused by the parasite and that reports of infection in horses in the State of Rio de Janeiro (RJ) are scarce, this study aimed to detect antibodies anti-*T. gondii* in horses and the parasite's DNA by PCR in tissues of animals that died by abortion or neurological symptoms. Blood was collected from jugular vein of 188 horses, regardless of gender, aged 2 to 18 years old, and good health, from two farms located in the city of Cachoeiras de Macacu, State of Rio de Janeiro, Brazil. Serological tests were performed using the Modified Agglutination Test (MAT) at a dilution of 1:25 according to the protocol established by Dubey and Desmonts (1987). 11 animals that eventually died by abortion and neurological problems; had fragments of brain, kidney, liver, heart and diaphragm, collect for PCR. DNA was extracted and *T. gondii* B1 gene was used as molecular marker (SU at al. 2006). Specific antibodies were detected in 46 of 188 equines studied, representing 24%. These values were high compared to the other studies conducted in Brazil (Minas Gerais 12,1%, 12,4% Paraná and Rio de Janeiro 4,4%) and other countries (Argentina 13,1%, Spain 10,5%, Tunisia 17,7% and South Korea 2,6%). PCR results not demonstrate *T. gondii* DNA the 11 suspected animals. Thus, this study demonstrates that horses in the studied city had anti-*T. gondii*; but no parasite was indentified in the tissues tested. Parasite control programs should be conducted so that the animals are not contaminated and thus minimize potential losses due to abortion and neurological problems.

Keywords: *T. gondii*, Equine, PCR

Acknowledgements: We would like to thank Dr. J.P. Dubey, for kindly providing antigen for the MAT.

Financial Support: Faperj/UENF/Reuni-UFF



**PERDAS EMBRIONÁRIAS EM CABRAS EXPERIMENTALMENTE INFECTADAS
COM SÊMEN CONTAMINADO COM TAQUIZOÍTOS DE *Toxoplasma gondii***

FS Wanderley¹, WJN Porto², DR Câmara², RL Freire⁴, NLN Cruz², PPF Albuquerque³, RA Mota³

¹Programa de Pós- graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. ²Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa, AL. ³Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. ⁴Departamento de Medicina Veterinária preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR. Email: wagnerporto@hotmail.com

Objetivou-se neste estudo acompanhar a evolução gestacional em cabras inseminadas com sêmen contaminado com taquizoítos da cepa CPG (Genótipo III) de *Toxoplasma gondii*. Foram formados dois grupos experimentais (G1 e G2) constituídos por cinco cabras cada um. As fêmeas do G1 foram inseminadas com sêmen contendo 1×10^5 taquizoítos e as fêmeas do G2, com sêmen livre de taquizoítos (controle). Foram realizados testes sorológicos (reação de imunofluorescência indireta) para confirmar a infecção. Para o acompanhamento gestacional foram utilizados exames ultrassonográficos inicialmente semanais e quinzenais a partir de sessenta dias de gestação. No G1, 4/5 fêmeas soroconverteram e no G2 todas foram negativas. Os exames ultrassonográficos demonstraram que no G1 todas as cabras que soroconverteram engravidaram e apresentaram reabsorção embrionária entre 21^o e 49^o dia após a infecção. A cabra que não soroconverteu levou a gestação a termo. No G2 todas as cabras pariram a termo. Conclui-se que a infecção por *T. gondii* em cabras, no momento da inseminação causa perdas embrionárias significativas.

Palavras-chave: Toxoplasmose, caprinos, reabsorção embrionária

Orgãos de financiamento: FAPEAL, FACEPE, CNPq



A MULTIPROFISSIONALIDADE NO CUIDADO AO BINÔMIO MÃE-FILHO EXPOSTOS A TOXOPLASMOSE

EEI Nagahama¹, VG Dourado¹, LT Higa¹, AG Strang¹, JC Mendonça¹,
FM Tokunaga¹, M Castilho-Peres²

¹ Universidade Estadual de Maringá, PR. ² Secretaria de Estado da Saúde /15ª. Regional de Saúde, PR. Email: eeinagahama@uem.br

Relato de experiência do atendimento multiprofissional ao binômio mãe-filho expostos a toxoplasmose, por meio da gestão interativa entre a vigilância epidemiológica regional e municipal, laboratório local-estadual, equipes locais de atenção primária e ambulatório de referência especializada do Hospital Universitário Regional de Maringá-Paraná, em consonância com o grupo de pesquisa de parasitas de interesse em saúde da Universidade Estadual de Maringá, Paraná. Em 2006 o Paraná aprovou as diretrizes clínicas, laboratoriais e terapêuticas da toxoplasmose congênita, que garantiu a pesquisa das Imunoglobulinas IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii*, seguida da confirmação pelo Teste de Avidéz da IgG no screening pré-natal, bem como o tratamento via Central de Medicamentos do Paraná. A vigilância deste risco infeccioso foi fortalecida com a inclusão da doença na lista de agravos notificáveis. Na 15ª Regional de Saúde do Estado do Paraná, estabeleceu-se que as sorologias reagentes fossem confirmadas pelo Teste de Avidéz da IgG na amostra inicial, o que proporcionou intervenções precoces e oportunas para as gestantes recentemente expostas. Desenhou-se um fluxo de atendimento com a manutenção do vínculo da gestante ao pré-natal na atenção básica, à maternidade de referência no parto e a garantia do atendimento no ambulatório de especialidades do Hospital Universitário Regional de Maringá. O atendimento especializado é realizado por equipe multiprofissional composta por enfermeira, ginecologista-obstetra, assistente social, técnico de enfermagem e discentes de Enfermagem e Medicina. A assistência está fundamentada no estudo das evidências clínicas, laboratoriais e de imagem, na cronologia da gestação, na cinética dos anticorpos e na investigação fetal pelo PCR do líquido amniótico. O ambulatório multiprofissional de acompanhamento à criança é realizado por equipe composta por enfermeira, pediatra, neuropediatra, retinólogo, otorrinolaringologista, infectologista, assistente social e técnico de enfermagem, que objetivam a detecção e tratamento precoce da infecção congênita, a redução de danos e melhoria da qualidade de vida.

Palavras-chave: Toxoplasmose; Equipe de assistência ao paciente; Gravidez de alto risco.

INDUCTION OF TH2 IMMUNE RESPONSE IN IMMUNIZED A/SN MICE WITH *Toxoplasma gondii* EXCRETED/SECRETED ANTIGENS (ESA)

TA Costa-Silva^{1*}, MM Borges², CS Galhardo², VL Pereira-Chioccola¹

¹Department of Parasitology, Instituto Adolfo Lutz, ²Department of Bacteriology,

Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil.

(tha_isbio@yahoo.com.br)

This study analyzed the ability of ESA, excreted by tachyzoite stage, to stimulate the immune response in different mice groups. All experiments were conducted using ESA and tachyzoite lysate antigen (TLA) as antigens. A/Sn mice were divided into 3 groups: **A. immunized** (4 doses of ESA, 20 μ g and ALUM as adjuvant); and **B. chronic** (infected with ME-49 strain) and **C control group** (without infection). IgG1, IgG2a and IgM levels were measured by ELISA. Cellular immune response analysis was made using spleen lymphocytes collected from three mouse groups. Lymphocytes were stimulated *in vitro* with ESA or TLA at 5 μ g/mL for IFN- γ and TNF- α ; 25 μ g/mL for IL-10; and 50 μ g/mL for IL-4. The concentrations of TNF- α , IL-4, IL-10 and IFN- γ in supernatant cultures were estimated by ELISA after 20, 48, 48 or 72 hours post-stimulation, respectively. The results showed that *group A* had higher IgG1 and IgM concentrations than those from *group B*. However, *group B* mice had higher IgG2a titres than those in *group A*. ESA triggered the IFN- γ production only in *group B* lymphocytes. Lymphocytes collected from *group A* mice produced IFN- γ only with TLA stimulation. IFN- γ concentrations were similar in both groups. ESA and TLA stimulated lymphocyte of mice from both *groups* to produce TNF- α and IL-10. However, ESA were more effective to stimulate IL-4 than TLA in immunized mice (*group A*). Lymphocytes from control group produced cytokines in baseline. All these data together suggest that ESA could act as a host suppressor agent since the immunization with ESA induced a typical Th2 profile. ESA induced high IgM titres, in a polyclonal manner, but failed to produce IFN- γ . In addition, ESA stimulated IL-4, IL-10 and IgG1. The chronic infected mice developed a typical Th1/Th2 response profile, predominantly with IgG2a and IFN- γ production.

Key words: *Toxoplasma gondii*, ESA and imune response

Financial Support: FAPESP (Proc 2011/139-8, Brazil) and CAPES

PERFIL DOS CASOS DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM UM SERVIÇO DE REFERÊNCIA DO PARANÁ.

J.D. Capobiango, C. P. Rezende Neto, R. M. Breganó, I. T. Navarro, A. M. B. Casella, F. M. R. Lopes, S. Pagliari, I. T. Inoue, E. M. V. Reiche.

Universidade Estadual de Londrina, Paraná. Email: jaquedc@sercomtel.com.br

Foram descritas as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com toxoplasmose congênita, atendidos no Ambulatório do Hospital de Clínicas da Universidade Estadual de Londrina, de janeiro de 2000 a dezembro de 2010. Foram avaliados, retrospectivamente, 236 prontuários e os casos foram definidos pela classificação de Lebech (1996). De 31 crianças com toxoplasmose congênita, 20 eram do sexo masculino (64,5%) e 11 feminino (35,5%); o peso de nascimento variou de 1.150g a 3.800g e 37,9% apresentaram < 2.500g. A idade gestacional variou de 26,2 a 41,0 semanas; 85,2% das gestantes realizaram pré-natal e o diagnóstico de toxoplasmose não foi realizado em 20 (64,5%) gestantes. Entre 11 gestantes (35,5%) que apresentaram IgM anti-*Toxoplasma gondii* reagente durante a gestação, o tratamento foi realizado em quatro (13%) gestantes; portanto 27 (87,0%) não foram tratadas. Em 10/29 crianças (34,5%), o exame físico foi normal no primeiro mês de vida. As principais manifestações encontradas no primeiro mês de vida foram hepatomegalia e/ou esplenomegalia (58,1%), icterícia (13,8%), microcefalia (6,9%), macrocefalia (3,4%) e febre (3,4%). Na avaliação oftalmológica inicial, 67,7% das crianças apresentaram lesões, sendo 48,4% coriorretinite, 25,8% estrabismo, 12,9% vitreíte, 12,9% microftalmia e 9,7% catarata. Anticorpos IgM anti-*Toxoplasma gondii* foram demonstrados em 48,3% dos casos. Na 1ª amostra de sangue coletada, os níveis séricos de IgG anti-*Toxoplasma gondii* variaram de 1:16 a > 1:128.000. No líquido cefalorraquidiano, os leucócitos variaram de 2 a 149 células/mm³ e as proteínas de 34 a 1.594 mg/dL. Os exames de imagem de crânio foram normais em 44,8% das crianças, calcificações difusas em 27,6%, hidrocefalia em 10,3% e hidrocefalia com calcificações em 17,2%; 31,0% apresentaram atraso do desenvolvimento neuropsicomotor, com seqüela motora em 13,8%, convulsão em 27,5%, déficit de atenção e/ou hiperatividade em 10,3%, puberdade precoce em 6,9% e hipotireoidismo em 3,4%. Houve seqüela visual em 55,2% dos casos. Duas crianças eram co-infectadas por HIV e três por CMV. Todos os pacientes foram tratados com sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico. Os dados reforçam a importância do diagnóstico e tratamento da toxoplasmose adquirida na gestação para a redução dos casos de toxoplasmose congênita e suas conseqüências para a criança.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, Toxoplasmose Congênita, diagnóstico, criança.

**T AND B CELLS MEMORY OF IMMUNIZED BALB/C MICE WITH
IRRADIATED TACHYZOITES OF *Toxoplasma gondii*.**

NE Zorgi², AJ Galisteo Jr.¹, MN Sato³, CA de Brito³, HF de Andrade Jr.¹.

¹ Laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo/USP;

² Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas/USP; ³ Laboratório de Alergia e Imunodeficiências do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo/USP.

Email: nahiarazorgi@usp.br

Toxoplasmosis affects a variety of warm-blooded animals, including man. This disease has no specific symptoms and rarely causes serious disease in their immunocompetent host, but its high prevalence results in a significant number of affected individuals. Our development of a vaccine for toxoplasmosis, using tachyzoites sterilized by gamma radiation, does not promote infection but induces a response pattern similar to natural infection, allowing dissection of immunity against the disease and the formation of cysts. In this study evaluated the production of antibodies specific in serum after three months after the immunization with the vaccine. We analyze cellular populations responsive spleen by flow cytometry in immunized mice with irradiated tachyzoites of *T. gondii*. The immunized mice by via intraperitoneally produced significant levels of specific antibodies both after three months after vaccination. The immunized mice both via intraperitoneally or orally presented in CD3⁺ CD4⁺ or CD3⁺ CD8⁺ T cell populations higher level expression of CD44 than in control groups. In this cell population we also analyzed the expression of CD45RB and observed that the immunized mice showed higher CD4⁺ CD45RB^{lo} cell population of when compared with the of CD4⁺ CD45RB^{hi} population. Although labeling with CD45RB is not absolute marker to memory T cells (CD45^{lo}), our data suggest that the immunized groups showed a major population of memory CD4⁺ cells (CD3⁺ CD4⁺ CD45RB^{lo}). To evaluate the population of memory B lymphocytes we analyze expression of CD27⁺, we observed that both immunized groups via intraperitoneally or orally showed higher B220⁺ cell populations that express CD27. Our data in these cell populations suggest that immunization with irradiated tachyzoites of *T. gondii* induce the production of memory T and B cell. The elucidation of mechanisms of immune response can help the design of a vaccine to interrupt the transmission chain of toxoplasmosis. **Supported by LIMHCFMUSP & CNPq.**

Keywords: *Toxoplasma gondii*, vaccine, immunologic memory.

INVESTIGAÇÃO DE PROVAVEL SURTO DE TOXOPLASMOSE HUMANA EM ANGRA DOS REIS, RIO DE JANEIRO, BRASIL, 2012

JA Barroso¹, CHC Assis¹, CS Carneiro¹, C Grego¹, F Imbuzeiro¹, EV Oliveira¹, TS Souza², ES Neves³, MRAmendoeira²

¹Secretaria Municipal de Saúde de Angra dos Reis, RJ. ²Laboratório de Toxoplasmose, IOC, Fiocruz, RJ. ³Laboratório de Pesquisa em Doenças Febris Agudas, IPEC, Fiocruz, RJ. E-mail: elizabeth.neves@ipecc.fiocruz.br

Durante o ano de 2012 foram notificados ao serviço de vigilância em saúde de Angra dos Reis 55 casos de toxoplasmose sendo 32 (58,2%) mulheres e 23 (41,8%) homens com idade mediana de $28 \pm 14,8$ anos. Este estudo visa descrever os resultados da investigação preliminar deste provável surto, contextualizando com fatores ambientais que possam ter influenciado na sua ocorrência. Desde 2011 já vinha sendo observada uma tendência a elevados números de casos. O município de Angra dos Reis está situado ao nível do mar, a oeste do Estado do Rio de Janeiro (Lat 23° 00' 24" S Long 44° 19' 05" W). A região abrange área de preservação ambiental da Serra do Mar, tem clima quente e úmido com temperatura média anual de 23°C e seu sistema de saúde é organizado em cinco Distritos Sanitários. A maioria dos casos (90,9%) era oriunda de área urbana, sendo 31 casos (56,4%) em residentes do Terceiro Distrito Sanitário. Em 43 (78,1%) pacientes foi possível estabelecer o início dos sintomas sendo que destes, 35 (81,4%) ocorreram no primeiro semestre, desses 14 (32,6%) foram no mês de março. Dez pacientes (18,2%) apresentaram formas graves da doença necessitando hospitalização, onde três desenvolveram manifestações pulmonares e cinco hepatite. Entre os pacientes com formas graves da infecção, sete (70%) eram residentes do Terceiro Distrito. Os casos que foram notificados ocorreram num período do ano onde o índice pluviométrico foi elevado o que nos possibilita sugerir a influência dos fatores eco-epidemiológicos tais como mananciais de água que abastecem a região, e a existência de felinos silvestres - relevantes para a transmissão do *Toxoplasma gondii*- o que poderia ser considerado a gênese do surto.

Palavras chaves: Toxoplasmose humana; Surto; Rio de Janeiro; Brazil

Suporte Financeiro: Fiocruz e Secretaria Municipal de Saúde de Angra dos Reis

DINÂMICA DA INFECÇÃO TOXOPLÁSMICA EM FELINOS INFECTADOS PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA FELINA.

MS Zanutto¹, AMA Ragozo², AL Teixeira³, MSFA Morgulis⁴, DP Bergamaschi⁵, SM Gennari⁶, MK Hagiwara⁶.

