Natalia Nepomuceno de Oliveira

CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE CEPAS DE *T. GONDII*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre em Ciências (Imunologia)

São Paulo
2009

Natalia Nepomuceno de Oliveira

CARACTERIZAÇÃO FUNCIONAL DE CEPAS DE *T. GONDII*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para a obtenção do Título de Mestre em Ciências (Imunologia)

Área de concentração: Imunologia

Orientador: Prof. Dr. Luiz Vicente Rizzo

São Paulo
2009

RESUMO

OLIVEIRA N. N. **Caracterização funcional de cepas de *Toxoplasma. gondii***. 105 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia). Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009

Mais de 2 bilhões de pessoas em todo o mundo encontram-se infectadas com *Toxoplasma gondii*. Na região endêmica de Erechim, RS, cerca de 90% da população é soropositiva e cerca de 18% destes indivíduos apresentam lesões oculares com manifestações clínicas. A estrutura genética das populações do *T. gondii* tem sido bastante investigada, a despeito da infecção ter se espalhado pelo mundo, do grande número de hospedeiros intermediários e da capacidade do parasita de se reproduzir sexualmente. Linhagens de *T. gondii* com atípica ou nova combinação de alelos têm sido isoladas de animais não domésticos ou em outros continentes, como América do Sul e África, e de pacientes com apresentações clínicas incomuns. Em modelos murinos, as linhagens com o genótipo tipo I são altamente virulentas, em contraste às cepas tipo II e tipo III que são menos virulentas. Este trabalho propõe a caracterização fenotípica da resposta imune do hospedeiro frente a infecção por diferentes cepas de *T. gondii*, bem como o isolamento e a caracterização genotípica das linhagens de *T. gondii* que infectam indivíduos de Erechim no Rio Grande do Sul. Para a caracterização fenotípica utilizamos duas cepas de *T. gondii* já bem estabelecidas, a cepa RH (tipo I) e a ME49 (tipo II), e uma cepa isolada a partir de gatos domésticos do Brasil, chamada TgCatBr71. Sendo assim, através da fenotipagem das células dendríticas de camundongos C57Bl/6 infectados com as cepas citadas, foi possível observar que essas cepas induzem expressão das moléculas de superfície CD40, CD80, CD86 e MHC classe II em DCs $CD11c^+$, porém sem significativa diferença entre as cepas. Com relação as células $CD4^+$ e células $CD8^+$, observamos o aumento das células $CD8^+$ no decorrer da infecção pelas cepas RH e ME49, indicando a importância deste tipo celular na resposta protetora contra *T. gondii*. Avaliamos também a produção de citocinas IL-12, IFN-γ e IL-10 em células esplênicas de camundongos infectados pelas três cepas no decorrer da infecção e detectamos que camundongos infectados pela cepa tipo II (ME49) apresentam síntese maior dessas citocinas do que camundongos infectados pela cepa tipo I (RH) e pela cepa TgCatBr71. Assim, concluímos que esta cepa TgCatBr71 se assemelha bastante a cepa do tipo I (RH), tanto em relação a evolução da doença no camundongos como nos padrões da resposta imune do hospedeiro. E que apesar dessas duas cepas diferirem da cepa tipo II (ME49), resultando em graus diferentes de patologia em camundongos C57Bl/6, todas a três cepas parecem produzir semelhante resposta imune protetora do hospedeiro.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*. Células dendríticas. Citocinas. Camundongos C57Bl/6. Cepas de *T. gondii*. Células $CD4^+$ e $CD8^+$.

ABSTRACT

OLIVEIRA N. N. **Functional characterization of *Toxoplasma gondii* strains.** 114f. (Master Thesis) – Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil, 2009.

More than 2 billion people are infected with *Toxoplasma gondii* around the world. In the endemic region of Erechim, RS, Brazil, about 90% of the population is soropositive and about 18% of these individuals have ocular lesions with clinical manifestations. The genetic structure of strains of *T. gondii* has been investigated, despite the infection has spread throughout the world, the large number of intermediate hosts and the ability to reproduce sexually. Strains of *T. gondii* with atypical or new combination of alleles have been isolated from wild animals and other continents, such as South America and Africa, and also from patients with unusual clinical presentations. In murine models, the type I genetic lineage are highly virulent, in contrast to strains type II and type III.Our work proposes the phenotypic characterization of the host immune response against the infection by different strains of *T. gondii*, and the isolation and genetic strains characterization of *T. gondii* that infect individuals of Erechim in RS, Brazil. In the phenotypic characterization were used two strains of *T. gondii* already well established, the strain RH (type I) and ME49 (type II), and a strain isolated from domestic cats from Brazil, called TgCatBr71 (type BrI). Thus, by phenotyping dendritic cells of C57BL/ 6 mice infected with the strains mentioned, we observed that these strains upregulated the expression of surface molecules such as CD40, CD80, CD86 and MHC class II in DC $CD11c^+$ although with no significant difference between the strains. With respect to the CD4+ and CD8+ cells, no differences were observed between the *T. gondii* strains. We also evaluated the production of cytokines IL-12, IFN-γ and IL-10 from spleen cells and found that mice infected by the strain type II (ME49) have increased synthesis of these cytokines than mice infected by the strain type I (RH) and the strain type BrI (TgCatBr71). Thus, we concluded that type BrI (TgCatBr71) strain is similar to type I (RH) strain, both for the evolution of the disease and also concerning the immunological parameters evaluated. Besides, despite these two strains differ from the strain type II (ME49), resulting in different degrees of pathology in mice C57BL / 6, all three strains seem to produce similar protective immune response of the host.

Key words: *Toxoplasma gondii*. Dendritic cells. Citocynes. C57Bl/6 mices. *T. gondii* strains. $CD4^+$ and $CD8^+$ cells.

1 Introdução

1 Introdução

Toxoplasma gondii é um protozoário patogênico intracelular obrigatório, descrito pela primeira vez em 1908 na Tunísia por Nicole e Manceaux de formas oriundas do roedor *Ctenodatylus gondii* (NICOLLE e MANCEAUX, 1908) e no Brasil por Splendore de formas recolhidas de coelhos de laboratórios (SPLENDORE, 1908). Este protozoário, que pertence ao filo Apicomplexa subclasse Coccidia, é capaz de infectar e replicar dentro de qualquer célula nucleada de mamíferos ou aves (WONG e REMINGTON, 1993; DUBEY, 1998). O ciclo de vida é dividido entre infecções felinas (hospedeiro definitivo) e não-felinas (hospedeiro intermediário), que estão correlacionadas com replicação sexuada e assexuada, respectivamente (BLACK e BOOTHROYD, 2000). Infecções causadas pelo *T. gondii* estão amplamente distribuídas em humanos e animais atingindo um terço da população humana por todo mundo (TENTER, HECKEROTH e WEISS, 2000) e importante também como uma das mais comuns infecções oportunistas de pacientes com HIV (DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998).

1.1 O parasito

O ciclo de vida do *T. gondii* é heteroxênico facultativo com três formas de vida: esporozoítos (presentes nos oocistos), bradizoítas (formando cistos teciduais) e taquizoítas (intra e extracelulares), todas três infectantes. Estas formas estão ligadas em um complexo ciclo de vida (DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998) envolvendo hospedeiros definitivos e intermediários. Os felídeos são os hospedeiros definitivos do *T. gondii* e o gato doméstico é o mais importante. A fase sexuada ocorre apenas na mucosa intestinal do hospedeiro definitivo, com a produção de milhões de oocistos que são liberados nas fezes e que em ambiente úmido esporulam. Depois da esporulação, os esporozoítos tornam-se infectantes e quando ingeridos por mamíferos (incluindo o homem), transformam-se em taquizoítas (DUBEY, MILLER e FRENKEL, 1970; FRENKEL, 1973); (para revisão veja DENKERS, 1999).

A forma taquizoíta tem formato de meia lua e tamanho aproximado de uma hemácia (2μm x 6 μm), apresentando a região anterior afilada e a posterior recurvada. O núcleo freqüentemente está situado junto a parte posterior ou na região central da célula (HILL, CHIRUKANDOTH e DUBEY, 2005).

