

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz

INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO DE PESQUISA CLÍNICA EVANDRO CHAGAS
DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA DAS DOENÇAS
INFECCIOSAS

ELIZABETH DE SOUZA NEVES

TOXOPLASMOSE AGUDA ADQUIRIDA:
ASPECTOS CLINICO - LABORATORIAIS,
AVALIAÇÃO OFTALMOLÓGICA E ESTUDO DO
POLIMORFISMO GENÉTICO PARA IFN- γ (+874)
EM PACIENTES ACOMPANHADOS NO
IPEC/FIOCRUZ (2006 a 2009)

Orientador: Octavio Fernandes da Silva Filho

Rio de Janeiro

2010

Toxoplasmose aguda adquirida: aspectos clinico -
laboratoriais, avaliação oftalmológica e estudo do
polimorfismo genético para IFNG (+874) em pacientes
acompanhados no IPEC/Fiocruz (2006 a 2009)

ELIZABETH DE SOUZA NEVES

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação do
Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas -
FIOCRUZ para a obtenção de grau de Doutor em
Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas.

Orientador: Octavio Fernandes da Silva Filho

Rio de Janeiro

2010

Ao inesquecível e brilhante mestre Adrelírio Rios Gonçalves, por seu exemplo de dedicação profissional, respeito humano e entusiasmo pelo conhecimento.

- Obrigada por ter contribuído na formação daquela então jovem médica.

A Sergio e Isabel, gratas surpresas da vida,

Pela paciência, companheirismo e amor

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Octavio Fernandes da Silva Filho, amigo querido desde a já longínqua universidade, pela generosidade em me receber em seu laboratório, pelo entusiasmo com o projeto desde a sua elaboração, por compartilhar o seu conhecimento e pelas valiosas sugestões ao trabalho. Minha eterna gratidão e meu enorme carinho.

Aos pacientes e voluntários por terem aceitado participar deste trabalho, sem cuja colaboração altruística esta pesquisa não poderia ter sido realizada.

À gigantesca ajuda do Dr. André Luiz Land Curi, não só pela disponibilidade na realização dos exames oftalmológicos dos casos e controles, mas também pelo seu incentivo, pela sua amizade e pelas excelentes contribuições na interpretação dos resultados.

À querida Maíra Cavalcanti Albuquerque, pela participação em todas as etapas do projeto, pela criteriosa realização das extrações de DNA e pela paciência e serenidade frente às eventuais dificuldades com as amostras.

Ao grande amigo de todas as horas, Cassius Schnell Palhano-Silva, por ter disponibilizado um tempo de seu doutorado para colaborar na interpretação do misterioso mundo das análises estatísticas.

À incansável estagiária Laura Berriel da Silva pela ajuda na convocação dos voluntários e pelo seu exemplo de seriedade e dedicação ao trabalho.

À Dra. Maria Regina Reis Amendoeira, chefe do Laboratório de Toxoplasmose do Instituto Oswaldo Cruz – Fiocruz, e à sua magnífica equipe técnica, em especial José Leonardo Nicolau, Leandro Batista das Neves e Paulo Roberto Chaves da Silva pelas ótimas sugestões e pelo zelo no armazenamento das amostras.

À especial amiga Dra. Isabel Cristina Fábregas Bonna, pelo seu constante incentivo e pela disponibilidade em revisar a introdução desta tese.

À Dra. Patrícia Brasil, pelo apoio na rápida reposição dos kits de diagnóstico para a sorologia dos controles.

À Dra. Maria da Glória Bonecini pelas excelentes contribuições pelo estudo do polimorfismo.

À Dra. Maria José Andrada-Serpa e a Otávio de Melo Espíndola pelas proveitosas conversas durante o almoço e pela separação das células mononucleares.

Ao estatístico Marcio Candeias pelas suas sugestões na análise dos dados.

À Dra. Aparecida Garcia (*in memorian*), pioneira no estudo da Toxoplasmose no Rio de Janeiro.

A Wendy Fernandes Bueno, Lorena Neves Bicudo e Renata Goulart Ferreira pelo seu companheirismo e apoio neste e em outros projetos.

Às equipes da Seção de Gestão de Amostras e Resultados e do Laboratório de Imunologia do IPEC-Fiocruz, pela infinita paciência, disponibilidade e eficiência na coleta de sangue e realização das sorologias.

Aos membros da Vice-Direção de Ensino, do Comitê de Ética em Pesquisa, da Vice-Direção de Pesquisa e da Direção do IPEC-Fiocruz pela viabilização deste projeto.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica do IPEC-Fiocruz pelos bons momentos de companheirismo.

Ao Laboratório Diagnósticos da América (DASA) pela realização dos exames de PCR.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Centro de Integração Empresa-Escola (CIEE) pelo apoio financeiro.

À queridíssima e saudosa Hilda Henriques de Oliveira, pelo seu sorriso e pela sua generosidade.

RESUMO

Uma das zoonoses de maior prevalência no mundo, a toxoplasmose apresenta espectro clínico variável, sendo suas formas mais graves associadas a casos de transmissão congênita e à infecção em indivíduos imunocomprometidos. Estima-se que a maioria dos casos de toxoplasmose adquirida pós-natal em indivíduos imunocompetentes seja sub-clínica, ou oligossintomática. Quadros apresentando o envolvimento de múltiplos órgãos são considerados manifestações pouco usuais da infecção. Retinocoroidite, classicamente associada à forma congênita da protozoonose, é hoje reconhecida como complicação da toxoplasmose aguda adquirida. Diversos aspectos das manifestações da toxoplasmose aguda adquirida são ainda pouco esclarecidos, como as suas manifestações mais frequentes, a intensidade e duração dos sintomas assim como a sua associação com o surgimento de retinocoroidite. IFN- γ é uma citocina fundamental na proteção contra patógenos intracelulares, restringindo a multiplicação do parasito durante a fase aguda e acelerando a evolução para a fase crônica. Variações alélicas em regiões regulatórias dos genes que codificam esta citocina vêm sendo associadas à susceptibilidade ou resistência a diversas doenças infecciosas e podem ter influência na gravidade e no surgimento das complicações da toxoplasmose. O presente trabalho teve como objetivo investigar o acometimento sistêmico na toxoplasmose aguda adquirida, o surgimento de lesões oculares e a ocorrência de polimorfismo no gene que codifica para IFN- γ na posição +874 nesta população e assim, identificar potenciais marcadores prognósticos para o desenvolvimento de formas graves e das complicações oculares desta zoonose. Trinta e sete pacientes com toxoplasmose aguda adquirida foram acompanhados prospectivamente e submetidos ao mesmo protocolo de investigação clínico-laboratorial e oftalmológico por um mínimo de dois anos. Paralelamente, foi realizado o estudo de polimorfismo no gene que codifica para IFN- γ na posição +874 em 30 indivíduos desta coorte, maiores de 18 anos e em 90 controles pareados por sexo e faixa etária. Os achados clínicos mais frequentes foram linfonodomegalia, (94,6%), astenia (86,5%), cefaléia (70,3%), febre (67,6%) e perda de peso (62,2%). Hepatomegalia e/ou esplenomegalia ocorreu em 21,6% dos casos. Transaminases estavam aumentadas em 29,7% e desidrogenase láctica em 45,9% dos pacientes. Quatro pacientes (10,8%) apresentaram retinocoroidite. Uma escala de morbidade baseada na frequência das alterações observadas no primeiro atendimento mostrou associação com evolução mais prolongada da doença, mas não com o surgimento de retinocoroidite. Apesar de não ter sido estatisticamente significativa,

observamos maior frequência do alelo A (associado a baixo produtores de IFN- γ) entre os pacientes que desenvolveram lesão ocular e doença prolongada, e maior frequência do alelo T (associado a alto produtores de IFN- γ) entre os pacientes com formas mais graves da doença. Os resultados indicam que uma escala de morbidade construída a partir de dados obtidos na primeira avaliação pode tornar-se uma ferramenta útil quanto à tomada de decisão de indicação de tratamento e sugerem haver associação entre polimorfismo genético para IFN- γ com as manifestações clínicas na toxoplasmose aguda adquirida.

Palavras-chave: 1.Toxoplasmose 2.Retinochoroidite 3.Morbidade 4.*Toxoplasma gondii* 5.Interferon gama 6.Polimorfismo genético

ABSTRACT

One of the most prevalent zoonosis in the world, toxoplasmosis presents variable clinical spectrum, and its most severe clinical forms are associated with cases of congenital transmission and infection in immunocompromised individuals. It is estimated that most cases of postnatal acquired toxoplasmosis in immunocompetent persons is subclinical or oligosymptomatic. Conditions showing the involvement of multiple organs are considered unusual manifestations of this infection. Retinochoroiditis, classically associated with the congenital form of the zoonosis, is now recognized as a complication of acute acquired toxoplasmosis. Several aspects of the manifestations of acute acquired toxoplasmosis are poorly understood, as their most frequent manifestations, severity and duration of symptoms, as well as its association with the appearance of retinochoroiditis. IFN- γ is a key cytokine in protection against intracellular pathogens, restricting the multiplication of the parasite during the acute phase and accelerating the evolution to the chronic stage. Allelic variants in regulatory regions of genes coding for this cytokine have been associated with susceptibility or resistance to various infectious diseases and may affect the severity and the development of complications of toxoplasmosis. This study aimed to investigate the systemic involvement in acute acquired toxoplasmosis, the onset of ocular lesions, and the occurrence of polymorphism in the gene encoding IFN- γ in position +874 in this population, and thus identify potential prognostic markers for the development of serious ocular complications of this zoonosis. Thirty-seven patients with acute acquired toxoplasmosis were followed prospectively and underwent the same protocol of clinical, ophthalmological, and laboratory investigation for at least two years. In parallel, we performed a study of polymorphism in the gene coding for IFN- γ at the position +874 in 30 individuals in this cohort, with 18 years or more and in 90 controls matched by sex and age. The most frequent clinical findings were lymphadenopathy (94.6%), asthenia (86.5%), headache (70.3%), fever (67.6%), and weight loss (62.2%). Hepatomegaly and/or splenomegaly occurred in 21.6% of the cases. Aminotransferases were increased in 29.7% and LDH in 45.9% of the patients. Four patients (10.8%) had retinochoroiditis. A scale of morbidity based on the frequency of abnormalities observed in the first visit was associated with more prolonged evolution of the disease, but not with the emergence of retinochoroiditis. Although not statistically significant,

we found a higher frequency of A-allele (associated with low INF- γ producers) among patients who developed ocular injury and prolonged illness, and higher frequency of T-allele among patients with more severe disease forms. The results indicate that a scale of morbidity constructed from data obtained in the first assessment may become a useful tool for decision making regarding the indications for treatment and suggests an association between genetic polymorphisms for IFN- γ with clinical manifestations in acute acquired toxoplasmosis.

Key words: 1.Toxoplasmosis 2.Retinochoroiditis 3.Morbidity 4.*Toxoplasma gondii*
5.Interferon gama 6.Genetic polymorphism

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	<i>Toxoplasma gondii</i>	Página 6
FIGURA 2	Ciclo epidemiológico do <i>Toxoplasma gondii</i>	Página 8
FIGURA 3	Lesão de retinocoroidite hiperpigmentada cicatrizada com lesão satélite em atividade.	Página 11
FIGURA 4	Mecanismos da resposta imune mediada por células envolvida na infecção pelo <i>Toxoplasma gondii</i>	Página 13

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** Distribuição de genótipos e alelos para IFN- γ +874 T/A entre casos de toxoplasmose aguda adquirida e controles assintomáticos. Página 26

Distribution of genotypes and alleles for IFN- γ +874 T/A between cases of acute acquired toxoplasmosis and asymptomatic controls.

- TABELA 2** Frequência de genótipos e alelos para IFN- γ +874 T/A em pacientes com toxoplasmose aguda adquirida. Relação com doença prolongada, escala de morbidade e desenvolvimento de retinocoroidite. Página 27

Frequency of genotypes and alleles for IFN- γ +874 T/A in patients with acute acquired toxoplasmosis. Relation to prolonged illness, morbidity scale, and development of retinochoroiditis

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	Página 1
2. REVISÃO DA LITERATURA	Página 2
2.1. Histórico	Página 2
2.2. O parasito	Página 3
2.3. Epidemiologia	Página 6
2.4. Manifestações clínicas	Página 8
2.5. Imunopatogenia	Página 11
2.6. Diagnóstico	Página 14
2.7. Tratamento	Página 16
2.8. Prevenção	Página 17
3. JUSTIFICATIVA	Página 18
4. OBJETIVOS	Página 19
5. ARTIGO NÚMERO 1	Página 20
6. ARTIGO NÚMERO 2	Página 21
7. ARTIGO NÚMERO 3	Página 22
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	Página 34
9. CONCLUSÕES	Página 40
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Página 42

1. INTRODUÇÃO

Zoonose de distribuição cosmopolita e alta prevalência, a toxoplasmose é causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, coccídeo intracelular, heteroxeno facultativo, capaz de infectar diversas espécies de mamíferos e aves (Montoya e Liesenfeld, 2004; Tenter, 2009).

Embora a infecção em humanos seja, em geral, assintomática ou oligossintomática, é causa de alta morbidade e mortalidade em indivíduos imunodeprimidos e fetos (Montoya e Liesenfeld, 2004; Sukthana, 2006). Nas últimas décadas observamos um importante avanço no conhecimento da toxoplasmose. No entanto, diversos aspectos da história natural da doença e dos mecanismos imunopatológicos envolvidos na infecção por *T. gondii* carecem de elucidação.

Tem sido consenso que a Toxoplasmose Aguda Adquirida (TAA) não requer tratamento no indivíduo imunocompetente, a menos que os sintomas sejam graves e persistentes (Krick e Remington, 1978; Lynfield e Guerina, 1997; Montoya e Liesenfeld, 2004). A maioria dos casos é sub-clínica, ocorrendo sintomas em 10 a 20% dos casos (Remington, 1974; Montoya e Rosso, 2005). Síndrome Mononucleose-Símile, com doença febril linfadenopática, acompanhada de astenia e cefaléia é a manifestação mais descrita (Remington, 1974; McCabe, Brooks *et al.*, 1987). A extensão do acometimento sistêmico, o tempo de evolução da doença e o envolvimento de múltiplos órgãos em indivíduos imunocompetentes são descritos pontualmente e, em geral, associados à infecção por cepas mais virulentas de *T. gondii* (Bossi, Paris *et al.*, 2002). No entanto, a literatura é pobre em estudos que contemplem os aspectos clínicos da TAA, em especial quanto à avaliação sistemática de casos submetidos ao mesmo protocolo de investigação clínico-laboratorial.

Considerada inicialmente manifestação exclusiva de infecção congênita, a retinocoroidite é hoje reconhecidamente associada também à infecção aguda pós-natal (Melamed, 1988; Silveira, Belfort *et al.*, 1988; Glasner, Silveira *et al.*, 1992; Burnett, Shortt *et al.*, 1998; Gilbert e Stanford, 2000). Em algumas regiões, as lesões oculares podem estar presentes em até 17,7% dos indivíduos infectados por *T. gondii* (Glasner, Silveira *et al.*, 1992). O acometimento ocular, em geral, ocorre após os sintomas sistêmicos podendo ser a única manifestação da infecção (Perkins, 1973; Hausmann e Richard, 1991; Holland, 2003). A relação entre as manifestações sistêmicas da TAA e o surgimento de lesões oftalmológicas, bem como, os fatores determinantes do desenvolvimento de retinocoroidite ainda não estão esclarecidos.

A patogênese da toxoplasmose envolve um mecanismo complexo, relacionado a determinantes do parasito e do hospedeiro, tais como a virulência da cepa, o tamanho do inóculo, o *status* imunológico do hospedeiro assim como fatores genéticos tanto do parasito quanto do hospedeiro (Bossi, Paris *et al.*, 2002; Maubon, Ajzenberg *et al.*, 2008; Morisset, Peyron *et al.*, 2008). O parasito invade ativamente as células do hospedeiro, multiplicando-se livremente dentro de um vacúolo parasitóforo que não contém as proteínas promotoras da fusão lisossomal. Este *habitat* intracelular é um eficiente mecanismo de escape de *T. gondii* (Sibley, Weidner *et al.*, 1985).

Atualmente sabe-se que a produção de citocinas é fundamental para o estímulo da resposta das células T o que leva à fase crônica da infecção com formação de cistos teciduais contendo bradizoítos, formas de latência metabólica (Lieberman e Hunter, 2002; Bhopale, 2003; Gaddi e Yap, 2007). A imunidade mediada por células, com resultante produção de IL-12 e IFN- γ , é fundamental para o controle da infecção por *T. gondii* (Filisetti e Candolfi, 2004). Polimorfismos genéticos (variações alélicas de um mesmo *locus*) podem resultar em expressões fenotípicas diversas. Polimorfismos em genes que codificam citocinas têm sido correlacionados com a susceptibilidade ou resistência a diversas doenças, uma vez que resultam em maior ou menor produção destas proteínas. Em estudo anterior observou-se que indivíduos com genótipo AA na posição +874 no gene que codifica o IFN- γ , apresentavam uma associação com a susceptibilidade ao desenvolvimento da toxoplasmose ocular e que a presença dos genótipos AA e AT aumentava em 2,09 vezes a chance de desenvolver esta forma da doença em comparação com os indivíduos com homozigoze do alelo T (TT) (Albuquerque, 2007).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Histórico

Descrito de modo independente, por dois pesquisadores franceses (Charles Nicolle e Louis Herbert Manceaux) na Tunísia em roedores silvestres (*Ctenodactylus gondii*) (Nicolle e Manceaux, 1908; 2009) e no Brasil por Alfonso Splendore em coelhos (Splendore, 1908; 2009), *T. gondii* foi inicialmente considerado um parasito do Gênero *Leishmania* (Cox, 2002; Splendore, 2009), agente da leishmaniose, então endêmica no Norte da África e objeto das pesquisas iniciais de Nicolle e Manceaux.

Os primeiros casos de toxoplasmose humana foram descritos em 1923 por Janku, em Praga *apud* (Weiss e Dubey, 2009) e em 1927 por Magarino Torres no Rio de Janeiro (Torres, 1927), ambos em crianças com hidrocefalia e comprometimento visual. A associação definitiva de toxoplasmose como causa importante de infecção congênita foi reconhecida somente 14 anos depois (Wolf e Cowen, 1937). O parasito isolado foi então classificado como *Toxoplama hominis*, somando-se à lista interminável de espécies de “novos toxoplasmas” de acordo com o hospedeiro, tais como: *canis*, *talpae*, *paddae*, *atticoriae*, *columbae*, *ramphocoeli*, *poroariae*, *sicalilis*, *tanagraeae*, *trachyopizae*, *avis*, *musculus*, *galinarum* e *neofrontis* (Garrido, 1978). Em 1937 nos Estados Unidos Wolf e Cowen isolaram um parasito que classificaram como Encephalitozoon, a partir de tecido cerebral e retina de uma criança de um mês que apresentava lesões oculares e encefalite granulomatosa (Wolff A, 1937). Coube a Albert Sabin que dedicou anos de sua vida também ao estudo desta zoonose, concluir em 1939 que todos estes protozoários descritos pertenciam a uma só espécie: *Toxoplasma gondii*, o agente causal das lesões descritas por Janku, Torres e Wolff (Sabin, 1939).