¹Centro de Ciências Agrárias, UEL, Londrina, PR. ²Instituto de Biociências, Unesp, Botucatu, SP. ³PROVET, São Paulo, SP. ⁴Fundação de Ensino Octávio Bastos, UNIFEOB, São João da Boa Vista, SP. ⁵Faculdade de Saúde Pública, USP, São Paulo, SP. ⁶Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP. Email: mzanutto@gmail.com

Para avaliar se a dinâmica da infecção toxoplásmica em gatos infectados pelo Vírus da Imunodeficiência Felina (VIF) difere daquela que ocorre em gatos não infectados pelo retrovírus, gatos infectados pelo clade B assintomáticos (n=7), e gatos sem a infecção viral (n=7) foram inoculados, via oral, com cistos de *Toxoplasma gondii* cepa P. Os animais foram avaliados por meio do exame clínico, mensuração de anticorpos IgM e IgG anti-*T. gondii* (RIFI), eliminação e quantificação de oocistos (flutuação em solução de sacarose), leucograma e subpopulações de linfócitos TCD4+ e CD8+ (citometria de fluxo). Outros dois grupos, um apenas infectado com o VIF (n=7) e outro não infectado com nenhum dos agentes (n=3), constituíram grupos controle. O período de eliminação e quantidades de oocistos eliminados foram semelhantes entre os grupos que receberam *T. gondii*, respectivamente p=1,00/p=0,201. O período de soroconversão e a duração dos títulos de IgM e IgG também foram semelhantes, respectivamente p=0,535/p=0,789/p=0,674/p=0,123. No entanto, episódios febris e apatia foram mais frequentes entre os gatos co-infectados do que entre aqueles não infectados com o vírus, embora estes últimos apresentaram diarreia mais frequente. Um animal co-infectado desenvolveu uveíte anterior unilateral autolimitante. Exclusivamente no grupo co-infectado, durante todo o experimento, observou-se aumento de leucócitos (p=0,047), linfócitos (p=0,029) e linfócitos TCD8+ (p=0,047) em relação aos gatos do grupo infectado apenas pelo *T. gondii*. O grupo de gatos infectados somente pelo VIF apresentou diminuição de linfócitos TCD4+ (p=0,031) em comparação ao grupo controle não infectado com nenhum dos agentes, evidenciando a ação do vírus em

destruir essa subpopulação de linfócitos. A relação de linfócitos TCD4/CD8 entre os grupos infectados pelo VIF, e os grupos não infectados pelo vírus, foi alterada ($p < 0,001/p = 0,02$ respectivamente), observando-se que a infecção toxoplásmica não teve influência sobre esse parâmetro. O aumento dos linfócitos TCD8+ supressores nos gatos co-infectados pode contribuir para o desenvolvimento de manifestações clínicas mais graves nos gatos infectados por ambos os agentes infecciosos.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, Imunodeficiência Felina, gatos, coinfeção

Suporte financeiro: FAPESP

**TRANSMISSÃO CONGÊNITA DE *Toxoplasma gondii* EM CABRA
EXPERIMENTALMENTE INFECTADA COM SÊMEN CONTAMINADO COM
TAQUIZOÍTOS DA CEPA “CPG”**

FS Wanderley¹, WJN Porto², DR Câmara², NLN Cruz², BCO Feitosa², PPF Albuquerque³,
ÉPBX Moraes³, RA Mota³

¹Programa de Pós- graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. ²Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa, AL. ³Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. Email: Catarina-feitosa@hotmail.com

Neste estudo duas cabras foram inseminadas com sêmen fresco contaminado com 1×10^5 taquizoítos da cepa CPG de *Toxoplasma gondii* com o objetivo de detectar a transmissão congênita do parasito via sêmen. Para confirmar a infecção das cabras foi empregada a reação de imunofluorescência indireta e para comprovar a transmissão congênita foi utilizada a reação em cadeia da polimerase em amostras de sangue e órgãos (fígado, baço, rins, medula, cérebro, pulmão, coração) dos cabritos. Uma das duas cabras inseminadas apresentou anticorpos anti *T. gondii* no dia 14 (título 64) e reabsorção embrionária no dia 46 pós-inseminação verificada por meio de exame ultrassonográfico. A outra cabra não soroconverteu, contudo foi positiva na PCR de sangue no dia 7 pós-infecção, confirmando a transmissão do *T. gondii*. Esse animal pariu a termo dois cabritos saudáveis e positivos na PCR de sangue, rim, medula, cérebro, coração, fígado, baço e placenta. Registra-se a transmissão congênita de *T. gondii* para cabritos nascidos de cabra infectada com sêmen contaminado com taquizoítos da cepa CPG.

Termos de indexação: Toxoplasmose, cabra, sêmen

Orgãos de financiamento: FAPEAL, FACEPE, CNPq

5,7,8-TRIMETHYL-1,4-BENZOXAZINE ANALOGUES ARREST *Toxoplasma gondii* PROLIFERATION *IN VITRO*

ES Martins-Duarte^{1,2}, E Koini³, T Calogeropoulou³, W de Souza^{1,2,4}, RC Vommaro^{1,2}

¹Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. ²Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Biologia Estrutural e Bioimagens, Rio de Janeiro, Brazil. ³Institute of Organic and Pharmaceutical Chemistry, National Hellenic Research Foundation, Athens, Greece. ⁴Diretoria de Programas, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - Inmetro, Rio de Janeiro, Brazil. Email: erica@biof.ufrj.br

The antiproliferative effect of 7 analogues possessing different substituents on the 5,7,8-trimethyl-1,4-benzoxazine scaffold (no substitution; C2; C3; C4; C6; C2 and C6) against *T. gondii* infected LLC-MK₂ cells *in vitro*. Excepting the non-substituted 5,7,8-trimethyl-1,4-benzoxazine all the other compounds showed activity against *T. gondii*, with IC₅₀ values at micromolar range. The analogue with substitution at C2 and C6 was the most active, inhibiting *T. gondii* tachyzoites proliferation with IC₅₀ of 3.1μM and 0.8nM after 24 and 48h of treatment, respectively. The analogues possessing a unique substituent at C2 or C6 inhibited *T. gondii* proliferation with IC₅₀ of 4.1μM and 2.5μM after 48h, respectively. The ultrastructural analysis by transmission electron microscopy of infected cells treated with the C2 and C6 disubstituted analogue showed several cellular damages. The mitochondrion, apicoplast and Golgi complex were the principal organelles affected. Mitochondrion and Golgi complex were also affected after treatment with C6 substituted analogue. C2 substituted affected apicoplast and parasite division. Currently the *in vivo* effect of C2 and C6 disubstituted analogue is under investigation.

Supported by: CNPq and Faperj

IDENTIFICATION OF *TOXOPLASMA GONDII* IN LIVER OF OVINE DESTINED FOR HUMAN CONSUMPTION IN RIO DE JANEIRO, BRAZIL

F.B.F.SILVA¹; A.F. SILVA²; E. FRAZÃO-TEIXEIRA³; F.C.R. OLIVEIRA³; A.L. JIMENEZ-SANZ³, A.M.R. FERREIRA²

¹Universidade Federal Fluminense (UFF), Faculdade de Medicina, PPG Patologia Humana e Veterinária. ²Universidade Federal Fluminense (UFF), Faculdade de Medicina Veterinária, Laboratório de Anatomia Patológica. ³Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Laboratório de Sanidade Animal. E-mail: anatopatovet@vm.uff.br

In sheep, the protozoan *Toxoplasma gondii* was first described in 1942 for Olafson & Monlux (OGAWA et al. 2003). In this species the infection occurs primarily through ingestion of infective oocysts present in food and contaminated soil (MOTTA et al. 2008). One of the routes human infection occurs by ingestion of meat and / or viscera raw and undercooked with cystic forms of the parasite (VIDOTTO et al. 1990; NAVARRO et al. 1992), including sheep meat (SILVA et al., 2012). Considering the consumption of sheep liver in some commercial areas of Rio de Janeiro (RJ), we analyzed liver fragments from 25 ovines from a clandestine slaughter house located in the State of Rio de Janeiro. DNA was extracted and *T. gondii* B1 marker identified. The result of this PCR showed that 12% (3/25) of the samples were positive. Considering that not only the liver but other organs are infected by the parasite and consumed by humans, we might consider that human infection by *T. gondii* through ingestion of infected sheep meat is possibly important in this state. The information of the occurrence of toxoplasmosis in animals intended for human consumption is of great value in preventing this zoonosis.

Keywords: zoonosis, human, toxoplasmosis, consumption, viscera

Financial support: FAPERJ, CAPES, CNPq

**LINFADENOPATIA ASSOCIADA À TOXOPLASMOSE AGUDA:
DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO EM UM GRUPO DE PACIENTES
ATENDIDOS NO INSTITUTO EVANDRO CHAGAS, ANANINDEUA, PARÁ –
RESULTADOS PRELIMINARES**

BDL Mota^{1,2}, RAPB Morais¹, NSS Monteiro¹, RR Marinho¹, AS Oliveira¹, CNC Bichara², MM Póvoa¹, EL Carmo¹

¹Laboratório de Toxoplasmose, Instituto Evandro Chagas/SVS/MS, Ananindeua-PA.

²PIBIC-IEC/CNPq. E-mail: brunamota@iec.pa.gov.br

A Toxoplasmose, infecção causada pelo *T. gondii*, é uma protozoose de alta prevalência no mundo. Geralmente poucos indivíduos infectados apresentam quadro clínico sugestivo, contudo naqueles que apresentam, a manifestação clínica mais comum é a linfadenopatia, principalmente com localização na região cervical posterior, apesar de outros grupos de gânglios possam ser afetados. Estima-se que menos de 10% dos casos de linfadenopatias sem causa determinada, sejam decorrentes de toxoplasmose aguda, que pode vir acompanhada também de febre e/ou outros sintomas sistêmicos. Na maioria dos pacientes imunocompetentes, devido as características clínicas da infecção aguda, em geral o diagnóstico é laboratorial, por meio da sorologia específica. Assim, o presente estudo tem como objetivo principal realizar a confirmação, pela sorologia, da associação do quadro linfadenopático e a infecção aguda por *T. gondii*, em um grupo de pacientes atendidos no Instituto Evandro Chagas, Ananindeua-Pará. A amostra foi constituída por pacientes com quadro de linfadenopatia atendidos no Setor de Atendimento Médico Unificado (SOAMU) do Instituto Evandro Chagas. Conforme protocolo de atendimento e coletas do SOAMU, foram obtidas alíquotas de soro de cada paciente incluído no estudo. Essas alíquotas foram testadas pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e/ou pelo ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de IgG e IgM anti-*T. gondii*. Entre janeiro e outubro de 2012 foram avaliados 410 pacientes. Destes, 11,22% (46/410) apresentaram perfil sorológico de infecção aguda (IgG e IgM reagentes). Os demais apresentaram perfil de infecção crônica (48,0%; 197/410) ou de ausência de infecção pelo *T. gondii* (40,75%; 167/410). Até o momento, apesar da baixa frequência de pacientes com quadro linfadenopático associado com perfil sorológico de toxoplasmose aguda, fica demonstrada a importância da inclusão da sorologia para toxoplasmose na análise diagnóstica diferencial em pacientes com essa manifestação clínica, fato que permite o tratamento adequado dos mesmos, minimizando assim a evolução para formas mais graves, principalmente a nível ocular.

Palavras-Chave: Toxoplasmose aguda; linfadenopatia; sorologia.

Fonte Financiadora: IEC/SVS/MS; CNPq.

ESTUDO BIOLÓGICO E MOLECULAR DE ISOLADOS DE *Toxoplasma gondii* OBTIDOS DE RECÉM-NASCIDOS COM TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM MINAS GERAIS REVELAM ISOLADO INCOMUM

BV Pinheiro¹, ACV Carneiro¹, Costa JGL¹, Tavares A¹, Vítor RWA¹

¹Departamento de Parasitologia, ICB, UFMG, Belo Horizonte, MG.

E-mail: brenovpinheiro@hotmail.com

Toxoplasma gondii é um parasito intracelular obrigatório e causador da toxoplasmose, infecção prevalente em todos os continentes. A infecção é, na maioria dos casos, assintomática. Entretanto, a transmissão congênita é responsável por quadros clínicos graves, como abortos, natimortos, debilidade e mortalidade de recém-nascidos humanos. Recentemente, 26 cepas de *T. gondii* de recém-nascidos com toxoplasmose congênita foram isoladas (Carneiro et al, 2013, submetido). Estes isolados apresentaram diferentes perfis de virulência em camundongos BALB/c, além de genótipos recombinantes quando analisados por PCR-RFLP (Su et al, 2006). Um dos isolados (TgCtBR16) não apresentou genotipagem conclusiva pela ocorrência de produtos de digestão extremamente polimórficos, além da não amplificação para alguns marcadores. O exame do cérebro dos animais após 30 dias de infecção com esse isolado não mostrou parasitos na forma clássica de cistos teciduais e sim grupos numerosos de parasitos intracelulares, identificados por exame a fresco e confirmados por exame histopatológico (H&E). Um inóculo em camundongos SWISS, com dez dessas estruturas obtidas de cérebro de camundongos previamente infectados com esse isolado, infectou apenas um entre dez animais, quando inoculados pela via oral. Por outro lado, todos os camundongos inoculados pela via intra-peritoneal tiveram a infecção confirmada por exame parasitológico do líquido ascítico, ELISA e bioensaio. Estudos complementares com esse isolado estão sendo realizados em linhagens isogênicas de camundongos e com diferentes doses infectantes pela via oral. Análises histopatológicas do intestino, com 7 e 12 dias de infecção, e cérebro, após 30 dias de infecção, de camundongos BALB/c e C57BL/6 também estão sendo realizadas. Para essas análises, estão sendo utilizados, além do isolado mencionado, outros dois obtidos de casos humanos de toxoplasmose congênita, os quais apresentam comportamentos polares de virulência em camundongos: TgCTBr5, avirulento para camundongos, (genótipo BRIII, segundo Pena et al. 2008), isolado de um recém-nascido com toxoplasmose congênita

assintomática; e TgCTBr9, virulento para camundongos (tipo BR11), isolado de um recém-nascido com toxoplasmose grave.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*, isolados humanos, toxoplasmose experimental, histopatologia.

Suporte Financeiro: CNPq

SOROPREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE HUMANA NO MUNICÍPIO DE NOVO REPARTIMENTO, ESTADO DO PARÁ, BRASIL

EL Carmo¹; AS de Oliveira^{1,2}; BDO Mota^{1,2}; JE Figueredo¹; MC Figueredo³; CSA
Neves¹; RR Marinho¹; NSS Monteiro¹; CNC Bichara¹; MM Póvoa¹.

1. Laboratório de Toxoplasmose-IEC/SVS/MS, Ananindeua-Pará; 2. PIBIC-
FAPESPA/IEC; 3. Laboratório BIOLAB, Novo Repartimento-Pará. **E-mail:**
edicleicarmo@iec.pa.gov.br

No Brasil a soroprevalência da infecção pelo *Toxoplasma gondii* varia de 50% a 80%, dependendo da região estudada. No Estado do Pará, as principais informações epidemiológicas sobre a infecção estão concentradas na Região Metropolitana de Belém, onde a soroprevalência é superior a 70%. A extensão dos estudos para outras localidades do Estado, incluindo áreas rurais próximas ao ambiente silvestre, é fundamental para melhor entendimento da epidemiologia da infecção na região. O objetivo da investigação foi determinar a soroprevalência de toxoplasmose humana no Município de Novo Repartimento, sudeste do estado do Pará. Foi realizada avaliação transversal descritiva em uma amostra da população do município. Os indivíduos foram randomicamente selecionados na demanda do laboratório local de análises clínicas (BIOLAB). Após procedimentos éticos de consentimento e obtenção de informações pessoais e epidemiológicas, foram feitas coletas de sangue para obtenção de alíquotas de soro, para a pesquisa de anticorpos IgG e IgM anti-*T. gondii* pela reação de imunofluorescência indireta. A associação entre a soroprevalência e as variáveis epidemiológicas como possíveis fatores de risco foi avaliada pela análise univariada. Entre 07/2010 e 03/2012 foram incluídos no estudo 427 indivíduos de ambos os sexos e com idade de 2 a 72 anos. A soroprevalência foi de 81,97% (350/427), sendo 81,27% (347/427) dos indivíduos com perfil de infecção pregressa e 0,70% (3/427) com perfil sugestivo de infecção recente. A taxa de suscetibilidade foi de 18,03% (77/427). Em relação às diferentes faixas etárias dos indivíduos, observou-se aumento da soroprevalência com a idade ($p=0,00001$). Quanto às demais variáveis, apenas duas apresentaram associação significativa com a soropositividade: “Contato com gatos na vizinhança” ($p=0,03$) e “Consumo de carne de caça” ($p=0,0008$). A alta soroprevalência da toxoplasmose em Novo Repartimento indica a frequente circulação e transmissão do parasito nessa área; o contato com gatos na vizinhança das casas e o consumo de carne de caça foram os principais fatores de risco para a infecção na amostra estudada. Há necessidade da implantação de medidas de vigilância para esse agravo no município, contemplando principalmente o rastreamento sorológico em grupos considerados de risco (gestantes e imunodeprimidos).