O taquizoíta corresponde ao estágio de multiplicação rápida do parasito em células do hospedeiro intermediário e em células epiteliais intestinais do hospedeiro definitivo (SHEFFIELD e MELTON, 1968; VIVIER e PETITPREZ, 1972; KOHLER *et al.,* 1997). Esta forma tem a capacidade de entrar em todas as células nucleadas por penetração ativa e formar um vacúolo parasitóforo (DOBROWOLSKI e SIBLEY, 1996). Após repetidas replicações do taquizoíta, por multiplicação assexuada do tipo endodiogenia, as células hospedeiras são rompidas. Ocorre então a disseminação do taquizoíta pelo corpo do hospedeiro via hematogênica e a contaminação, principalmente do sistema nervoso central e musculatura esquelética e cardíaca. Esta forma do parasito causa uma forte resposta inflamatória e destruição de tecidos e, portanto, pode levar a manifestações clínicas.

De acordo com a pressão da resposta imune a forma taquizoíta se transforma em bradizoítas, formando cistos teciduais, que variam de 5 a 70μm de tamanho. As paredes dos cistos teciduais são elásticas, finas (< 0,5 μm) e devem conter centenas ou milhares de bradizoíta (HILL, CHIRUKANDOTH e DUBEY, 2005). Estes têm formato mais arredondado que o taquizoíta diferindo na fisiologia já que possuem multiplicação mais lenta (por endodiogenia) e expressão de moléculas específicas e funcionalmente diferentes (MONTOYA e LIESENFELD, 2004). Eles possuem o núcleo situado na parte posterior, enquanto nos taquizoítas o núcleo é localizado centralmente e bradizoítas são menos susceptíveis a destruição por enzimas proteolíticas que os taquizoítas.

Cistos teciduais contendo centenas ou milhares de bradizoítos podem se desenvolver em órgãos viscerais, como pulmão, fígado e rins, porém, são mais prevalentes em tecidos neurais e musculares, como olhos, cérebro, músculo esquelético e cardíaco, podendo permanecer intactos durante a vida inteira do hospedeiro sem causar nenhum dano à saúde (DUBEY, 1988). A forma bradizoíta pode ser liberada dos cistos, transformando-se em taquizoíta e causando a ressurgência da infecção em pacientes imunocomprometidos (MONTOYA e LIESENFELD, 2004).

Os gatos liberam oocistos depois de ingerirem alguma das três fases infectantes do *T. gondii* (taquizoíta, bradizoíta ou esporozoíta). O período pré-latente e a freqüência de oocistos liberados variam de acordo com estágio do *T. gondii*, (DUBEY e FRENKEL, 1976; FREYRE *et al.,* 1989; DUBEY, 1996) sendo o período de 3 a 10 dias para cistos teciduais, maior que 18 dias para oocistos (DUBEY, 1996) e maior que 13 dias para taquizoíta (DUBEY, 1998). Depois da ingestão de cistos teciduais pelo hospedeiro definitivo, a parede cística é dissolvida

no estômago ou intestino delgado por enzimas proteolíticas, e ocorre a liberação da forma bradizoíta, que penetra nas células epiteliais do intestino e inicia-se a fase assexuada do ciclo (merogonia), havendo o desenvolvimento de numerosas gerações de *T. gondii*, (DUBEY e FRENKEL, 1972). Em seguida, ocorre o ciclo sexuado com formação de gametas masculinos móveis (microgametas) e femininos imóveis (macrogametas). O macrogameta permanece dentro da célula epitelial, enquanto os microgametas saem de sua célula e fecundam o macrogameta formando o ovo ou zigoto. Este evolui dentro do epitélio, gerando o oocisto. Esta célula epitelial rompe em alguns dias, liberando o oocisto ainda imaturo (forma não infectiva). Esta forma alcança o meio externo juntamente com as fezes. A maturação no meio ambiente ocorre por um processo denominado esporogonia, após um período de cerca de quatro dias, que depende da temperatura e umidade. Oocistos esporulados contêm dois esporocistos elipsóides, sendo que cada esporocistos contêm quatro esporozoítos com tamanho de 2 x 6-8μm (DUBEY, LINDSAY e SPEER, 1998).

Dentro do hospedeiro intermediário, o parasito *T. gondii* se converte entre taquizoíta e bradizoíta. Gross, Holpert e Goebel (2004) consideram o estágio replicativo do taquizoíta como sendo responsável pela infecção aguda/ativa e expressão de antígenos imunodominantes que induzem a uma forte resposta imune celular e reciprocamente provocam o processo de diferenciação ativa e imunologicamente fraca – o estágio cístico. A imunodominância do taquizoíta é também responsável por indução de forte resposta imune humoral conduzida pela formação de anticorpos especificamente dirigidos contra antígenos taquizoíticos. Em contraste, a forma bradizoíta que está associada à infecção inativa/crônica, parece não ser um forte indutor de anticorpos específicos. No entanto, desde que a resposta humoral de anticorpos é também dirigida contra antígenos que estão em ambos os estágios, o sorodiagnóstico não pode discriminar adequadamente entre infecção ativa e inativa/crônica (GROSS *et al.,* 1996).

A entrada do *T. gondii* na célula do hospedeiro é um processo ativo que aparentemente envolve filamentos de actina e miosina do parasito e certas proteínas transmembranas que se ligam a estes filamentos (KING, 1988). O processo de invasão do parasito é semelhante a fagocitose no que diz respeito à residência do parasito dentro de um vacúolo citoplasmático logo após invaginação da membrana citoplasmática. No entanto, apresenta aspectos bem distintos, sendo a invasão um processo polarizado, ocasionado pela região apical do parasito (HIRAI, HIRATO e YANAGAWA, 1966; AJIOKA *et al.,* 1998). Este é um processo rápido e

há a constrição do corpo do parasito quando este passa através da membrana da célula do hospedeiro. Já a fagocitose é um processo mais lento, e está associado a um rearranjo do citoesqueleto da célula (JONES, YEH e HIRSCH, 1972; AIKAWA *et al.,* 1977; NICHOLS e O' CONNOR, 1981).

1.2 Características genéticas do parasito

A estrutura genética das populações do *T. gondii* tem sido bastante investigada a despeito da infecção ter se espalhado pelo mundo, do grande número de hospedeiros intermediários e da capacidade do parasito se reproduzir sexuadamente. Análises filogenéticas e estatísticas revelaram resultados inesperados, sugerindo uma estrutura populacional inusitada para o *T. gondii* (HOWE e SIBLEY, 1995). Vários estudos mostram que na Europa e na América do Norte a maioria das linhagens de *T. gondii* compreende três distintas linhagens clonais (também denominados tipos ou famílias), (HOWE e SIBLEY, 1995; GRIGG *et al.,* 2001), que diferem geneticamente em 1% ou menos (SU *et al.,* 2003). As linhagens de *T. gondii* designadas tipo I, tipo II e tipo III, diferem quanto à virulência e padrão de ocorrência epidemiológica (SIBLEY e BOOTHROYD, 1992).

Para a caracterização genotípica do *T. gondii*, estudos iniciais subdividiam o parasito isolado baseando-se em antígenos (WARE e KASPER, 1987; BOHNE, GROSS e HASEMANN, 1993) e análises isoenzimáticas (DARDE, BOUTEILLE e PASTRE-ALEXANDRE, 1993; ASAI *et al.,* 1995). Caracterização das linhagens de *T. gondii* tem sido baseada na análise por restriction fragment length polimorphism (RFLP)–PCR. (SIBLEY e BOOTHROYD, 1992) e o gene SAG2 que codifica o antígeno de superfície p22 do taquizoíta é o loci mais comumente investigado, mas também alguns outros trabalhos incluem a análise de SAG1, SAG3, SAG4, ROP1 e B1 (HOWE e SIBLEY, 1995; GRIGG *et al.,* 2001).