A elucidação do complexo ciclo evolutivo do *T. gondii*, o papel do gato como hospedeiro definitivo, assim como a sua identificação como um coccídeo só foram descritos nos anos 60 e 70 (Dubey, 1968; Frenkel, Dubey *et al.*, 1970; Dubey, 2009). Apesar da elevada prevalência de toxoplasmose, as apresentações graves eram descritas apenas na forma congênita da doença até 1968, quando casos fatais foram relatados em pacientes com neoplasias hematológicas (Vietzke, Gelderman *et al.*, 1968).

Em 2009 festejou-se no Brasil o centenário da descoberta do *T. gondii* (Bahia-Oliveira, Darde *et al.*, 2009) com a presença de mais de 450 delegados de 25 países, tais como Jack Frenkel, Marie-Laure Dardé, David Ferguson, Jitender Dubey, Eskild Petersen, Rodolphe Thiébaud, Wanderley de Souza, Gary Holland, Jacobo Mellamed, Astrid Tenter e François Peyron, alguns deles citados neste trabalho, e que continuam escrevendo a história desta zoonose (Bichara, Lago *et al.*, 2010).

2.2. O parasito

T. gondii, o agente causal da toxoplasmose, é um protozoário heteroxênico facultativo e intracelular obrigatório que existe na natureza em três formas: **oocistos** (contendo e liberando esporozoítos), **cistos teciduais** (contendo bradizoítos) e **taquizoítos** (trofozoítos responsáveis pela parasitemia e pela fase aguda da infecção) sendo classificado taxonomicamente como pertencente ao subfilo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccídea, ordem

Eucoccidiida, subordem Eimerina, família Sarcocystidae (Levine, Corliss *et al.*, 1980). O homem, outros mamíferos e aves, constituem os seus hospedeiros intermediários, nos quais se passa a fase assexuada de seu ciclo evolutivo (Dubey e Frenkel, 1972; Dubey, 1998a). Após um período inicial de parasitemia, quando ocorre a multiplicação rápida e circulação dos trofozoítos (por este motivo denominado taquizoítos), há a formação de cistos teciduais, contendo formas parasitárias de multiplicação mais lenta (bradizoítos), principalmente em tecido muscular e nervoso, onde podem persistir ao longo da vida do hospedeiro (Remington e Cavanaugh, 1965; Krick e Remington, 1978; Montoya e Liesenfeld, 2004).

Os felídeos se infectam ao ingerir carne de pequenos animais contendo cistos teciduais, ou, menos frequentemente, pela ingestão de oocistos, taquizoítos ou via transplacentária (Tenter, Heckeroth *et al.*, 2000; Elmore, Jones *et al.*, 2010). A soroprevalência mundial de *T. gondii* em gatos é estimada em 30–40% (Elmore, Jones *et al.*, 2010). Nestes animais pode ocorrer tanto a multiplicação assexuada quanto a sexuada do protozoário com a conseqüente gametogonia e formação de oocistos, que são eliminados no solo juntamente com as fezes. Um gato pode eliminar até 10 milhões de oocistos por dia em um período que varia de 7 a 20 dias. Estes oocistos são eliminados ainda imaturos, mas em condições apropriadas esporulam em até cinco dias tornando-se infectantes (Dubey, 1998a; Dubey, Lindsay *et al.*, 1998). Os oocistos maduros contêm quatro esporozoítos e, em condições ambientais favoráveis, podem permanecer viáveis no solo por até 18 meses (Frenkel, Ruiz *et al.*, 1975; Dubey, 1998b), o que torna o solo um importante reservatório ambiental do *T. gondii*. Insetos são eventuais vetores mecânicos do parasito, no entanto, uma das mais importantes fontes de infecção é a veiculação hídrica, uma vez que o cisto de *T. gondii* é resistente inclusive à cloração (Aramini, Stephen *et al.*, 1999; Hall, Pandit *et al.*, 1999; Who, 2004; De Moura, Bahia-Oliveira *et al.*, 2006).

Os taquizoítos são a forma de multiplicação rápida do parasito, presentes na fase aguda da infecção, tendo sido isolados de diversos órgãos e líquidos corporais, inclusive saliva, lavado brônquico, sangue e leite (Amendoeira e Coutinho, 1982; Tenter, Heckeroth *et al.*, 2000; Leal, Cavazzana *et al.*, 2007). São capazes de invadir qualquer célula nucleada, sobrevivendo e multiplicando-se dentro dos vacúolos parasitóforos, levando à lise celular, penetrando células contíguas ou sendo transportados para outras áreas do corpo pelo sangue e linfa (Frenkel, 1988; Dubey, Lindsay *et al.*, 1998). Os taquizoítos são muito sensíveis às condições ambientais, e não resistem ao congelamento, à dessecação e à ação das enzimas digestivas (Dubey, 1998a). Por constituírem a forma encontrada na fase de parasitemia, são

responsáveis pela transmissão vertical e pelos raros casos de transmissão por transfusão e acidentes com material biológico (Siegel, Lunde *et al.*, 1971; Herwaldt, 2001).

A fase crônica da infecção está relacionada à diferenciação e organização dos trofozoítos em bradizoítos, estruturas morfológicamente idênticas aos taquizoítos, com multiplicação lenta, organizados em cistos tissulares. Os cistos localizam-se, predominantemente, em tecidos neuromusculares como cérebro, retina, músculos esqueléticos e coração. No entanto, podem ser encontrados em outros órgãos como rins, medula óssea, fígado e pulmões (Remington e Cavanaugh, 1965; Tenter, Heckeroth *et al.*, 2000; Barsoum, 2004). A expressão clínica dos bradizoítos pode ocorrer em casos de imunossupressão severa. Face à ausência de uma resposta imune celular adequada, os protozoários são liberados dos cistos, transformando-se novamente em taquizoítos, causando doença disseminada (Ferreira e Borges, 2002). *Toxoplasma gondii* é o principal agente oportunista em pacientes com AIDS (Wong e Remington, 1993), também associado à infecção em pacientes submetidos a quimioterapia e em transplantados (Cohen, 1970; Ruskin e Remington, 1976).

Análise genética de isolados de *T. gondii* oriundos da Europa e América do Norte demonstra três principais linhagens clonais: tipo I, II e III com diferenças biológicas, epidemiológicas e patogênicas (Howe e Sibley, 1995). A linhagem do tipo I mostra maior virulência em infecções nos camundongos, enquanto as do tipo II e III são relativamente menos virulentas (Sibley, Mordue *et al.*, 2002). As linhagens do tipo II e, em especial, a tipo III são associadas à infecção em animais domésticos e selvagens (Howe e Sibley, 1995; Sibley, Khan *et al.*, 2009). Em infecções humanas na Europa e América do Norte observa-se maior prevalência da linhagem do tipo II (Peyron, Lobry *et al.*, 2006; Morisset, Peyron *et al.*, 2008), enquanto cepas oriundas da América do Sul têm apresentado maior diversidade genética (Carme, Bissuel *et al.*, 2002; Ajzenberg, Banuls *et al.*, 2004). Até o momento não está esclarecida a relação da estrutura genética do parasito com a expressão clínica da sua infecção em humanos.

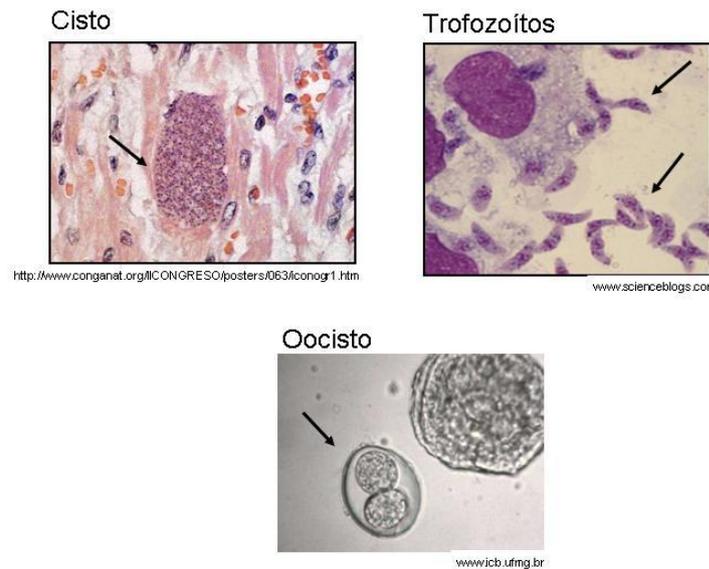


Figura 1 –*Toxoplasma gondii*

2.3. Epidemiologia

Toxoplasmose é uma zoonose de distribuição universal, com importância médica e veterinária. Estima-se que um terço da população humana tenha sido exposto ao parasito (Tenter, Heckeroth *et al.*, 2000). As duas principais formas de infecção em humanos são ingestão oral e transmissão transplacentária. A transmissão oral do *T. gondii* ocorre secundária à ingestão de cistos ou oocistos sendo que os hábitos higiênicos e alimentares de determinada população, bem como fatores sócio-econômicos são preponderantes na variação regional da prevalência da zoonose (Jacobs, 1963; Desmonts, Couvreur *et al.*, 1965; Roghmann, Faulkner *et al.*, 1999). Uma vez que os cistos teciduais são mortos após quatro minutos a 60° C (Dubey, Kotula *et al.*, 1990), a ingestão de carne crua ou mal passada exerce um papel de relevância na transmissão de toxoplasmose (Tenter, Heckeroth *et al.*, 2000; Tenter, 2009), eventualmente de forma epidêmica (Coutinho, Morgado *et al.*, 1982; Sacks, Delgado *et al.*, 1983; Bonametti, Passos Jdo *et al.*, 1996; Choi, Nam *et al.*, 1997). Os oocistos são veiculados pela terra, vegetais e principalmente pela água (Who, 2004; De Moura, Bahia-Oliveira *et al.*, 2006; Heukelbach, Meyer-Cirkel *et al.*, 2007; Jones e Dubey, 2010). Em estudo de base populacional realizado no Nordeste do Estado do Rio de Janeiro, a prevalência da infecção por *T. gondii* foi de 84%, 62% e 23% respectivamente entre indivíduos com condições sócio-econômicas baixas, médias e alta, associada em especial ao hábito de ingerir água não tratada (Bahia-Oliveira, Jones *et al.*, 2003). Epidemias associadas à ingestão de água são amplamente descritas na literatura (Benenson, Takafuji *et al.*, 1982; Bowie, King *et al.*, 1997; Isaac-Renton, Bowie *et al.*, 1998; Bahia-Oliveira, Jones *et al.*, 2003; Dubey, 2004),

sendo que a maior delas ocorreu entre novembro de 2001 e janeiro de 2002 em Santa Isabel do Ivaí, pequena cidade no Sul do Paraná, com 294 casos comprovados associados a um reservatório municipal de água (De Moura, Bahia-Oliveira *et al.*, 2006). A transmissão materno-fetal da toxoplasmose se dá via transplacentária quando a mãe adquire a infecção durante a gestação (Dunn, Wallon *et al.*, 1999; Remington Js, 2006). Transmissão inter-humana direta ou pelo aleitamento materno não é descrita. No entanto, há relatos da transmissão de *T. gondii* por transplante de órgãos (Fisher, Levy *et al.*, 1987; Slavin, Meyers *et al.*, 1994), transfusão de sangue e hemoderivados (Siegel, Lunde *et al.*, 1971) e acidente com material biológico (Field, Moyle *et al.*, 1972).

A prevalência de soropositividade para *T. gondii* varia consideravelmente de acordo com a região geográfica e com a idade, sendo maior nas faixas etárias mais avançadas (Sousa, Saenz *et al.*, 1988; Jones, Kruszon-Moran *et al.*, 2001). Variações na prevalência da toxoplasmose ocorrem devido a diferenças ambientais, demográficas, sócio-econômicas e culturais (Petersen, Vesco *et al.*, 2009). Em algumas populações como de El Salvador e França, a prevalência chega a 75% da população adulta (Remington, Efron *et al.*, 1970; Montoya e Liesenfeld, 2004) e 50% em mulheres em idade fértil (Ndumbe, Andela *et al.*, 1992; Sinibaldi e De Ramirez, 1992). Nos Estados Unidos, prevalência é estimada em 22,5% (Jones, Kruszon-Moran *et al.*, 2001) e em 12,3% na China (Xiao, Yin *et al.*, 2010). No Brasil, estudos pontuais desenvolvidos em populações rurais e urbana apontam prevalência de 25% no Nordeste (Cerqueira, Kawarabayashi *et al.*, 1998), 66% no Paraná (Garcia, Navarro *et al.*, 1999), 74,5% e 75,1% respectivamente em gestantes no Rio Grande do Sul (Spalding, Amendoeira *et al.*, 2003) e no Estado do Rio de Janeiro (Ribeiro, Mutis *et al.*, 2008), 84% em população adulta em Campos dos Goytacazes no Rio de Janeiro (Bahia-Oliveira, Jones *et al.*, 2003) e até 95,7% em populações indígenas (Boia, Carvalho-Costa *et al.*, 2008). No entanto, ainda não existe estudo multicêntrico sobre a prevalência da toxoplasmose que aborde, sob a mesma metodologia, as diferentes regiões brasileiras.

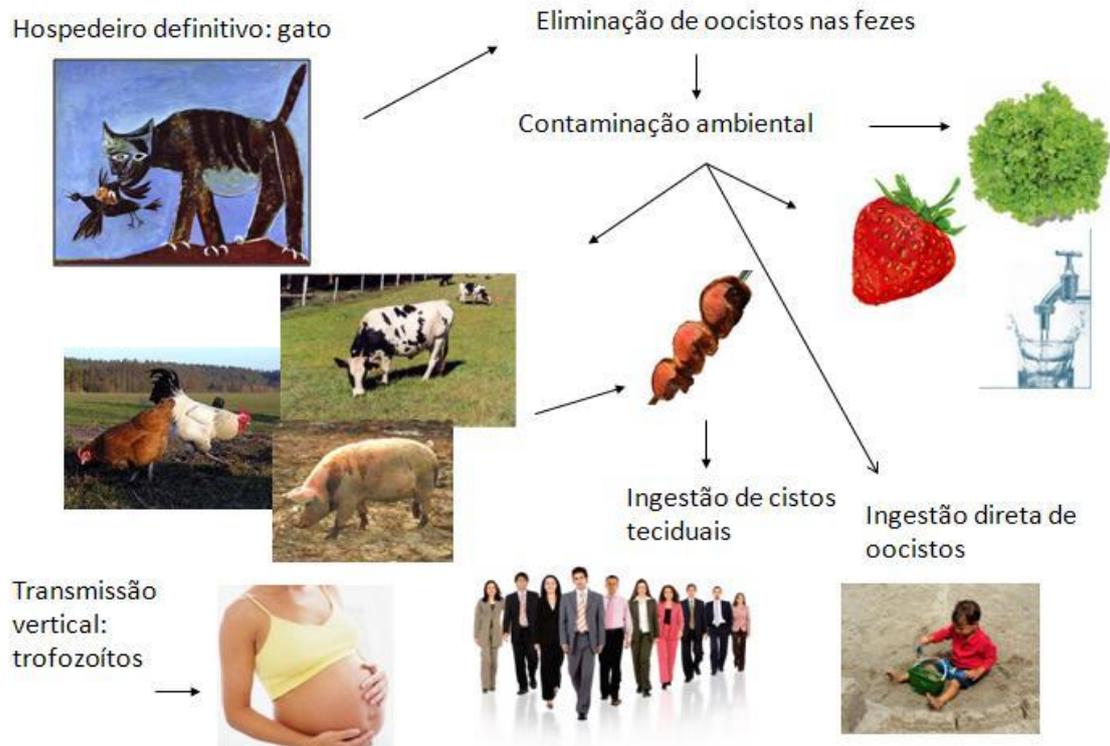


Figura 2 – Ciclo epidemiológico do *Toxoplasma gondii*

2.4. Manifestações clínicas

Contrastando com a elevada prevalência da infecção, a maioria dos casos de toxoplasmose adquirida em indivíduos imunocompetentes é sub-clínica, ocorrendo sintomas em 10 a 20% dos casos (Remington, 1974; Montoya e Rosso, 2005). Síndrome Mononucleose-Símile é a manifestação mais descrita das formas sintomáticas (Bowie, King *et al.*, 1997; Durlach, Kaufer *et al.*, 2003; Montoya e Liesenfeld, 2004) com hepatoespnomegalia, sudorese noturna, e exantema maculopapular em menos de 10% dos pacientes (Remington, 1974; McCabe, Brooks *et al.*, 1987). A linfonomegalia é cervical ou generalizada, pouco dolorosa, e em geral não é acompanhada de edema periganglionar, podendo persistir por até um ano (McCabe, Brooks *et al.*, 1987) Linfadenopatia hilar, mediastinal ou abdominal não são descritas. Febre e principalmente astenia são as principais queixas dos pacientes. A febre é baixa, sem calafrios desaparecendo em uma a duas semanas, no entanto a astenia pode permanecer tempo superior a seis meses (Durlach, Kaufer *et al.*, 2003). Outros sintomas frequentes são cefaléia, mialgia e artralgia. Mais raramente são descritos polimiosite (Greenlee, Johnson *et al.*, 1975), miocardite (Prado, Pacheco *et al.*,

1978; Montoya, Jordan *et al.*, 1997), meningite (Smati, Taille *et al.*, 2010) e pneumonite (Leal, Cavazzana *et al.*, 2007) em pacientes sem co-morbidades. No entanto, toxoplasmose aguda com envolvimento de múltiplos órgãos ocorre com menor frequência em indivíduos imunocompetentes (Greenlee, Johnson *et al.*, 1975; Prado, Pacheco *et al.*, 1978; Montoya, Jordan *et al.*, 1997), sendo poucos os relatos de casos graves e até mesmo fatais da doença, associados à infecção por cepas mais virulentas de *T. gondii* (Bossi, Paris *et al.*, 2002; Demar, Ajzenberg *et al.*, 2007; Leal, Cavazzana *et al.*, 2007). Retinocoroidite, considerada anteriormente como manifestação da forma congênita da zoonose, é hoje reconhecida como manifestação também da Toxoplasmose aguda pós-natal.(Couvreur e Thulliez, 1996; Montoya e Remington, 1996; Burnett, Shortt *et al.*, 1998).