Palavras-Chave: Toxoplasmose; soroprevalência; Novo Repartimento.

Fonte Financiadora: CNPq/Universal (Nº 484537/2006-07); IEC/SVS/MS.

**IgG AND SUBCLASSES EVALUATION IN CEREBRAL TOXOPLASMOSIS/AIDS
USING TWO *Toxoplasma gondii* ANTIGENS**

G Motoie¹, CS Meira¹, JE Vidal², VL Pereira-Chioccola¹

¹Laboratório de Biologia Molecular de Parasitas, Instituto Adolfo Lutz. ²Instituto de Infectologia
Emílio Ribas, São Paulo, SP. Email: gabimotoie@ig.com.br

Some studies suggest that high titers of IgG antibodies have important diagnostic value in cerebral toxoplasmosis and point the importance of the study of such antibodies. This study evaluated IgG and subclasse levels in cerebral toxoplasmosis (CT/AIDS) in serum and cerebrospinal fluid (CSF). We evaluated 265 sera divided into: Group I (58 with CT/AIDS), II (49 AIDS/other neuroinfections/positive toxoplasmosis), III (58 AIDS/other neuroinfections/negative toxoplasmosis), IV (50 positive toxoplasmosis/negative HIV) and V (50 healthy/negative toxoplasmosis and HIV). CSF - 270 samples from patients with AIDS divided into: Group I (99 CT), II (112 other neuroinfections/positive toxoplasmosis) and III (59 other neuroinfections/negative toxoplasmosis). We used the tachyzoite lysate antigen (TLA) and the excreted / secreted antigens (ESA) of *T. gondii*. The samples were analyzed by ELISA and the results expressed as "relative value" (sample OD / cut-off OD). Using TLA, IgG levels were not statistically significant between Groups I, II and IV (ELISA-relative values \pm standard deviation were 8.9 ± 0.35 , 8.7 ± 0.28 and 8.4 ± 0.35 respectively). Only high levels of IgG1 in the serum and CSF samples were detected. With ESA, the Group I samples showed high levels of IgG (12.8 ± 0.21) compared to Groups II and IV (4.2 ± 0.35 and 4.1 ± 0.21 respectively), low levels of IgG1, high production of IgG2 in individuals chronically infected and IgG4 in the patients with CT / AIDS. In groups III and V no detection of subclasses studied using both antigens. The concentrations of IgG subclasses anti-TLA were similar in all groups of patients with toxoplasmosis. ESA triggered the production of IgG2 in chronically infected individuals, which may be explained due to control of the infection, with a profile of Th1 and Th2 to contain an exacerbated Th1 response. IgG4 in patients with CT / AIDS reflects that there is a profile of immune response that predisposes to infection since IgG4 has its production inhibited by IFN- γ , does not activate complement and effector function is reduced compared to other IgG subclasses.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; ESA; IgG subclasses; cerebral toxoplasmosis

Financial Support: FAPESP

EVALUATION OF NESTED PCR FOR MOLECULAR DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS

R Gava¹, CS Meira¹, G Motoie¹, JE Vidal^{2,3}, CCB Mattos⁴, LC Mattos⁴, FB Frederico⁵, VL Pereira-Chiocola¹

¹Instituto Adolfo Lutz. ²Instituto de Infectologia Emílio Ribas. ³Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. ⁴Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto.

⁵Hospital de Base-Fundação Faculdade Regional de Medicina.

^{1,2,3} São Paulo; ^{4,5} São José do Rio Preto, SP, Brasil. E mail: gava44@gmail.com.

The molecular diagnosis of active forms of toxoplasmosis has collaborated for rapid and specific treatment, thus avoiding serious damage caused by *Toxoplasma gondii*. The conventional Polymerase Chain Reaction (cPCR) has been successfully used to detect parasite DNA molecules in different biological fluids such as blood, cerebrospinal fluid (CSF) or amniotic fluid (AF). However, when the parasitic load is low, false negative results are shown frequently, reducing the sensitivity. Aiming to improve the molecular diagnosis of toxoplasmosis, this study evaluated the performance of nested PCR (nPCR) to detect *T. gondii* DNA in clinical samples from patients clinically suspected of active toxoplasmosis. We analyzed 171 clinical samples with defined clinical diagnosis: 8 newborns with congenital infection, 23 pregnant women with acute infection, 74 patients with ocular toxoplasmosis, 43 patients with cerebral toxoplasmosis and Aids, 3 patients with toxoplasmosis reactivation after renal transplantation, and 20 individuals toxoplasmosis negative. The DNA molecules were extracted from blood, AF and CSF samples using specific kits. As PCR control, a specific region of beta-globin gene was also amplified. A specific sequence of 115 bp from *BI* gene was amplified using the marker B22/B23 in the cPCR. Amplified products from samples which showed weak or negative bands were re-amplified using the same marker for 10 cycles (nPCR). The 20 DNA samples from individual's toxoplasmosis negative were negative for toxoplasmosis in both reactions. Out of the 151 DNA samples from patients with toxoplasmosis, 45/151 (30%) were positive and 106/151 (70%) were negative in cPCR. From the 106 negative samples re-amplified in nPCR, 41/106 (39%) were positive. Consequently, 86/151 (57%) samples were positive after both procedures. These data show that the introduction of nPCR in toxoplasmosis molecular diagnosis increased the chances of detecting the parasite in samples from patients, especially with low parasitic load.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; active toxoplasmosis; molecular diagnosis

Financial Support: FAPESP and CNPq.

EPIDEMIOLOGY OF TOXOPLASMOSIS IN CHILDREN AND THE RESPECTIVE MOTHER IN HIGHLY ENDEMIC AREAS IN BRAZIL

BM Mangiavacchi¹, LM Martins¹, CNC Bichara², LMGB Oliveira¹

¹Laboratório de Biologia do Reconhecer, Centro de Biociências e Biotecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ.

²Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade do Estado do Pará, Belém, PA.

Email: bmagnelli@gmail.com

Toxoplasmosis is a zoonotic disease highly prevalent in the world. Previous epidemiological data on toxoplasmosis in Campos dos Goytacazes, revealed that the prevalence in the age group of 0 to 4 years is much lower than previously thought. This fact motivated us to study in more detail the clinical presentation of the disease in this age group especially in the low-income population that is continuously exposed to environmental contamination not only in Campos but also in Belem where the prevalence in the adult population is very high. For this study blood samples from mothers and their children aged from 0 to 4 years old, living in Belem, were collected and also, a questionnaire containing several questions about risk factors for toxoplasmosis were applied to the mothers. The evaluation of the presence of IgG and IgM anti-*T.gondii* was performed by chemiluminescence assay. The seroprevalence of toxoplasmosis in mothers was 72,57% (82 out of 113 mothers) and 18,1% among children (19 out of 105 children). The prevalence of toxoplasmosis by age groups is similar among mothers in the age range of 14 to 49 years, being more prevalent in the age range of 10 to 20 years. Furthermore there is an age range between 11 and 30 months, which is not detected the presence of IgG anti-*T. gondii* in the serum of those children. However, the prevalence in such age range (between 0 and 10 months) can be explained by the presence of maternal specific IgGs as suggested by the absence of specific IgM antibodies against the parasite in those children. Regarding to the risk factors evaluated, only the age range lower than 3 months, presented as significantly correlated with toxoplasmosis. However, it must be considered that children in the age range of 0 to 3 months most likely are positive by the presence of specific maternal IgG present in their sera, this fact is reinforced by observation that none of those infants are IgM positive to toxoplasmosis.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; children; epidemiology; Brazil

Financial Support: FAPERJ, CAPES

**CANINE TOXOPLASMOSIS ON THE BORDER OF BRAZIL, ARGENTINA
AND PARAGUAY: SEROPREVALENCE IN DOMICILED DOGS FROM FOZ
DO IGUAÇU CITY, BRAZIL.**

RCF Dias¹, AKS Pasquali¹, ET Caldart¹, RL Freire, IT Navarro¹.

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina,
Londrina, PR. Email: alinesbruzzi@gmail.com

A seroprevalence of IgG anti-*Toxoplasma gondii* antibodies was determined in domiciled dogs from Foz do Iguaçu city - Paraná State. The dogs selected were those located in residences of six urban localities (Vila Carimã, Jardim Cataratas, Ponte Internacional Tancredo Neves, Jardim das Flores, Profilurb e Jardim Santa Rosa) bordering Argentina and Paraguay. Serum samples of 349 dogs were collected on 14th to 18th may 2012. Indirect immunofluorescence assay was used to detect anti-*T. gondii* antibodies, with a cutoff point of 16. Of the 349 samples, 164 (46.99%) were positive for *T. gondii*, 23 (14.02%) had titers of 16, 49 (29.87%) of 64, 64 (39.02%) of 256, 26 (15.85%) of 1024 and 2 (1.2%) of 4096. Foz do Iguaçu is a city of great migration flux of people and animals, and has different cultural habits. Canine toxoplasmosis enters in this context as a sentinel for human infection. The dog can be a biological indicator by the common feeding between animal and owner, due to eating raw or undercooked meat containing cysts, or raw vegetables contaminated with oocysts. The results represent a high prevalence of this zoonotic disease, demonstrating its importance for public and animal health.

Keyword: *Toxoplasma gondii*, border, prevalence, countries.

Financial support: CAPES, CNPq and Fundação Araucária – PR

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* EM
EQUINOS DAS MESORREGIÕES SERRANA E LITORÂNEA DO ESTADO
DE SANTA CATARINA**

MO Silva¹, RA Ossani¹, JP Matiello¹, AP Souza¹, AA Sartor¹, V Bellato¹, AB Moura¹

¹Centro de Ciências Agroveterinárias (CAV) - Universidade do Estado de Santa
Catarina (UDESC), Lages, SC. Email: reossani@yahoo.com.br

A toxoplasmose é uma antropozoonose parasitária, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. Os equinos estão entre as espécies domésticas mais resistentes à infecção, porém em infecções agudas podem apresentar sintomas como hiperirritabilidade, incoordenação motora, distúrbios oculares e aborto. Com os objetivos de determinar a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* e identificar possíveis fatores de risco para a infecção em cavalos de duas mesorregiões do estado de Santa Catarina (Serrana e Litorânea), 615 amostras de sangue (311 provenientes da região serrana e 304 do litoral) foram colhidas. Um questionário epidemiológico foi aplicado para a identificação de possíveis fatores de risco. A pesquisa de anticorpos foi realizada por meio da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI $\geq 1:64$) utilizando como antígeno taquizoítos da cepa RH do protozoário. Os dados foram analisados pelos testes exato de Fisher e χ^2 ($P < 0,05$) para verificar correlação entre soropositividade e distúrbios reprodutivos, contato com outros animais, idade, sexo, região, raça e problemas neurológicos. A ocorrência geral de animais positivos foi de 10,4% (64/615), com as regiões Serrana e Litorânea apresentando 10,3% e 10,5% de animais positivos, respectivamente. Não foi observada diferença ($P > 0,05$) entre as regiões e nem correlação entre a soropositividade e as variáveis analisadas.

Palavras – chave: *Toxoplasma gondii*; equinos; RIFI.

VIGILANCIA DA TRANSMISSÃO VERTICAL DA TOXOPLASMOSE

M Castilho-Peres¹, EEI Nagahama², DC Arruda², LT Higa², AL Falavigna-Guilherme³.

¹Secretaria Estadual da Saúde do Paraná /15ª Regional, PR, ²Hospital Universitário de Maringá, PR ³Universidade Estadual de Maringá, PR. Email: cellacpp@sesa.pr.gov.br

Comunicado da implantação da vigilância epidemiológica da toxoplasmose em gestante e congênita nos 30 municípios da 15ª RS/SES-PR. Embora sua frequência possa ser semelhante à sífilis e sua transcendência comparável à infecção pelo HIV, uma vez que de igual modo o *Toxoplasma gondii* é um parasita intracelular obrigatório, sua magnitude tem sido menos impactante na medida em que as gestantes são quase sempre assintomáticas, nem todos os neonatos manifestam a síndrome completa e parte das lesões nem sempre são detectáveis logo ao nascimento. Os casos suspeitos foram diagnosticados pelo screening pré-natal que, no Paraná desde 2006, incluiu a pesquisa das Imunoglobulinas IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* no Lepac/UEM, seguida da confirmação na mesma amostra pelo Teste de Avidéz da IgG no Lacen-PR. Mantendo a vinculação da gestante na atenção primária, o ambulatório de referência especializada do Hospital Universitário de Maringá atendeu entre 2010 a 2012 cerca de 300 encaminhamentos de mães residentes e não-residentes, aliado à procura espontânea incluindo demanda da rede privada. A equipe multidisciplinar reuniu evidências; estabeleceu e/ou validou diagnóstico da infecção aguda recente; priorizou e selecionou a intervenção terapêutica materno-fetal amparada na análise criteriosa da cronologia da gestação, cinética dos anticorpos e investigação pelo PCR do líquido amniótico; solicitou ao CEMEPAR a liberação dos medicamentos e fez a contra-referência para a origem, acompanhando o desfecho final na criança exposta assistida no ambulatório infantil. O núcleo de epidemiologia hospitalar realizou as notificações conforme a Portaria GM/MS 104/2011; a instância regional levantou informações laboratoriais, evidenciando 72 gestantes susceptíveis, 51 em fase aguda recente e 158 crônica/intermediária do total de 281 exames cadastrados; foram incluídos 109 casos na base de dados do SINAN. Amparando o seguimento, foi elaborada uma ficha epidemiológica considerada instrumento essencial de comunicação entre os pontos de atenção. Foi estruturada a rede sentinela de vigilância da transmissão vertical da toxoplasmose na região, que fortalecida pela articulação interna e implantação da Rede Mãe Paranaense, objetiva dar sequência a validação das notificações e a gestão dos casos, enfocando a evitabilidade da transmissão pela prevenção primária nas gestantes susceptíveis e redução de óbitos e danos tissulares irreversíveis na coorte de sobreviventes à exposição gestacional.

Palavras-chave: Toxoplasmose; Transmissão vertical; Vigilância epidemiológica.

**RESULTADOS PRELIMINARES DA OCORRÊNCIA DE *TOXOPLASMA GONDII*
EM OVINOS CRIADOS NO ESTADO DE SERGIPE**

NC GAETA¹, SM GENNARI¹, H RIZZO¹, EMC VILLALOBOS², HFJ PENA¹, L
GREGORY¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP ² Instituto Biológico
de São Paulo, SP. Email: lgregory@usp.br

O Brasil é considerado um país com condições climáticas ótimas para o desenvolvimento da criação de ovinos, principalmente na região Nordeste. Enfermidades como a Toxoplasmose são importantes devido aos prejuízos que acarretam para o produtor, dado o número de abortamentos decorrentes da doença em ovinos. O objetivo desta pesquisa foi de estudar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* no estado de Sergipe devido a escassez de pesquisas nesta área na região. A metodologia empregada foi a imunofluorescência indireta com o ponto de corte de 1/64, tanto na triagem quanto na titulação. Utilizou-se programa Minitab® 1.6 e o teste estatístico qui-quadrado para comparação das médias das variáveis estudadas. Analisou-se 842 amostras, sendo que 430 delas (51,37%) mostraram-se sororeagentes com diferentes titulações. Encontraram-se associações entre a positividade dos animais e o “regime de criação”, a criação extensiva possui maior número de sororeagentes ($p=0,02$). A “presença de aves na propriedade” ($p=0,003$) foi relacionada com a presença de positivos no teste. Na variável “período de gestação em que ocorre aborto”, no terceiro terço, a ocorrência foi maior ($p=0,008$). Com relação a “idade”, “manejo reprodutivo”, “alimentação” e “tipo de terreno” encontrou-se relação positiva, respectivamente, entre animais de um e três anos ($p=0,025$), a monta natural ($p=0,031$), animais que se alimentam de pastagem ($p=0,00$), propriedades com terreno acidentado alagado ($p=0,00$). Existe ainda, uma tendência, ou seja, $0,05 < p < 0,1$ a associação entre a positividade dos animais e a variável “Microrregião”, com o a região do litoral sergipano com maior associação. No presente estudo conclui-se que há ocorrência de 51,37% de animais sororeagentes para *Toxoplasma gondii* nas diferentes regiões Estado de Sergipe, Brasil.

Palavras chave: toxoplasmose, aborto, doenças da reprodução.