No entanto recentes estudos em isolados de humanos e animais de regiões geográficas distantes revelaram alta variabilidade genética do que o mostrado anteriormente (AJZENBERG et al., 2004; LEHMANN et al., 2004) Esses estudos mostraram que isolados de *T. gondii* do Brasil são geneticamente diferentes dos parasitas da America do Norte e Europa (LEHMANN et al., 2004, 2006; FERREIRA et al., 2006; KHAN et al., 2006; SU et al., 2006; DUBEY et al., 2007 a,b), sendo mostrado que em contraste com a estrutura populacional da América do Norte e Europa, no qual predominam três linhagens clonais, na América do Sul, principalmente Brasil, existe uma estrutura populacional epidêmica com

algumas expansões das linhagens clonais (PENA et al., 2008). A rede filogenética de isolados de *T. gondii* do Brasil é altamente reticulada, sugerindo alta taxa de recombinação na população do parasita (PENA *et al.,* 2008).

Muitas cepas de *T. gondii* têm sido isoladas em diversos locais do Brasil a partir de gatos, cachorros e frangos. Através da genotipagem multilocus por PCR-RFLP, essas cepas tem sido genotipadas, revelando alta diversidade dessa população de *T. gondii* no Brasil. Essas linhagens foram divididas em quatro grupo denominados tipo BrI, tipo BrII, tipo BrIII e tipo BrIV. Em camundongos as cepas tipo BrI foram altamente virulentas tendo 100% de mortalidade, as cepas tipo BrII apresentaram virulências intermediária, as cepas tipo BrIII foram consideradas não virulentas, e as cepas tipo BrIV por terem apresentado mortalidade variada em camundongos, sugeriram um fenótipo de virulência intermediária (PENA *et al.,* 2008)

A virulência do *T. gondii* é normalmente definida tendo como base a dose letal $_{50}$ (LD_{50}) em modelos murinos, no entanto pouco se sabe da virulência de *T. gondii* em outras espécies. A linhagem tipo I é altamente virulenta em camundongo com dose letal de apenas um único parasito viável. Em contraste as cepas tipo II e tipo III têm a LD_{50} em mais que 10^3 parasitos e o resultado da infecção é dependente do genótipo do hospedeiro.

A virulência da linhagem tipo I é em parte resultado do aumento da migração e altas taxas de crescimento, que permite rápida disseminação (BARRAGAN e SIBLEY, 2002), alcançando alta carga parasitária, o que finalmente libera a cascata de mediadores pró-inflamatórios que induzem a patologia (GRAVRILESCU e DENKERS, 2001). Ainda não é sabido se estas diferenças observadas em camundongos estão relacionadas com as diferentes incidências ou manifestações clínicas em outras espécies, incluindo humanos.

Essas diferenças na capacidade de migração devem contribuir para as alterações cepa - especificas do parasito na disseminação e acesso aos locais de imunoprivilégio, tais como sistema nervoso central. Barragan e Sibley (2002) demonstraram que uma subpopulação do tipo I do parasito apresenta aumentada migração *in vitro*, comparada com as cepas do tipo II e tipo III. A taxa de crescimento é também um traço da virulência (DIFFLEY *et al.,* 1987; TURNER *et al.,* 1996; TAYLOR *et al.,* 2002). A carga parasitária de *T. gondii* é o maior contribuinte para a patogênese causada por este parasito em camundongos (MORDUE *et al.,* 2001; GAVRILESCU e DENKERS, 2001), relacionados a super estimulação do sistema

imune (MORDUE *et al.,* 2001; GAVRILESCU e DENKERS, 2001; NGUYEN *et al.,* 2003), conduzindo a altos níveis de citocinas Th1, aumentada apoptose e danos orgânicos. Embora um taquizoíta da cepa tipo I seja suficiente para geração de alta carga parasitária e altos níveis de citocinas Th1, alta carga parasitária da cepa tipo II, gerado por aumento da inoculação conduzem a igual nível de citocinas e patologia (SAEJI *et al.,* 2005).

Em humanos são poucos os estudos que investigam a correlação entre o genótipo do parasito e as manifestações da doença causada por infecção por *T. gondii* (BOOTHROYD *et al.,* 2002). A cepa do tipo II está associada à maioria (81%) dos pacientes com toxoplasmose, enquanto os tipos I e III foram encontrados, respectivamente, em apenas 10% e 9% dos isolados de seres humanos (HOWE *et al.,* 1997). A tendência é associar a doença em seres humanos com parasitos do tipo II, já que parasitos deste tipo constituem pelo menos dois terços dos isolados em humanos (HOWE e SIBLEY, 1995). Grigg *et. al.* (2001) mostraram que a cepa tipo I e algumas linhagens incomuns foram achadas em indivíduos imunocompetentes que sofrem de grave ou atípica toxoplasmose ocular nos EUA (GRIGG *et al.,* 2001). No caso do Brasil, a caracterização feita por Vallochi *et al.,* (2005) de parasitos presentes nas retinas de alguns indivíduos de São Paulo (SP) e de Erechim (RS) detectou predominantemente parasitas do tipo I. Outro estudo, recentemente publicado em colaboração com o nosso grupo, sugere que na população brasileira há uma diversidade clonal nas cepas isoladas de pacientes, inclusive de Erechim, em relação as cepas isoladas em outros estudos realizados na América do Norte e Europa (KHAN *et al.,* 2006). A linhagem tipo I tem também sido desproporcionalmente associada com toxoplasmose congênita grave na Europa (HOWE *et al.,* 1997; FUENTES *et al.,* 2001).

1.3 Transmissão

A infecção por *Toxoplasma* é geralmente adquirida por ingestão de alimento ou água contaminada por oocistos liberados por gatos, ou por alimento mal-cozido ou cru contendo cistos teciduais ou ainda, pela ingestão de taquizoítas encontrados no leite não pasteurizado, ovos, na saliva através de lambedura ou perdigotos, no esperma, transfusões sanguíneas, transplante de órgãos e congenitamente (BONAMETTI *et al.,* 1997; GARCIA *et al.,* 2003; MONTOYA e LIESENFELD, 2004).

A carne utilizada para consumo humano pode conter cistos e servir como fonte de infecção pelo *T. gondii*. Diferentes inquéritos revelam que mais de 25% dos carneiros e dos

suínos apresentam-se infectados, sendo a carne de porco considerada a origem da transmissão mais comum nos Estados Unidos e sul do Brasil (HOLLAND, 2003) Na carne bovina o isolamento de cistos é mais raro, embora alguns autores tenham encontrado de 2 a 10% de soropositividade nestes animais (BONAMETTI, *et al.,* 1997). Água contaminada tem sido considerada a origem de epidemias graves por *T. gondii*. No estado do Paraná uma epidemia por *T. gondii* foi atribuída a reservatórios de água potável contaminadas com oocistos de gatos infectados (HOLLAND, 2003).

No Brasil, a alta taxa de gatos soropositivos prognostica forte contaminação do meio ambiente por oocistos de T. gondii, que irão levar a contaminação de alimentos e água fornecidos aos humanos. De fato, a água tem sido identificada como a maior origem de transmissão de T. gondii para humanos no Brasil (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; DE MOURA et al., 2006). A alta contaminação do meio ambiente conduzirá inevitavelmente a alta taxa de infecção por T. gondii em hospedeiros intermediários e a conseqüência é o aumento de oportunidade de recombinação genética em gatos. Esta rara epidemiologia de transmissão de T. gondii conduziria e manteria a estrutura epidêmica da população do parasita no Brasil (PENA et al., 2008).

1.4 Patologia

A infecção primária é geralmente assintomática, mas alguns pacientes podem apresentar linfadenopatia cervical ou ocular (GARCIA *et al.,* 2003). Infecções ocorridas durante a gravidez podem levar à morte do feto ou à toxoplasmose congênita, pela transmissão vertical do taquizoíta pela placenta, ocasionando hidrocefalia ou retinocoroidite (TENTER, HECKEROTH e WEISS, 2000; GROSS, HOLPERT e GOEBEL, 2004). O parasito pode causar diferentes graus de gravidade, dependendo da virulência da cepa, da capacidade de resposta imune da mãe e do período gestacional (SPALDING *et al.,* 2003). A gravidade da doença é maior quando a mãe se infecta no início da gravidez, do que depois da trigésima semana, quando a forma da doença pode ser mais branda (MOZZATTO e SOEIBELMANN PROCIANO, 2003). A infecção fetal pode ser atenuada ou prevenida quando há tratamento materno após o diagnóstico precoce (SPALDING *et al.,* 2003).