A transmissão transplacentária de *T. gondii* ocorre durante o período da infecção aguda materna (Kimball, Kean *et al.*, 1971; Desmonts e Couvreur, 1974b; Stray-Pedersen, 1980). O risco de ocorrer toxoplasmose congênita com lesão fetal grave varia de 15 a 68% dependendo da idade gestacional, sendo a transmissão maior nas fases mais avançadas da gestação (Thulliez, Daffos *et al.*, 1992; Jones, Lopez *et al.*, 2001). A doença congênita é caracterizada por um amplo espectro de manifestações clínicas com comprometimento neurológico, oftalmológico e sistêmico. Embora a maioria dos recém-natos com a infecção não apresente manifestações clínicas ao nascer, 85% irá desenvolver comprometimento visual nos dois primeiros anos de vida e 55% apresentará alterações neurológicas (Wilson, Remington *et al.*, 1980; Koppe, Loewer-Sieger *et al.*, 1986; Guerina, Hsu *et al.*, 1994). A tríade clássica da toxoplasmose congênita consiste na associação de retinocoroidite, hidrocefalia e calcificações cerebrais e é considerada a forma mais grave da doença (Hall, 1992).

Em indivíduos imunocomprometidos, toxoplasmose resulta em sua maioria de reativação de infecção crônica podendo também ser adquirida ou resultar de um transplante de órgão de doador infectado para um receptor não imune (Derouin e Pelloux, 2008). Apresenta quadro de extrema gravidade, com mortalidade em torno de 100% quando não tratada (Lewden, Sobesky *et al.*, 2004; Bonnet, Lewden *et al.*, 2005). Pode acometer indivíduos transplantados, com neoplasias malignas hematológicas, em uso de medicação imunossupressora e em pacientes com AIDS não submetidos à terapia anti-retroviral (Sacktor, 2002; Silva e Araujo, 2005). Manifesta-se por pneumonite, miocardite (Kotton, 2007; Derouin e Pelloux, 2008) e, principalmente, encefalite (Moskowitz, Kory *et al.*, 1983; Luft e Remington, 1992). As manifestações clínicas desta última incluem desorientação,

déficit motor, convulsões, sinais de localização neurológica e alterações do sensorio, acompanhadas de febre e prostração.

A toxoplasmose ocular é secundária à infecção congênita ou adquirida, sendo clinicamente impossível distinguí-las, especialmente no adulto. No entanto, há evidências que a maioria dos casos de retinocoroidite por *T. gondii* seja secundária à infecção pós-natal (Couvreur e Thulliez, 1996; Montoya e Remington, 1996; Burnett, Shortt *et al.*, 1998). Toxoplasmose é a principal causa de uveíte posterior e constitui uma das principais causas de dano visual no Sul do Brasil (Melamed, 2009), onde 9,5% dos indivíduos soroconvertidos desenvolveu lesões oculares após sete anos de acompanhamento (Silveira, Belfort *et al.*, 2001). Alguns autores sugerem que dois terços dos casos de toxoplasmose ocular sejam secundários à TAA (Gilbert e Stanford, 2000).

A lesão ocular pode apresentar-se como evento único com inflamação discreta ou causar episódios repetidos de retinocoroidite, levando a grave comprometimento da acuidade visual e ocasional perda da visão (Hovakimyan e Cunningham, 2002; Holland, 2003). Na forma congênita afeta, preferencialmente, o polo posterior. O aspecto típico da retinocoroidite em atividade é o de lesão branco-acinzentada, acompanhada de reação inflamatória subjacente que devido à turvação do corpo vítreo assume o aspecto de um “farol na neblina”. As lesões podem ser solitárias, no entanto classicamente apresentam-se como retinite focal satélite a lesão hiperpigmentada cicatrizada, correspondendo ao quadro recorrente, aspecto característico da retinocoroidite por *T. gondii* (Holland, 2003). O acometimento ocular ocorre após o episódio primário da infecção, podendo até ser a sua única manifestação (Perkins, 1973; Melamed, 2009). O intervalo entre a primo-infecção e o surgimento de lesões oftalmológicas bem como os fatores determinantes do desenvolvimento de retinocoroidite ainda não estão esclarecidos.



Foto cedida por Dr. André Luis Land Curi

Figura 3 – Lesão de retinocoroidite hiperpigmentada cicatrizada com lesão satélite em atividade.

2.5. Imunopatogenia

O curso clínico da toxoplasmose é determinado por fatores do parasito e do hospedeiro. A capacidade do *T. gondii* de invadir e se replicar em todas as células nucleadas do seu hospedeiro, e eventualmente provocando sua lise, é crítica para a patogênese da toxoplasmose sendo que esta replicação induz uma rápida resposta imune mediada por células (Howe e Sibley, 1995; Sibley e Howe, 1996). De modo geral, a resposta do hospedeiro imunocompetente impede uma re-infecção pelo parasito que assume as formas de latência metabólica (bradizoítos) agrupadas em cistos tissulares (Remington e Cavanaugh, 1965; Aliberti, 2005).

A resposta celular mediada por macrófagos, linfócitos T e células *natural killers* (NK) em conjunto com a secreção de citocinas, tais como IL-12 e IFN- γ , são os principais elementos envolvidos na reação imune do hospedeiro à infecção pelo *T. gondii* (Frenkel, 1967; Remington, Krahenbuhl *et al.*, 1972; Tait e Hunter, 2009). Após o reconhecimento da infecção, as células apresentadoras de antígenos (APC) ativadas produzem IL-12 que: (i) induz a produção de IFN- γ a partir das células NK; (ii) ativa e diferencia as células CD4⁺, que passam a produzir IL-2, um potente mitógeno para as células T (Abbas, Lichtman *et al.*, 2008a; b). A IL-2 produzida pelas células T CD4⁺ parasito-específicas estimula as células T CD8⁺, também denominadas citotóxicas, a produzirem mais IFN- γ , citocina que é essencial na ativação de macrófagos e na montagem de uma resposta imune do tipo Th1, comumente

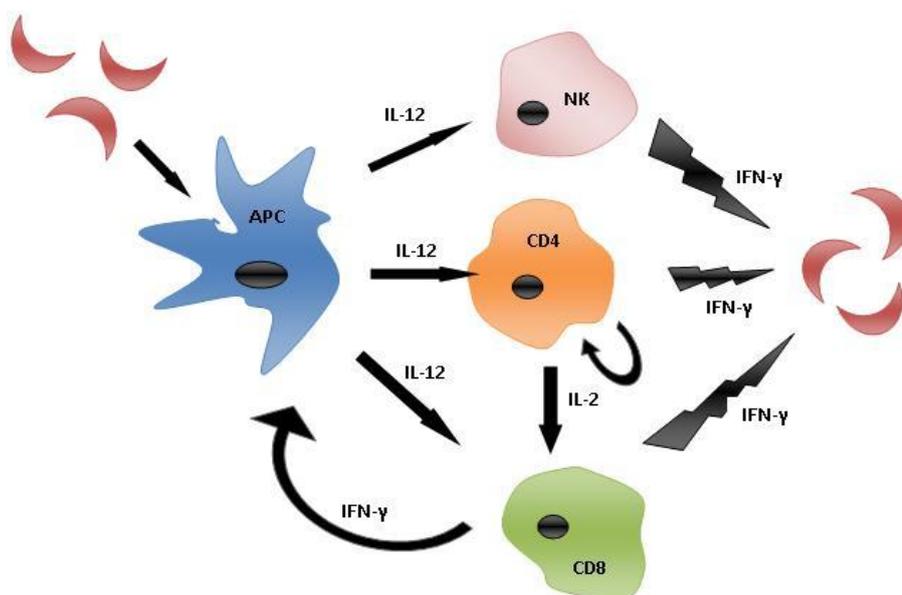
observada nas infecções por microrganismos intracelulares (Gazzinelli, Xu *et al.*, 1992; Denkers, Yap *et al.*, 1997).

Portanto, as células T têm um papel crucial nesse segundo momento (Gazzinelli, Xu *et al.*, 1992; Denkers, Yap *et al.*, 1997). Deste modo, a produção, de IFN- γ , especialmente a dependente de IL-12, é central para o controle da infecção, restringindo a multiplicação do parasito durante a fase aguda e acelerando a evolução para a fase crônica (Suzuki, Orellana *et al.*, 1988; Gazzinelli, Hieny *et al.*, 1993), sendo que as células T efectoras exercem sua função tanto por atividade citotóxica quanto pela secreção de citocinas, em especial IFN- γ (Rytel e Jones, 1966; Remington e Merigan, 1968) (FIGURA 1). O IFN- γ produzido pelas células T CD4⁺ e T CD8⁺ é, portanto o principal mediador da proteção contra o *T. gondii*. A depleção de IFN- γ na fase aguda (Scharton-Kersten, Wynn *et al.*, 1996) ou na fase crônica da infecção (Gazzinelli, Eltoun *et al.*, 1993) resulta em replicação parasitária incontrolável e morte do hospedeiro. Apenas os parasitos viáveis são capazes de desencadear esses eventos (Subauste, 2002). Além de estimular a fagocitose do *T. gondii*, o IFN- γ auxilia no controle das células fagocíticas: (i) promovendo resposta oxidativa celular por meio do estímulo da produção de intermediários reativos do oxigênio e do óxido nítrico (Adams, Hibbs *et al.*, 1990); (ii) impedindo o bloqueio induzido pelo parasito na formação de leucotrienos (Locksley, Fankhauser *et al.*, 1985); (iii) estimulando a degradação do triptofano (Pfefferkorn, 1984; Schroder, Hertzog *et al.*, 2004) e (iv) impedindo a captação de ferro (Dimier e Bout, 1998), eventos necessários para o metabolismo parasitário.

Uma vez que a infecção por *T. gondii* resulta em uma resposta Th1 forte e persistente, outras citocinas além de IFN- γ e IL-12 estão envolvidas. Embora não seja capaz de ativar os macrófagos contra *T. gondii*, o TNF- α apresenta sinergismo com o IFN- γ , quando comparada à ação do IFN- γ isolado (Sibley, Adams *et al.*, 1991). Em relação às citocinas regulatórias, há evidências de que a IL-10 inibe a ativação de macrófagos mediada pelo IFN- γ , em especial, pela supressão da produção de intermediários reativos de nitrogênio (Beaman, Wong *et al.*, 1992; Suzuki, Sher *et al.*, 2000), e que a IL-4 também possui um papel na resistência à infecção por *T. gondii* (Villard, Candolfi *et al.*, 1995; Filisetti e Candolfi, 2004).

A imunidade inata é importante no controle inicial da infecção induzindo a diferenciação de macrófagos e de células B em APC, desencadeando a resposta imune mediada por células. Contudo, esta resposta não é suficiente para controlar a replicação parasitária durante a fase crônica da infecção (Harris, Haynes *et al.*, 2000). Além disso, as células B possuem um importante papel na produção dos anticorpos específicos, ferramenta fundamental para o diagnóstico sorológico (Montoya, 2002).

Polimorfismos em genes que codificam citocinas interferem na expressão dessas moléculas e têm sido estudados com a finalidade de correlacioná-los com a variação individual quanto à susceptibilidade ou resistência a diversas doenças (Barrett, Collins *et al.*, 2003; Pyo, Hur *et al.*, 2003; Warle, Farhan *et al.*, 2003; Henao, Montes *et al.*, 2006; Martinez-Pomar, Raga *et al.*, 2006). Em uma comunidade rural do Estado do Rio de Janeiro, correlacionou-se o polimorfismo na posição +874 do gene que codifica para IFN- γ com a susceptibilidade à toxoplasmose ocular. Observou-se que os genótipos AT e AA apresentavam uma associação com a susceptibilidade ao desenvolvimento da toxoplasmose ocular e que a presença de homozigose do alelo A aumentava em 2,09 vezes a chance de desenvolver esta forma da doença (Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009). Não há ainda estudos abordando a relação entre a expressão de citocinas, a intensidade dos sintomas na TAA e a ocorrência de retinocoroidite.



Adaptado de:
Tait & Hunter, Mem Inst Oswaldo Cruz 104(2): 201-210, março 2009

Figura 4 – Mecanismos da resposta imune mediada por células envolvidas na infecção pelo *Toxoplasma gondii*: As células apresentadoras de antígeno (APC) ativadas pelo *T. gondii* produzem IL-12 que, além de ser um mitógeno de células T, induz as células *natural killers* (NK), T CD4+ e T CD8+ a produzirem IFN- γ , que promove mecanismos efetores antiparasitários.

2.6. Diagnóstico

O diagnóstico de toxoplasmose pode ser estabelecido por testes sorológicos (Sabin e Feldman, 1948; Montoya e Remington, 1995; Wilson, Remington *et al.*, 1997), pela demonstração histológica do parasito ou de seus antígenos (Dorfman e Remington, 1973; Conley, Jenkins *et al.*, 1981; Cerezo, Alvarez *et al.*, 1985), pelo isolamento do parasito (Amendoeira e Coutinho, 1982) e pela amplificação de seqüências específicas de ácido nucleico, *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (Bastien, 2002; Remington, Thulliez *et al.*, 2004).

O uso de testes sorológicos com a detecção de imunoglobulinas específicas anti *T. gondii* das classes IgG, IgM (Sabin e A., 1948; Montoya, 2002) e eventualmente IgA (Stepick-Biek, Thulliez *et al.*, 1990) e IgE (Wong, Hajdu *et al.*, 1993) tem sido o principal meio de diagnóstico utilizado na prática clínica. Esses métodos têm sido utilizados largamente, inicialmente por meio do teste do corante (*dye-test*) descrito por Sabin e Feldman em 1948 (Sabin e A., 1948), e mais recentemente através de técnicas de imunofluorescência, ensaio imunoenzimático e aglutinação (Naot e Remington, 1981; Montoya e Remington, 1995; Wilson, Remington *et al.*, 1997).

No indivíduo imunocompetente, soroconversão de IgG, elevação significativa nos títulos de IgG em testes pareados e surgimento de IgM são considerados indicadores de infecção aguda (Montoya e Remington, 1995). Resultados falso-positivos de IgM devido à presença de fator reumatóide e anticorpos antinucleares observados em alguns métodos de dosagem de IgM não têm sido mais observados com a utilização de técnicas mais sensíveis como duplo-sanduíche ou captura de IgM (Naot, Barnett *et al.*, 1981), no entanto algumas técnicas ainda apresentam freqüência de até 60% de resultados falso-positivos (Liesenfeld, Press *et al.*, 1997; Wilson, Remington *et al.*, 1997). Em alguns casos, IgM anti-*T. gondii* persistir por até 12 anos após a infecção aguda (Bobic, Sibalic *et al.*, 1991; Liesenfeld, Press *et al.*, 1997) sem que haja correlação clínica. O maior papel da IgM é o seu valor preditivo negativo, ou seja, um resultado negativo afasta a possibilidade de infecção recentemente adquirida.

Testes para a detecção de anticorpos da classe IgA têm se mostrado mais sensíveis que IgM no diagnóstico de infecção congênita (Stepick-Biek, Thulliez *et al.*, 1990; Decoster, Slizewicz *et al.*, 1991). No entanto, não são disponíveis comercialmente. Em relação à infecção congênita, a presença de IgG no sangue fetal ou do recém-nato tem pouco valor

diagnóstico, pois pode corresponder a anticorpos maternos transferidos passivamente que desaparecem em seis a doze meses (Montoya e Liesenfeld, 2004). Testes para a detecção de IgE têm pouco papel no diagnóstico da zoonose e devem ser realizados apenas em combinação com outros métodos sorológicos (Wong, Hajdu *et al.*, 1993).

A técnica que determina a qualidade dos anticorpos específicos por meio da detecção da afinidade funcional de IgG, conhecida como Teste de Avidéz de IgG é uma ferramenta introduzida em 1989, utilizada na distinção entre infecção passada e recentemente adquirida (Hedman, Lappalainen *et al.*, 1989). Baseia-se no fato da afinidade dos anticorpos elevar-se progressivamente com o tempo devido ao aumento da complementaridade do sítio de ligação antígeno-anticorpo por um processo de seleção de células B mediado por antígeno. Esta ligação é estabelecida por pontes de hidrogênio e interações Van der Waals tornando o complexo antígeno-anticorpo resistente à ação de agentes desnaturantes como a uréia. O teste de avidéz é um marcador temporal, capaz de detectar infecções ocorridas com tempo superior a três ou cinco meses (Lappalainen, Koskela *et al.*, 1993; Montoya, Liesenfeld *et al.*, 2002). Sua principal utilidade reside no diagnóstico em mulheres que apresentam IgG e IgM positivos durante os primeiros meses de gestação, minimizando a necessidade de exames invasivos, como o estudo do líquido amniótico, bem como o uso desnecessário de medicação (Liesenfeld, Montoya *et al.*, 2001; Remington, Thulliez *et al.*, 2004). No entanto, baixa avidéz não significa necessariamente infecção recente, podendo haver persistência destes resultados por até um ano por retardo na maturação da IgG (Lappalainen, Koskela *et al.*, 1993; Liesenfeld, Press *et al.*, 1997). Do mesmo modo, avidéz intermediária pode ser observada em até 40% dos pacientes com IgM negativa (Remington, Thulliez *et al.*, 2004). Sendo assim, o teste de avidéz é mais útil como recurso para afastar a possibilidade de infecção recente do que no diagnóstico de infecção atual (Sensini, Pascoli *et al.*, 1996; Lappalainen e Hedman, 2004).

Em função da necessidade de diagnóstico rápido e específico, têm sido destinados esforços no sentido de desenvolver uma padronização dos testes de PCR para o diagnóstico de toxoplasmose. No entanto, ainda não há uma padronização de fragmento específico de genoma a ser amplificado para o diagnóstico molecular (Pelloux, Guy *et al.*, 1998; Bastien, 2002), sendo os genes B1 (Burg, Grover *et al.*, 1989; Gross, Roggenkamp *et al.*, 1992; Kompalic-Cristo, Nogueira *et al.*, 2004), P30 (Burg, Perelman *et al.*, 1988; Dupouy-Camet, De Souza *et al.*, 1993) e 18SrDNA (Cazenave, Forestier *et al.*, 1992; Ellis, Luton *et al.*, 1995) os mais estudados. Diversos ensaios objetivando predominantemente três genes, a partir de diferentes líquidos orgânicos como sangue (Ho-Yen, Joss *et al.*, 1992; Guy e Joynson, 1995),

líquido amniótico (Hohlfeld, Daffos *et al.*, 1994; Jenum, Holberg-Petersen *et al.*, 1998), líquido cefalorraquidiano (Parmley, Goebel *et al.*, 1992; Vidal, Colombo *et al.*, 2004) e humor aquoso (Bou, Figueroa *et al.*, 1999; Jones, Okhravi *et al.*, 2000) têm sido realizados. Até o momento, nenhum deles mostrou-se adequado e validado por um número significativo de espécimes, para ser usado como método de diagnóstico da toxoplasmose.