MAGNETIC MICROSPHERES FOR FLUORIMETRIC SPECIFIC IgG DETECTION IN HUMAN TOXOPLASMOSIS

JP Rodrigues e HF de Andrade Junior

Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, IMTSP, São Paulo, SP. Email:

jaquelinepolizeli@usp.br

Toxoplasmosis is a low morbidity but high prevalent parasitic infection, resulting in highly dispersed affected people, mainly with ocular disease; or fetal infections and encephalitis in immune deficient patients. Specific antibody detection is the main diagnosis, with different commercial tests, but low thresholds and individual variation cause frequent inconsistencies. New fluorimetric immunoassays have been described using conjugates with high performance fluorophores in microplates or in liquid arrays systems as magnetic particles, allowing detection with direct and linear quantification of specific antibody. Those techniques allow high throughput protocols, as necessary in screening of toxoplasmosis in pregnant women. We devise and standardize a fluorimetric immunoassay in magnetic microspheres for detection of specific IgG anti-*Toxoplasma gondii*. Magnetic particles coated reactive amines (-NH₂) were subjected to activation with the amine-reactive N hydroxysulfosuccinimide (NHS) ester cross-linker homobifunctional BS³ for subsequent coupling of purified human IgG as control or soluble tachyzoite antigen extract. The standardization optimum conditions was cross-linker BS³ at 10µM, pH 10 human IgG at a concentration of 100µg/mL or *T.gondii* antigen at 20µg/ml, with subsequent glycine 0.125mM blocking. Those particles are tested with serum samples previously screened by the ELISA for detection of specific IgG anti-*T.gondii*. The fluorimetric immunoassay with magnetic particles show high discrimination between serum samples positives and negatives for specific IgG anti-*T.gondii*. From the standardization coupling of *T.gondii* antigen in magnetic microspheres, new multiplex methods can be prepared in order to obtain a quick, simply and efficiently serological test, using smaller amounts of sample, allowing simultaneous detection of several classes of antibodies, such as IgG, IgM and IgA, useful in high throughput applications as antenatal care or epidemiological studies in human toxoplasmosis.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; magnetic particles, fluorimetric immunoassays.

Financial Support: LIMHCFMUSP & CAPES.

DISTÚRBIOS REPRODUTIVOS EM CABRAS EXPERIMENTALMENTE INFECTADAS COM SÊMEN CONTAMINADO POR *Toxoplasma gondii*

FS Wanderley¹, WJN Porto², DR Câmara², RL Freire⁴, PC Kim³, PPF Albuquerque³, SG de Sá³,
RA Mota³

¹Programa de Pós- graduação em Biociência Animal, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. ²Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Alagoas, Viçosa, AL. ³Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE. ⁴Departamento de Medicina Veterinária preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR. Email: rinaldo.mota@hotmail.com

O objetivo deste estudo foi caracterizar as desordens reprodutivas na fase crônica da infecção experimental de cabras com sêmen contaminado com taquizoítos da cepa “CPG” (genótipo III) de *Toxoplasma gondii*. Dez cabras foram distribuídas em dois grupos (G1 e G2), cada um com cinco animais e inseminadas após a sincronização do estro. As cabras do G1 foram inseminadas com sêmen contendo 1×10^5 taquizoítos, enquanto as do G2 foram inseminadas com sêmen livre de taquizoítos (controle). Para confirmar a infecção foi utilizada a reação de imunofluorescência indireta para pesquisa de IgG anti-*T. gondii*. Todas as cabras (G1 e G2) ficaram gestantes, sendo observada reabsorção embrionária em 4/5 cabras do G1 e 1/5 levou a gestação a termo. Todas as cabras do G1 que soroconverteram e apresentaram reabsorção embrionária foram rufiadas por até 60 dias para detecção de estro e foi realizado acasalamento por meio da monta natural já na fase crônica da infecção. As patologias observadas nas cabras do G1 foram: anestro em 2/4 cabras e as outras duas foram acasaladas e não gestaram. Os exames ultrassonográficos demonstraram hidrossalpinge em 1/2 acasalada e cisto ovariano em 1/2 que apresentou anestro. Em conclusão, a infecção por *T. gondii* por meio da inseminação artificial vaginal com sêmen contaminado com taquizoítos de *T. gondii* infecta cabras, causando patologias reprodutivas na crônica da infecção.

Palavras-chave: Toxoplasmose, cabras, patologias reprodutivas

Orgãos de financiamento: FAPEAL, FACEPE, CNPq

**PERFORMANCE OF DIFFERENT METHODS FOR MOLECULAR
DIAGNOSIS OF CONGENITAL TOXOPLASMOSIS**

LE Teixeira, KA Kanunfre, LS Targa, PT Shimokawa, JC Rodrigues, W Domingues, L Yamamoto, TS Okay.

Laboratory of Seroepidemiology and Immunobiology, Institute of Tropical Medicine, University of São Paulo, Brazil. E-mail: kanunfre@usp.br

The present study has aimed to compare four PCR-based techniques for the diagnosis of congenital toxoplasmosis and determine their sensitivity (Se), specificity (Sp), positive and negative predictive values (PPV, NPV), positive and negative likelihood ratio (PLR, NLR), and efficiency (Ef). Amniotic fluid samples were obtained by ultrasound-guided amniocentesis of women with seroconversion during pregnancy, in São Paulo, Brazil. After DNA extraction, the following amplifications were performed with B1 gene primers: DNA-PCR (JW62/63); DNA-nested PCR (JW62/63 and B22/B23); multiplex-nested PCR for *T. gondii* (JW62/63 and B22/B23), CMV, HSV and VZV; and Real Time PCR with SYBR Green (B22/B23). A case of congenital toxoplasmosis was confirmed at birth or at some point during the follow-up of 12 months. From the total of 100 cases, 59 had toxoplasmosis: 42 cases (71.2%) had positive IgM at birth; 4 cases (6.8%) had high IgG titers and signs/symptoms of infection; 8 cases (13.5%) had high IgG titers and chorioretinitis; 5 cases (8.5%) had high IgG titers and cranial ultrasonography abnormalities. Among the 59 confirmed cases, 50 were positive by DNA-PCR; 59 by DNA-nested PCR; 57 by multiplex-nested PCR and 58 by Real Time PCR. The Se, Sp, PPV, NPV, PLR, NLR and Ef were as follows: **DNA-PCR:** 84.4%, 100%, 100%, 82%, ∞, 0.153%, 91%; **DNA-nested-PCR:** 98.3%, 92.8%, 95.1%, 100%, 13.88%, ∞, 97%; **Multiplex-nested PCR:** 96.6%, 95.1%, 96.6%, 95.1%, 19.71%, 0.035%, 96%; **Real Time PCR:** 98.3%, 97.5%, 98.3%, 97.5%, 39.32%, 0.017%, 98%. Only the DNA-PCR should not be used due to the sensitivity <85%, since ceased to detect 09 positive cases. The DNA-nested-PCR in turn, despite detection of the 59 positive cases, showed specificity <95%, producing 4 false-positive results probably due to carryover contamination, which is a known drawback of nested amplifications. The multiplex-nested-PCR detected 1 case less than the DNA-nested PCR, even performed with the same primers, probably due to competition for reagents. The Real Time PCR detected 58 of 59 possible cases, and based on the 07 evaluated

parameters was the best performing test. Moreover, it has advantages over the run time, reducing the risk of carryover and handling of DNA intercalating substances.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, congenital toxoplasmosis, molecular diagnosis, PCR.

Funding: FAPESP 2010/15022-1; CNPq 2011-0/471479

**ROLE OF ANTIBODIES OF IMMUNIZED ANIMALS WITH *Toxoplasma gondii*
IRRADIATED TACHYZOITES TO PROTECT AGAINST BRAIN CYSTS IN
C57BL/6J MICE**

RC Forgado¹, AJ Galisteo Jr.¹, NE Zorgi¹, HF Andrade Jr.¹

¹Instituto de Medicina Tropical de São Paulo/USP, São Paulo, SP, Brasil.

Email: galisteo@usp.br

Abstract

Toxoplasma gondii is an intracellular protozoan of the phylum Apicomplexa, which causes toxoplasmosis, as definitive host has cats, whereas other species of mammals and birds are intermediate hosts. Infection with *T. gondii* naturally occurs through ingestion of raw or undercooked meat containing cysts or oocysts from cat faces. It is a disease usually asymptomatic, therefore rarely diagnosed, although of great importance to public health due to ocular cases and congenital transmission. Vaccines containing gamma-irradiated parasites have been used successful in mice immunization. Mice immunized with irradiated tachyzoites intraperitoneally, have an antibody response similar to infected animals, showing the preservation of their characteristics and provide immunity to the animals similar to a natural infection. We studied the role of IgG antibodies from animals (C57Bl/6j mice) immunized with 10^7 tachyzoites radiation-sterilized ($255\text{Gy}/^{60}\text{Co}$) *T. gondii* RH stain intraperitoneal (i.p), with 3-biweekly doses. Immunoglobulins were precipitated and incubated at 37°C for 3 hours with tachyzoites of *T. gondii* ME49 strain for the immune complex formation (antigen + antibody). The inoculum was conducted with two groups ($n = 5$) in C57BL/6J mice, which the first group received a dose of immune complex intraperitoneally and the control group a dose of tachyzoites ME49 i.p. After thirty days, the brain and blood of the animals were taken for antibody detection by ELISA and tissue cysts by conventional optical microscopy. The extracted DNA was subjected to polymerase chain reaction *real time* (qRT-PCR). After the challenge was possible to observe by optical microscopy the absence of tissue cysts in animals that received the immune complex and was confirmed by qRT-PCR that showed low parasitemia. With these results we can suggest that antibodies against *T. gondii*, produced by immunized animals with irradiated parasites, are effective in protecting and play an important role in the decrease of brain cysts in toxoplasmosis.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; ionizing irradiation; antibodies.

Financial Support: CNPq

**PESQUISA DE IgG ANTI - *Toxoplasma gondii* EM EXSUDATO CÁRNEO PARA
MONITORAMENTO DA QUALIDADE DA CARNE BOVINA**

MAM Marciano^{1,2}, LTAP Silva¹, HF Andrade Jr¹, LR Meireles¹

¹Laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, USP.

²Instituto Adolfo Lutz Central, São Paulo.

A toxoplasmose, causada pelo *Toxoplasma gondii*, é uma das infecções parasitárias sistêmicas mais prevalentes no mundo, atingindo aproximadamente um bilhão de pessoas, e parcela significativa do rebanho bovino destinado ao consumo humano. A ingestão de carne crua ou mal cozida, contendo cistos viáveis do agente, é uma das principais formas de transmissão da doença, sendo responsável pela ocorrência de vários surtos epidêmicos. Atualmente, não existe um serviço nacional de monitoramento da qualidade da carne e seus produtos para esta protozoose, já que a inspeção industrial é apenas macroscópica. Padronizamos um ensaio imunoenzimático (ELISA) para exsudato cárneo bovino, utilizando amostras de carne provenientes de bezerros experimentalmente infectados por *T.gondii*. Todas as amostras de exsudato foram testadas com concentrações equivalentes de sangue, determinadas por absorbância a 540nm. Após padronização em modelos experimentais, aplicamos o ensaio em cortes comerciais de carne bovina *in natura*, obtidas comercialmente (n=99), resultando numa positividade de 38,38% (38/99). Padronizamos, ainda, testes de aglutinação como hemaglutinação indireta (HI) e teste de aglutinação modificado (MAT) para avaliar a eficiência do exsudato cárneo no diagnóstico da toxoplasmose a partir de métodos mais rápidos, sem reagentes espécie-específicos e viáveis em condições a campo. Estes testes foram realizados com 89 amostras de exsudato bovino, previamente analisadas por ELISA. Ambos os testes, HI e MAT, apresentaram resultados falsos negativos, com menor sensibilidade, quando comparados ao ELISA, nosso padrão-ouro. Estes dados mostram que os testes de aglutinação, usando exsudato cárneo, devem ser rigorosamente padronizados e avaliados para aplicação como testes de triagem, já que eles podem sofrer ação inespecífica de constituintes do exsudato. Entretanto, técnicas mais sensíveis, como o ELISA, não sofreram esta interferência, já que os resultados obtidos em todos os nossos modelos de infecção experimental por *T.gondii* foram reprodutíveis e confiáveis. Nossos resultados mostram que a abordagem diagnóstica proposta, utilizando exsudato cárneo bovino como material biológico, representa um método importante e de fácil execução para o monitoramento da carne bovina em programas de controle sanitário, podendo contribuir diretamente com a prevenção da infecção humana e elucidação de surtos epidêmicos da doença.

Palavras chave: *Toxoplasma gondii*; Exsudato cárneo; Qualidade da carne; Ensaio sorológicos.

INFECÇÃO EXPERIMENTAL POR *Toxoplasma gondii* EM CASCAVEL
(*Caudisonadurissacollilineata*)

MG Lopes¹, HFJ Pena¹, GFSR Fournier¹, AD Cabral, PR Paiva², KF Grego², SM Gennari¹

1Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP.

2Laboratório de Herpetologia, Instituto Butantã. Email: sgennari@usp.br

A toxoplasmose, doença causada pelo *Toxoplasma gondii*, é uma zoonose cosmopolita, acometendo todos os animais de sangue quente, incluindo os seres humanos. Nada se sabe sobre o papel dos pecilotérmicos na infecção por este coccídio. Este estudo objetivou verificar a influência da temperatura e a possibilidade de infecção experimental por *Toxoplasma gondii* em cobras *Caudisonadurissacollilineata* (cascavel), mantidas sob temperatura constante de 32°C e 25°C (ambiente). Foram utilizadas 8 serpentes, sendo 4 machos e 4 fêmeas, nascidas em cativeiro e alojadas no Biotério de Serpentes do Instituto Butantan, em São Paulo. As serpentes foram divididas em dois grupos, A e B, com quatro animais por grupo, sendo dois casais em cada e mantidas individualizadas em gaiolas forradas com papelão corrugado e água ad libitum. As serpentes do grupo A foram mantidas sob temperatura ambiente e iluminação artificial e as serpentes do grupo B foram mantidas em estufa à temperatura constante de 32°C e iluminação artificial. Para ambos os grupos o fotoperíodo foi de 12 horas. Foram feitas coletas de sangue de todas as serpentes no dia zero, anterior à inoculação e semanalmente durante seis semanas, por punção cardíaca. As serpentes foram alimentadas no dia 0, com camundongos previamente inoculados com taquizoístos da cepa ME49 de *T. gondii* e confirmadamente positivos à presença de cistos cerebrais. Com o soro obtido das serpentes dos grupos A e B, a presença de anticorpos anti-*T. gondii* foi pesquisada através do Teste de Aglutinação Modificado (MAT) nas diluições de 25, 50 e 500. As serpentes foram eutanásias nos dias 7, 15, 30 e 45 pós-infecção (uma serpente do grupo A e outra do B em cada uma das datas) e com o tecido destes animais (cérebro, língua, coração e músculo) realizou-se o bioensaio em camundongos. Nenhum dos animais soros converteu e *T. gondii* não foi isolado das serpentes em nenhuma das ocasiões, indicando que nesta espécie animal, independente da temperatura ambiental, *T. gondii* não consegue se estabelecer.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; cobras; temperatura; infecção

DETECÇÃO DE ANTICORPOS PARA *Toxoplasma gondii* EM CÃES URBANOS E RURAIS DO MUNICÍPIO DE CAXIAS DO SUL, RS, BRASIL

MC Teixeira¹, AG Rocha¹, JC Brinker¹, J Bisol¹, TD Freitas¹, NS Stobbe², FAP Araújo¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, RS. ² Instituto de Ciências Básicas da Saúde, ICBS/UFRGS, Porto Alegre/RS

Email: protoufrgs@gmail.com

A toxoplasmose é uma doença zoonótica causada pelo *Toxoplasma gondii*, protozoário coccídeo intracelular obrigatório. Mamíferos e aves são hospedeiros intermediários, onde ocorrem os estágios assexuados e os felídeos são hospedeiros definitivos, pois albergam os estágios sexuados. Cães, como outros animais e humanos, são infectados quando ingerem carne crua ou malcozida contendo cistos ou água contendo oocistos. A doença provoca várias lesões que podem levar o hospedeiro ao óbito. O objetivo deste trabalho foi avaliar a ocorrência de anticorpos para este protozoário em cães da cidade de Caxias do Sul – RS e estabelecer uma relação entre a detecção de anticorpos e a procedência dos animais. Os cães foram divididos em dois grupos: um contendo 157 amostras de animais provenientes da área urbana do município de Caxias do Sul e outro formado por 170 amostras de cães da área rural, totalizando 327 cães. Foram coletadas amostras de sangue dos animais, sempre com autorização prévia dos responsáveis. A técnica sorológica utilizada foi a Hemaglutinação Indireta (kit comercial Imuno-Hai TOXO) com ponto de corte igual a 1:64. Anticorpos foram detectados em 28,44% das amostras (93 /327 cães). A ocorrência de cães positivos oriundos da área rural foi maior quando comparada aos de área urbana, sendo os valores iguais a 45,88% (78/170) e 9,55% (15/157), respectivamente, apresentando uma diferença significativa ($p < 0,001$). A ocorrência de anticorpos em cães do meio rural foi significativamente mais elevada do que a determinada em cães do meio urbano, provavelmente pelo maior acesso desses animais a fontes de água e carne contaminadas com as formas infectantes do protozoário. Vários autores apontam uma estreita associação entre as cadeias epidemiológicas da toxoplasmose canina e humana, podendo haver compartilhamento das mesmas fontes de infecção. Não foram detectados cães com sintomatologia clínica neste estudo, porém não podemos esquecer que a patologia pode causar sérios danos aos cães, tais como problemas neurológicos, oftálmicos e digestivos, além da importância epidemiológica que esta zoonose representa. Portanto, é importante que se tenha maiores cuidados com a alimentação dos cães, evitando carnes cruas ou mal passadas.