A toxoplasmose pode passar despercebida no momento do nascimento, porém poderá se manifestar meses ou até anos depois. Nesses casos, as manifestações mais freqüentes são retinocoroidite e alterações neurológicas. Nos casos mais graves de infecção congênita, o

recém-nascido pode apresentar modificação do volume craniano, calcificações intracerebrais e/ou convulsões. No soro do recém nascido, presença de títulos elevados de anticorpos IgG, que aumentam ou permanecem positivos em período de até 18 meses, é indicativo de toxoplasmose congênita, já que os que decrescem e tendem a se tornar negativos representam os anticorpos maternos de transferência passiva (SPALDING *et al.,* 2003).

Em pacientes imunossupremidos com infecção crônica, o parasito pode causar toxoplasmose cerebral, resultado da reativação do cisto tecidual e reversão da forma bradizoíta em taquizoíta (GROSS, HOLPERT e GOEBEL, 2004).

Outra forma de transmissão é por transplante de órgão de um doador soropositivo para um soronegativo, no qual há a reativação da infecção latente, ocasionando doenças no coração, pulmão, rim, fígado e pâncreas (BROOKS e REMINGTON, 1986; ISRAELSKI e REMINGTON, 1993). A grande maioria das infecções adquiridas por indivíduos saudáveis é benigna e também assintomática ou com vagos sintomas. Linfadenopatia é a manifestação mais comum (LAPPALAINEN e HEDMAN, 2004).

A retinocoroidite toxoplásmica é considerada a uveíte posterior infecciosa mais comum (HOLLAND, 2003), inclusive na população humana brasileira (GARCIA *et al.,* 2003). As lesões oculares causadas pelo *T. gondii* são originadas tanto da infecção congênita quanto da infecção adquirida após o nascimento (SILVEIRA, *et al.,* 1988, GLASNER *et al.,* 1992). Na região Sul do Brasil são muitos os casos de infecção pós-natal (SILVEIRA *et al.,* 1988, 2001; HOLLAND, 2000) e, nos EUA, um estudo dos riscos da infecção concluiu que pelo menos dois terços dos casos de toxoplasmose ocular são causados pela infecção adquirida (GILBERT e STANFORD, 2000).

A doença ocular, denominada retinocoroidite toxoplásmica é caracterizada por uma lesão cicatricial de coloração castanha e atrofiada. É importante ressaltar que a lesão clássica causada pelo parasito inicia-se na retina neural e, somente com o desenvolvimento da resposta inflamatória, ela passa a envolver as demais camadas da retina, assim como a coróide (ROBERTS e MCLEOD, 1999). Todos os pacientes evoluem com perda de campo visual correspondente à interrupção de fibras nervosas da retina. O posicionamento da lesão também contribui para a perda de visão, o dano é maior se disco ótico e mácula foram atingidos.

A recidiva da lesão ocular ocorre tanto em casos de infecção adquirida quanto de infecção congênita. Em alguns pacientes, novas lesões primárias, que não derivaram de uma cicatriz, podem se desenvolver longe da cicatriz pré-existente em áreas da retina que tinham aparência clínica normal. Estas lesões recidivas parecem ser causadas pela liberação do parasito de tecidos císticos presentes na retina, disseminação do parasito presente em outros tecidos e/ou reinfecção do paciente (HOLLAND, 2003).

1.5 Resposta Imune ao Parasito

A infecção por *T. gondii* induz potente e persistente resposta imune protetora (ALEXANDER e HUNTER, 1998; DENKER e GAZZINELLI, 1998; YAP e SHER, 1999). Entretanto, a resposta imune não é suficiente para eliminação do parasito, havendo um balanço no qual hospedeiro e parasito mantém um equilíbrio que pode permanecer estável por toda vida do hospedeiro (LUFT e REMINGTON, 1992). O *T. gondii* causa efeitos de indução e supressão no sistema imune (DENKERS *et al.,* 2003B; SHAPIRA *et al.,* 2004). Esta dupla propriedade provavelmente conta para o notável sucesso do parasito nas populações humanas e animais.

A forte resposta imune mediada por células associada a infecções por *T. gondii* são determinadas por eventos que ocorrem durante encontros iniciais entre parasito e o sistema imune inato do hospedeiro. Essas interações celulares conduzem a ativação de células T e a diferenciação T helper 1 (Th1) dependente de Interleucina (IL)-12. Leucócitos polimorfonucleares e células dendríticas (DC) recentemente surgiram como peças-chaves na fase de indução da imunidade. Ambos os tipos celulares respondem diretamente ao *T. gondii*, secretando citocinas e quimiocinas (DENKER *et al.* 2004).

As DCs são consideradas células apresentadoras de antígeno (APCs) responsáveis pela resposta imune primária (STEINMAN, 1991). Depois de encontrar antígenos e em resposta a mediadores inflamatórios, DCs sofrem um processo de maturação caracterizado pelo aumento da expressão de MHC (complexo principal de histocompatibilidade) e moléculas co-estimulatórias (LARSEN *et al.,* 1990; STERILEN *et al.,* 1990; SALLUSTO *et al.,* 1995; CELLA, SALLUSTO e LANZAVECCHIA, 1997). Estas mudanças são acompanhadas por migração de células T dependentes para área do órgão linfóide secundários onde a DC madura estimula células T naive (LARSEN *et al.*, 1990; AUSTYN, 1992; INABA *et al.,* 1990). Alguns trabalhos sugerem que a interação entre a expressão de CD28 por células T e

expressão de CD80 (B7-1) e CD86 (B7-2) em APCs especializadas promove um importante sinal co-estimulatório. (FREEMAN *et al.,* 1993; LINSLEY e LEDBETTER, 1993). Ambas as moléculas de superfície CD80 e CD86 podem promover co-estimulação para proliferação de células T e produção de IL-12 (FREEMAN *et al.,* 1993; LEVINE *et al.,* 1995). No entanto, estas moléculas diferem em sua expressão em APCs. Enquanto DCs expressam ambos os ligantes co-estimulatórios, monócitos/macrófagos expressam constitutivamente apenas a molécula CD86 (AZUMA *et al.,* 1993). Células B em descanso têm baixos níveis de expressão de CD86 e insignificante expressão de CD80. (AZUMA *et al.,* 1993)

DCs imaturas do tipo $CD8\alpha^-$ estão concentrados na porta de entrada do corpo, tal como pele e superfície das mucosas, enquanto DC $CD8\alpha^+$ residem predominantemente em órgãos linfóides secundários (ANJUERE *et al.,* 1999; ARDAVIN, 2003). As DCs expressam receptores de reconhecimento padrão, tais como aqueles da família TLR (do inglês: toll like receptor), que permitem o reconhecimento de produtos patogênicos ou microbianos contendo motivos moleculares externos (WATTS e AMIGORENA, 2000; MEDZHITOV e JANEWAY, 2000). A maturação está associada com o cessamento da endocitose, produção de citocinas inflamatórias (incluindo IL-12 e TNF-α), migração para linfonodos, aumento na expressão de moléculas de superfície (MHC classe II, CD40, CD80 e CD86) e capacidade de DC madura em ativar células Th1 $CD4^+$ (BANCHEREAU *et al.,* 2000; GUERMONPREZ *et al.,* 2002; MELLMAN e STEINMAN, 2001). A produção de IL-12 é particularmente importante na toxoplasmose, pois esta citocina estimula células NK (células "Natural Killer") a produzir interferon (IFN)-γ e promovem desenvolvimento de células Th1 produtoras de IFN-γ. (GAZZINELLI *et al.,* 1994; HUNTER *et al.,* 1995; MACATONIA *et al.,* 1995).

Alguns estudos sugerem que a produção de IL-12 por DC requer um sinal inicial microbiano, bem como a interação CD40-CD40 ligante (CD40L) e de fato a exigência desses dois sinais é uma proteção contra liberação inapropriada de IL-12. (SEGUIN e KASPER, 1999; SUBAUSTE e WESSENDRAP, 2000). Isto explica a aumentada susceptibilidade de pacientes com Hiper-IgM, que possuem defeito na expressão de CD40L, à infecções por *T. gondii* e outras infecções oportunistas (SUBAUSTE *et al.,* 1999).