2.7. Tratamento

Por ser uma infecção auto-limitada na maioria dos casos, o tratamento da toxoplasmose no indivíduo imunocompetente tem sido objeto de controvérsias (Mcleod, Kieffer *et al.*, 2009). A ausência de ensaios clínicos randomizados controlados por placebo na toxoplasmose linfadenopática (Alavi e Alavi, 2010), na toxoplasmose ocular (Stanford, See *et al.*, 2003; Stanford e Gilbert, 2009) e inclusive na toxoplasmose gestacional (Gilbert, 2009; Mcleod, Kieffer *et al.*, 2009; Peyron, 2009) contribuem para a inexistência de padronização do tratamento.

Tem sido consenso que a toxoplasmose linfadenopática aguda não requer tratamento, a menos que os sintomas sejam graves e persistentes (Krick e Remington, 1978; Lynfield e Guerina, 1997; Montoya e Liesenfeld, 2004). Quando necessário, o tratamento consiste na associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico e deve ser administrado por duas a quatro semanas (Krick e Remington, 1978; Montoya e Liesenfeld, 2004). As mesmas drogas são indicadas no tratamento de toxoplasmose ocular, acompanhadas por corticosteróides, por quatro a seis semanas, dependendo da evolução clínica (Holland e Lewis, 2002). No entanto, o tratamento da toxoplasmose ocular tem sido objeto de controvérsias. Em indivíduos imunocompetentes, lesões maculares, lesões próximas do disco óptico e lesões acompanhadas de reação vítrea intensa devem sempre ser tratadas, no entanto tem sido questionado o benefício do tratamento das lesões periféricas e que não implicam em dano visual (Stanford, See *et al.*, 2003; Stanford e Gilbert, 2009).

Atualmente, a grande maioria dos casos de toxoplasmose em imunodeficientes envolve pacientes com AIDS e $CD4 < 200$ céls/mm³, sendo de extrema gravidade e levando ao óbito caso não tratada. A associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico por três a seis semanas é o esquema de escolha (Kaplan, Benson *et al.*, 2009). Como cerca de 40% dos pacientes com AIDS e neurotoxoplasmose desenvolvem eventos adversos que implicam em suspensão do tratamento, clindamicina e pirimetamina é uma alternativa eficaz (Porter e Sande, 1992; Kaplan, Benson *et al.*, 2009). Profilaxia secundária com doses menores das

mesmas drogas deve ser mantida por até seis meses em pacientes com carga viral para o HIV indetectável e CD4 acima de 200 céls/mm³ (Kaplan, Benson *et al.*, 2009).

Em caso de hipersensibilidade aos sulfamídicos, clindamicina ou sulfametoxazol/trimetoprim são esquemas alternativos, tanto para a toxoplasmose linfadenopática quanto para a forma ocular (Holland e Lewis, 2002; Montoya e Liesenfeld, 2004). Atovaquona, claritromicina e dapsona são outras opções terapêuticas, porém a literatura ainda carece de estudos consistentes (Dalston, Tavares *et al.*, 1995; Pearson, Piracha *et al.*, 1999; Montoya e Liesenfeld, 2004).

Em gestantes, espiramicina é a droga de escolha especialmente se o tratamento for instituído no primeiro trimestre. Em caso de infecção fetal documentada, indica-se a associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico após 12 ou 18 semanas de gestação (Montoya e Liesenfeld, 2004). No entanto, o tratamento da toxoplasmose em gestantes ainda não é padronizado e publicações recentes têm ressaltado que ainda não existem evidências claras quanto aos seus benefícios (Gilbert, 2009; Mcleod, Kieffer *et al.*, 2009; Peyron, 2009).

2.8. Prevenção

Tendo como base o ciclo evolutivo do *T. gondii*, pode-se inferir que a infecção oral ocorre pela ingestão de carne e seus derivados contendo cistos, assim como, pela ingestão de oocistos esporulados eliminados no ambiente pelos felídeos. No entanto, a importância relativa das diversas formas de infecção apresenta marcadas variações geográficas e culturais, fatores a serem ponderados nas orientações profiláticas em determinado grupo populacional (Desmonts, Couvreur *et al.*, 1965; Roghmann, Faulkner *et al.*, 1999; Boia, Carvalho-Costa *et al.*, 2008). A infecção por *T. gondii* adquirida pela ingestão de cistos teciduais é comum em regiões onde o consumo de carne mal passada é um hábito alimentar freqüente, como no Sul do Brasil (Silveira, Belfort *et al.*, 2001) e em determinadas regiões da Europa (Cook, Gilbert *et al.*, 2000). Recomenda-se evitar o consumo de carne crua, ou mal passada (inclusive a carne curada ou defumada), em especial de carneiro e de porco (Kapperud, Jenum *et al.*, 1996; Petersen, Vesco *et al.*, 2009). Orienta-se o aquecimento dos alimentos acima de 66° ou congelamento abaixo de -20° (Dubey, Kotula *et al.*, 1990; Tenter, 2009), assim como a lavagem cuidadosamente as mãos após manipular carne crua (Petersen, Vesco *et al.*, 2009).

Quanto à prevenção da infecção pela ingestão de oocistos, diversos estudos vêm demonstrando que a veiculação hídrica exerce papel relevante na transmissão da zoonose (Benenson, Takafuji *et al.*, 1982; Bahia-Oliveira, Jones *et al.*, 2003; Dubey, 2004). Dessa forma, a água a ser ingerida deve ser filtrada, mineral ou fervida, lembrando-se que os

oocistos são resistentes à cloração (Dubey, 2004; Wainwright, Miller *et al.*, 2007). A prática de jardinagem deve ser feita com luvas, e as mãos devem ser lavadas após a manipulação de vegetais e os vegetais crus devem ser descascados ou bem lavados (Dubey, 1996; Hill e Dubey, 2002). Ao limpar áreas contaminadas com fezes de gato, especialmente caixas de areia ou caixas higiênicas de gatos e terra, recomenda-se o uso de luvas. A caixa higiênica deve ser limpa diariamente evitando-se assim a esporulação dos oocistos (Elsheikha, 2008; Elmore, Jones *et al.*, 2010). Deve-se evitar alimentar os gatos domésticos com carne crua, dando preferência à ração industrializada ou a alimentos cozidos (Dubey, 1996; Hill e Dubey, 2002)

Os taquizoítos não sobrevivem fora do hospedeiro por serem sensíveis às condições ambientais (Tenter, Heckerth *et al.*, 2000). A prevenção da infecção por taquizoítos é dirigida principalmente à gestante não imune (Cook, Gilbert *et al.*, 2000; Elsheikha, 2008; Mcleod, Kieffer *et al.*, 2009), aos indivíduos imunossuprimidos (Kaplan, Benson *et al.*, 2009) e aos candidatos a transplantes heterólogos (Soave, 2001; Derouin e Pelloux, 2008).

Ainda não existe uma vacina eficaz contra a toxoplasmose humana. Até o momento, apenas uma vacina atenuada para ovinos é disponibilizada comercialmente (Buxton e Innes, 1995).

3. JUSTIFICATIVA

Embora muitos aspectos do ciclo evolutivo do *T. gondii* sejam bem conhecidos, detalhes do curso da infecção ainda necessitam ser melhor esclarecidos, como questões relativas à imunidade do hospedeiro e à ocorrência de determinantes para o desenvolvimento das lesões oculares. Exceção feita a regiões geográficas delimitadas (Lovelace, Moraes *et al.*, 1978; Glasner, Silveira *et al.*, 1992; Cerqueira, Kawarabayashi *et al.*, 1998; Bahia-Oliveira, Jones *et al.*, 2003), poucos são os trabalhos abordando a análise de aspectos clínicos da TAA, como as características e a duração dos sintomas e a existência de alterações sistêmicas e laboratoriais. Os estudos existentes na literatura envolvendo acompanhamento prospectivo dos pacientes com toxoplasmose restringem-se à questão da transmissão materno-fetal (Desmonts e Couvreur, 1974a; Gratzl, Hayde *et al.*, 1998; Deorari, Broor *et al.*, 2000) e à infecção em indivíduos imunocomprometidos Toxoplasmose pós-natal (Luft, Naot *et al.*, 1983; Luft, Hafner *et al.*, 1993; Lamoril, Molina *et al.*, 1996).

O desenvolvimento de lesões oculares secundárias à TAA é descrito em até 17,7% dos casos (Jones, Muccioli *et al.*, 2006). São lesões potencialmente recidivantes, podendo causar comprometimento da acuidade visual. Polimorfismos em genes que codificam citocinas estão relacionados à susceptibilidade a diversas doenças (Barrett, Collins *et al.*, 2003; Pyo, Hur *et al.*, 2003). Em relação à retinocoroidite por toxoplasmose há evidências de que o IFN- γ esteja envolvido na resistência ao parasito. A identificação de determinantes do desenvolvimento desta complicação pode vir a contribuir com a tomada de decisão quanto a intervenções terapêuticas e profiláticas precoces.

4. OBJETIVOS

Objetivo geral:

Descrever os aspectos clinico-laboratoriais, a avaliação oftalmológica e o estudo do polimorfismo genético para IFN- γ (+874) em pacientes com TAA acompanhados no ambulatório de Toxoplasmose do IPEC-Fiocruz entre 2006 e 2009.

.

Objetivos específicos:

1. Descrever as manifestações clínicas e alterações laboratoriais da TAA na coorte.
2. Avaliar o surgimento de retinocoroidite secundária à TAA na coorte, em período mínimo de dois anos após a infecção aguda.
3. Descrever a ocorrência na coorte de polimorfismo no gene que codifica o IFN- γ , posição +874.
4. Analisar a associação na coorte entre polimorfismo no gene que codifica o IFN- γ , posição +874 e o surgimento de retinocoroidite.
5. Analisar a associação na coorte entre polimorfismo no gene que codifica o IFN- γ , posição +874 e a intensidade das manifestações clínicas de TAA.

5. ARTIGO NÚMERO 1

Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 104(2): 393-396, March 2009

Acute acquired toxoplasmosis: clinical-laboratorial aspects and ophthalmologic evaluation in a cohort of immunocompetent patients

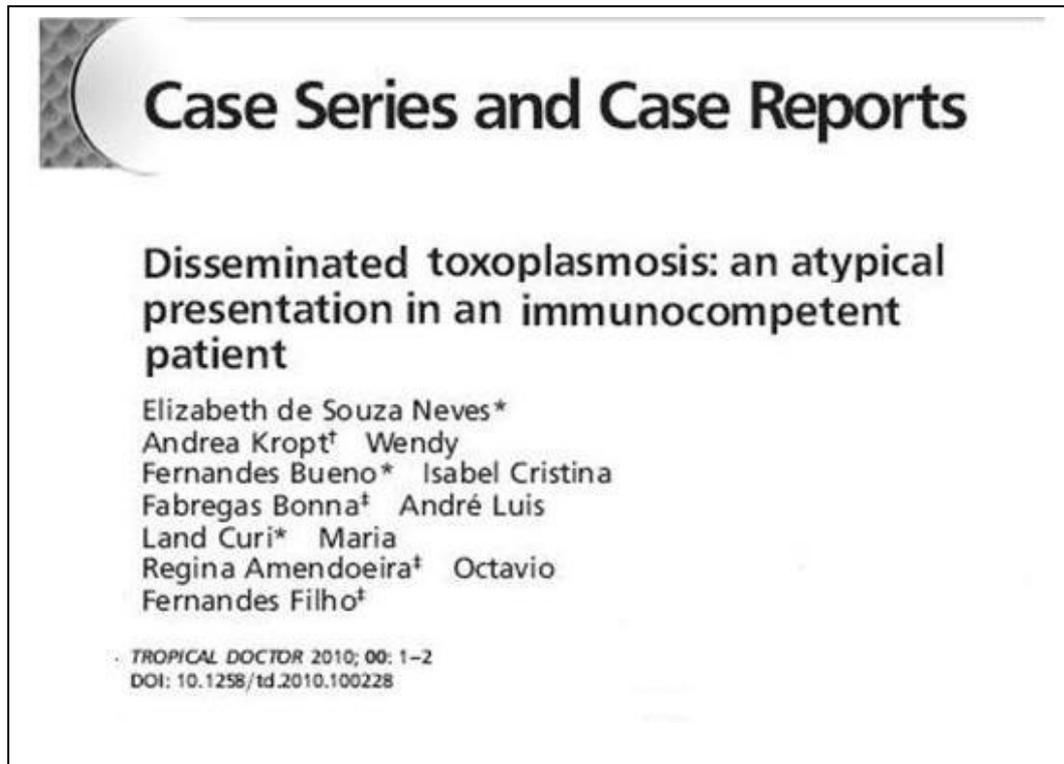
**ES Neves^{1/*}, LN Bicudo¹, AL Curi¹, E Carregal¹, WF Bueno¹, RG Ferreira¹, MR Amendoeira²,
E Benchimol¹, O Fernandes³**

¹Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas ²Laboratório de Toxoplasmose ³Laboratório de Epidemiologia Molecular de Doenças Infecciosas, Instituto Oswaldo Cruz- Fiocruz, Av. Brasil 4365, 21045-900 Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Este primeiro artigo descreve uma série de casos de toxoplasmose aguda adquirida, avaliados segundo o mesmo protocolo inicial de investigação clínico-laboratorial. São descritos os principais resultados desta avaliação e os casos que evoluíram com retinocoroidite em até dois anos de acompanhamento prospectivo. É proposta uma escala de morbidade baseada neste protocolo e estudada uma possível associação entre esta escala com o desenvolvimento de formas mais arrastadas da doença e com o desenvolvimento da complicação oftalmológica.

- Este artigo atende aos objetivos específicos números **1** e **2**.

6. ARTIGO NÚMERO 2



O artigo descreve um caso grave de toxoplasmose aguda adquirida complicada com meningite, pneumonia e hepatite em um paciente de 41 anos previamente saudável, residente em Maricá, Rio de Janeiro. O paciente apresentou boa resposta ao tratamento e não desenvolveu lesões oculares até dois anos após o episódio agudo.

- Este artigo ilustra o anterior e está associado aos objetivos 1 e 2.

7. ARTIGO NÚMERO 3

Polimorfismo genético para IFN- γ (+874) em pacientes com toxoplasmose aguda.

Elizabeth de Souza Neves⁺, André Luis Land Curi, Maira Cavancanti de Albuquerque, Cassius Schnell Palhano-Silva, Laura Berriel da Silva, Wendy Fernandes Bueno, Maria Regina Reis Amendoeira, Maria da Gloria Bonecini- Almeida, Octavio Fernandes Filho

Artigo enviado para Memórias do Instituto Oswaldo Cruz:

Assunto: [MIOC] Submission Acknowledgement
De: "Memorias do Instituto Oswaldo Cruz" <memorias.online@ioc.fiocruz.br>
Data: Seg, Novembro 8, 2010 1:41 pm
Para: "Elizabeth de Souza Neves" <elizabeth.neves@ipecc.fiocruz.br>
Prioridade: Normal
Opções: [Ver cabeçalho completo](#) | [Ver Versão para Impressão](#) | [Baixar como um arquivo](#) | [Ver detalhes da mensagem](#)

Dr. (a)Elizabeth de Souza Neves:

Manuscript: "Genetic polymorphism for INF- γ '(+874) in patients with acute toxoplasmosis"

Thank you for your above-mentioned manuscript which you kindly submitted for publication in the Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.

The manuscript will be sent to the Editorial Board for review. We will contact you again as soon as we receive the reviewer's comments.

With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Manuscript URL:
<http://submission.scielo.br/index.php/mioc/author/submission/43909>
 Username: esneves

Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Sincerely Yours,

Ricardo Lourenco de Oliveira
 Editor

Memorias do Instituto Oswaldo Cruz
<http://memorias.ioc.fiocruz.br>

O artigo descreve a ocorrência de polimorfismo no gene que codifica o IFN- γ , posição +874 em coorte de pacientes com toxoplasmose aguda adquirida. É analisada a associação entre este polimorfismo com o tempo e a gravidade da doença assim como com surgimento de retinocoroidite.

- Este artigo atende aos objetivos números 3, 4 e 5.

Running title: IFN- γ and toxoplasmosis

Title: Genetic polymorphism for IFN- γ (+874) in patients with acute toxoplasmosis

Authors: Elizabeth de Souza Neves¹, André Luis Land Curi¹, Maira Cavancanti de Albuquerque², Cassius Schnell Palhano-Silva³, Laura Berriel da Silva¹, Wendy Fernandes Bueno¹, Maria Regina dos Reis Amendoeira², Maria da Gloria Bonecini-Almeida¹, Octavio Fernandes⁴

Institutional affiliation: ¹Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – Fiocruz. ²Laboratório de Toxoplasmose, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz, ³Vice-direção de Pós-Graduação, Escola Nacional de Saúde Pública-Fiocruz, ⁴Laboratório de Epidemiologia Molecular de Doenças Infecciosas, Instituto Oswaldo Cruz-Fiocruz

Avenida Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Abstract

The reasons for clinical diversity of toxoplasmosis are still unclear. A single nucleotide polymorphism (SNP) in the gene encoding IFN- γ influences its production and may be associated with the severity of clinical manifestations. The aim of this study was to evaluate the association between IFN- γ +874T/A SNP with duration of disease, morbidity and development of retinochoroiditis in acute toxoplasmosis. The study included thirty patients and ninety healthy controls. Although not statistically significant, we found a higher frequency of A-allele among patients with ocular injury and prolonged illness and of T-allele among patients with more severe disease forms. The results suggest an association between IFN- γ +874T/A SNP and clinical manifestations of toxoplasmosis.

Keywords: Toxoplasmosis - interferon-gamma - retinochoroiditis - morbidity - *Toxoplasma gondii* - single nucleotide polymorphism

Sponsorship: IPEC-Fiocruz, CNPq, *Diagnósticos da América*, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Acute acquired toxoplasmosis (AAT) provides a wide range of clinical manifestations in immunocompetent individuals. Frequently it is underdiagnosed because of its benign and self-limited aspect (Montoya e Liesenfeld, 2004). More serious cases are occasionally reported (Leal, Cavazzana *et al.*, 2007; Neves, Kropf *et al.*, 2010) and may be associated with more virulent strains of *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) or immunodeficiency conditions (Montoya e Liesenfeld, 2004). The ocular lesion of toxoplasmosis is characterized by necrotizing retinitis or retinochoroiditis (RC); is the most common cause of posterior uveitis. It is secondary to congenital or acquired disease (Montoya e Liesenfeld, 2004) and comes concomitantly or after the acute episode of infection (Holland, 2003), with reports of ocular lesions compatible with RC in 0.6 to 17.7% of patients infected with *T. gondii* (Glasner, Silveira *et al.*, 1992; Amorim Garcia, Orefice *et al.*, 2004; Aleixo, Benchimol *et al.*, 2009). However, the pathogenesis of this disease is still uncertain, just as there are unclear factors for the emergence of more severe forms (Neves, Bicudo *et al.*, 2009).