Palavras-chave: zoonose; toxoplasmose; canino; Hemaglutinação Indireta

**OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM GALINHAS DE
SUBSISTÊNCIA DO ENTORNO DA RESERVA BIOLÓGICA GUARIBAS, ESTADO DA
PARAÍBA**

RAS Oliveira^{1,2}, C Lugarini^{2,3,4}, OL Souza Neto², LHM Andrade², RA Mota², MFV Marvulo^{4,5},
JCR Silva^{2,4}

¹Bolsista PIBIC/ICMBio/CNPq. ²Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Recife, PE. ³Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Aves Silvestres, CEMAVE. Cabedelo, PB. ⁴Instituto Brasileiro para Medicina da Conservação – Triade. Recife, PE. ⁵Faculdade Max Planck, Indaiatuba, SP. Email: jean@triade.org.br

As aves são consideradas importantes na epidemiologia de *Toxoplasma gondii* podendo servir como bioindicadoras da presença deste parasita no meio ambiente. Objetivou-se determinar a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em galinhas de subsistência (*Gallus gallus domesticus*) nas comunidades do entorno da Reserva Biológica (REBIO) Guaribas, Estado da Paraíba. Entre janeiro a junho de 2012, amostras de soros sanguíneos foram colhidas de 40 galinhas clinicamente saudáveis de 18 propriedades de cinco comunidades. Um questionário com as variáveis relacionadas à cadeia epidemiológica da toxoplasmose foi aplicado aos moradores do entorno da REBIO. Utilizou-se a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) com ponto de corte na diluição de 1:16, taquizoítos da cepa RH como antígeno e o conjugado anti-IgG *chicken* produzido em coelho. Dentre os 40 soros sanguíneos analisados, 12 (30%) foram soropositivos em três comunidades diferentes, com títulos de 16 (cinco galinhas), 32 (uma galinha), 64 (duas galinhas) e 256 (quatro galinhas). Os resultados sorológicos foram calculados com os respectivos intervalos de confiança de 95% (IC 95%) e as comparações das frequências observadas segundo procedência, tipo de criação, presença de gatos domésticos na propriedade e presença de felídeos silvestres na região foram realizadas por meio do teste do qui-quadrado com auxílio do programa EpiInfo 6.0. Houve somente diferença estatisticamente significativa para a variável presença de gatos domésticos (p=0,029). A presença de galinhas soropositivas e a significância estatística para a variável presença de gatos indicou que o solo poderá estar contaminado por oocistos de *T. gondii*, que podem ter sido eliminados por felídeos domésticos. Os gatos domésticos entram na Reserva Biológica, assim como as galinhas, o que pode ter implicações para a fauna silvestre, sendo assim medidas de controle de animais domésticos na Reserva devem ser estabelecidas.

Palavras chaves: *Toxoplasma gondii*, anticorpos, Unidades de Conservação, aves de subsistência.

Órgão financiador: CNPq.

**IMMUNOSUPPRESSION BY DEXAMETHASONE IN A INBRED MICE LINEAGE (A/Sn)
CHRONICALLY INFECTED WITH *Toxoplasma gondii*.**

RLD Zanna¹, MM Borges², VL Pereira-Chioccola¹

¹Laboratório de Biologia Molecular de Parasitas, Instituto Adolfo Lutz., ²Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan, Sao Paulo, SP, Brazil. E mail: ricardo_dzanna@yahoo.com.br

Immune response patterns in patients with the active toxoplasmosis are not fully understood. Studies directed to the immune response in animal model may contribute to a better understanding of the disease in humans. This study shows the preliminary data in immunosuppressive activity of dexamethasone (Dex) in an inbred lineage mice (A/Sn) chronically infected with *T. gondii*. Two groups composed by four mice were infected intraperitoneally with 10 cysts of ME strain. After 30 days, mice were chronic infected, since they had positive anti *T. gondii*-IgG, determined by ELISA. The 4 mice from the first group, "Chronic Immunosuppressed" (CI) received Dex treatment. Mice from the second group, "Chronic Control" (CC) did not receive the treatment. Other two groups (4 mice each) were formed by non-infected animals. One group received Dex treatment, "Normal Immunosuppressed" (NI), and the mice from the other group did not receive the same treatment, "Normal Control" (NC). Dex was dissolved in water at 10 mg/L and put in drinkers of the cages of the mice from CI and NI groups. Weekly aliquots of blood were collected in the terminal portion of the tails of the mice to determine the leukocyte counts and parasitemia levels by polymerase chain reaction (PCR). The leukocyte counts were performed in duplicate in Neubauer chamber after staining with dye TURK. PCR was performed using primers (B22/B23) from B1 gene. The average values of leukocytes/ml in mice from NC and CC groups were 9.3×10^6 and 6.5×10^6 respectively. The immunosuppression index of mice from NI and CI groups were expressed as percent of leukocytes found in treated and non-treated groups. The immunosuppression index for CI and NI groups were 56.15% and 41.19% respectively. PCR results showed a gradual increase in parasitemia. One mouse from the CI group developed ocular infection in the left eye. These preliminary data indicate that dexamethasone is an effective immunosuppressive agent and its use in experimental models may help us in the search results that demonstrate the possible patterns of immune response in immunosuppressed patients, especially patients co-infected with *T. gondii*/HIV.

Keywords: Immunosuppression, Dexamethasone, *Toxoplasma gondii*.

Financial support: CAPES and FAPESP.

SERUM PREVALENCE OF *Toxoplasma gondii* AND *Neospora caninum* IN FREE RANGE CHICKENS IN URBAN AREA FROM UBERLÂNDIA- MG.

LC Gebrim^{1,2}, MS Costa², SS Santana², LF Costa², FM Santiago², TWP Mineo², JR Mineo².

¹Laboratory of Biotechnology, Federal Institute of Education Science and Technology Goiano, Campus Rio Verde, Goiás, Brazil.

²Laboratory of Immunoparasitology Doctor Mário Endsfeldz Camargo, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brazil.

Free-range chickens have been used as epidemiological sentinel as they constitute as good indicators of soil contamination by oocysts from coccidian, as *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*, because they feed from ground, which can be contaminated by this parasite stage. The aim of the present work was to investigate the sero-prevalence of *T. gondii* and *N. caninum* infection in free-range chickens (*Gallus domesticus*) from Uberlândia-MG Brazil (18° 54' 41" S, 48° 15' 44" W). For this purpose, serum samples from 61 free-range chickens collected in residences of 7 neighborhoods of Uberlândia were tested for anti- *T. gondii* and *N. caninum* IgY antibodies with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), considering as a sera dilution 1:50. The occurrence of anti-*T. gondii* antibodies found in chickens was 93%, and *N. caninum* was 43%, and that, being 31% of them positive for both parasites. Additionally, a random sample of five positive chickens to both parasites and three positive chickens only to *N. caninum* by the ELISA were tested with Immunoblot to confirm the results. All five positive chickens for both parasites by the ELISA were confirmed positive in the Immunoblot, while only one was confirmed positive among the three positive chickens for *N. caninum*. It can be concluded through this study that the occurrence of infection by *T. gondii* and *N. caninum* in the urban properties studied was high, indicating that both parasites are widely distributed in the environment.

Keywords: Free range chickens, *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*..

Financial Support: CAPES, CNPQq, FAPEMIG.

OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*Toxoplasma gondii* EM FELÍDEOS SILVESTRES DO BRASIL

HS Soares¹, JA May-Júnior², E Amorim-Júnior³, R Hoogesteijn⁴, F Tortato⁴, JP Dubey⁵,
SM Gennari¹

¹ FMVZ-VPS-USP Email: sgennari@usp.br; ² Instituto Pró-Carnívoros e UNISUL, Santa Catarina; ³ Doutorado-UNB; ⁴ Panthera Foundation; ⁵ Animal and Natural Resources Institute, Agricultural Research Service, US Department of Agriculture, Beltsville, Maryland, USA.

Os felídeos silvestres são carnívoros que estão no ápice da cadeia alimentar e em seu ambiente natural percorrem grandes territórios em busca de alimentação e abrigo. Devido a seus hábitos, estão expostos a diversos patógenos presentes no ambiente ou provenientes de seus contactantes, desde presas a outros predadores. *Toxoplasma gondii* é um protozoário que possui distribuição cosmopolita e capacidade de infectar diversas espécies animais. O objetivo deste trabalho foi detectar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em felídeos silvestres de médio e grande porte, capturados em diferentes biomas brasileiros. Amostras de sangue foram coletadas, entre outubro de 2008 e setembro 2011 e os soros obtidos armazenados a 20°C negativos até a análise pelo Teste de Aglutinação Modificado (MAT ≥ 25). O estudo foi realizado em animais provenientes dos estados do Mato Grosso, Mato Grosso do Sul e Minas Gerais, compreendendo os biomas Pantanal, Cerrado e Mata Atlântica. Foram obtidas 28 amostras de soro de felídeos silvestres, sendo 3 de jaguatirica (*Leopardus pardalis*), 20 de onça pintada (*Panthera onca*) e 5 de onça parda (*Puma concolor*). Todas as 28 (100%) amostras testadas apresentaram anticorpos anti-*T. gondii*, com títulos de 800 (1) e 1600 (2) para *L. pardalis*; 100 (1), 200 (5), 400 (8), 800 (2), 1600 (1) e 3200 (3) para *P. onca* e 200 (2), 800 (1), 1600 (1) e 3200 (1) para *P. concolor*. Os resultados mostram que *T. gondii* encontra-se amplamente distribuído nos felídeos silvestres dos biomas estudados reforçando a importância destes animais na epidemiologia do *T. gondii* nesses ambientes.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; Felídeos silvestres; MAT; Brasil

Financial Support: FAPESP

RELAÇÃO DIAGNÓSTICA DO TESTE DE AGLUTINAÇÃO MODIFICADO (MAT) E DA REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI) NA DETECÇÃO DE IgG ANTI-*Toxoplasma gondii* EM FELINOS SILVESTRES NEOTROPICAIS

WA Cañón-Franco¹, JA May-Júnior², EA Moraes-Júnior³, A Devlin⁴, SSM Onuma⁵, N López-Orozco⁶, HS Soares⁷, SM Gennari⁷

¹Departamento de Salud Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Caldas, Colombia; ² Instituto Pró-Carnívoros/UNISUL; ³ Doutorando-UnB; ⁴ Panthera Foundation; ⁵ ESEC Taiamã ICMBio; ⁶ ICB-DP-USP; ⁷ FMVZ-VPS-USP

Email: sgennari@usp.br

Em geral, os testes sorológicos para detectar a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em felinos silvestres apresentam boa concordância diagnóstica. Neste estudo avaliaram-se vinte e oito (28) soros de felinos silvestres brasileiros de vida livre para a detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*: 20 de onça-pintada (*Panthera onca*), 5 de suçuarana (*Puma concolor*) e 3 de jaguatirica (*Leopardus pardalis*). Para o diagnóstico foram utilizados o Teste de Aglutinação Modificado (MAT \geq 25) e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI \geq 16) utilizando como conjugado comercial IgG-felina FITC (1:4000). Para a análise dos dados, o MAT foi considerado como teste padrão e comparado com os títulos de anticorpos obtidos pela RIFI. Todos os soros avaliados foram positivos, com títulos mínimos de 100 e 144 e máximos de 3200 e 3888, para MAT e RIFI respectivamente. O teste Passing-Bablok foi utilizado para determinar a similaridade entre os testes sorológicos. Os valores do intercepto A (-350; IC 95% - 1000 - 100) e do Slope B (0,58; IC 95% 0,23 - 1,08) indicam que entre os valores sorológicos obtidos por ambos testes, existe uma relação linear altamente correlacionada (p<0,01). No entanto, o teste Kappa sugere baixa concordância entre estes testes (0,185), isto porque títulos de anticorpos considerados como baixos pelo MAT são titulações elevadas na RIFI. Este fato é esperado em testes primários, decorrente do fenômeno denominado como efeito pro-zona. O MAT é amplamente utilizado como teste de triagem no diagnóstico da toxoplasmose em varias espécies animais, devido a sua facilidade de execução sem necessidade do uso de anticorpos

secundários espécie-específicos, contudo sua sensibilidade diagnóstica na quantificação de títulos de anticorpos IgG é questionável, quando comparada com o desempenho obtido pela RIFI. Os resultados do presente trabalho são similares aos obtidos por outros autores, que demonstram diferenças no desempenho dos testes de aglutinação frente aos testes secundários no diagnóstico do *T. gondii* de felinos silvestres.

Keywords: MAT; RIFI; *Toxoplasma gondii*; Felinos silvestres

Financial Support: FAPESP

FIRST GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF *Toxoplasma gondii* FROM CALIFORNIA QUAIL (*Callipepla californica*)

AD Cabral¹, RA Casagrande², VM Rolim², FM Boabaid², F Wouters², ATB Wouters², CEF Cruz², D Driemeier², HFJ Pena¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP, São Paulo, SP. ²Faculdade de Veterinária, UFRS, Rio Grande do Sul, RS. Email: alinedica@usp.br

Toxoplasma gondii has been described in Anseriformes, Accipitriformes, Galliformes, Gruiformes, Charadriiformes, Columbiformes, Strigiformes and Passeriformes. The California quail, *Callipepla californica*, also known as the California Valley Quail or Valley Quail, is a small ground-dwelling bird in the New World quail family. Here we report for the first time the genotypic characterization of one recently isolated *T. gondii* strain from an adult male quail acquired by a farm in Rio Grande do Sul state, Brazil. The presence of *T. gondii* was previously identified by immunohistochemistry in liver, lungs, spleen, heart, bone marrow, kidneys, adrenals, esophagus, intestines, pancreas and testicles. The analyzed tissues showed mononuclear inflammatory infiltrate as histopathological changes. DNA was extracted from the tissues and Polymerase Chain Reaction (PCR) was performed targeting B1 gene. The positive tissues for B1 gene were lungs, kidney, spleen and liver of infected quail. The genotypic characterization was performed using 12 PCR-Restriction fragment polymorphism markers SAG1, 5'3'SAG2, alt. SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico and CS3. Complete genotype was possible from kidney and lungs. This genotype has already been identified in one isolate from a chicken (TgCkBr156) also from Rio Grande do Sul state. This study demonstrates for the first time that quail can share *T. gondii* genotypes that circulate in the domestic birds.

Keywords: *Toxoplasma gondii*; quail; genotype; Brazil

Financial Support: CNPq, CAPES

SOROPREVALÊNCIA DE *Toxoplasma gondii* EM HUMANOS DO SUL DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

NAR Farias, L Loges, GA Xavier, BG Cademartori, NA Cunha Filho, CLG Aguiar, TS Ramos

Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas. E-mail: nafarias@ufpel.tche.br

Toxoplasma gondii é o parasito de mais ampla distribuição geográfica, devido à variedade de hospedeiros intermediários, diferentes estágios infectantes e formas de infecção. No sul do RS predominam populações de origem alemã e italiana, com hábitos alimentares que podem predispor à infecção pelo protozoário, como a ingestão de carnes mal cozidas (churrascos) e/ou cruas (embutidos frescal). Com o objetivo de conhecer o perfil sorológico de humanos na região e os fatores de risco da infecção a que estão expostos, foi realizado um estudo com três diferentes grupos populacionais: pacientes HIV positivos (n=250), gestantes atendidas em Postos Básicos de Saúde (n=254) e doadores de sangue (n=200). Foi avaliado o perfil sorológico dos participantes, através da Técnica de Imunofluorescência Indireta (Wama Diagnóstica, ponto de corte 1:32) e detectados os possíveis fatores de risco, através de regressão logística (Statistix 9.0). Os possíveis fatores de risco foram conhecidos através da aplicação de um questionário epidemiológico. A prevalência de soropositivos foi de 80%, 53,1% e 57,5% entre os HIV positivos, as gestantes e os doadores de sangue, respectivamente, com títulos de anticorpos que variaram de 32 a 4096. A maior prevalência observada entre os HIV positivos pode ser devida ao fato de que, entre os grupos estudados, este foi o formado por indivíduos de mais baixa escolaridade, dos quais, 96,8% desconheciam a doença (como 64,9% das gestantes e 55% dos doadores de sangue). Os fatores de risco com associação significativa ($p \leq 0,05$) com a soropositividade foram: baixa escolaridade (sem completar nível médio), contato direto com o solo, consumo de carne crua ou mal cozida, idade superior a 35 anos, ingestão de vegetais crus e presença de gatos no peridomicílio. Os resultados obtidos indicam que a desinformação sobre a doença, agravada pela baixa escolaridade, faz com que as pessoas sejam mais expostas à infecção por *T. gondii*, tanto pela precariedade de medidas higiênicas, quanto pela ingestão de produtos de origem animal e vegetal indevidamente preparados.