Enquanto alguns estudos defendem que são necessários os dois sinais para a produção de IL-12 pelas DCs, outros trabalhos apresentam que antígenos de *T. gondii* induzem síntese de IL-12 por estas células na ausência da interação CD40-CD40L (REIS e SOUSA *et al.,* 1997). No entanto, embora a ligação CD40 sozinha não induza a produção de IL-12, quando

estimulados com antígeno de *Toxoplasma* (conhecido como STAg) os níveis de citocinas liberados são bastante elevados (SCHULZ *et al.,* 2000). Em estudos com camundongos CD40L knock-out, os níveis de IL-12 sistêmicos estão baixos durante a infecção por *T. gondii*, no entanto, esta produção é suficiente para prover a síntese de IFN-γ necessário para sobrevivência desses camundongos à infecção aguda (REICHMANN *et al.,* 2000).

A habilidade de DC em polarizar linfócitos T recentemente ativados para resposta Th1 ou Th2 já está bem estabelecido. Embora haja evidência que distintas populações de DC são especializadas na indução da resposta tipo 1 e tipo 2 (DC plasmocitóides e mielóides, respectivamente), é também conhecido que subpopulações de DC podem ativar resposta Th1 ou Th2 dependendo do antígeno microbiano e das citocinas presentes durante ativação das DCs (SHORTMAN e LIU, 2002; BOONSTRA *et al.,* 2003).

DCs $CD11c^+$ purificadas do baço e linfonodos mesentéricos estimuladas com antígeno do parasito diferem na resposta induzida quando administrados em camundongos. Embora ambas induzam imunidade protetora, DCs do linfonodo mesentérico trafegam para o intestino de camundongos infectados onde geram resposta Th2 na mucosa. (BOURGUIN *et al.,* 1998; DIMIER-POISSON *et al.,* 2003). Alguns dados sugerem que o lisado de *T. gondii* contém antígenos capazes de induzir resposta Th1 e Th2 ou, alternativamente, que as mesmas moléculas microbianas induzem diferentes respostas na produção de citocinas dependendo da origem das DCs.

A resposta imune celular contra o *T. gondii* tem sido bastante estudada em camundongos e envolve o sistema imune inato (macrófagos, células NK e células polimorfonucleares – neutrófilos e eosinófilos) e o adaptativo (linfócitos T). Os linfócitos T são os principais mediadores da resistência adquirida contra o *T. gondii*, confirmado por experimentos em camundongos atímicos que são extremamente suscetíveis às linhagens virulentas e avirulentas do parasito (LINDBERG e FRENKEL, 1977; SCHLUTER *et al.,* 1991). A resistência à infecção em camundongos é dependente tanto dos linfócitos T $CD4^+$ quanto dos T $CD8^+$, mas em alguns modelos murinos, linfócitos T $CD8^+$ produtores de IFN-γ são os principais efetores da imunidade *in vivo* (DENKERS *et al.,* 1993), enquanto que as células T $CD4^+$ parecem possuir um efeito sinérgico na indução da imunidade através do aumento da síntese de IFN-γ pelos linfócitos T $CD8^+$ (SAYLES e JOHNSON, 1996). Além disso, a depleção *in vivo* dos linfócitos T $CD8^+$ converte camundongos resistentes em suscetíveis à infecção (GAZZINELLI *et al.,* 1993). Estes resultados são consistentes com a

importância dos linfócitos T $CD8^+$ citotóxicos restritos ao MHC na regulação da formação dos cistos.

O estudo da infecção com certos organismos tem mostrado correlação entre os tipos de citocinas produzidas por célula T (HEINZEL *et al.,* 1989), havendo importância no papel que o IFN-γ tem na indução da imunidade protetora contra microorganismos intracelulares (KAUFMANN, 1993), como o *T. gondii* (SUBAUSTE e REMINGTON, 1993; GAZZINELLI, DENKERS e SHER, 1993). SUBAUSTE e WESSENDRAP (2000) demonstraram que a sinalização CD28-CD80/CD86 regula a produção de IFN-γ, e que a interação CD40L-CD40 regula a secreção de IL-12 e IFN-γ durante o contato entre células T e monócitos infectados com *T. gondii* (SUBAUSTE, DE WALL MALEFYT e FUH, 1998; SUBAUSTE *et al.,* 1999).

O IFN-γ tem papel importante tanto na imunidade adquirida em infecções agudas como no controle do crescimento do parasito em animais cronicamente infectados (GAZZINELLI *et al.,* 1991, 1996; SUZUKI, CONLEY e REMINGTON, *et al.,* 1989). Mais recentemente, camundongos knock-out para certos genes, tais como IFN-γ, IL-12 e fator de necrose tumoral (TNF)-α, têm ajudado a estabelecer a importância desses no controle da toxoplasmose experimental. Ausência de algumas dessas citocinas pró inflamatórias resultam em mortalidade aumentada durante infecção resultando em crescimento descontrolado de taquizoítas (GAZZINELLI *et al.*, 1994; SHER *et al.,* 1993). A despeito do papel protetor dessas citocinas do tipo I durante infecção por *T. gondii*, é bem conhecido que a superprodução desses mesmos fatores podem também levar a patologias no hospedeiro (ARAÚJO *et al.,* 2001)

Embora citocinas Th1 sejam essenciais para o controle do parasito, esta resposta deve ser finamente regulada para prevenir imunopatologias letais. Em camundongos IL-10 knock-out, danos ao fígado e morte ocorrem quando o camundongo é desafiado com cepa não letal do tipo II, como conseqüência de superprodução de IL-12, IFN-γ e TNF-α. (GAZZINELLI *et al.,* 1996). O efeito antiinflamatório do IL-10 é primariamente atribuído a sua habilidade de inibir funções de células acessórias requeridas para a resposta de células T. Portanto, IL-10 pode inibir produção de citocinas por células acessórias tais como TNF-α, IL-1 e IL-12, que são requeridas para ótima produção de IFN-γ (D'ANDREA *et al.*, 1991; FIRENTINO *et al.,* 1989; HASKO *et al.,* 1998; MOORE *et al.*, 2001; TRIP *et al.,* 1993).

Mordue *et al.* (2001), mostraram que os altos níveis de citocinas Th1 durante toxoplasmose letal em camundongo selvagem não são devido à ausência de IL-10, uma vez que esta citocina está em altos níveis no soro durante infecção letal.

Gavrilescu e Denkers (2001; 2003) sugeriram que infecções com cepas altamente virulentas de *T. gondii* resultam em super produção de IFN-γ e altos níveis de apoptose, em contraste com cepas de baixa virulência. Sendo assim, camundongos infectados com taquizoítas da cepa tipo I (RH) apresentam níveis aumentados de morte celular por apoptose no baço imediatamente antes da morte. No entanto, este fato não parece ser diretamente atribuído a destruição de tecidos induzida pelo parasito, mas é causada por altos níveis de mediadores pró inflamatórios induzidos pela cepa RH. Portanto, a patologia durante a toxoplasmose, deve-se, em parte ao resultado de uma morte celular por apoptose descontrolada induzida por cepa virulenta.

Pacientes com diagnóstico de toxoplasmose ocular adquirida têm alta estimulação das células T em resposta a antígenos do parasita, secretando níveis de IL-1, IL-10 e TNF-α mais alto que indivíduos assintomáticos. Por outro lado, indivíduos assintomáticos secretam níveis mais altos de IL-12 do que pacientes com toxoplasmose adquirida (YAMAMOTO *et al.,* 2000). As citocinas derivadas de linfócitos (IL-2 e IFN-γ) estão diminuídas em indivíduos que apresentam doença congênita, o que sugere que a resistência ao desenvolvimento de lesões oculares está associada à habilidade de produzir IL-12 e IFN-γ contra o parasito (YAMAMOTO *et al.,* 2000). Esta diminuição da resposta ao parasito por células T de pacientes com doença congênita não ocorreu por deleção das células T através da exposição ao antígeno do parasita durante o período pré-natal (YAMAMOTO *et al.,* 2000; VALLOCHI *et al.,* 2002).