The factors that determine the clinical course and mechanisms of infection by *T. gondii* involve the genetic diversity of the parasite, the individual variation of the host and the anatomical characteristics of the various sites of infection (Filisetti e Candolfi, 2004). The immune response of the immunocompetent hosts that displays forms of metabolic latency (bradyzoites) grouped into tissue cysts prevent re-infection by the parasite. Macrophages, T lymphocytes and natural killer cells, in conjunction with cytokines, are the major elements involved in this response. The effector T cells exert their function both by cytotoxicity and by secretion of cytokines, especially IFN- γ . The cell-mediated immunity with resultant production of IL-12 and IFN- γ is essential to control infection by *T. gondii*, by restricting the multiplication of the parasite during the acute phase and accelerating the progression to the chronic phase (Suzuki, Orellana *et al.*, 1988; Filisetti e Candolfi, 2004). Variations in genes that encode cytokines interfere with the expression of these molecules and may have an important role in gene regulation in inflammatory response and resistance or susceptibility to infections (Maclean, Chisi *et al.*, 2004).

IFN- γ is a cytokine that is highly conserved, with few allelic variations in its gene. A single nucleotide polymorphism (SNP) located in the first intron of the human gene for IFN- γ at the extremity 5' adjacent to CA repeated region (polymorphism IFN +874 T/A) influences the secretion of this cytokine (Pravica, Perrey *et al.*, 2000). Individuals carrying the A allele are low producers of IFN- γ (Lopez-Maderuelo,

Arnalich *et al.*, 2003). Susceptibility to other intracellular pathogens has also been associated with the variability in the production of IFN- γ related to this SNP (Salih, Ibrahim *et al.*, 2007; Pacheco, Cardoso *et al.*, 2008). A previous study has shown a correlation of polymorphism IFN +874T/A with ocular toxoplasmosis. The AA genotype showed an increased frequency in individuals with ocular findings suggesting an association with susceptibility to the development of RC (Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009). This study aims to evaluate the association between the presence of polymorphism in the gene coding for IFN- γ , (IFN- γ +874T/A SNP) among individuals with AAT and the clinical course of the disease (time to progress, morbidity and RC development).

The study involved 30 patients over 18 years with no history of co-morbidities, belonging to the cohort of patients with AAT seen in the Outpatient Toxoplasmosis Unit at Research Institute Evandro Chagas/Fiocruz, Rio de Janeiro, between 2006 and 2007. The diagnostic criteria, the clinical-laboratory research protocol and the morbidity scale (class I, II and III) are described in a previous publication (Neves, Bicudo *et al.*, 2009). Patients were submitted to periodic ophthalmoscopy (fundoscopy) examination by for up to three years after the episode of acute toxoplasmosis. The control group consisted of 90 healthy subjects matched by sex and age (the proportion of three controls for each case), with positive IgG for toxoplasmosis and no history of uveitis or lymphadenopathy. All control subjects were submitted to indirect ophthalmoscopy to exclude the presence of retinal scars suggestive of RC. The fundoscopy was performed by the same examiner (ALLC) in all cases and controls.

DNA was extracted from peripheral blood samples using commercial method (QIAgen). Amplification reactions of the gene segment coding for IFN- γ related to the respective SNP were performed by using the ARMS-PCR method and the products subjected to electrophoresis on agarose gel and visualization under UV light according to the methodology described in a previous publications (Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009).

The collected data were analyzed by the statistical software SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, version 13.0). Variables referring to the IFN- γ polymorphism (position +874), time to clinical progression and the presence of retinochoroiditis were examined using binary logistic regression, Chi-square test and

Fisher exact test methods. For the scale of morbidity, we used multinomial regression logistics and Spearman correlation. We adopted a statistical significance level of 5%.

The study was approved by the Ethics in Research Committee from the Institute of Clinical Research Evandro Chagas (*Instituto de Pesquisa Clínica - IPEC*). All participants were informed verbally and in written and signed the consent form.

Analysis of the alleles and genotypes distribution showed that both the group of symptomatic cases and controls are in accordance with Hardy-Weinberg balance. There was no association observed between IFN- γ +874 T/A polymorphism and the presence of symptoms (Table I).

Table I

Distribution of Genotypes and Alleles for IFN- γ +874 T/A between cases of Acute Acquired Toxoplasmosis and Asymptomatic Controls.

Genotypes	ATT cases n=30 (%)	Controls n=90 (%)	χ^2	p value	OR (95% CI)
Alleles					
A	38 (63.3)	109 (60.6)			
T	22 (36.7)	71 (39.4)			
A and T alleles compared			0.146	0.702	1.125 (0.615 – 2.059)
Genotype					
AA	14 (46.7)	34 (37.8)			
AT	10 (33.3)	41 (45.5)			
TT	6 (20.0)	15 (16.7)			
Genotypes compared			1.378	0.502	
AA x AT / TT			0.741	0.389	1.441 (0.626 – 3.319)
TT x AA / AT			0.173	0.677	1.250 (0.436 – 3.581)

Of the 30 patients with AAT, 16 were males and 14 females with a mean age of 37.4 years ($SD \pm 11.8$ years). Twenty-four patients (80%) presented prolonged clinical disease (longer than 15 days). The analysis of this variable in response to genotype (AA, AT and TT) showed no statistically significant results, however the AA homozygotes individuals had the probability of developing prolonged illness two times larger than T allele carriers (Table II).

Table II

Frequency of Genotypes and Alleles for IFN- γ +874 T/A in Patients with Acute Acquired Toxoplasmosis. Relation to prolonged illness, morbidity scale and development of retinochoroiditis

Genotypes	β	p value	Exp (β) (95% CI)
<i>Prolonged disease (> 15 days)</i> ^a			
AA [*]	–	–	–
AT	-0.405	0.712	0.667 (0.077 – 5.749)
TT	-1.099	0.341	0.333 (0.035 – 3.205)
AA + AT [*]	–	–	–
TT	-0.916	0.371	0.400 (0.054 – 2.980)
AT + TT [*]	–	–	–
AA	0.693	0.469	2.000 (0.306 – 13.062)
<i>Morbidity scale</i> ^{b, c}			
Class II			
AA [*]	–	–	–
AT	0.693	0.505	2.000 (0.260 – 15.381)
TT	0.693	0.600	2.000 (0.150 – 26.734)
AT + TT [*]	–	–	–
AA	-0.693	0.455	0.500 (0.081 – 3.082)
AA + AT [*]	–	–	–
TT	0.405	0.747	1.500 (0.127 – 17.667)
Class III			
AA [*]	–	–	–
AT	0.000	1.000	1.000 (0.091 – 11.028)
TT	0.693	0.624	2.000 (0.125 – 31.975)
AT + TT [*]	–	–	–
AA	-0.288	0.782	0.750 (0.098 – 5.768)
AA + AT [*]	–	–	–
TT	0.693	0.609	2.000 (0.141 – 28.416)

<i>Retinochoroiditis</i> [†]			
AA [*]	–	–	–
AT	-0.405	0.755	0.667 (0.052 – 8.549)
TT	0.182	0.891	1.200 (0.088 – 16.439)
AA + AT [*]	–	–	–
TT	-0.336	0.789	0.714 (0.061 – 8.397)
AT + TT [*]	–	–	–
AA	-0.154	0.886	0.857 (0.104 – 7.043)

* Basal parameter. *a*: Binary logistic regression analysis. *b*: Analysis of multinomial logistic regression. *c*: Grade I as reference category.

Regarding the scale of morbidity, classified into classes I, II and III, respectively, 7, 15 and 8 individuals. Although not statistically significant, individuals homozygous for the T allele (TT) had twice the risk of progression to class III on the scale of morbidity (Table II).

Retinochoroiditis occurred in four of 30 patients with AAT (13.33%): two patients with genotype AA, one with genotype AT and one with genotype TT. According to the logistic linear regression model, when the TT genotype was compared to the others (AA + AT), it would tend to produce protection to the development of retinochoroiditis by about 30% (Table II).

The influence of genetic background for the production of immunoregulatory cytokines in the clinical course and severity of diseases manifestations has been the object of study in recent years (Barrett, Collins *et al.*, 2003; Henao, Montes *et al.*, 2006). With regard to toxoplasmosis, resistance to the development of RC was observed in association with specific genotypes of IL10 (-1082) (Cordeiro, Moreira, Andrade *et al.*, 2008) and IFN- γ (+874) (Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009), but not with the genotypes of IL1B (+3954) (Cordeiro, Moreira, Costa *et al.*, 2008a) and TNF- α (-308) (Cordeiro, Moreira, Costa *et al.*, 2008b). Genotypes of IL1A (-889) were associated with lesions of *T. gondii* relapsing retinitis (Cordeiro, Moreira, Costa *et al.*, 2008a). As it is essentially an intracellular pathogen, IFN- γ is a key cytokine in the immunopathogenesis of infection the by *T. gondii* (Lieberman e Hunter, 2002). High levels of IFN- γ were observed in individuals with positive serology for *T. gondii* compared with negative controls (Fatoohi, Cozon *et al.*, 2006). The papers in the literature that studied the relation of genetic factors on cytokines production in *T. gondii*

infection addressed only the chronic phase of infection (Cordeiro, Moreira, Andrade *et al.*, 2008; Cordeiro, Moreira, Costa *et al.*, 2008b; a; Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009), or are *in vitro* studies (Tan, Mui *et al.*, 2010). This is the first study in patients with AAT. Although this is a pioneering work on the prospective monitoring of patients with AAT, we performed a cohort study with a convenience sample and limited number of patients, with the potential risk of introducing bias compromising occasional inferences by non-inclusion of asymptomatic cases. Although we have not found statistically significant differences in relation to genotypes and alleles of IFN +874 T/A and association with the studied variables, the results observed suggest an association tendency between the production of IFN- γ , mediated by the type of SNP with the clinical manifestations. The lack of statistical significance may be due to the small number of patients with AAT.

Regarding the scale of morbidity, the presence of the A allele might confer protection against the development of clinical symptoms, especially in severe cases (Class III) and TT genotype would be associated with an increased risk for clinical progression to higher morbidity *versus* the other genotypes. Since IFN- γ is associated with activation of macrophages, the destruction of intracellular parasites and the sequestration of lymphocytes to lymph nodes (Schroder, Hertzog *et al.*, 2004), individuals with a high production of this cytokine may have a more exaggerated inflammatory response with fever and enlarged lymph nodes, but unrelated to the duration of the condition. Even if the individual genetic variants do not have a role on the clinical progress of the acute phase, the results with respect to RC, are consistent with previous studies that have demonstrated the role of host genetic factors in the genesis of ocular injury (Cordeiro, Moreira, Andrade *et al.*, 2008; Cordeiro, Moreira, Costa *et al.*, 2008a; Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009). Although we have not found statistically significant differences in relation to genotypes and alleles of IFN +874 T/A, we observed the presence of A allele in most cases that developed RC, which corroborates earlier studies and suggests that individuals with this allele in its homozygous form have a tendency to develop ocular lesions (Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009).

Research involving a larger number of patients may clarify whether there is influence of host genetic factors on the duration and morbidity of AAT. Regarding ocular injury, future studies developed in patients with recurrent RC will also clarify

whether the role of this cytokine is associated with events that involve the chronic phase of infection, especially in the genesis of these recurrences.

REFERENCES

Albuquerque MC, Aleixo AL, Benchimol EI, Leandro AC, das Neves LB, Vicente RT, Bonecini-Almeida Mda G, Amendoeira MR 2009. The IFN-gamma +874T/A gene polymorphism is associated with retinochoroiditis toxoplasmosis susceptibility. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 451-455.

Aleixo AL, Benchimol EI, Neves E S, Silva CSP, Coura LC, Amendoeira MR 2009. [Frequency of lesions suggestive of ocular toxoplasmosis among a rural population in the State of Rio de Janeiro]. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 42, 165-169.

Amorim Garcia CA, Orefice F, de Oliveira Lyra C, Gomes AB, Franca M, de Amorim Garcia Filho CA 2004. Socioeconomic conditions as determining factors in the prevalence of systemic and ocular toxoplasmosis in Northeastern Brazil. *Ophthalmic Epidemiol*, 11, 301-317.

Barrett S, Collins M, Kenny C, Ryan E, Keane CO, Crowe J 2003. Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection. *Journal of medical virology*, 71, 212-218.

Cordeiro CA, Moreira PR, Andrade MS, Dutra WO, Campos WR, Orefice F, Teixeira AL 2008a. Interleukin-10 gene polymorphism (-1082G/A) is associated with toxoplasmic retinochoroiditis. *Investigative ophthalmology & visual science*, 49, 1979-1982.

Cordeiro CA, Moreira PR, Costa GC, Dutra WO, Campos WR, Orefice F, Teixeira AL 2008b. Interleukin-1 gene polymorphisms and toxoplasmic retinochoroiditis. *Molecular vision*, 14, 1845-1849.

—— 2008c. TNF-alpha gene polymorphism (-308G/A) and toxoplasmic retinochoroiditis. *The British journal of ophthalmology*, 92, 986-988.

Fatoohi F, Cozon GJ, Wallon M, Kodjikian L, Peyron F 2006. Systemic T cell response to *Toxoplasma gondii* antigen in patients with ocular toxoplasmosis. *Japanese journal of ophthalmology*, 50, 103-110.

Filisetti D, Candolfi E 2004. Immune response to *Toxoplasma gondii*. *Ann Ist Super Sanita*, 40, 71-80.

Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D, Martins MC, Burnier Junior M, Silveira S, Camargo ME, Nussenblatt RB, Kaslow RA, Belfort Junior R 1992. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. *American journal of ophthalmology*, 114, 136-144.

Henao MI, Montes C, Paris SC, Garcia LF 2006. Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with different clinical presentations of tuberculosis. *Tuberculosis (Edinburgh, Scotland)*, 86, 11-19.

Holland GN 2003. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. *American journal of ophthalmology*, 136, 973-988.

Leal FE, Cavazzana CL, de Andrade HF, Jr., Galisteo AJ, Jr., de Mendonca JS, Kallas EG 2007. *Toxoplasma gondii* pneumonia in immunocompetent subjects: case report and review. *Clin Infect Dis*, 44, e62-66.

Lieberman LA, Hunter CA 2002. The role of cytokines and their signaling pathways in the regulation of immunity to *Toxoplasma gondii*. *Int Rev Immunol*, 21, 373-403.

Lopez-Maderuelo D, Arnalich F, Serantes R, Gonzalez A, Codoceo R, Madero R, Vazquez JJ, Montiel C 2003. Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 167, 970-975.

MacLean L, Chisi JE, Odiit M, Gibson WC, Ferris V, Picozzi K, Sternberg JM 2004. Severity of human african trypanosomiasis in East Africa is associated with geographic location, parasite genotype, and host inflammatory cytokine response profile. *Infection and immunity*, 72, 7040-7044.

Montoya JG, Liesenfeld O 2004. Toxoplasmosis. *Lancet*, 363, 1965-1976.

Neves ES, Bicudo LN, Curi AL, Carregal E, Bueno WF, Ferreira RG, Amendoeira MR, Benchimol E, Fernandes O 2009. Acute acquired toxoplasmosis: clinical-laboratorial aspects and ophthalmologic evaluation in a cohort of immunocompetent patients. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104, 393-396.

Neves ES, Kropf A, Bueno WF, I.C.F. B, Curi ALL, Amendoeira MRR, Fernandes-Filho O 2010. Disseminated toxoplasmosis: an atypical presentation in an immunocompetent patient. *Trop Doct*, in press.

Pacheco AG, Cardoso CC, Moraes MO 2008. IFNG +874T/A, IL10 -1082G/A and TNF -308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. *Human genetics*, 123, 477-484.

Pravica V, Perrey C, Stevens A, Lee JH, Hutchinson IV 2000. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. *Human immunology*, 61, 863-866.

Salih MA, Ibrahim ME, Blackwell JM, Miller EN, Khalil EA, ElHassan AM, Musa AM, Mohamed HS 2007. IFNG and IFNGR1 gene polymorphisms and susceptibility to post-kala-azar dermal leishmaniasis in Sudan. *Genes and immunity*, 8, 75-78.

Schroder K, Hertzog PJ, Ravasi T, Hume DA 2004. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of leukocyte biology*, 75, 163-189.

Suzuki Y, Orellana MA, Schreiber RD, Remington JS 1988. Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science*, 240, 516-518.

Tan TG, Mui E, Cong H, Witola WH, Montpetit A, Muench SP, Sidney J, Alexander J, Sette A, Grigg ME, Maewal A, McLeod R 2010. Identification of *T. gondii* epitopes, adjuvants, and host genetic factors that influence protection of mice and humans. *Vaccine*, 28, 3977-3989.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de ser uma das zoonoses de maior prevalência no mundo, são poucas as descrições na literatura de séries de casos de pacientes com TAA e até o presente, este é o primeiro relato de acompanhamento prospectivo de pacientes com o monitoramento do surgimento retinocoroidite. Este fenômeno pode ser parcialmente explicado por seu espectro clínico variável, sendo suas formas clínicas mais graves descritas em casos de transmissão congênita e à infecção em indivíduos imunocomprometidos. Não raro, o diagnóstico da TAA é tardio e associado ao elenco de doenças auto-limitadas que compreendem a síndrome *mononucleose-símile*. A extensão do acometimento sistêmico com investigação da função hepática, do comprometimento hematológico, esplênico e pulmonar tem sido pontualmente descrita.

Toxoplasmose aguda adquirida, embora apresente evolução benigna na maioria dos casos, pode evoluir com formas graves e potencialmente fatais em indivíduos imunocompetentes (Demar, Ajzenberg *et al.*, 2007; Leal, Cavazzana *et al.*, 2007). O caso descrito no **artigo 2** ilustra esta afirmação e sugere que toxoplasmose seja incluída no diagnóstico diferencial das doenças febris agudas. A presença de cefaléia intensa na TAA pode ser indicadora de acometimento neurológico mesmo em indivíduos previamente saudáveis (Bossi, Caumes *et al.*, 1998; Smati, Taille *et al.*, 2010).

Uma vez que as drogas disponíveis para o tratamento da toxoplasmose têm potenciais efeitos adversos, considera-se não haver indicação da terapia antiparasitária na maioria dos casos de TAA. No entanto, a inexistência de parâmetros objetivos para a introdução do seu tratamento incorre no risco de casos que evoluirão de modo mais arrastado, com maior morbidade ou que complicarão com lesões oculares que poderiam ser evitadas. A existência uma escala de morbidade construída a partir de dados que podem ser obtidos na primeira avaliação do paciente pode tornar-se uma ferramenta útil nestas situações.

A escala de morbidade proposta no **artigo 1** deve ainda ser validada em estudos multicêntricos envolvendo amostragem significativa de pacientes, levando em

consideração também a variação genética tanto do hospedeiro quanto do parasito, sendo esta é uma das vertentes que surgem a partir deste trabalho.