Palavras-chave: Soroprevalência, *Toxoplasma gondii*, Humanos

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E ISOLAMENTO DE *Toxoplasma gondii* EM SUÍNOS NA REGIÃO SUL DO RIO GRANDE DO SUL – Nota Prévia

BG Cademartori, LMJ Santos, P Quevedo, TS Ramos, F Oliveira, ASR Rocha, J Ruas, NAR Farias

Programa de Pós-graduação em Parasitologia, Universidade Federal de Pelotas. E-mail: tsrfarma@gmail.com

A relevância da toxoplasmose em suínos está relacionada ao consumo de sua carne mal cozida, sendo uma das principais formas de infecção humana. Este estudo tem como objetivos verificar a frequência de anticorpos IgG para *T. gondii* em suínos abatidos para consumo humano e isolamento do parasito com determinação da virulência dos isolados. Foram coletadas amostras de sangue e tecidos (cérebro e coração) de 83 suínos criados artesanalmente na zona rural de Pelotas, Piratini e São Lourenço do Sul. Os soros foram analisados para detecção de anticorpos IgG para *T. gondii*, pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com ponto de corte 1:64, conforme técnica descrita por Camargo (1974). Posteriormente, foi realizado o bioensaio através da inoculação subcutânea de tecidos (cérebro e coração) de cada suíno soropositivo em cinco camundongos fêmeas, Swiss, com dois meses de idade, segundo o protocolo estabelecido por Dubey (1998). Os animais foram observados, diariamente, durante sessenta dias para observação de sinais clínicos da toxoplasmose e mortalidade. Foi realizada sorologia para detecção de anticorpos IgG do parasito pela técnica de RIFI, com ponto de corte 1:16, dos que sobreviveram até seis semanas pós-inoculação. Dos 83 suínos examinados, 19 (22,8%) apresentaram anticorpos para *T. gondii*. Desses, foram obtidos cinco isolados de *T. gondii* nos camundongos inoculados, sendo três considerados virulentos, pois os animais infectados foram a óbito 12 dias pós-inoculação, apresentando sinais clínicos e sendo encontrados taquizoítos no líquido ascítico e em fragmentos do pulmão observados pela técnica de *imprints* corados por Giemsa. Os outros dois isolados, apesar de infectarem quatro dos cinco animais inoculados, não foram letais aos mesmos. A ocorrência de soropositividade encontrada evidencia a importância destes animais como possível fonte de infecção nesta região. A análise dos isolados por PCR-RFLP utilizando os marcadores SAG1, SAG2, 5'3'SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico e CS3 será realizada após serem

obtidos, no mínimo, dez isolados. Este será o primeiro estudo de isolamento e genotipagem de *Toxoplasma gondii* em suínos na região sul do Rio Grande do Sul.

Palavras chave: *Toxoplasma gondii*; Suínos; Isolamento

**SUBSTÂNCIAS ULTRADILUÍDAS COMO IMUNOMODULADORAS NA
INFECCÃO EXPERIMENTAL POR *Toxoplasma gondii*: EFEITO SOBRE OS
NEURÔNIOS MIENTÉRICOS**

CSR Suhett, CF Braga, SM Araújo, DMG Sant'Ana

Projeto de iniciação científica-PIBIC

Universidade Estadual de Maringá, UEM, Maringá, PR,

Email: Camilasntrosa@hotmail.com

A toxoplasmose é uma das zoonoses parasitárias mais comuns, tanto no homem, como nos animais, apresentando ampla distribuição geográfica. Estima-se que mais de um terço da população humana já foi infectada pelo *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909), o causador dessa doença. O projeto apresentado dá continuidade a uma de nossas linhas de pesquisa que visa elucidar os mecanismos envolvidos nas lesões do Sistema Nervoso Entérico (SNE) observadas em animais infectados pelo *Toxoplasma gondii*. Com objetivo de avaliar o efeito de substâncias ultradiluídas como inovação terapêutica no tratamento em alterações intestinais provocadas pela infecção experimental pelo *T. gondii*, 15 camungongos machos Swiss, de 60 dias de idade foram divididos em grupos e infectados com 10 cistos teciduais de *T. gondii* cepa ME-49, e foram tratados 3 dias consecutivos antes da infecção de acordo com os seguintes grupos: G1 foi tratado com álcool de cereais 7%, G2 com bioterápico de *T. gondii* 200 DH e o G3 grupo controle, que foi tratado com água. Os bioterápicos foram produzidos com macerado de cérebro de camundongos (20 cistos *T. gondii*/100µL-média de 242 bradizoítos/cisto), preparado segundo a Farmacopéia Homeopática Brasileira em fluxo laminar. Verificou-se que os animais do G1 apresentaram em 120 campos microscópicos $2443,6 \pm 1184,7$ neurônios. Na mesma área, nos animais do G2 foram encontrados $2953,6 \pm 560,1$ neurônios e nos do G3 $2672,2 \pm 325,2$ neurônios. O grupo que recebeu o bioterápico apresentou cerca de 10,5% a mais de neurônios do que o G3, grupo controle deste estudo ($p > 0,05$). Já o grupo que recebeu apenas o veículo do tratamento demonstrou 8,55% menos neurônios que os animais do G3 ($p > 0,05$), contudo, o grupo que recebeu bioterápico apresentou 20,8% a mais de neurônios do que aquele que

recebeu apenas o veículo ($p < 0,05$) . Conclui-se que o bioterápico preveniu a morte de neurônios mientéricos no colo de camundongos infectados pelo *T. gondii*.

Palavras-chave: toxoplasmose; sistema nervoso entérico; plexo mientérico; bioterápico.

COMPARISON OF THREE METHODS FOR RESEARCH SERUM ANTI-*Toxoplasma gondii* IgG ANTIBODIES IN INDIVIDUALS FROM RONDÔNIA STATE, BRAZIL.

S Pagliari¹, F Evers¹, VBD Tabacow¹, JD Capobianco², JL Garcia¹, EMV Reiche², RL Freire¹, IT Navarro¹.

¹Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, ²Departamento de Patologia, Análises Clínicas e Toxicológicas, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, PR.

Email: italmar@uel.br

Toxoplasma gondii presents medical and veterinary importance being an opportunistic pathogen in immunocompromised patients and fetuses from infected mothers during pregnancy. There are many difficulties in the interpretation of serology for toxoplasmosis, thereby laboratory tests should be defined by repeating after a few weeks or the use of several different tests for the detection of specific anti-*Toxoplasma gondii* antibodies. The aim of this study was to compare the results obtained using the techniques of indirect immunofluorescent assay (IFA), enzyme linked immunosorbent assay with recombinant ROP2 rhoptries antigen (rELISA), and chemiluminescent microparticle immunoassay (ARCHITECT Toxo IgG, ABBOTT) for IgG anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in sera of patients who were exposed to the parasite. The parameters of sensitivity, specificity, and kappa correlation between the tests were evaluated. Sera from 330 individuals with acute and chronic infection from Jarú, Ji-Paraná, and Ouro Preto do Oeste, in the state of Rondônia were analyzed. Among the sera tested, 231 were reactive in IgG IFA, 231 were reactive in IgG chemiluminescence test, and 234 were reactive in IgG rELISA. Taking the IFA as the gold standard, the chemiluminescence test revealed sensitivity of 97.94%, specificity of 94.95%, and kappa value 0.9278. The IgG rELISA already exhibited sensitivity of 81.82%, specificity of 44.44%, and kappa value 0.2729. The results show an excellent agreement between IFA and chemiluminescence tests; however, the rELISA did not show the same performance. The rELISA was not sufficiently specific and did not clearly demonstrate the detection of acute infection, since it showed more reactivity among sera from individuals with previous exposition by the parasite or chronic infection. The results suggest that IgG rELISA could be useful in epidemiological assessment of toxoplasmosis.

Keywords: Toxoplasmosis; serology; recombinant ROP2 antigen; ELISA.

Financial support: CAPES; CNPq; Fundação Araucária.

**PRODUCTION, CHARACTERIZATION AND APPLICATIONS FOR
TOXOPLASMA GONDII-SPECIFIC POLYCLONAL CHICKEN EGG
 YOLK IMMUNOGLOBULINS**

Álvaro Ferreira Júnior, Fernanda M. Santiago, Murilo V. Silva, Flávia B. Ferreira, Arlindo G. Macêdo Júnior, Caroline M. Mota, Matheus S. Faria, Hercílio H. Silva Filho, Deise A.O. Silva, Jair P. Cunha-Júnior, José R. Mineo, Tiago W.P. Mineo*

Laboratory of Immunoparasitology, Institute of Biomedical Sciences, Universidade Federal de Uberlândia, Campus Umuarama, Av. Pará, 1720, Bloco 4C, Uberlândia, Minas Gerais, 38400-902, Brazil *tiagomineo@icbim.ufu.br

Toxoplasma gondii may cause abortions, ocular and neurological disorders in warm-blood hosts. Immunized mammals are a wide source of hyperimmune sera used in different approaches, including diagnosis and the study of host-parasite interactions. Unfortunately, mammalian antibodies present limitations for its production, such as the necessity for animal bleeding, low yield, interference with rheumatoid factor, complement activation and affinity to Fc mammalian receptors. IgY antibodies avoid those limitations; therefore they could be an alternative to be applied in *T. gondii* model. In this study we immunized hens with soluble tachyzoite antigens of *T. gondii* (STAg) and purified egg yolk antibodies (IgY) by an inexpensive and simple method, with high yield and purity degree. IgY anti-STAg antibodies presented high avidity and were able to recognize a broad range of parasite antigens, although some marked differences were observed in reactivity profile between antibodies produced in immunized hens and mice. Interestingly, IgY antibodies against *Neospora caninum* and *Eimeria* spp. did not react to STAg. We also show that IgY antibodies were suitable to detect *T. gondii* forms in paraffin-embedded sections and culture cell monolayers. Due to its cost-effectiveness, high production yield and varied range of possible applications, polyclonal IgY antibodies are useful tools for studies involving *T. gondii*.

Keywords: IgY, Chicken, Proteomics

Financial support: CAPES, CNPq, Fapemig, FINEP, MAPA.

SAG2A molecule from *Toxoplasma gondii* contains an intrinsically unstructured protein domain that interacts with the immune system of infected hosts

Arlindo G. Macedo Júnior¹, Jair P. Cunha-Junior¹, Thyago H.S. Cardoso², Murilo V. Silva¹, Fernanda M. Santiago¹, Silas S. Santana¹, João S. Silva³, Carlos P. Pirovani², Deise A.O. Silva¹, José R. Mineo¹, Tiago W.P. Mineo^{1*}

1 Laboratório de Imunoparasitologia “Dr. Mario Endsfeldz Camargo”, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal de Uberlândia. Av. Pará, 1720 – Bloco 4C, Campus Umuarama – 38.400-902. Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **2** Centro de Biotecnologia e Genética, Universidade Estadual de Santa Cruz, Itabuna, Bahia, Brazil. **3** Laboratório de Imunoparasitologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (FMRP/USP), Ribeirão Preto, São Paulo. *tiagomineo@icbim.ufu.br

Toxoplasmosis is a zoonosis caused by an intracellular parasite, *Toxoplasma gondii*. Several studies have been performed in order to understand the interactions between proteins of parasite and its host cells. SAG2A is a 22 kDa protein that is mainly found in the surface of tachyzoites. Additionally, it has been previously found to be serologically immunodominant during the acute phase of toxoplasmosis. In the present work, our major aim was to identify the three-dimensional structure of this protein and check for interactions of the identified features with immune system of infected hosts. Structure modeling demonstrated that SAG2A protein possesses an unfolded C-terminal end forming a loop, characteristic of intrinsically unstructured protein (IUP) domains.. Distinct conformations of the loop were predicted within strain types of *T. gondii*, due to an additional glycine found in type II strains, which induced the formation of a helical structure in the immunodominant epitope region. In addition, this structure within the protein, which shelters a known immunodominant epitope, presents low identity with its closest phylogenetically related protein, an orthologue predicted in *Neospora caninum*.. In agreement with that in silico observation, recombinant SAG2A was recognized by sera of experimentally infected mice and naturally infected goats with *T. gondii*, but not *N. caninum*. Additionally, different experimental designs suggested that the disordered domain is able to downmodulate pro-inflammatory responses in macrophages and dendritic cells. Altogether, we demonstrate that SAG2A protein possesses a biologically active

unfolded C-terminal end forming a loop, characteristic of intrinsically unstructured protein (IUP) domains.

Keywords: SAG2A, Proteomics, immune regulation, differential serology

Financial support: CAPES, CNPq, Fapemig, FINEP, MAPA

**MULTIPLICAÇÃO DE INFORMAÇÕES POR DOCENTES DO ENSINO
FUNDAMENTAL I PARA A PREVENÇÃO DE TOXOPLASMOSE APÓS CURSO
ONLINE**

TO Rodrigues¹; FC Moraes²; AAB Carvalho²; LH Queiroz¹; KDS Bresciani¹

¹Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Araçatuba, SP. ²Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Júlio de Mesquita Filho, Jaboticabal, SP. Email: tercilia@fmva.unesp.br

Esta pesquisa teve como objetivo avaliar o resultado de ações de multiplicação de informações resultantes de um curso online ministrado a docentes da rede municipal de Ensino Fundamental I, voltadas à prevenção de zoonoses. Foram convidados 40 professores do Ensino Básico de escolas municipais para participarem de um curso a distância online, que constou primeiramente de um módulo conceitual, no qual foram abordadas as doenças transmitidas por vetores, as principais zoonoses dando ênfase a Toxoplasmose, além de conceitos de posse responsável e educação em saúde. A última fase do curso propõe uma intervenção prática de multiplicação de informações aos educandos e à comunidade, por meio da elaboração e aplicação de projetos educativos. Os dados referentes ao conhecimento dos professores antes de depois do curso, foram submetidos ao teste estatístico de Wilcoxon, com 5% significância. Estabeleceu-se como critério de análise da multiplicação pelos docentes a observação e avaliação das ações de multiplicação feitas pelo público-alvo. Após a frequência dos docentes no curso, observou-se crescimento estatisticamente significativo no conhecimento a respeito da Toxoplasmose ($p < 0,0001$) e outras doenças, especialmente quanto às questões relativas ao agente etiológico, sintomas no homem e medidas preventivas. A experiência de multiplicação dos professores envolveu os escolares no diagnóstico dos problemas por meio do mapa falante e promoção de ações educativas tais como: peças teatrais, atividades artísticas, mutirão de limpeza e elaboração e distribuição de panfletos em passeata. Concluiu-se que a formação docente por meio do curso online, incluindo propostas de multiplicação direcionadas à prevenção da Toxoplasmose e outras zoonoses, proporcionaram aumento de conhecimentos, estimulando-os a motivar os educandos e a comunidade entorno das escolas para colaborar adotando medidas preventivas, informativas, posse responsável de animais de estimação, cuidados com o meio ambiente e sensibilização da comunidade.

Palavras-chaves: Toxoplasmose; Multiplicadores; Educação a distância; Educação em saúde.

**PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF CHITINASE
ENZYME PRESENT IN TOTAL SOLUBLE ANTIGEN OF
Toxoplasma gondii TACHYZOITES**

FM Santiago, AO Cunha, VS Miranda, MS Costa, TWP Mineo, JR Mineo

*Laboratory of Immunoparasitology, Institute of Biomedical Sciences,
Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902 Uberlândia, MG, Brazil*

Toxoplasma gondii is an obligatory intracellular parasite that has the cat as definitive host and a great varied of other mammals and birds as intermediate hosts. There are three major life stages of *T. gondii*: the tachyzoite, which is involved in acute infection and dissemination of the parasite in its host; the bradyzoite, which is found in tissue cysts and latent infection, and the oocysts. The present study aimed to isolate and characterize chitinase enzyme from *T. gondii* tachyzoites(Ch-Tg). After obtaining the total antigen of *T. gondii* (STAG), it was subjected to electrophoresis 12% according to REISFELD for proteins with basic characteristics. Then, Ch-Tg chitinase was withdrawn from the gel, pooled, and added to Ambic buffer, pH 7.4, centrifuged at 14.000g and lyophilized. The enzyme characterization was performed by using the synthetic substrate of *p*-nitrophenyl-*N*-acetyl-beta-D-glucosamine at pHs in the range of 4.0 to 7.4 and temperatures ranging from 25°C to 60 °C. Balb/c mice were immunized with Ch-Tg and serum samples were collected and tested for seroconversion. Later on, the animals were challenged with cystogenic strain of *T. gondii* (Me-49). The results showed that the isolated enzyme Ch-Tg presented molecular weight of 115 kDa and had a high stability at an optimal temperature of 37°C in pH 7.4. In terms of immunolocalization of the chitinase enzyme, a delineated fluorescent reactivity was seen at the external membrane of the parasite, whereas the apical pole showed an undefined but specific staining. Concerning the challenge with Me-49 strain, it was observed a decrease of brain cyst numbers of the group of the animals immunized with the Ch-Tg compared to the control group (188 ± 31 and 1757 ± 100 , respectively). It can be concluded that the animals immunized with the enzyme present a protective immune response against *T. gondii* infection, as the challenge with the strain Me-49 results in an amount of 10 times lower number of cysts than the unimmunized animals.