A reposta imune envolve várias vias para iniciar e eliminar a constante ameaça causada por patógenos, prevenindo contra danos teciduais e doença sistêmica, sendo a polarização da resposta vista em vários níveis (SHER e COFFMAN1992; STEINMAN 2003). Isótipos de imunoglobulinas representam tal exemplo de polarização da função imune em reposta à desafios específicos e estão ligados a polarização Th1 e Th2. Respostas do tipo Th1 são otimizadas para facilitar a eliminação de patógenos intracelulares e liberação de citocinas como IFN-γ resultante da ativação de macrófagos, aumentando a produção de subclasses especificas de anticorpos, como IgG2a e IgG3. Por outro lado citocinas Th2, como IL-4 e IL-5, geralmente produzem respostas a desafios microbianos extracelulares e conduzem a

aumento da ativação de células B produzindo IgG1 e IgE e secretando IgA (MOSMANN e COFFMAN, 1989; FINKELMAN *et al.,* 1990).

O *T. gondii* estimula uma forte e persistente resposta humoral em todos hospedeiros, anticorpos contra proteínas do parasito permanecem com títulos elevados por toda a vida do hospedeiro e estão presentes em pacientes com essencialmente todas as manifestações clínicas de infecção, variando de adquirida para congênita e, ainda, nos casos de infecção assintomática (FRENKEL *et al.,* 1991; ASAI *et al.,* 1992). Dados na literatura mostram que a resposta imune humoral contra o *T. gondii* é cepa-específica. Por exemplo, 5 de 5 anticorpos monoclonais de camundongos (MAbs) para SAG2A isolados depois de uma infecção natural eram alelo-específicos (i.e., os anticorpos reconhecem o alelo expressado por tipo I e III, mas não o tipo II, embora todos os 3 tipos expressem níveis aproximadamente iguais da proteína de SAG2A) (PARMLEY *et al.,* 1994). Conseqüentemente, epítopos polimórficos parecem ser altamente imunogênicos e possivelmente imunodominantes (KONG *et al.*, 2003).

Embora seja controversa a participação dos anticorpos na resistência à infecção pelo *T. gondii*, modelos experimentais em camundongos, ratos e cobaias têm produzido diferentes resultados a respeito do potencial protetor dos anticorpos anti-*T. gondii* que pode ser devido a diferente herança genética dos hospedeiros e/ou as diferentes cepas do parasito. Enquanto alguns pesquisadores mostraram a não proteção contra a infecção com cepas virulentas de *T. gondii* (FOSTER e MCCULLOCH, 1968; GIL e PRAKASH, 1970), outros mostraram a proteção pela transferência passiva do soro imune ou de anticorpos monoclonais específicos a proteínas do *T. gondii* para camundongos infectados com cepas de virulência moderada (MASIHI e WERNER, 1978; JOHNSON, MCDONALD e NEOH *et al.,* 1983; SHARMA *et al.,* 1984).

Em infecções humanas por *T. gondii*, perfil sorológico tem sido utilizado como uma alternativa para distinguir entre as fases da doença. Para distinguir entre a toxoplasmose ocular adquirida recentemente da toxoplasmose ocular congênita faz-se comparação de anticorpos anti-*T. gondii* IgA, IgM ou IgE, no qual a presença destes anticorpos pode ser considerada uma forte evidência de infecção primária recente (GÓMEZ-MARÍN *et al.,* 2000).

Na toxoplasmose adquirida a combinação dos três isótipos de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA) podem ajudar a distinguir uma infecção antiga (IgG isolado) e uma infecção recente (IgG, IgA e IgM coexistindo). No entanto, em adição a variações individuais da

resposta imune, anti-*T. gondii* IgM e IgA podem persistir por mais de 1 ano após a infecção, impedindo a precisa identificação da infecção (RONDAY *et al.,* 1999).

1.6 Toxoplasmose em Erechim

Estudos realizados na cidade de Erechim, localizada em uma região agrícola do Rio Grande do Sul, tem proporcionado importantes observações acerca da infecção por *T.. gondii*, pois esta região tem alta prevalência de toxoplasmose, cerca de 85% da população com sorologia positiva (SILVEIRA *et al.,* 1988; GLASNER *et al.,* 1992; YAMAMOTO *et al.,* 2000; VALLOCHI *et al.,* 2001, 2002, 2004).

A região noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, colonizada por descendentes de imigrantes europeus, principalmente italianos, alemães e poloneses, apresenta estrutura econômica associada à agropecuária, com a cadeia produtiva ligada ao processamento de suínos. A região apresenta a maior ocorrência mundial de toxoplasmose ocular, atribuída à forma de retinocoroidite toxoplásmica adquirida, com a prevalência de 18% na população rural de Erechim (GLASNER *et al.,* 1992).

Silveira, Silveira e Silveira (1975) fizeram o primeiro relato de casos de toxoplasmose em famílias na região de Erechim e na cidade de Bogotá, Colômbia, na Clínica Barraquer. Mais de 500 famílias, com mais de um irmão não-gêmeo apresentando retinocoroidite toxoplásmica, foram identificadas na Clinica Silveira até janeiro de 2002 (SILVEIRA, 2002).

Através de estudo de caso-controle realizado em Erechim foram verificados os principais fatores de risco e fontes de infecção do *T. gondii*. Os dados do estudo apontam o contato direto no solo, seja ele no campo ou em jardinagem domiciliar, e o hábito de comer carne de suínos e ovinos mal-cozida, como principais fontes de infecção associadas às infecções recentes. A pesquisa também revela que há maior soroprevalência entre adultos e crianças do sexo masculino, mulheres multíparas e na população da zona rural. Entre os indivíduos domiciliados na zona urbana foi verificada baixa associação com a infecção (JONES *et al.,* 2006). É provável que as campanhas de saúde pública estejam educando e conscientizando a população urbana, minimizando a exposição ao parasito.

Várias hipóteses têm sido elaboradas para explicar a alta prevalência de toxoplasmose ocular nesta região, dentre elas: 1) exposição crônica e intensa ao organismo, que possa aumentar a chance de que um indivíduo com infecção adquirida venha a desenvolver

complicações oculares; 2) genética do hospedeiro ou outras diferenças que possam predispor ao desenvolvimento de uveítes; 3) outros agentes ou co-fatores que possam interagir com a infecção por *T. gondii* e alterar a história natural da doença; 4) a existência de uma cepa incomum de *T. gondii* que seja endêmica na região de Erechim (SILVEIRA, 2002). Assim, a alta taxa de infecção (cerca de 80% dos adultos) nesta região do Sul do Brasil faz a população local um alvo ideal para estudo da resposta imune contra o parasito, já que os pacientes com lesão ocular tem tido acompanhamento médico constante, no qual sabe-se a história clinica do paciente e da doença. Devido a este acompanhamento, é possível identificar indivíduos infectados com *T. gondii* intra-útero e identificar indivíduos com infecção adquirida depois do nascimento, o que permite estudar as diferenças na resposta imune (VALLOCHI *et al.,* 2002).

Como parte dos estudos sobre a toxoplasmose ocular na população de Erechim realizados em nosso laboratório, concluímos recentemente um trabalho, em colaboração com o Doutor Michael Grigg, para caracterizar as cepas do *T. gondii* que infectam esta população. Neste estudo, utilizamos o método de tipagem sorológica das cepas (KONG *et al.,* 2003) por tratar-se de um método não-invasivo, rápido e extremamente sensível para identificar o tipo de cepa do parasito em qualquer estado de doença e em diferentes fases de infecção. Foram analisadas pelo método de ELISA amostras de soro de indivíduos em diferentes fases da infecção, com ou sem lesão ocular, para a pesquisa dos isótipos específicos e contra peptídeos recombinantes de regiões polimórficas (GRA6 e GRA7) do parasito. Os dados obtidos neste trabalho sugerem que diferentes sorotipos de cepas estão infectando os pacientes de Erechim e que um sorotipo atípico e único, em relação a outras populações estudadas, está associado à toxoplasmose ocular grave (RIOS *et al.,* in press).