A escala de morbidade poderá também respaldar futuros ensaios clínicos envolvendo a questão do tratamento da toxoplasmose uma vez que a literatura é pobre neste sentido. Recentemente foi publicado um ensaio clínico desenvolvido no Irã abordando o uso de co-trimoxazol no tratamento de pacientes com TAA (Alavi e Alavi, 2010). Trata-se de um estudo pioneiro e bastante oportuno, no entanto sujeito a algumas observações, que constituíram objeto de uma quarta publicação sob a forma de carta ao editor, a seguir:



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Infectious Diseases

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijid



Letter to the Editor

Clinical trial for toxoplasmic lymphadenitis

Acute acquired toxoplasmosis (AAT) has traditionally been considered an oligosymptomatic and self-limited infection in previously healthy patients. Immunocompetent individuals with AAT are usually not treated unless presenting severe or persistent symptoms.¹ However, severe acute disseminated AAT in immunocompetent patients has been reported in association with new virulent strains of *Toxoplasma gondii*.^{2,3} Despite the fact that the treatment of toxoplasmosis is well established when associated with immunodeficiency,⁴ there are controversies concerning treatment in AAT and ocular disease.

We read with great interest a recently released ahead-of-print paper on a double-blind randomized clinical trial of co-trimoxazole for the treatment of toxoplasmic lymphadenitis.⁵ This pioneering work raises the question of the therapeutic management of AAT patients and sheds new light on the subject. Our group has been concerned with the indications for the treatment of AAT and recently proposed a morbidity scale associated with long-lasting disease.⁶

With regard to the paper by Alavi and Alavi,⁵ as patients were randomized to the analysis groups and as toxoplasmosis presents a broad range of clinical manifestations, bias could have been introduced if more severe cases were eventually included in the placebo group. This would be avoided by means of a stratification severity scale of infection, randomized in both groups. Criticism could be raised regarding the study endpoints, based only on clinical signs (absence of palpable lymph nodes) and serologic data (IgM levels <6 IU), instead of clinical morbidity parameters.⁶

We agree with the authors that there is a need for large-scale multicenter studies. There is a lack of studies analyzing treatment indications as well as therapeutic regimens. Co-trimoxazole has an easy-to-use dosage compared to the more complex and adverse-effect-prone sulfadiazine/pyrimethamine/folinic acid regimen.

We look forward to future clinical trials in toxoplasmosis, not only in AAT, but also in ocular and prenatal infection, for which we currently have more questions than answers.

Conflict of interest: No conflict of interest to declare.

References

1. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 2004;**363**:1965–76.
2. Demar M, Ajzenberg D, Maubon D, Djossou F, Panchoe D, Punwasi W, et al. Fatal outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: epidemiological, clinical, and parasitological aspects. *Clin Infect Dis* 2007;**45**:e88–95.
3. Bossi P, Bricaire F. Severe acute disseminated toxoplasmosis. *Lancet* 2004;**364**:579.
4. Luft BJ, Hafner R, Korzun AH, Lepout C, Antoniskis D, Bosler EM, et al. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077 p/ANRS 009 Study Team. *N Engl J Med* 1993;**329**:995–1000.
5. Alavi SM, Alavi L. Treatment of toxoplasmic lymphadenitis with co-trimoxazole: double-blind, randomized clinical trial. *Int J Infect Dis* 2010 Feb 27 [Epub ahead of print].
6. Neves ES, Bicudo LN, Curi AL, Carregal E, Bueno WF, Ferreira RG, et al. Acute acquired toxoplasmosis: clinical-laboratorial aspects and ophthalmologic evaluation in a cohort of immunocompetent patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009;**104**:393–6.

Elizabeth de Souza Neves*

André Luis Land Curi

Octavio Fernandes da Silva Filho

Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz,
Avenida Brasil 4365, Rio de Janeiro, Brazil

*Corresponding author. Tel.: +55 21 3865 9654;

fax: +55 21 3865 9692

E-mail address: elizabeth.neves@ipecc.fiocruz.br

(E. de Souza Neves)

Corresponding Editor: William Cameron, Ottawa, Canada

1 June 2010

Desta forma, outro desdobramento que surge a partir deste trabalho é a elaboração de um ensaio clínico tendo como desfecho a duração e a gravidade das manifestações clínicas baseado na escala de morbidade.

Retinocoroidite por toxoplasmose tem sido objeto de estudos, já descritos na introdução. A maioria destes estudos se resume à análise de prevalências da lesão e não são associados à doença aguda. No Rio Grande do Sul, área considerada de elevada prevalência de toxoplasmose, dois de 21 (9,5%) indivíduos que soroconverteram para IgG anti-toxoplasmose em intervalo de sete anos, apresentaram lesões oculares compatíveis com RC por toxoplasmose (Silveira, Belfort *et al.*, 2001), sem, no entanto, descrição da existência de doença sistêmica. Em nossa casuística, encontramos incidência semelhante (10,8%) de RC nos pacientes com TAA acompanhados prospectivamente. A análise da incidência de RC na TAA é de difícil execução por tratar-se de um evento raro, entrave para um desenho de coorte e pela existência de formas oligossintomáticas e subdiagnosticadas, dificultando um estudo de caso-controle. Apesar de seu ineditismo, este trabalho deve ser reproduzido em populações maiores, associado também à tipagem das diferentes cepas de *T. gondii*.

Não encontramos associação entre a duração e intensidade dos sintomas e o surgimento das lesões oculares. Desta forma, o estudo das manifestações clínico-laboratoriais do episódio agudo não contribuiu para o esclarecimento da existência de indicadores do surgimento da RC nesta população, o que aponta para novos caminhos de investigação.

A imunidade mediada por células e a produção de citocinas imunoreguladoras, são essenciais para o controle da infecção pelo *T. gondii* (Suzuki, Orellana *et al.*, 1988; Filisetti e Candolfi, 2004). Sabe-se que variações nos genes que codificam citocinas interferem com a expressão dessas moléculas podendo ter papel de destaque na regulação da resposta inflamatória. Polimorfismo em um único gene humano para IFN- γ (polimorfismo de *IFN +874T/A*) influencia a secreção desta citocina (Pravica, Perrey *et al.*, 2000) sendo os indivíduos carreadores do alelo A baixo produtores de IFN- γ (Lopez-Maderuelo, Arnalich *et al.*, 2003). Embora na coorte estudada apenas quatro pacientes tenham desenvolvido RC, três destes (75%) eram carreadores do alelo A e,

portanto, baixo produtores desta citocina, consonante com estudo anterior (Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009).

Um novo estudo de caso-controle envolvendo amostra significativa de indivíduos e tendo como critério de inclusão pacientes apresentando lesões de RC por toxoplasmose em atividade (retinite focal com lesão satélite cicatrizada) já foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IPEC e deve elucidar esta questão. Da mesma forma, a dosagem de IFN- γ não foi realizada na coorte estudada, o que está previsto no novo projeto, assim como a análise de outras citocinas pró inflamatórias, uma vez que resistência ao desenvolvimento de RC foi também observada em associação com genótipos específicos de IL10 e IL1A (Cordeiro, Moreira, Andrade *et al.*, 2008; Cordeiro, Moreira, Costa *et al.*, 2008a).

Encontramos um aparente antagonismo entre os resultados quando o quadro clínico foi analisado à luz do polimorfismo genético para IFN- γ , uma vez que não foi observada associação entre o genótipo AA, baixo produtor da citocina, e quadros de maior gravidade. O genótipo TT foi associado a um maior risco para evolução clínica de maior morbidade em relação aos demais genótipos, chegando a representar o dobro de risco nos casos classificados como escala de morbidade grau III. A resposta inflamatória mais exacerbada secundária à ativação dos macrófagos, à destruição dos parasitos intracelulares e ao seqüestro de linfócitos para os linfonodos induzidos pelo IFN- γ pode parcialmente explicar este fenômeno. Por outro lado, não foi observada relação entre o polimorfismo genético para IFN- γ e a presença ou ausência de sintomas. No entanto, os indivíduos homozigotos AA apresentaram probabilidade de desenvolvimento de doença prolongada duas vezes maior que os portadores do alelo T, sugerindo que o tempo de evolução esteja associado à baixa produção de IFN- γ enquanto a intensidade das manifestações clínicas seja associada à sua produção normal ou elevada.

IFN- γ é uma citocina com diversas ações no sistema imune. O seu estudo associado à toxoplasmose humana tem sido restrito à doença ocular (Albuquerque, Aleixo *et al.*, 2009) e à infecção congênita, quando foi associado à maior transmissão materno-fetal (Pfaff, Abou-Bacar *et al.*, 2007). No entanto, o conhecimento do seu papel no controle parasitário, na intensidade do processo inflamatório e na patogênese de infecções intracelulares ainda é incipiente. Estudos recentes sugerem envolvimento

do genótipo AA de IFN- γ na susceptibilidade à doença de Chagas (Torres, Calzada *et al.*, 2010), mas não no desenvolvimento de formas mucosas da leishmaniose (Salih, Ibrahim *et al.*, 2007).

Apesar de tratar-se o primeiro trabalho na literatura envolvendo o acompanhamento de coorte de pacientes com TAA, o projeto envolveu uma amostra reduzida de pacientes não sendo incluídos pacientes assintomáticos, o que pode comprometer eventuais inferências. Embora não tenha sido encontrada diferença estatisticamente significativa em relação aos genótipos e alelos de IFN +874 T/A e associação com as variáveis estudadas, os resultados sugerem tendência à associação entre a produção de IFN- γ , mediada pelo tipo de SNP com as manifestações clínicas.

Os resultados indicam a necessidade de estudos semelhantes com maior número de pacientes, envolvendo a dosagem dos níveis séricos e polimorfismos de genes que codificam para outras citocinas.

9. CONCLUSÕES

1. Linfonodomegalia, astenia, cefaléia, febre e emagrecimento foram os dados clínicos mais freqüentemente encontrados em pacientes com toxoplasmose aguda adquirida (TAA).
2. Aumento dos níveis séricos de enzimas hepáticas (TGO e TGP) e da desidrogenase láctica (LDH) foram alterações bioquímicas encontradas em pacientes com TAA.
3. Entre as alterações hematológicas linfocitose e leucopenia foram as mais encontradas em pacientes com TAA.
4. Hepatomegalia e esplenomegalia com duração máxima de três semanas foram observadas em exame de ultrassonografia abdominal em pacientes com TAA.
5. Formas graves de TAA podem ocorrer, independentes do *status* imune do paciente.
6. Retinocoroidite (RC) foi encontrada em 10,8% dos casos de TAA em até três anos após o episódio agudo.
7. Foi proposta uma escala de morbidade baseada em dados clínico-laboratoriais obtidos na primeira avaliação do paciente.
8. A escala de morbidade foi associada ao tempo de evolução da doença, mas não com a evolução para RC.
9. Foi observada a presença do alelo A (associado à baixa produção da citocina) no gene que codifica para IFN- γ em 75% dos pacientes que evoluíram para RC.
10. Não foi observada associação entre polimorfismo genético para IFN- γ e a presença ou ausência de sintomas.

11. Pacientes com homozigoze para o alelo A (IFN- γ +874T/A SNP), baixos produtores de IFN- γ , apresentaram probabilidade de desenvolvimento de doença prolongada duas vezes maior que os portadores do alelo T.

12. Pacientes com homozigoze para o alelo T (TT) apresentaram o dobro de risco de evolução para formas mais graves de TAA.

10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, A., A. Lichtman, *et al.* Citocinas. In: Elsevier (Ed.). Imunologia celular e molecular. Rio de Janeiro, 2008a. Citocinas, p.267-301

_____. Mecanismos efetores da imunidade mediada por células. In: Elsevier (Ed.). Imunologia celular e molecular. Rio de Janeiro, 2008b. Mecanismos efetores da imunidade mediada por células, p.304 - 320

Adams, L. B., J. B. Hibbs, Jr., *et al.* Microbiostatic effect of murine-activated macrophages for *Toxoplasma gondii*. Role for synthesis of inorganic nitrogen oxides from L-arginine. J Immunol, v.144, n.7, Apr 1, p.2725-9. 1990.

Ajzenberg, D., A. L. Banuls, *et al.* Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol, v.34, n.10, Sep, p.1185-96. 2004.

Alavi, S. M. e L. Alavi. Treatment of toxoplasmic lymphadenitis with co-trimoxazole: double-blind, randomized clinical trial. Int J Infect Dis, v.14s, p.e67-e69. 2010.

Albuquerque, M. Estudo do polimorfismo para IFN- γ (+874) na infecção por *Toxoplasma gondii* em pacientes com toxoplasmose ocular em população rural do bairro Santa Rita de Cássia, município de Barra Mansa, RJ. Dissertação de mestrado – Instituto Oswaldo Cruz, Biologia Parasitária, Rio de Janeiro 2007.

Albuquerque, M. C., A. L. Aleixo, *et al.* The IFN-gamma +874T/A gene polymorphism is associated with retinochoroiditis toxoplasmosis susceptibility. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.3, May, p.451-5. 2009.

Aleixo, A. L., E. I. Benchimol, *et al.* [Frequency of lesions suggestive of ocular toxoplasmosis among a rural population in the State of Rio de Janeiro]. Rev Soc Bras Med Trop, v.42, n.2, Mar-Apr, p.165-9. 2009.

Aliberti, J. Host persistence: exploitation of anti-inflammatory pathways by *Toxoplasma gondii*. Nat Rev Immunol, v.5, n.2, Feb, p.162-70. 2005.

Amendoeira, M. R. e S. G. Coutinho. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the saliva and tonsils of a three-year-old child. J Infect Dis, v.145, n.4, Apr, p.587. 1982.

Amorim Garcia, C. A., F. Orefice, *et al.* Socioeconomic conditions as determining factors in the prevalence of systemic and ocular toxoplasmosis in Northeastern Brazil. Ophthalmic Epidemiol, v.11, n.4, Oct, p.301-17. 2004.

Aramini, J. J., C. Stephen, *et al.* Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. Epidemiol Infect, v.122, n.2, Apr, p.305-15. 1999.

Bahia-Oliveira, L. M., M. L. Darde, *et al.* *Toxoplasma gondii* centennial anniversary: 100 years of research to celebrate all over the world. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.129-31. 2009.

Bahia-Oliveira, L. M., J. L. Jones, *et al.* Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. Emerg Infect Dis, v.9, n.1, Jan, p.55-62. 2003.

Barrett, S., M. Collins, *et al.* Polymorphisms in tumour necrosis factor-alpha, transforming growth factor-beta, interleukin-10, interleukin-6, interferon-gamma, and outcome of hepatitis C virus infection. J Med Virol, v.71, n.2, Oct, p.212-8. 2003.

Barsoum, R. S. Parasitic infections in organ transplantation. Exp Clin Transplant, v.2, n.2, Dec, p.258-67. 2004.

Bastien, P. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.96 Suppl 1, Apr, p.S205-15. 2002.

Beaman, M. H., S. Y. Wong, *et al.* Cytokines, *Toxoplasma* and intracellular parasitism. Immunol Rev, v.127, Jun, p.97-117. 1992.

Benenson, M. W., E. T. Takafuji, *et al.* Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. N Engl J Med, v.307, n.11, Sep 9, p.666-9. 1982.

Bhopale, G. M. Pathogenesis of toxoplasmosis. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, v.26, n.4, Jul, p.213-22. 2003.

Bichara, C., E. Lago, *et al.* Carta de Búzios: proposta para o controle da toxoplasmose no Brasil. Scientia Medica, v.20, p.5-8. 2010.

Bobic, B., D. Sibalic, *et al.* High levels of IgM antibodies specific for *Toxoplasma gondii* in pregnancy 12 years after primary toxoplasma infection. Case report. Gynecol Obstet Invest, v.31, n.3, p.182-4. 1991.

Boia, M. N., F. A. Carvalho-Costa, *et al.* Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among indian people living in Iauarete, Sao Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, v.50, n.1, Jan-Feb, p.17-20. 2008.

Bonametti, A. M., N. Passos Jdo, *et al.* [Outbreak of acute toxoplasmosis transmitted thru the ingestion of ovine raw meat]. Rev Soc Bras Med Trop, v.30, n.1, Jan-Feb, p.21-5. 1996.

Bonnet, F., C. Lewden, *et al.* Opportunistic infections as causes of death in HIV-infected patients in the HAART era in France. Scand J Infect Dis, v.37, n.6-7, p.482-7. 2005.

Bossi, P., E. Caumes, *et al.* *Toxoplasma gondii*-associated Guillain-Barre syndrome in an immunocompetent patient. J Clin Microbiol, v.36, n.12, Dec, p.3724-5. 1998.

Bossi, P., L. Paris, *et al.* Severe acute disseminated toxoplasmosis acquired by an immunocompetent patient in French Guiana. Scand J Infect Dis, v.34, n.4, p.311-4. 2002.

Bou, G., M. S. Figueroa, *et al.* Value of PCR for detection of *Toxoplasma gondii* in aqueous humor and blood samples from immunocompetent patients with ocular toxoplasmosis. J Clin Microbiol, v.37, n.11, Nov, p.3465-8. 1999.

Bowie, W. R., A. S. King, *et al.* Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC *Toxoplasma* Investigation Team. Lancet, v.350, n.9072, Jul 19, p.173-7. 1997.

Burg, J. L., C. M. Grover, *et al.* Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol, v.27, n.8, Aug, p.1787-92. 1989.

Burg, J. L., D. Perelman, *et al.* Molecular analysis of the gene encoding the major surface antigen of *Toxoplasma gondii*. J Immunol, v.141, n.10, Nov 15, p.3584-91. 1988.

Burnett, A. J., S. G. Shortt, *et al.* Multiple cases of acquired toxoplasmosis retinitis presenting in an outbreak. Ophthalmology, v.105, n.6, Jun, p.1032-7. 1998.

Buxton, D. e E. A. Innes. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. Parasitology, v.110 Suppl, p.S11-6. 1995.

Carne, B., F. Bissuel, *et al.* Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. J Clin Microbiol, v.40, n.11, Nov, p.4037-44. 2002.

Cazenave, J., F. Forestier, *et al.* Contribution of a new PCR assay to the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Prenat Diagn, v.12, n.2, Feb, p.119-27. 1992.

Cerezo, L., M. Alvarez, *et al.* Electron microscopic diagnosis of cerebral toxoplasmosis. Case report. J Neurosurg, v.63, n.3, Sep, p.470-2. 1985.

Cerqueira, R. L., M. Kawarabayashi, *et al.* Santo Inacio revisited: protozoan diseases in an isolated village in northeastern Brazil after twenty years. Am J Trop Med Hyg, v.59, n.5, Nov, p.736-40. 1998.

Choi, W. Y., H. W. Nam, *et al.* Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis. J Infect Dis, v.175, n.5, May, p.1280-2. 1997.

Cohen, S. N. Toxoplasmosis in patients receiving immunosuppressive therapy. Jama, v.211, n.4, Jan 26, p.657-60. 1970.

Conley, F. K., K. A. Jenkins, *et al.* *Toxoplasma gondii* infection of the central nervous system. Use of the peroxidase-antiperoxidase method to demonstrate toxoplasma in formalin fixed, paraffin embedded tissue sections. Hum Pathol, v.12, n.8, Aug, p.690-8. 1981.