Key words: *chitinase; strain; imunolocalization; cysts.*

SILICON TREATMENT ON *Artemisia annua* GLANDULAR TRICHOME AND ARTEMISININ CONTENT: ROLE OF THE PLANT INFUSION IN THE CONTROL OF *Toxoplasma gondii* REPLICATION

C Rostkowska¹, CM Mota¹, FM Santiago¹, TC Oliveira¹; LA Oliveira², GH Korndörfer², ML Rossi⁴; NL Nogueira⁴, X Simonnet³, DAO Silva¹, JR Mineo¹

¹ *Laboratory of Immunoparasitology, Institute of Biomedical Sciences, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902 Uberlândia, MG, Brazil*

² *Fertilizer Technology Laboratory, Institute of Agricultural Sciences, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902 Uberlândia, MG, Brazil*

³ *Laboratory of Plant Histopathology and Structural Biology of Plants, Center for Nuclear Energy (CENA), Universidade de São Paulo, 13400-970 Piracicaba, SP, Brazil.*

⁴ *Mediplant, Center for Research on Medicinal Plants, CH-1964, Conthey, Switzerland*

Toxoplasmosis is a zoonotic disease whose traditional treatment shows adverse effects leading to the research of low-toxicity compounds as artemisinin, its derivatives and *Artemisia annua* infusion. This study investigated the effect of Silicon (Si) in soil on *A. annua* plant physiology, its role on artemisinin content and the role of tea infusion on *T. gondii* replication. The experimental design consisted of five treatments (0, 200, 400, 800 and 1600 kg/ha). Analysis of foliar macronutrients showed a significant increase only for Nitrogen at the highest Si concentration. The 400 kg/ha Si treatment induced the highest total glandular trichome area related with the intact glandular trichomes, as observed by scanning electron microscopy. Artemisinin content in plant leaves and tea infusion was determined by thin layer chromatography (TLC) and high performance liquid chromatography (HPLC). Proliferation assays showed that both cell treatments with tea infusion (with 400 kg/ha Si and without Si) after infection decreased parasite proliferation in a dose-dependent manner. Also, when cell treatment was performed along with the infection, there was inhibition of parasite growth for both treatments, though more evident with the infusion treatment without Si.

In conclusion, the soil with Si had positive effect on the glandular trichome areas and artemisinin contents, but this outcome was not associated with a better efficacy of *A. annua* tea infusion on *T. gondii* replication. These findings suggest that other components rather than artemisinin could be contributing to this effect, as flavonoids present in its leaves that may act in synergism with the artemisinin and improving its efficacy.

Financial support: CAPES, CNPq and FAPEMIG.

**PHENOTYPIC AND GENOTYPIC CHARACTERIZATION OF
TWO *Toxoplasma gondii* ISOLATES IN FREE RANGE CHICKENS
(*Gallus domesticus*) FROM UBERLÂNDIA, MG, BRAZIL**

CS Lopes¹, NM Silva², RM Soares³, HFJ Pena³, DAO Silva¹, C Su⁴,
SM Gennari³, JRMineo¹

¹ Laboratory of Immunoparasitology, Department of Immunology, Microbiology and Parasitology, Federal University of Uberlândia, Av. Pará, 1720, Uberlândia, CEP 38400 902, Brazil

² Laboratory of Immunopathology, Department of Histology and Embryology, Federal University of Uberlândia, Av. Pará, 1720, Uberlândia, CEP 38400 902, Brazil

³ Laboratory of Parasitic Diseases, Department of Veterinary Preventive Medicine and Animal Health, School of Veterinary Medicine and Zootechny, University of São Paulo, SP, Brazil 05508-270 Brazil

⁴ Department of Microbiology, The University of Tennessee, Knoxville, TN 37996-0845, USA

The aim of the present study was to characterize genotypically and phenotypically two isolates from *T. gondii* obtained from free range chickens from Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. For this purpose, tissue samples from infected chickens were processed and inoculated in mice for bioassay. These animals were observed and samples of serum were collected to evaluate seroconversion by ELISA. After confirmation of seropositivity in these animals, it was performed the determination of the *T. gondii* genotypes in these samples, using primers for the following markers: SAG1, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, new SAG2, Apico and CS3. Two isolates from *T. gondii*, named Udi1-CH5 and Udi2-CH5, were obtained from heart samples of free-range chickens. The genotyping results of both isolates indicate that they are resultant of combinations of Type I, II and III. Udi1-CH5 isolate has five markers indicating type I, two of type II and five markers of type III, whereas the Udi2-CH5 isolate has nine markers indicating type I, one marker to type II, one marker to type III and one allele atypical in c22-8, presenting a different standard of the genotypes already identified for *T. gondii*. Both isolates demonstrated virulence to rodent models and exhibited different biological features. In conclusion, these results strongly support the idea that type I strains are high virulent in rodent model because they share a small number of genes that are unique to this lineage. This high *T. gondii* genetic variability isolated from Brazil shows distinct combinations of alleles in several loci leading distinct phenotypes.

Key words: *Toxoplasma gondii*, isolates, genotyping, phenotyping, PCR-RFLP

DIFFERENTIAL OCURENCE OF *Toxoplasma gondii* AND *Neospora caninum* INFECTIONS IN SERUM SAMPLES FROM BLOOD DONORS FROM CATALÃO - GO.

MS Costa¹, LV Fernandes², LF Costa¹, FM Santiago¹, TWP Mineo¹, JR Mineo¹

¹ *Laboratory of Immunoparasitology, Institute of Biomedical Sciences, Universidade Federal de Uberlândia, 38400-902 Uberlândia, MG, Brazil*

² *Hemocentro Regional de Catalão, 38400-902 Catalão, GO, Brazil*

Neospora caninum is a cyst-forming protozoan parasite closely related to *Toxoplasma gondii* due to the existence of similar components. Considering dogs as the definitive host to *N. caninum*, most of humans are highly exposed, which can lead Neosporosis to be considered as a public health concern. In respect of Toxoplasmosis, it may be acquired by ingestion of water or food contaminated with oocysts present in the feces of felines, but is not transmitted from one person to another even though the transmission has been confirmed by blood transfusion and organ transplants from infected people. The present work aimed the diagnosis for toxoplasmosis and neosporosis in serum samples from blood donors from Blood Center of Catalão. After obtaining the soluble antigen of *N. caninum* (NLA) and *T. gondii* (STAg), it was carried out sensitization of plates for ELISA immunoassays being 20 µg/mL for *N. caninum* and 10 µg/mL for *T. gondii*. For both assays, the serum samples were used at a dilution of 1/100 and the human IgG conjugated with peroxidase in a proportion of 1/250. For immunoblot assay, nitrocellulose membranes containing NLA or STAg were eletrotransferred and incubated with serum and conjugates, under the same conditions used in ELISAs. For the characterization of immunogenic proteins from *N. caninum*, two-dimensional eletrophoresis (SDS-PAGE-2D) was performed followed by Immunoblot. The results obtained by ELISA showed that 65% of blood donors were positive for *T. gondii* and confirmed by the presence of proteins TgSAG-1 (p30) and TgSAG-2 (p22) by Immunoblot. For *N. caninum*, it was observed a rate of 27% positivity of serum samples by ELISA, but only 13% of the samples were confirmed positive by Immunoblot, based on visualization of immunodominant proteins from this parasite ranging from 35 to 45 kDa. Immunoblots carried out after SDS-PAGE-2D demonstrated that only the 37 kDa protein from *N. caninum* was stained., It can be concluded that the occurrence of *N. caninum* and *T. gondii* infections needs to be confirmed by Immunoblot in order to differentiate both of them, as this assay can clarify the false positive results due to the existence of cross reactivity among proteins from these aplicomplexan parasites.

Key-words: Neosporosis, Toxoplasmosis, proteins, seroprevalence, serum.

**INVESTIGAÇÃO DA INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* e *Leishmania* spp.
EM FELINOS DOMÉSTICOS NO MUNICÍPIO DE ARAÇATUBA, SÃO
PAULO**

L Silveira-Neto¹, LG Camossi², DFF Cardia¹, H Langoni², KDS Bresciani^{1,3}

¹Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, Jaboticabal. ²Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, Botucatu ³Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP, Araçatuba, SP. E-mail: bresciani@fmva.unesp.br

Toxoplasmose e Leishmaniose são zoonoses amplamente difundidas no mundo, podendo causar de lesões leves até a morte de seu hospedeiro. O objetivo deste trabalho foi investigar a ocorrência destas enfermidades e sua associação à raça, ao sexo e à idade de felinos domésticos. Foram avaliadas 386 amostras de soro de gatos alocados ao Centro de Controle de Zoonoses do município de Araçatuba, Estado de São Paulo, e submetidas de forma pareada às reações de imunofluorescência indireta (RIFI) com antígenos de *Toxoplasma gondii* e *Leishmania major*, assumindo os pontos de corte 1:64 e 1:40, respectivamente. Duas amostras (0,5%) foram reagentes para leishmaniose com títulos de anticorpos 1:160 e 1:320. Devido a esta baixa prevalência, não foi possível realizar o teste de associação às variáveis predeterminadas. Foram reativas para Toxoplasmose 63/386 (16,3%) das amostras, dentre as quais 25 (39,7%) apresentaram títulos de anticorpos 1:64, 16 (25,4%) 1:256, 6 (9,5%) 1:1024, 11 (17,5%) 1:4096 e 5 (7,9%) 1:16384, sendo distribuídas entre 36/186 machos (19,4%) e 27/200 fêmeas (17,5%); 2/14 (14,3%) com raça definida e 61/372 (16,4%) sem raça definida; 12/122 (9,8%) dos animais com até 30 dias, 8/45 (11,7%) entre 31 e 60 dias, 5/46 (10,9%) entre 61 e 365 dias, 38/173 (22,0%) acima de um ano. A faixa etária foi a única variável em que houve associação com a ocorrência de anticorpos contra *T. gondii* ($p=0,0312$). A prevalência amostral de leishmaniose foi baixa quando comparada a dados de outros estudos realizados na mesma região, tal fato pode ter sofrido influência do tipo de amostragem e/ou do método diagnóstico empregado. A prevalência amostral de toxoplasmose está de acordo com os resultados de outras pesquisas e confirma sua maior ocorrência em gatos mais velhos, talvez por terem um maior tempo de exposição ao patógeno no ambiente.

Palavras-chave: Leishmaniose, Toxoplasmose, ocorrência, gatos.

E-NTPDASE AND E-ADA: EVALUATION OF THEIR ACTIVITIES IN LYMPHOCYTES OF RATS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH *Toxoplasma gondii*

CF Barbosa¹, AA Tonin², G Camillo³, AS Da Silva⁴, FF Vogel³, STA Lopes², ML de La Rue¹.

¹. Departamento de Microbiologia e Parasitologia, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS, Brazil. ² Departamento de Clínica de Pequenos Animais, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS, Brazil.. ³. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM, RS, Brazil. ⁴. Departamento de Zootecnia, Universidade do Estado de Santa Catarina, UDESC, SC, Brazil. E-mail: cleberbarbosabio@hotmail.com

Toxoplasmosis, caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*, is a worldwide zoonosis with very high seroprevalence in South America. The success of *T. gondii* depends on a delicate balance between the host immune response, which tries to clear the parasite, and the immune evasion strategies or immunomodulation elicited by the parasite, which enables the ultimate survival of both the parasite and the host. The purinergic signaling system plays an important role in modulating the inflammatory and immune responses by extracellular biomolecules such as adenine nucleotides (ATP, ADP and AMP) and their derived nucleoside adenosine. Extracellular ATP and adenosine are controlled by ecto-enzymes such as ecto-nucleoside triphosphate diphosphohydrolase (E-NTPDase; CD39; EC 3.6.1.5) and ecto-adenosine deaminase (E-ADA; EC 3.5.4.4). Considering the purinergic system enzymes as closely involved in the modulation of immune system, participating in the regulation of pro and anti-inflammatory events, this study aimed to investigate the E-NTPDase and E-ADA activities in lymphocytes from rats experimentally infected with *Toxoplasma gondii*. For this purpose, twenty four adult male rats (Wistar) were divided in two groups/four subgroups (A1 and A2; B1 and B2 - 6 animal/each group), with “A” as uninfected and “B” inoculated with *T. gondii* (RH strain). Samples collection was performed on days 5 and 10 post-infection (p.i.) for evaluation of the activity of E-NTPDase and E-ADA in lymphocytes. Enzymes essays showed that the hydrolysis of ATP increased on days 5 ($P<0.05$) and 10 ($P<0.01$) p.i., and of ADP on day 10 ($P<0.01$) p.i.. E-ADA activity also increased in both periods ($P<0.01$). Based on E-NTPDase and E-ADA increased activities observed in lymphocytes, it is possible to suggest their involvement in an anti-inflammatory response, consisting of a modulatory response, preventing excessive tissue damage caused by the infection with *Toxoplasma gondii*.

Keywords: lymphocytes; E-NTPDase; E-ADA; toxoplasmosis.

ABREU, M. N. S. (PO 03)
AGUIAR, C. L. G. (PO 58)
ALBUQUERQUE, M. C. (P 4.1)
ALBUQUERQUE, P. P. F. (PO 25; PO 32; PO 46)
ALEIXO, A. L. Q. C. (P 4.1; P 4.4)
ALEIXO, D. L. (P 3.4)
ALMEIDA, H. M. S. (PO 05)
ALMEIDA, J. C. (PO 13)
ALVES, M. G. (PO 14)
AMENDOEIRA, M. R. R. (PO 21; PO 30; P 4.1; P 5.1)
AMORIM-JÚNIOR, E. (PO 55)
ANDRADE JR, H. F. (PO 29; PO 45; PO 48; PO 49; P 2.2; P 3.5; P 3.7)
ANDRADE NETO, J. L. (P 4.5)
ANDRADE, G. M. Q. (PO 03; PO 04; PO 20; P 1.2; P 3.2)
ANDRADE, J. Q. (PO 03; P 1.2)
ANDRADE, L. H. M. (PO 52)
ANGEL, S. O. (P 3.7)
AQUINO, M. C. C. (PO 11)
ARANTES, T. E. F. (P 4.5)
ARAÚJO, E. J. A. (PO 6)
ARAÚJO, F. A. P. (PO 51)
ARAÚJO, J. B. (P 2.1)
ARAÚJO, R. M. (P 1.1)
ARAÚJO, S. M. (PO 60; P 3.4)
ARRUDA, D. C. (PO 43)
ASSIS, C. H. C. (PO 30)
BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. (P 4.2)
BARBOSA, C. F. (PO 70; P 5.2)
BARING, S. (P 1.3)
BARROS, G. B. (P 5.4)
BARROS, L. D. (PO 22; P 2.3; P 5.3)
BARROSO, J. A. (PO 30)
BARTHOLOMEU, D.C. (P 1.4)
BASTOS-SILVA, I. (P 4.6)
BATISTA, T. P. A. (P 4.6)
BECHER, L. M. (P 3.7)
BELLATO, V. (PO 02; PO 42)
BENCHIMOL, E. I. (P 4.1; P 4.4)
BERGAMASCHI, D. P. (PO 31)
BICHARA, C. N. C. (PO 35; PO 37; PO 40)
BISOL, J. (PO 51)
BOABAID, F. M. (PO 57)
BONECINI-ALMEIDA, M. G. (P 4.1)
BORGES, M. M. (PO 27; PO 53)
BORTOLUCI, A. (P 3.4)
BRAGA, C. F. (PO 60; P 3.4)
BRANDÃO, F. Z. (PO 23; PO 24)

BRASIL, R. A. (P 4.6)
BREGANÓ, J. W. (PO 16)
BRESCIANI, K. D. S. (PO 05; PO 11; PO 64; PO 69)
BRINKER, J. C. (PO 51)
BUERY JC (PO 12)
CABRAL, A. D. (PO 50; PO 57)
CADEMARTORI, B. G. (PO 58; PO 59)
CAIAFFA, W. T. (PO 03)
CALDART, E. T. (PO 10; PO 41)
CALOGEROPOULOU, T. (PO 33)
CÂMARA, D. R. (PO 25; PO 32; PO 46; P 3.1)
CAMILLO, G. (PO 70; P 5.2)
CAMOSSO, L. G. (PO 69)
CAÑON-FRANCO, W. A. (PO 56)
CAPOBIANGO, J. D. (PO 28; PO 61)
CARDIA, D. F. F. (PO 69)
CARDIM, S. T. (P 2.3)
CARDOSO, T. H. S. (PO 63)
CARELLOS, E. V. M. (PO 03; PO 04; P 1.2)
CARMO, E. L. (PO 35, PO 37)
CARNEIRO, A. C. A. V. (PO 04; PO 20; PO 36; P 3.2)
CARNEIRO, C. S. (PO 30)
CARNEIRO, M. (PO 04)
CARRAL, L. (PO 17)
CARVALHEIRO, C. G. (P 1.1)
CARVALHO, A. A. B. (PO 64)
CARVALHO, B. F. (P 3.5)
CARVALHO, L. (P 3.3)
CARVALHO, R. P. (P 3.7)
CARVALHO, S.N. (P 3.3)
CASAGRANDE, R. A. (PO 57)
CASARTELLI-ALVES, L. (PO 21)
CASELLA, A. M. B. (PO 28)
CASTILHO-PERES, M. (PO 26; PO 43)
CERUTTI JR, C. (PO 12)
CEZAR, T. L. C (PO 16)
CONSTANTINO, C. (PO 10)
CORTEZ, E. A. C. (P 3.3)
COSTA, A. (P 3.7)
COSTA, J. G. L. (PO 36; P 3.2)
COSTA, L. F. (PO 54; PO 68)
COSTA, M. S. (PO 54; PO 65; PO 68)
COSTA-SILVA, T. A. (PO 27)
COUTO, C. (PO 17; PO 18; P 4.3)
CRUZ, C. E. F. (PO 57)
CRUZ, N. L. N. (PO 25; PO 32)
CUNHA FILHO, N. A. (PO 58)