O conhecimento prévio da possibilidade de que endemicidade para o *T. gondii* em Erechim está associada à presença de diferentes linhagens do parasito e, ao mesmo tempo, que diferentes genótipos podem estar implicados com diferentes manifestações clínicas, nos alerta para a necessidade do isolamento *in vivo* e *in vitro* destas cepas e a posterior caracterização biológica do parasito, para o melhor entendimento dos mecanismos do hospedeiro e do parasito que estão relacionados com o desenvolvimento da toxoplasmose.

Os dados até então apresentados na literatura sugerem que as diferenças na geração de determinados tipos de células do sistema imune podem permitir um comportamento cepa-especifico na resolução da infecção ou na patogenia da infecção. É bastante evidente que ocorrem diferenças significativas na resposta do hospedeiro para diferentes linhagens de *T.*

gondii. Por isso, existe um considerável interesse em determinar como um genótipo particular de *T. gondii* pode diferir em sua capacidade de induzir patologia ou ocorrência em determinada espécie animal. O entendimento de fatores genéticos que influenciam na virulência do *T. gondii* e no mecanismo de seleção de genótipos de acordo com a espécie do hospedeiro pode contribuir para o desenvolvimento de projetos terapêuticos que eliminem a transmissão ou cura da doença.

Neste estudo investigaremos a população de Erechim, onde podem ser encontrados casos de infecção aguda e crônica, com lesão ocular branda ou grave clinicamente bem caracterizados. O isolamento, a caracterização genotípica e o estudo dos mecanismos imunológicos envolvidos na reposta imune cepa-específica do hospedeiro contra o *T. gondii*, a partir de amostras desta população, serão de fundamental importância para a continuação do estudo que o nosso laboratório vem desenvolvendo na busca de elucidar os fatores envolvidos no parasito e no hospedeiro que determinam a ocorrência da toxoplasmose ocular, fazendo com que esta população detenha a maior prevalência dessa doença no mundo.

6 Conclusões

6 Conclusões

a) Cepas do tipo I (RH) e cepa do tipo II (ME49) de *T. gondii* induzem aumento na porcentagem de DC $CD11c^+$ esplênicas com o decorrer da infecção;

b) Cepas do tipo I (RH) de *T. gondii* induzem aumento na porcentagem de DC $CD11c^+$ expressando CD40, CD86 no 3º dia de infecção e de CD80 e MHC classe II a partir do 5º dia de infecção;

c) Cepas do tipo BrI (TgCatBr71) induzem aumento na porcentagem de DC $CD11c^+$ expressando CD40, CD80, CD86 e MHC classe II com o decorrer da infecção.

d) Cepa do tipo II (ME49) de *T. gondii* induzem aumento na porcentagem de $DC11c^+$ expressando CD80 e MHC de classe II a partir do 15º dia de infecção;

e) Cepa do tipo I (RH) de *T. gondii* gera diminuição na porcentagem número absoluto de células $CD4^+$ no 5º dia de infecção e um pequeno aumento de células $CD8^+$ no 5º dia de infecção;

f) Cepa do tipo BrI (TgCatBr71) causa redução tanto de células $CD4^+$ como de células $CD8^+$ com o decorrer da infecção;

g) Cepa do tipo II (ME49) de *T. gondii* causa diminuição tanto de células $CD4^+$ como de células $CD8^+$ no 15º dia de infecção;

h) Cepa tipo I (RH) de *T. gondii* estimulam produção de IFN-γ e IL-10;

i) Cepa tipo II (ME49) de *T. gondii* estimula a produção de IL-12p40, IFN-γ e IL-10 em níveis substancialmente elevados;

j) Cepa tipo BrI (TgCatBr71) de *T. gondii* estimulou a síntese de IL-12p40 e IFN-γ no grupo de camundongos infectados

Referências Bibliográficas

Referências Bibliográficas

AIKAWA, M.; KOMATA, Y., ASAI, T. MIDORIKAWA, O. Transmission and scanning electron microscopy of host cell entry by *Toxoplasma gondii*. **Am. J. Pathol.**, v.2, p.285-296, 1977.

AJIOKA, J. W.; BOOTHROYD, J. C.; BRUNK, B. P.; HEHL, A.; HILLIER, L.; MANGER, I. D.; MARRA, M.; OVERTON, G. C.; ROOS, D. S.; WAN, K. L.; WATERSTON, M.; SIBLEY, L. D. Gene discovery by EST sequencing in *Toxoplasma gondii* reveals sequences restricted to the apicomplexa. **Genome Res.,**. v. 8, p. 18–28, 1998.

AJZENBERG, D., BANULS, A.L., SU, C., DUMETRE, A., DEMAR, M., CARME, B., DARDÉ, M. L. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. **Int. J. Parasitol., v.** 34(10):1185-1196; 2004

ALEXANDER, J.; HUNTER, C. A. Immunoregulation during toxoplasmosis. **Chem. Immunol.,** v. 70, p.81-102, 1998..

ANJUERE, F.; MARTÍN, P.; FERRERO, I.; FRAGA, M. L.; DEL HOYO, G. M., WRIGHT, N.; ARDAVÍN, C. Definition of dendritic cell subpopulations present in the spleen, Peyer's patches, lymph nodes, and skin of the mouse. **Blood**., v. 2; 590-598, 1999.

ARAUJO, M. I.; BLISS, S. K.; SUZUKI, Y.; ALCARAZ, A.; DENKERS, E. Y.; PEARCE, E. J. Interleukin-12 promotes pathologic liver changes and death in mice coinfected with *Schistosoma mansoni* and *Toxoplasma gondii*. **Infec.t immune.,** v. 69, 1454–1462, 2001.

ARDAVÍN, F. Origin, precursors and differentiation of mouse dendritic cells. **Nat. Rev. Immunol.,** v. 7, p. 582-590, 2003.

ASAI, T., MIURA, S., SIBLEY, L. D., OKABAYASHI, H., TAKEUCHI, T. Biochemical and molecular characterization of nucleoside triphosphate hydrolase isozymes from the parasitic protozoan *Toxoplasma gondii*. **J. Biol. Chem**., v. 270(19), p.11391-11397, 1995

ASAI, T.; MIZUNO, F; KOJIMA, S; TAKEUCHI, T; KOBAYASHI, A; SUZUKI, Y. High correlation in antibody titers between the Sabin-Feldman dye test and an enzyme-linked immunosorbent assay detecting immunoglobulin G antibodies to the nucleoside triphosphate hydrolase of *Toxoplasma gondii*. **J. Clin. Microbiol**., v. 30, p.1291-1293, 1992.

AUSTRYN, J. M. Antigen uptake and presentation by dendritic leukocytes. **Semin. Immunol.** v. 4, p.227-236, 1992.

AZUMA, M.; ITO, D.; YAGITA, H.; OKUMURA, K.; PHILLIPS, J.H.; LANIER, L. L.; SOMOZA, C. B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. **Nature.**, v. 6450, p..76-7 79, 1993.

BANCHEREAU J.; BRIERE F.; CAUX, C.; DAVOUST, J.; LEBECQUE, S.; LIU, Y. J.; PULENDRAN, B.; PALUCKA, K. Immunobiology of dendritic cells. **Annu. Rev. Immunol.,** v.18, p.767-811, 2000.

BANCHEREAU J.; STEINMAN R. M. Dendritic cells and the control of immunity. .**Nature**., v.392(6673), p.245-252, 1998.

BARRAGAN, A.; SIBLEY, L. D. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. **J. Exp. Med**., v.12, p.1625-1633, 2002.

ASSOCIAÇÂO BRASILEIRAS DE NORMAS TÈCNICAS. **NBR 6023**: Informações e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002

NATIONAL LIBRARY OF MEDICINE. List of journals indexed in Inddex Medicus.2006.Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/; http://www.nlm.nih.gov/tsd/serial/lji.html.

BLACK, M. W.; BOOTHROYD, J. C. Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. American Society for Microbiology: **Microbiol. Mol. Biol. Revi.,** v. 64(3), p. 607-623, 2000.