Cook, A. J., R. E. Gilbert, *et al.* Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. Bmj, v.321, n.7254, Jul 15, p.142-7. 2000.

Cordeiro, C. A., P. R. Moreira, *et al.* Interleukin-10 gene polymorphism (-1082G/A) is associated with toxoplasmic retinochoroiditis. Invest Ophthalmol Vis Sci, v.49, n.5, May, p.1979-82. 2008.

_____. Interleukin-1 gene polymorphisms and toxoplasmic retinochoroiditis. Mol Vis, v.14, p.1845-9. 2008a.

_____. TNF-alpha gene polymorphism (-308G/A) and toxoplasmic retinochoroiditis. Br J Ophthalmol, v.92, n.7, Jul, p.986-8. 2008b.

Coutinho, S. G., A. Morgado, *et al.* Outbreak of human toxoplasmosis in a rural area. A three year serologic follow-up study. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.77, n.1, Jan-Mar, p.29-36. 1982.

Couvreur, J. e P. Thulliez. [Acquired toxoplasmosis of ocular or neurologic site: 49 cases]. Presse Med, v.25, n.9, Mar 16, p.438-42. 1996.

Cox, F. E. History of human parasitology. Clin Microbiol Rev, v.15, n.4, Oct, p.595-612. 2002.

Dalston, M. O., W. Tavares, *et al.* [Clarithromycin combined with pyrimethamine in cerebral toxoplasmosis--a report of 2 cases]. Rev Soc Bras Med Trop, v.28, n.4, Oct-Dec, p.409-13. 1995.

De Moura, L., L. M. Bahia-Oliveira, *et al.* Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. Emerg Infect Dis, v.12, n.2, Feb, p.326-9. 2006.

Decoster, A., B. Slizewicz, *et al.* Platelia-Toxo IgA, a new kit for early diagnosis of congenital toxoplasmosis by detection of anti-P30 immunoglobulin A antibodies. J Clin Microbiol, v.29, n.10, Oct, p.2291-5. 1991.

Demar, M., D. Ajzenberg, *et al.* Fatal outbreak of human toxoplasmosis along the Maroni River: epidemiological, clinical, and parasitological aspects. Clin Infect Dis, v.45, n.7, Oct 1, p.e88-95. 2007.

Denkers, E. Y., G. Yap, *et al.* Perforin-mediated cytolysis plays a limited role in host resistance to *Toxoplasma gondii*. J Immunol, v.159, n.4, Aug 15, p.1903-8. 1997.

Deorari, A. K., S. Broor, *et al.* Incidence, clinical spectrum, and outcome of intrauterine infections in neonates. J Trop Pediatr, v.46, n.3, Jun, p.155-9. 2000.

Derouin, F. e H. Pelloux. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. Clin Microbiol Infect, v.14, n.12, Dec, p.1089-101. 2008.

Desmonts, G. e J. Couvreur. Congenital toxoplasmosis. A prospective study of 378 pregnancies. N Engl J Med, v.290, n.20, May 16, p.1110-6. 1974a.

_____. Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. Bull N Y Acad Med, v.50, n.2, Feb, p.146-59. 1974b.

Desmonts, G., J. Couvreur, *et al.* [Epidemiological study on toxoplasmosis: the influence of cooking slaughter-animal meat on the incidence of human infection]. Rev Fr Etud Clin Biol, v.10, n.9, Nov, p.952-8. 1965.

Dimier, I. H. e D. T. Bout. Interferon-gamma-activated primary enterocytes inhibit *Toxoplasma gondii* replication: a role for intracellular iron. Immunology, v.94, n.4, Aug, p.488-95. 1998.

Dorfman, R. F. e J. S. Remington. Value of lymph-node biopsy in the diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. N Engl J Med, v.289, n.17, Oct 25, p.878-81. 1973.

Dubey, J. P. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the feces of a helminth free cat. J Protozool, v.15, n.4, Nov, p.773-5. 1968.

_____. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. Vet Parasitol, v.64, n.1-2, Aug, p.65-70. 1996.

_____. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol, v.28, n.7, Jul, p.1019-24. 1998a.

_____. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. J Parasitol, v.84, n.4, Aug, p.862-5. 1998b.

_____. Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis. Vet Parasitol, v.126, n.1-2, Dec 9, p.57-72. 2004.

_____. History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol, Feb 6. 2009.

Dubey, J. P. e J. K. Frenkel. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. J Protozool, v.19, n.1, Feb, p.155-77. 1972.

Dubey, J. P., A. W. Kotula, *et al.* Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J Parasitol, v.76, n.2, Apr, p.201-4. 1990.

Dubey, J. P., D. S. Lindsay, *et al.* Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. Clin Microbiol Rev, v.11, n.2, Apr, p.267-99. 1998.

Dunn, D., M. Wallon, *et al.* Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. Lancet, v.353, n.9167, May 29, p.1829-33. 1999.

Dupouy-Camet, J., S. L. De Souza, *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* in venous blood from AIDS patients by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol, v.31, n.7, Jul, p.1866-9. 1993.

Durlach, R. A., F. Kaufer, *et al.* Toxoplasmic lymphadenitis--clinical and serologic profile. Clin Microbiol Infect, v.9, n.7, Jul, p.625-31. 2003.

Ellis, T. J., K. Luton, *et al.* Phylogenetic relationships between *Toxoplasma* and *Sarcocystis* deduced from a comparison of 18S rDNA sequences. Parasitology, v.110 (Pt 5), Jun, p.521-8. 1995.

Elmore, S. A., J. L. Jones, *et al.* *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. Trends Parasitol, v.26, n.4, Apr, p.190-196. 2010.

Elsheikha, H. M. Congenital toxoplasmosis: priorities for further health promotion action. Public Health, v.122, n.4, Apr, p.335-53. 2008.

Fatoohi, F., G. J. Cozon, *et al.* Systemic T cell response to *Toxoplasma gondii* antigen in patients with ocular toxoplasmosis. Jpn J Ophthalmol, v.50, n.2, Mar-Apr, p.103-10. 2006.

Ferreira, M. S. e A. S. Borges. Some aspects of protozoan infections in immunocompromised patients- a review. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.97, n.4, Jun, p.443-57. 2002.

Field, P. R., G. G. Moyle, *et al.* The accidental infection of a laboratory worker with *Toxoplasma gondii*. Med J Aust, v.2, n.4, Jul 22, p.196-8. 1972.

Filisetti, D. e E. Candolfi. Immune response to *Toxoplasma gondii*. Ann Ist Super Sanita, v.40, n.1, p.71-80. 2004.

Fisher, M. A., J. Levy, *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* in the spinal fluid of a bone marrow transplant recipient. Pediatr Infect Dis J, v.6, n.1, Jan, p.81-3. 1987.

Frenkel, J. K. Adoptive immunity to intracellular infection. J Immunol, v.98, n.6, Jun, p.1309-19. 1967.

_____. Pathophysiology of toxoplasmosis. Parasitol Today, v.4, n.10, Oct, p.273-8. 1988.

Frenkel, J. K., J. P. Dubey, *et al.* *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. Science, v.167, n.3919, Feb 6, p.893-6. 1970.

Frenkel, J. K., A. Ruiz, *et al.* Soil survival of toxoplasma oocysts in Kansas and Costa Rica. Am J Trop Med Hyg, v.24, n.3, May, p.439-43. 1975.

Gaddi, P. J. e G. S. Yap. Cytokine regulation of immunopathology in toxoplasmosis. Immunol Cell Biol, v.85, n.2, Feb-Mar, p.155-9. 2007.

Garcia, J. L., I. T. Navarro, *et al.* [Seroprevalence, epidemiology and ocular evaluation of human toxoplasmosis in the rural zone Jauguapita (Parana) Brazil]. Rev Panam Salud Publica, v.6, n.3, Sep, p.157-63. 1999.

Garrido, J. Toxoplasmosis. Madrid: Editorial Marban. 1978. 315p
p.

Gazzinelli, R., Y. Xu, *et al.* Simultaneous depletion of CD4+ and CD8+ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. J Immunol, v.149, n.1, Jul 1, p.175-80. 1992.

Gazzinelli, R. T., I. Eltoun, *et al.* Acute cerebral toxoplasmosis is induced by in vivo neutralization of TNF-alpha and correlates with the down-regulated expression of inducible nitric oxide synthase and other markers of macrophage activation. J Immunol, v.151, n.7, Oct 1, p.3672-81. 1993.

Gazzinelli, R. T., S. Hieny, *et al.* Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon gamma by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient hosts. Proc Natl Acad Sci U S A, v.90, n.13, Jul 1, p.6115-9. 1993.

Gilbert, R. Treatment for congenital toxoplasmosis: finding out what works. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.305-11. 2009.

Gilbert, R. E. e M. R. Stanford. Is ocular toxoplasmosis caused by prenatal or postnatal infection? Br J Ophthalmol, v.84, n.2, Feb, p.224-6. 2000.

Glasner, P. D., C. Silveira, *et al.* An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. Am J Ophthalmol, v.114, n.2, Aug 15, p.136-44. 1992.

Gratzl, R., M. Hayde, *et al.* Follow-up of infants with congenital toxoplasmosis detected by polymerase chain reaction analysis of amniotic fluid. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, v.17, n.12, Dec, p.853-8. 1998.

Greenlee, J. E., W. D. Johnson, Jr., *et al.* Adult toxoplasmosis presenting as polymyositis and cerebellar ataxia. Ann Intern Med, v.82, n.3, Mar, p.367-71. 1975.

Gross, U., A. Roggenkamp, *et al.* Improved sensitivity of the polymerase chain reaction for detection of *Toxoplasma gondii* in biological and human clinical specimens. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, v.11, n.1, Jan, p.33-9. 1992.

Guerina, N. G., H. W. Hsu, *et al.* Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional *Toxoplasma* Working Group. N Engl J Med, v.330, n.26, Jun 30, p.1858-63. 1994.

Guy, E. C. e D. H. Joynson. Potential of the polymerase chain reaction in the diagnosis of active *Toxoplasma* infection by detection of parasite in blood. J Infect Dis, v.172, n.1, Jul, p.319-22. 1995.

Hall, S. M. Congenital toxoplasmosis. Bmj, v.305, n.6848, Aug 1, p.291-7. 1992.

Hall, S. M., A. Pandit, *et al.* How do Jains get toxoplasma infection? Lancet, v.354, n.9177, Aug 7, p.486-7. 1999.

Harris, D. P., L. Haynes, *et al.* Reciprocal regulation of polarized cytokine production by effector B and T cells. Nat Immunol, v.1, n.6, Dec, p.475-82. 2000.

Hausmann, N. e G. Richard. Acquired ocular toxoplasmosis. A fluorescein angiography study. Ophthalmology, v.98, n.11, Nov, p.1647-51. 1991.

Hedman, K., M. Lappalainen, *et al.* Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J Infect Dis, v.159, n.4, Apr, p.736-40. 1989.

Henao, M. I., C. Montes, *et al.* Cytokine gene polymorphisms in Colombian patients with different clinical presentations of tuberculosis. Tuberculosis (Edinb), v.86, n.1, Jan, p.11-9. 2006.

Herwaldt, B. L. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. Clin Microbiol Rev, v.14, n.4, Oct, p.659-88, table of contents. 2001.

Heukelbach, J., V. Meyer-Cirkel, *et al.* Waterborne toxoplasmosis, northeastern Brazil. Emerg Infect Dis, v.13, n.2, Feb, p.287-9. 2007.

Hill, D. e J. P. Dubey. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clin Microbiol Infect, v.8, n.10, Oct, p.634-40. 2002.

Ho-Yen, D. O., A. W. Joss, *et al.* Use of the polymerase chain reaction to detect *Toxoplasma gondii* in human blood samples. J Clin Pathol, v.45, n.10, Oct, p.910-3. 1992.

Hohlfeld, P., F. Daffos, *et al.* Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. N Engl J Med, v.331, n.11, Sep 15, p.695-9. 1994.

Holland, G. N. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. Am J Ophthalmol, v.136, n.6, Dec, p.973-88. 2003.

Holland, G. N. e K. G. Lewis. An update on current practices in the management of ocular toxoplasmosis. Am J Ophthalmol, v.134, n.1, Jul, p.102-14. 2002.

Hovakimyan, A. e E. T. Cunningham, Jr. Ocular toxoplasmosis. Ophthalmol Clin North Am, v.15, n.3, Sep, p.327-32. 2002.

Howe, D. K. e L. D. Sibley. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. J Infect Dis, v.172, n.6, Dec, p.1561-6. 1995.

Isaac-Renton, J., W. R. Bowie, *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* oocysts in drinking water. Appl Environ Microbiol, v.64, n.6, Jun, p.2278-80. 1998.

Jacobs, L. *Toxoplasma* and Toxoplasmosis. Annu Rev Microbiol, v.17, p.429-50. 1963.

Jenum, P. A., M. Holberg-Petersen, *et al.* Diagnosis of congenital *Toxoplasma gondii* infection by polymerase chain reaction (PCR) on amniotic fluid samples. The Norwegian experience. Apmis, v.106, n.7, Jul, p.680-6. 1998.

Jones, C. D., N. Okhravi, *et al.* Comparison of PCR detection methods for B1, P30, and 18S rDNA genes of *T. gondii* in aqueous humor. Invest Ophthalmol Vis Sci, v.41, n.3, Mar, p.634-44. 2000.

- Jones, J. L. e J. P. Dubey. Waterborne toxoplasmosis--recent developments. Exp Parasitol, v.124, n.1, Jan, p.10-25. 2010.
- Jones, J. L., D. Kruszon-Moran, *et al.* Toxoplasma gondii infection in the United States: seroprevalence and risk factors. Am J Epidemiol, v.154, n.4, Aug 15, p.357-65. 2001.
- Jones, J. L., A. Lopez, *et al.* Congenital toxoplasmosis: a review. Obstet Gynecol Surv, v.56, n.5, May, p.296-305. 2001.
- Jones, J. L., C. Muccioli, *et al.* Recently acquired Toxoplasma gondii infection, Brazil. Emerg Infect Dis, v.12, n.4, Apr, p.582-7. 2006.
- Kaplan, J. E., C. Benson, *et al.* Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. MMWR Recomm Rep, v.58, n.RR-4, Apr 10, p.1-207; quiz CE1-4. 2009.
- Kapperud, G., P. A. Jennum, *et al.* Risk factors for Toxoplasma gondii infection in pregnancy. Results of a prospective case-control study in Norway. Am J Epidemiol, v.144, n.4, Aug 15, p.405-12. 1996.
- Kimball, A. C., B. H. Kean, *et al.* Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 4,048 obstetric patients. Am J Obstet Gynecol, v.111, n.2, Sep 15, p.211-8. 1971.
- Kompalic-Cristo, A., S. A. Nogueira, *et al.* Lack of technical specificity in the molecular diagnosis of toxoplasmosis. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.98, n.2, Feb, p.92-5. 2004.
- Koppe, J. G., D. H. Loewer-Sieger, *et al.* Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. Lancet, v.1, n.8475, Feb 1, p.254-6. 1986.
- Kotton, C. N. Zoonoses in solid-organ and hematopoietic stem cell transplant recipients. Clin Infect Dis, v.44, n.6, Mar 15, p.857-66. 2007.
- Krick, J. A. e J. S. Remington. Toxoplasmosis in the adult--an overview. N Engl J Med, v.298, n.10, Mar 9, p.550-3. 1978.

Lamoril, J., J. M. Molina, *et al.* Detection by PCR of *Toxoplasma gondii* in blood in the diagnosis of cerebral toxoplasmosis in patients with AIDS. J Clin Pathol, v.49, n.1, Jan, p.89-92. 1996.

Lappalainen, M. e K. Hedman. Serodiagnosis of toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. Ann Ist Super Sanita, v.40, n.1, p.81-8. 2004.

Lappalainen, M., P. Koskela, *et al.* Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J Infect Dis, v.167, n.3, Mar, p.691-7. 1993.

Leal, F. E., C. L. Cavazzana, *et al.* *Toxoplasma gondii* pneumonia in immunocompetent subjects: case report and review. Clin Infect Dis, v.44, n.6, Mar 15, p.e62-6. 2007.

Levine, N. D., J. O. Corliss, *et al.* A newly revised classification of the protozoa. J Protozool, v.27, n.1, Feb, p.37-58. 1980.

Lewden, C., M. Sobesky, *et al.* [Causes of death among HIV infected adults in French Guyana and the French West Indies in the era of highly active antiretroviral therapy (HAART)]. Med Mal Infect, v.34, n.7, Jul, p.286-92. 2004.

Lieberman, L. A. e C. A. Hunter. The role of cytokines and their signaling pathways in the regulation of immunity to *Toxoplasma gondii*. Int Rev Immunol, v.21, n.4-5, Jul-Oct, p.373-403. 2002.

Liesenfeld, O., J. G. Montoya, *et al.* Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. J Infect Dis, v.183, n.8, Apr 15, p.1248-53. 2001.

Liesenfeld, O., C. Press, *et al.* False-positive results in immunoglobulin M (IgM) toxoplasma antibody tests and importance of confirmatory testing: the Platelia Toxo IgM test. J Clin Microbiol, v.35, n.1, Jan, p.174-8. 1997.

Locksley, R. M., J. Fankhauser, *et al.* Alteration of leukotriene release by macrophages ingesting *Toxoplasma gondii*. Proc Natl Acad Sci U S A, v.82, n.20, Oct, p.6922-6. 1985.

Lopez-Maderuelo, D., F. Arnalich, *et al.* Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. Am J Respir Crit Care Med, v.167, n.7, Apr 1, p.970-5. 2003.

Lovelace, J. K., M. A. Moraes, *et al.* Toxoplasmosis among the Ticuna Indians in the state of Amazonas, Brazil. Trop Geogr Med, v.30, n.3, Sep, p.295-300. 1978.

Luft, B. J., R. Hafner, *et al.* Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077p/ANRS 009 Study Team. N Engl J Med, v.329, n.14, Sep 30, p.995-1000. 1993.

Luft, B. J., Y. Naot, *et al.* Primary and reactivated toxoplasma infection in patients with cardiac transplants. Clinical spectrum and problems in diagnosis in a defined population. Ann Intern Med, v.99, n.1, Jul, p.27-31. 1983.

Luft, B. J. e J. S. Remington. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin Infect Dis, v.15, n.2, Aug, p.211-22. 1992.

Lynfield, R. e N. G. Guerina. Toxoplasmosis. Pediatr Rev, v.18, n.3, Mar, p.75-83. 1997.

Maclean, L., J. E. Chisi, *et al.* Severity of human african trypanosomiasis in East Africa is associated with geographic location, parasite genotype, and host inflammatory cytokine response profile. Infect Immun, v.72, n.12, Dec, p.7040-4. 2004.

Martinez-Pomar, N., S. Raga, *et al.* Elevated serum interleukin (IL)-12p40 levels in common variable immunodeficiency disease and decreased peripheral blood dendritic cells: analysis of IL-12p40 and interferon-gamma gene. Clin Exp Immunol, v.144, n.2, May, p.233-8. 2006.