CUNHA- JÚNIOR, J. P. (PO 62; PO 63; P 5.4)
CUNHA, A. O. (PO 65)
CUNHA, I. A. L. (P 2.3; P 5.3)
CURIL, A. L. (P 4.4)
DA COSTA, A. J. (PO 5)
DA SILVA, A. S. (PO 70; P 5.2)
DA SILVA, A. V. (P 2.1)
DA SILVA, H. M. (PO 05)
DA SILVA, R. C. (PO 21; P 2.1)
DAS NEVES, L. B. (PO 21)
DE ALMEIDA, N. R. (P 5.1)
DE BRITO, C. A. (PO 29)
DE LA RUE, M. L. (PO 70; P 5.2)
DE OLIVEIRA, A. S. (PO 37)
DE PAULA, M. D. N. (P 4.6)
DE SÁ, S. G. (PO 46)
DE SOUZA, W. (PO 33)
DEVENS, B. A. (PO 01)
DEVLIN, A. (PO 56)
DIAS, I. S. X. (P 3.3)
DIAS, R. C. F. (PO 10; PO 41)
DIETZE, R. (P 5.4)
DOMINGUES, W. (PO 47; P 1.5)
DOURADO, V. G. (PO 19; PO 26)
DRIEMEIER, D. (PO 57)
DUBEY, J. P. (PO 55)
ELIAS, L. S. (PO 14)
ESPER, C. R. (PO 5)
EVERS, F. (PO 16; PO 22; PO 61)
EWALD, M. P. C. (PO 22)
FALAVIGNA-GUILHERME, A. L. (PO 13; PO 19; PO 43; P 3.4)
FALKOWSIKI, G. J. (P 3.4)
FARIA, M. S. (PO 62)
FARIAS, N. A. R. (PO 58; PO 59)
FEITOSA, B. C. O. (PO 32)
FERNANDES, L. V. (PO 68)
FERNANDES, M. D. (PO 15)
FERNANDES, S. M. L. (PO 08)
FERREIRA JR, A. (PO 62)
FERREIRA, A. M. R (PO 23; PO 24; PO 34)
FERREIRA, C. P. (PO 07)
FERREIRA, F. B. (PO 62)
FERREIRA, I. M. R. (P 4.6)
FERREIRA, L. C. (PO 21)
FIGUEREDO, J. E. (PO 37)
FIGUEREDO, M. C. (PO 37)
FILHO, O. A. M. (PO 20)

FOCHI, M. (P 1.3)
FORGOSO, R. C. (PO 48)
FOURNIER, G. F. S. R. (PO 09; PO 50)
FRANCESCHINI, P. H. (PO 05)
FRAZÃO-TEIXEIRA, E. (PO 23; PO 34)
FREDERICO, F. B. (PO 39)
FREIRE, R. L. (PO 10; PO 16; PO 25; PO 41; PO 46; PO 61)
FREITAS, T. D. (PO 51)
FUJIWARA, R. T. (P 3.2)
FUX, B. (PO 12)
GAETA, N. C. (PO 44)
GALHARDO, C. S. (PO 27)
GALISTEO JR, A. J. (PO 29; PO 48; P 3.7)
GARCIA, J. L. (PO 05; PO 06; PO 13; PO 22; PO 61; P 2.3; P 3.1; P 3.4; P 5.3)
GAVA, R. (PO 39)
GEBRIM, L. C. (PO 54)
GENNARI, S. M. (PO 09; PO 31; PO 44; PO 50; PO 55; PO 56; PO 67; P 2.4)
GERALDI, V. C. (P 2.4)
GOIS, M. B. (PO 06)
GREGO, C. (PO 30)
GREGO, K. F. (PO 50)
GREGORY, L. (PO 44)
GUARALDO, L. (P 4.4)
GUILHERME, G. F. (P 3.4)
GURGEL, R. Q. (P 1.1)
HAGIWARA, M. K. (PO 31; P 5.1)
HIGA, L. T. (PO 13; PO 19; PO 26; PO 43; P 3.4)
HIRAMOTO, R. M. (P 3.7)
HOOGESTEIJN, R. (PO 55)
IMBUZEIRO, F. (PO 30)
INAGAKI, A. D. M. (P 1.1)
INOUE, I. T. (PO 28)
JANUÁRIO, J. N. (PO 03; PO 04; PO 20; P 1.2)
JIMENEZ-SANZ, A. L. (PO 23; PO 34)
KANUNFRE, K. A. (PO 47; P 1.5)
KIM, P. C. (PO 46; P 3.1)
KOINI, E. (PO 33)
KORNDORFER, G. H. (PO 66)
LANGONI, H. (PO 21; PO 69; P 2.1)
LEDO, G. (PO 02)
LEMOS, E. M. (P 5.4)
LIMA, I. A. R. (P 4.4)
LOGES, L. (PO 58)
LOPES, C. S. (PO 67)
LOPES, M. G. (PO 50)
LOPES, S. T. A. (PO 70; P 5.2)
LOPES-MORI, F. M. R. (PO 16; PO 28)

LÓPEZ-OROZCO, N. (PO 56)
LOURES, I. R. C. (PO 03)
LUGARINI, C. (PO 52)
MACEDO JR, A. G. (PO 62; PO 63)
MACHADO, A. S. (PO 20)
MACHADO, R. Z. (P 2.3)
MANGIAVACCHI, B. M. (PO 40)
MARCIANO, M. A. M. (PO 49)
MARINHO, R. Q. (PO 02)
MARINHO, R. R. (PO 35; PO 37)
MARINHO, R. S. (P 3.3)
MARTINS, L. M. (PO 40; P 4.2)
MARTINS-DUARTE, E. S. (PO 33)
MARVULO, M. F. V. (PO 52; P 2.4)
MASCARENHAS, M. F. N. (PO 10)
MASSINI, P. F. (P 3.4)
MATIELLO, J. P. (PO 42)
MATOS, L. F. (PO 23)
MATOS, L. V. S. (PO 11)
MATTEI, R. J. (P 2.1)
MATTOS, C. C. B. (PO 07; PO 08; PO 39; P.1.3)
MATTOS, L. C. (PO 07; PO 08; PO 39; P.1.3)
MAY-JUNIOR, J. A. (PO 55; PO 56)
MEIRA, C. S. (PO 07; PO 38; PO 39; P 3.6)
MEIRELES, L. R. (PO 49; P 2.2; P 3.5)
MENDONÇA, J. C. (PO 26)
MENEZES, R. C. (PO 21)
MENEZES-SOUZA, D. (P 3.2)
MEYER, A. (PO 17)
MINEO, J. R. (PO 54; PO 62; PO 63; PO 65; PO 66; PO 67; PO 68; P 5.4)
MINEO, T. W. P. (PO 54; PO 62; PO 63; PO 65; PO 68)
MINERVINO, A. H. H. (P 2.4)
MIRANDA, V. S (PO 65)
MITSUKA-BREGANÓ, R. (PO 16; PO 28)
MIURA, A. C. F. (PO 22; P 2.3)
MONTEIRO, N. S. S. (PO 35; PO 37)
MORAES, É. P. B. X. (PO 32)
MORAES, F. C. (PO 64)
MORAES-JÚNIOR, E. A. (PO 56)
MORAIS, R. A. P. B. (PO 35)
MORGULIS, M. S. F. A. (PO 31)
MOROZ, L. R. (P 2.5)
MOTA, B. D. L. (PO 35)
MOTA, B. D. O. (PO 37)
MOTA, C. M. (PO 62, PO 66)
MOTA, R. A. (PO 25; PO 32; PO 46; PO 52; P 3.1)
MOTOIE, G (PO 38; PO 39; P 3.6; P 4.6)

MOURA, A. B. (PO 02; PO 42)
MOURA, A. S. (P 3.3)
MUCCIOLI, C. (P 4.5)
NAGAHAMA, E. E. I. (PO 19; PO 26; PO 43)
NAKASHIMA, F. (PO 08)
NAVARRO, I. T. (PO 10; PO 16; PO 28; PO 41; PO 61)
NEVES, C. S. A. (PO 37)
NEVES, E. S. (PO 30; P 4.4)
NEVES, L. B. (P 4.1)
NEVES, L. F. (PO 15)
NICOLAU, J. L. (PO 21; P 4.1)
NINO, B. S. L. (PO 13; PO 16)
NOGUEIRA, N. L. (PO 66)
OKAY, T. S. (PO 47; P 1.5)
OLIANI, A. H. (PO 07)
OLIVEIRA, A. A. F. (P 3.1)
OLIVEIRA, A. S. (PO 35)
OLIVEIRA, B. C. M. (PO 11)
OLIVEIRA, D. M. P. (PO 09)
OLIVEIRA, E. V. (PO 30)
OLIVEIRA, F. (PO 59)
OLIVEIRA, F. C. R. (PO 23; PO 34)
OLIVEIRA, F. R. (PO 24)
OLIVEIRA, L. A. (PO 66)
OLIVEIRA, L. M. G. B. (PO 14; PO 40)
OLIVEIRA, R. A. S. (PO 52)
OLIVEIRA, T. A. (PO 05)
OLIVEIRA, T. C. (PO 66)
ONUMA, S. S. M. (PO 56)
OSSANI, R. A. (PO 42)
PAGLIARI, S. (PO 28; PO 61)
PAIVA, M. C. D. C. (P 5.3)
PAIVA, P. R. (PO 50)
PASQUALI, A. K. S. (PO 10; PO 16; PO 41)
PEIXE, R. G. (P 4.2)
PENA, H. F. J. (PO 44; PO 50; PO 57; PO 67; P 2.4; P 2.5)
PEREIRA, M. M. (PO 05)
PEREIRA-CHIOCCOLA, V. L. (PO 07; PO 27; PO 38; PO 39; PO 53; P 3.6; P 4.6)
PERRI, S. H. V. (PO 11)
PIASSA, F. R. (P 2.1)
PINHATA, M. M. M. (P 1.1)
PINHEIRO, B. V. (PO 36)
PINHEIRO, M. M. (P 4.5)
PIROVANI, C. P. (PO 63; P 5.4)
PORTO, W. J. N. (PO 25; PO 32; PO 46; P 3.1)
PÓVOA, M. M. (PO 35; PO 37)
QUEIROZ, L. H. (PO 64)

QUEVEDO, P. (PO 59)
QUINTANA, M. S. B. (P 4.4)
RAGOZO, A. M. A. (PO 31)
RAMOS, T. S. (PO 58; PO 59)
REICHE, E. M. V. (PO 28; PO 61)
RESENDE, L. M. (PO 04)
REZENDE NETO, C. P. (PO 28)
RICCI JR, O. (PO 08)
RICHINI-PEREIRA, V. B. (P 2.1)
RIZZO, H. (PO 44)
ROCHA, A. G. (PO 51)
ROCHA, A. S. R. (PO 59)
RODRIGUES, J. C. (PO 47; P 1.5)
RODRIGUES, J. P. (PO 45; P 3.7)
RODRIGUES, K. F. P. (P 4.5)
RODRIGUES, T. O. (PO 64)
ROLIM, V. M. (PO 57)
ROMANELLI, R. M. C. (PO 03; PO 04; P 1.2)
ROSA, R. C. (P 2.1)
ROSSI, M. L. (PO 66)
ROSSINI, R. (PO 19)
ROSTKOWSKA, C. (PO 66)
RUAS, J. (PO 59)
RUDZINSKI, C. (PO 17)
RUDZINSKI, M. (PO 17; PO 18; P 4.3)
SALCEDO, J. H. P. (PO 01)
SAMMI, A. S. (P 2.3; P 5.3)
SANT'ANA, D. M. G. (PO 06; PO 60)
SANTANA, L. F. (PO 05)
SANTANA, S. S. (PO 54; PO 63; P 5.4)
SANTIAGO, F. M. (PO 54; PO 62; PO 63; PO 65; PO 66; PO 68)
SANTOS, A. L. Q. (P 2.4)
SANTOS, J. R. (P 5.3)
SANTOS, L. M. J. (PO 59)
SANTOS, T. C. C. (P 2.2)
SARTOR, A. A. (PO 02; PO 42)
SARTORI, F. M. (PO 12)
SATO, M. N. (PO 29)
SHIMOKAWA, P. T. (PO 47; P 1.5)
SICUPIRA, P. M. L. (PO 22)
SILVA FILHO, H. H. (PO 62)
SILVA, A. F. (PO 23; PO 24; PO 34)
SILVA, C. L. (P 3.3)
SILVA, D. A. O. (PO 62; PO 63; PO 66; PO 67; P 5.4)
SILVA, F. B. F. (PO 34)
SILVA, F. M. (PO 03)
SILVA, J. C. R. (PO 52)

SILVA, J. S. (PO 63)
SILVA, L. A. (PO 15; P 1.4)
SILVA, L. T. A. P. (PO 49)
SILVA, M. O. (PO 42)
SILVA, M. V. (PO 62; PO 63)
SILVA, N. M. (PO 67)
SILVEIRA-NETO, L. (PO 69)
SIMONNET, X. (PO 66)
SIQUEIRA, D. B. (P 2.4),
SOARES, H. S. (PO 55; PO 56; P 2.4)
SOARES, R. M. (PO 67, P 2.4)
SOARES, V. (PO 05)
SOUZA NETO, O. L. (PO 52; P 3.1)
SOUZA, A. P. (PO 02; PO 42)
SOUZA, T. S. (PO 30)
SOUZA-E-SILVA, C. H. (PO 04)
SOZIGAN, R. K. B. (P 2.5)
SPEGIORIN, L. C. J. F. (PO 07)
STRANG, A. G. (PO 26)
STOBBE, N. S. (PO 51)
STRIGNOLO, C. R. (P 5.1)
STUMBO, A. C. (P 3.3)
SU, C. (PO 67, P 2.1, P 2.3)
SUHETT, C. S. R. (PO 60)
SUMITA, L. M. (P 1.5)
TABACOW, V. B. D. (PO 61)
TARGA, L. S. (PO 47, P 1.5)
TARODA, A. (PO 13; P 2.3; P 5.3)
TAVARES, A. (PO 36)
TAVARES, A. T. (P 3.2)
TEIXEIRA, A. L. (PO 31)
TEIXEIRA, E. (PO 24)
TEIXEIRA, L. E. (PO 47; P 1.5)
TEIXEIRA, M. C. (PO 51)
THOLE, A. A. (P 3.3)
TIBÚRCIO, J. D. (P 1.2)
TOKUNAGA, F. M. (PO 26)
TONIN, A. A. (PO 70; P 5.2)
TORTATO, F. (PO 55)
TREVISANI, N. (PO 02)
VASCONCELOS-SANTOS, D. V. (PO 03; PO 04; PO 20; P 1.2; P 3.2)
VAZ, L. D. (P 5.4)
VAZ-OLIANI, D. C. M. (PO 07)
VENTURI, S. S. (PO 23; PO 24)
VICENTINO, S. L. (PO 06)
VIDAL, J. E. (PO 38; PO 39; P 3.6; P 4.6)
VIDOTTO, O. (P 2.3)

VIEIRA, F. P. (PO 14)
VILELA, D. A. R. (PO 09)
VILLALOBOS, E. M. C. (PO 44)
VILLAR, B. B. L. (P 4.4)
VILÓRIA, M. I. V. (PO 01)
VIOL, M. A. (PO 11)
VITALIANO, S. N. (P 2.4)
VITOR, R. W. A. (PO 04, PO 12; PO 15; PO 20; PO 36; P 1.4; P 3.2)
VOGEL, F. F. (PO 70; P 5.2)
VOMMARO, R. C. (PO 33)
WANDERLEY, F. S. (PO 25; PO 32; PO 46; P 3.1)
WERTHER, K. (P 2.4)
WOUTERS, A. T. B. (PO 57)
WOUTERS, F. (PO 57)
XAVIER, G. A. (PO 58)
YACONO, M. L. (P 3.7)
YAMAMOTO, L. (PO 47; P 1.5)
ZANGARI, C. (PO 19; P 3.4)
ZANNA, R. L. D. (PO 53)
ZANUTTO, M. S. (PO 31)
ZORGI, N. E. (PO 29; PO 48)
ZULPO, D. L. (PO 13; P 2.3; P 5.3)

II SIMPÓSIO BRASILEIRO
DE **TOXOPLASMOSE**