Maubon, D., D. Ajzenberg, *et al.* What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis? Trends Parasitol, v.24, n.7, Jul, p.299-303. 2008.

Mccabe, R. E., R. G. Brooks, *et al.* Clinical spectrum in 107 cases of toxoplasmic lymphadenopathy. Rev Infect Dis, v.9, n.4, Jul-Aug, p.754-74. 1987.

Mcleod, R., F. Kieffer, *et al.* Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis? Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.320-44. 2009.

Melamed, J. Peculiaridades da Toxoplasmose ocular no Rio Grande do Sul. Arq Bras Oftalmol, v.51, n.5, p.197-98. 1988.

_____. Contributions to the history of ocular toxoplasmosis in Southern Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.358-63. 2009.

Montoya, J. G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. J Infect Dis, v.185 Suppl 1, Feb 15, p.S73-82. 2002.

Montoya, J. G., R. Jordan, *et al.* Toxoplasmic myocarditis and polymyositis in patients with acute acquired toxoplasmosis diagnosed during life. Clin Infect Dis, v.24, n.4, Apr, p.676-83. 1997.

Montoya, J. G. e O. Liesenfeld. Toxoplasmosis. Lancet, v.363, n.9425, Jun 12, p.1965-76. 2004.

Montoya, J. G., O. Liesenfeld, *et al.* VIDAS test for avidity of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. J Clin Microbiol, v.40, n.7, Jul, p.2504-8. 2002.

Montoya, J. G. e J. S. Remington. Studies on the serodiagnosis of toxoplasmic lymphadenitis. Clin Infect Dis, v.20, n.4, Apr, p.781-9. 1995.

_____. Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis. Clin Infect Dis, v.23, n.2, Aug, p.277-82. 1996.

Montoya, J. G. e F. Rosso. Diagnosis and Management of Toxoplasmosis. Clin Perinatol, v.32, n.3, Sep, p.705-726. 2005.

Morisset, S., F. Peyron, *et al.* Serotyping of *Toxoplasma gondii*: striking homogeneous pattern between symptomatic and asymptomatic infections within Europe and South America. Microbes Infect, v.10, n.7, Jun, p.742-7. 2008.

Moskowitz, L. B., P. Kory, *et al.* Unusual causes of death in Haitians residing in Miami. High prevalence of opportunistic infections. Jama, v.250, n.9, Sep 2, p.1187-91. 1983.

Naot, Y., E. V. Barnett, *et al.* Method for avoiding false-positive results occurring in immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays due to presence of both rheumatoid factor and antinuclear antibodies. J Clin Microbiol, v.14, n.1, Jul, p.73-8. 1981.

Naot, Y. e J. S. Remington. Use of enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) for detection of monoclonal antibodies: experience with antigens of *Toxoplasma gondii*. J Immunol Methods, v.43, n.3, p.333-41. 1981.

Ndumbe, P. M., A. Andela, *et al.* Prevalence of infections affecting the child among pregnant women in Yaounde, Cameroon. Med Microbiol Immunol, v.181, n.3, p.127-30. 1992.

Neves, E. S., L. N. Bicudo, *et al.* Acute acquired toxoplasmosis: clinical-laboratorial aspects and ophthalmologic evaluation in a cohort of immunocompetent patients. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.393-6. 2009.

Neves, E. S., A. Kropf, *et al.* Disseminated toxoplasmosis: an atypical presentation in an immunocompetent patient. Trop Doct, v.in press. 2010.

Nicolle, C. e L. Manceaux. Sur une infection à corps de Leishman (ou organismes voisins) du gondi. C R Acad Sci (Paris), v.147, p.763-766 1908.

_____. On a new protozoan in gundis (*Toxoplasma* N. Gen). Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, v.104, n.2, p.1-3. 2009.

Pacheco, A. G., C. C. Cardoso, *et al.* IFNG +874T/A, IL10 -1082G/A and TNF -308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. Hum Genet, v.123, n.5, Jun, p.477-84. 2008.

Parmley, S. F., F. D. Goebel, *et al.* Detection of *Toxoplasma gondii* in cerebrospinal fluid from AIDS patients by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol, v.30, n.11, Nov, p.3000-2. 1992.

Pearson, P. A., A. R. Piracha, *et al.* Atovaquone for the treatment of toxoplasma retinochoroiditis in immunocompetent patients. Ophthalmology, v.106, n.1, Jan, p.148-53. 1999.

Pelloux, H., E. Guy, *et al.* A second European collaborative study on polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii*, involving 15 teams. FEMS Microbiol Lett, v.165, n.2, Aug 15, p.231-7. 1998.

Perkins, E. S. Ocular toxoplasmosis. Br J Ophthalmol, v.57, n.1, Jan, p.1-17. 1973.

Petersen, E., G. Vesco, *et al.* What Do We Know About Risk Factors for Infection in Humans with *Toxoplasma gondii* and How Can We Prevent Infections? Zoonoses Public Health, Sep 10. 2009.

Peyron, F. When are we going to celebrate the centenary of the discovery of efficient treatment for congenital toxoplasmosis? Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.316-9. 2009.

Peyron, F., J. R. Lobry, *et al.* Serotyping of *Toxoplasma gondii* in chronically infected pregnant women: predominance of type II in Europe and types I and III in Colombia (South America). Microbes Infect, v.8, n.9-10, Aug, p.2333-40. 2006.

Pfaff, A. W., A. Abou-Bacar, *et al.* Cellular and molecular physiopathology of congenital toxoplasmosis: the dual role of IFN-gamma. Parasitology, v.134, n.Pt 13, p.1895-902. 2007.

Pfefferkorn, E. R. Interferon gamma blocks the growth of *Toxoplasma gondii* in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan. Proc Natl Acad Sci U S A, v.81, n.3, Feb, p.908-12. 1984.

Porter, S. B. e M. A. Sande. Toxoplasmosis of the central nervous system in the acquired immunodeficiency syndrome. N Engl J Med, v.327, n.23, Dec 3, p.1643-8. 1992.

Prado, S., V. Pacheco, *et al.* [*Toxoplasma pericarditis* and myocarditis]. Rev Chil Pediatr, v.49, n.1-6, Jan-Dec, p.179-85. 1978.

Pravica, V., C. Perrey, *et al.* A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN-gamma gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN-gamma production. Hum Immunol, v.61, n.9, Sep, p.863-6. 2000.

Pyo, C. W., S. S. Hur, *et al.* Polymorphisms of IL-1B, IL-1RN, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, and IFN-gamma genes in the Korean population. Hum Immunol, v.64, n.10, Oct, p.979-89. 2003.

Remington, J. S. Toxoplasmosis in the adult. Bull N Y Acad Med, v.50, n.2, Feb, p.211-27. 1974.

Remington, J. S. e E. N. Cavanaugh. Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. N Engl J Med, v.273, n.24, Dec 9, p.1308-10. 1965.

Remington, J. S., B. Efron, *et al.* Studies on toxoplasmosis in El Salvador. Prevalence and incidence of toxoplasmosis as measured by the Sabin-Feldman dye test. Trans R Soc Trop Med Hyg, v.64, n.2, p.252-67. 1970.

Remington, J. S., J. L. Krahenbuhl, *et al.* A role for activated macrophages in resistance to infection with *Toxoplasma*. Infect Immun, v.6, n.5, Nov, p.829-34. 1972.

Remington, J. S. e T. C. Merigan. Interferon: protection of cells infected with an intracellular protozoan (*Toxoplasma gondii*). Science, v.161, n.843, Aug 23, p.804-6. 1968.

Remington Js, M. R., Thuilliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: M. R. Remington Js, Thuilliez P, Desmonts G. (Ed.). Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006. Toxoplasmosis, p.947–1091

Remington, J. S., P. Thulliez, *et al.* Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. J Clin Microbiol, v.42, n.3, Mar, p.941-5. 2004.

Ribeiro, A. C., M. S. Mutis, *et al.* Association of the presence of residual anti-*Toxoplasma gondii* IgM in pregnant women and their respective family groups in Miracema, Northwest Rio de Janeiro, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.103, n.6, Sep, p.591-4. 2008.

- Roghmann, M. C., C. T. Faulkner, *et al.* Decreased seroprevalence for *Toxoplasma gondii* in Seventh Day Adventists in Maryland. Am J Trop Med Hyg, v.60, n.5, May, p.790-2. 1999.
- Ruskin, J. e J. S. Remington. Toxoplasmosis in the compromised host. Ann Intern Med, v.84, n.2, Feb, p.193-9. 1976.
- Rytel, M. W. e T. C. Jones. Induction of interferon in mice infected with *Toxoplasma gondii*. Proc Soc Exp Biol Med, v.123, n.3, Dec, p.859-62. 1966.
- Sabin, A. e H. Feldman. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science, v.10, n.108, p.660-663. 1948.
- Sabin, A. B. Biological and immunological identity of *Toxoplasma* of animal and human origin. Proc Soc Exp Biol Med, v.41, p.75-80. 1939.
- Sabin, A. B. e F. H. A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). Science, v.10, n.108, p.660-3. 1948.
- Sacks, J. J., D. G. Delgado, *et al.* Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison. Am J Epidemiol, v.118, n.6, Dec, p.832-8. 1983.
- Sacktor, N. The epidemiology of human immunodeficiency virus-associated neurological disease in the era of highly active antiretroviral therapy. J Neurovirol, v.8 Suppl 2, Dec, p.115-21. 2002.
- Salih, M. A., M. E. Ibrahim, *et al.* IFNG and IFNGR1 gene polymorphisms and susceptibility to post-kala-azar dermal leishmaniasis in Sudan. Genes Immun, v.8, n.1, Jan, p.75-8. 2007.
- Scharton-Kersten, T. M., T. A. Wynn, *et al.* In the absence of endogenous IFN-gamma, mice develop unimpaired IL-12 responses to *Toxoplasma gondii* while failing to control acute infection. J Immunol, v.157, n.9, Nov 1, p.4045-54. 1996.

Schroder, K., P. J. Hertzog, *et al.* Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions. J Leukoc Biol, v.75, n.2, Feb, p.163-89. 2004.

Sensini, A., S. Pascoli, *et al.* IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection: a multicenter study. Clin Microbiol Infect, v.2, n.1, Aug, p.25-29. 1996.

Sibley, L. D., L. B. Adams, *et al.* Tumor necrosis factor-alpha triggers antitoxoplasmal activity of IFN-gamma primed macrophages. J Immunol, v.147, n.7, Oct 1, p.2340-5. 1991.

Sibley, L. D. e D. K. Howe. Genetic basis of pathogenicity in toxoplasmosis. Curr Top Microbiol Immunol, v.219, p.3-15. 1996.

Sibley, L. D., A. Khan, *et al.* Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in animals and humans. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, v.364, n.1530, Sep 27, p.2749-61. 2009.

Sibley, L. D., D. G. Mordue, *et al.* Genetic approaches to studying virulence and pathogenesis in *Toxoplasma gondii*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, v.357, n.1417, Jan 29, p.81-8. 2002.

Sibley, L. D., E. Weidner, *et al.* Phagosome acidification blocked by intracellular *Toxoplasma gondii*. Nature, v.315, n.6018, May 30-Jun 5, p.416-9. 1985.

Siegel, S. E., M. N. Lunde, *et al.* Transmission of toxoplasmosis by leukocyte transfusion. Blood, v.37, n.4, Apr, p.388-94. 1971.

Silva, M. T. e A. Araujo. Highly active antiretroviral therapy access and neurological complications of human immunodeficiency virus infection: impact versus resources in Brazil. J Neurovirol, v.11 Suppl 3, p.11-5. 2005.

Silveira, C., R. Belfort, Jr., *et al.* Acquired toxoplasmic infection as the cause of toxoplasmic retinochoroiditis in families. Am J Ophthalmol, v.106, n.3, Sep 15, p.362-4. 1988.

_____. A follow-up study of *Toxoplasma gondii* infection in southern Brazil. Am J Ophthalmol, v.131, n.3, Mar, p.351-4. 2001.

Sinibaldi, J. e I. De Ramirez. Incidence of congenital toxoplasmosis in live Guatemalan newborns. Eur J Epidemiol, v.8, n.4, Jul, p.516-20. 1992.

Slavin, M. A., J. D. Meyers, *et al.* Toxoplasma gondii infection in marrow transplant recipients: a 20 year experience. Bone Marrow Transplant, v.13, n.5, May, p.549-57. 1994.

Smati, M., C. Taille, *et al.* [Contribution of Toxoplasma gondii-specific PCR for the diagnosis of disseminated toxoplasmosis in a non-HIV and non-grafted adult patient.]. Med Mal Infect, Feb 19. 2010.

Soave, R. Prophylaxis strategies for solid-organ transplantation. Clin Infect Dis, v.33 Suppl 1, Jul 1, p.S26-31. 2001.

Sousa, O. E., R. E. Saenz, *et al.* Toxoplasmosis in Panama: a 10-year study. Am J Trop Med Hyg, v.38, n.2, Mar, p.315-22. 1988.

Spalding, S. M., M. R. Amendoeira, *et al.* [Prospective study of pregnant and babies with risk of congenital toxoplasmosis in municipal district of Rio Grande do Sul]. Rev Soc Bras Med Trop, v.36, n.4, Jul-Aug, p.483-91. 2003.

Splendore, A. Un nuovo protozoa parassita de conigli. Rev Soc Scient, v.3, p.109-112. 1908.

_____. On a new protozoan parasite of rabbits 2nd Preliminary note. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, v.104, n.2, p.1-2. 2009.

Stanford, M. R. e R. E. Gilbert. Treating ocular toxoplasmosis: current evidence. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.312-5. 2009.

Stanford, M. R., S. E. See, *et al.* Antibiotics for toxoplasmic retinochoroiditis: an evidence-based systematic review. Ophthalmology, v.110, n.5, May, p.926-31; quiz 931-2. 2003.

Stepick-Biek, P., P. Thulliez, *et al.* IgA antibodies for diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. J Infect Dis, v.162, n.1, Jul, p.270-3. 1990.

Stray-Pedersen, B. A prospective study of acquired toxoplasmosis among 8,043 pregnant women in the Oslo area. Am J Obstet Gynecol, v.136, n.3, Feb 1, p.399-406. 1980.

Subauste, C. S. CD154 and type-1 cytokine response: from hyper IgM syndrome to human immunodeficiency virus infection. J Infect Dis, v.185 Suppl 1, Feb 15, p.S83-9. 2002.

Sukthana, Y. Toxoplasmosis: beyond animals to humans. Trends Parasitol, v.22, n.3, Mar, p.137-42. 2006.

Suzuki, Y., M. A. Orellana, *et al.* Interferon-gamma: the major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. Science, v.240, n.4851, Apr 22, p.516-8. 1988.

Suzuki, Y., A. Sher, *et al.* IL-10 is required for prevention of necrosis in the small intestine and mortality in both genetically resistant BALB/c and susceptible C57BL/6 mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*. J Immunol, v.164, n.10, May 15, p.5375-82. 2000.

Tait, E. D. e C. A. Hunter. Advances in understanding immunity to *Toxoplasma gondii*. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.201-10. 2009.

Tan, T. G., E. Mui, *et al.* Identification of *T. gondii* epitopes, adjuvants, and host genetic factors that influence protection of mice and humans. Vaccine, v.28, n.23, May 21, p.3977-89. 2010.

Tenter, A. M. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.104, n.2, Mar, p.364-9. 2009.

Tenter, A. M., A. R. Heckeroth, *et al.* *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol, v.30, n.12-13, Nov, p.1217-58. 2000.

Thulliez, P., F. Daffos, *et al.* Diagnosis of *Toxoplasma* infection in the pregnant woman and the unborn child: current problems. Scand J Infect Dis Suppl, v.84, p.18-22. 1992.

Torres, C. M. Morphologie d'un nouveau parasite de l'homme, *Encephalitozoon chagasi*, N. sp., observe dans un cas de meningo-encephalo-myelite congenitale avec myosite et myocardite. CR Soc. Biol, v.97, p.1787-1790. 1927.

Torres, O. A., J. E. Calzada, *et al.* Role of the IFNG +874T/A polymorphism in Chagas disease in a Colombian population. Infect Genet Evol, v.10, n.5, Jul, p.682-5. 2010.

Vidal, J. E., F. A. Colombo, *et al.* PCR assay using cerebrospinal fluid for diagnosis of cerebral toxoplasmosis in Brazilian AIDS patients. J Clin Microbiol, v.42, n.10, Oct, p.4765-8. 2004.

Vietzke, W. M., A. H. Gelderman, *et al.* Toxoplasmosis complicating malignancy. Experience at the National Cancer Institute. Cancer, v.21, n.5, May, p.816-27. 1968.

Villard, O., E. Candolfi, *et al.* Protective effect of low doses of an anti-IL-4 monoclonal antibody in a murine model of acute toxoplasmosis. Parasite Immunol, v.17, n.5, May, p.233-6. 1995.

Wainwright, K. E., M. A. Miller, *et al.* Chemical inactivation of *Toxoplasma gondii* oocysts in water. J Parasitol, v.93, n.4, Aug, p.925-31. 2007.

Warle, M. C., A. Farhan, *et al.* Are cytokine gene polymorphisms related to in vitro cytokine production profiles? Liver Transpl, v.9, n.2, Feb, p.170-81. 2003.

Weiss, L. M. e J. P. Dubey. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. Int J Parasitol, v.39, n.8, Jul 1, p.895-901. 2009.

Who, W. H. O. Waterborne zoonoses: identification causes and control. D. A. Cotruvo Ja, Rees G, Bartram J, Carr R, Cliver Do, e F. R. Craun Gf, and Gannon Vpj. London. 2010 2004.

Wilson, C. B., J. S. Remington, *et al.* Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. Pediatrics, v.66, n.5, Nov, p.767-74. 1980.

Wilson, M., J. S. Remington, *et al.* Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. J Clin Microbiol, v.35, n.12, Dec, p.3112-5. 1997.

Wolf, A. e D. Cowen. Granulomatous encephalomyelitis due to an Encephalitozoon (Encephalitozoic Encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. Bull Neurol Inst NY, v.6, p.306-371. 1937.

Wolff a, C. D. Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalitozoon (encephalitozoic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. Bull. Neur. Inst. NY, v.6, p.306–371. 1937.

Wong, S. Y., M. P. Hajdu, *et al.* Role of specific immunoglobulin E in diagnosis of acute toxoplasma infection and toxoplasmosis. J Clin Microbiol, v.31, n.11, Nov, p.2952-9. 1993.

Wong, S. Y. e J. S. Remington. Biology of *Toxoplasma gondii*. Aids, v.7, n.3, Mar, p.299-316. 1993.

Xiao, Y., J. Yin, *et al.* Seroepidemiology of human *Toxoplasma gondii* infection in China. BMC Infect Dis, v.10, p.4. 2010.