BOHNE, W., GROSS, U., HEESEMANN, J. Differentiation between mouse-virulent and -avirulent strains of *Toxoplasma gondii* by a monoclonal antibody recognizing a 27-kilodalton antigen**. J. Clin. Microbiol**., v.31(6), p.1641-1643, 1993

BONAMETTI, A. M., PASSOS, J. N., SILVA, E. M. K., BORTOLIERO, A. L. Surto de Toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.,** v. 30(1), p. 21-25, 1997.

BOONSTRA, A.; ASSELIN-PATUREL, C.; GILLIET, M.; CRAIN, C.; TRINCHIERI, G.; LUI, Y. J.; O´GARRA, A. Flexibility of mouse classical and plasmacytoid-derived dendritic cells in directing T helper type 1 and 2 cell development: dependency on antigen dose and differential toll-like receptor ligation. **J. Exp. Med.,** v. 1, p.101-109, 2003.

BOOTHROYD, J. C. Population biology of Toxoplasma: clonality, virulence, and speciation (or not). **Infect Agents Dis.** v.2, p. 100-102, 1993.

BOOTHROYD, J. C.; GRIGG, M. E. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? **Opin. Microbiol.,** v. 4, p. 438-442, 2002.

BOSSI, P. CAUMES, E.; PARIS, L.; DARDÉ, M. L.; BRICAIRE, F. *Toxoplasma gondii*-associated Guillain-Barré syndrome in an immunocompetent patient. **J. Clin. Microbiol.,** v. 12, p.3724-3725, 1998.

BOURGUIN, I.; MOSER, M.; BUZONI-GATED, D.; TIELEMANS, F.; BOUT, D.; URBAIN, J.; LEO, O. Murine dendritic cells pulsed in vitro with *Toxoplasma gondii* antigens induce protective immunity in vivo**. Infect. Immun**., v. 10, p.4867-4874, 1998

BROOKS, R. G.; REMINGTON, J. S. Transplant-related infections. In: Bennett J. V, Brachman P. S, eds. Hospital infections. 2 ed. Boston: **Little, Brown and Co.,** p. 581–618. 1986.

BRUSCHI, F.; CASTAGNA, B. The serodiagnosis of parasitic infections. **Parasitologia**, v. 46(1-2), p. 141-144, 2004.

BURG, J. L.; GROVER, C. M.; POULETTY P.; BOOTHROYD, J. C. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol**., v. 27, p. 1787–1792, 1989.

BUTCHER, B. A.; DENKERS, E. Y. Mechanism of entry determines the ability of *Toxoplasma gondii t*o inhibit macrophage proinflammatory cytokine production. **Infec. and Immun.,** v. 70(9), p. 5216-5224, 2002.

CANTOS, G. A.; PRANDO, M. D.; SIQUEIRA, M. V.; TEIXEIRA, R. M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. **Rev. Ass. Med. Brasil**, v. 46(4), p. 335-341, 2000.

CAZENAVE, J.; CHEYROU, A.; BLOUIN, P. Use of polymerase chain reaction to detect *Toxoplasma*. **J. Clin. Pathol**., v**.** 44, p. 1037, 1991.

CELLA, M.; SALLUSTO, F.; LANZAVECCHIA A. Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. **Curr. Opin. Immunol.,** v.1, p.10-16, 1997.

CURIEL, T.; KRUG, E.; PURNER, M.; POIGNARD, P.; BERENS, R. Cloned human CD41 cytotoxic T lymphocytes specific for *Toxoplasma gondii* lyse tachyzoite-infected target cells. **J. Immunol**., v. 151, p. 2024-2031, 1993.

D'ANDREA, A. D.; YOSHIMURA, A.; YOUSSOUFIAN, H.; ZON, L.I.; KOO, J. W.; LODISH, H. F. The cytoplasmic region of the erythropoietin receptor contains nonoverlapping positive and negative growth-regulatory domains. **Mol. Cell. Biol**., v. 4, p. 1980-1987, 1991.

DARDÉ, M. L. Biodiversity in *Toxoplasma gondii*. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.,** v. 219, p.27-41, 1996.

DARDÉ, M. L.; BOUTEILLE, B.; PESTRE-ALEXANDRE, M. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. **J. Parasitol.,** v.5, p.786-794, 1992.

DARDÉ, M. L.; VILLENA, I.; PINON, J. M.; BEGUINOT, I. Severe toxoplasmosis caused by a *Toxoplasma gondii* strain with a new isoenzyme type acquired in French Guyana. **J. Clin. Microbiol**., v. 1, p.324, 1998.

DE SMEDT, T.; PAJAK, B.; KLAUS G. G.; NOELLE, R. J.; URBAIN, J.; LEO, O.; MOSER, M. Antigen-specific T lymphocytes regulate lipopolysaccharide-induced apoptosis of dendritic cells in vivo. **J. Immunol.,** v. 9, p.4476-4479, 1998.

DENKER, E. Y. T lymphocyte dependent effector mechanisms of immunity to *Toxoplasma gondii.* **Microbes Infect**., v. 9, p. 699-708, 1999.

DENKERS E. Y.; GAZZINELLI, R. T.; HIENV, S.; CASPAR, P.; SHER, A. Bone marrow macrophages process exogenous *Toxoplasma gondii* polypeptides for recognition by parasite-specific cytolytic T lymphocytes. **J. Immunol**., v. 2, p. 517-526, 1993.

DENKERS, E. Y. From cells to signaling cascades: manipulation of innate immunity by *Toxoplasma gondii*. **Immunol. Med. Microbiol.,** v. 39, p. 193-203, 2003

DENKERS, E. Y.; BUTCHER, B. A.; DEL RIO, L.; BENNOUNA, S.; Neutrophils, dendritic cells and Toxoplasma. **J. Parasit.**, v. 34, p. 411-421, 2004

DENKERS, E. Y.; YAP, G.; SCHARTON-KERSTEN, T.; CHAREST, H.; BUTCHER, B. A.; CASPAR, P.; HEINY, S.; SHER, A. Perforin-mediated cytolysis plays a limited role in host resistance to *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol.** v. 4, p. 1903-1908, 1997.

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

DIEZ, B.; NICOLAS, R.; GALDEANO, A.; CISTERNA, R.; CANAVATE, M. L. Kinetics and regulation of NK activity by interleukin-2 and interferon in acute toxoplasmosis. **Scand. J. Immunol.,** v. 34, p. 673-677, 1991

DIFFEY, P.; SCOTT, J. O.; MAMA, K.; TSEN, T. N. The rate of proliferation among African trypanosomes is a stable trait that is directly related to virulence. **Am. J. Trop. Med. Hyg**., v. 3, p.433-540, 1987.

DIMIER-POISSON, I.; ALINE, F.; MÉVÉLEC, M. N.; BEAUVILLAIN, C.; BUZONI-GATEL, D.; BOUT, D. Protective mucosal Th2 immune response against *Toxoplasma gondii* by murine mesenteric lymph node dendritic cells. **Infect. Immun.,** .v. 9, p. 5254-5265, 2003.

DOBROWOLSKI, J. M.; SIBLEY, L. D. *Toxoplasma* invasion of mammalian cells is powered by the actin cytoskeleton of the parasite. **Cell**., v. 84, p.933–939, 1996.

DUBEY, J. P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma*. **Int. J. Parasitol**., v. 28, p. 1019–1024, 1998.

DUBEY, J. P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. **J. Parasitol**. v. 82, p. 957–960, 1996.

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

DUBEY, J. P. Long term persistence of *Toxoplasma gondii* in tissues of pigs inoculated with *T. gondii* oocysts and effect of freezing on viability of tissue cysts in pork. **Am. J. Vet. Res.,** v. 49, p. 910–913, 1988.

DUBEY, J. P., FRENKEL, J. K. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. **J. Protozool**., v. 23, p. 537–546, 1976.

DUBEY, J. P., MILLER, N. L.; FRENKEL, J. K. The *Toxoplasma gondii* oocyst from cat feces. **J. Exp. Med.,** v. 132**,** p**.** 636–662, 1970.

DUBEY, J. P.; FRENKEL, J. K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **J. Protozool**., v. 19, p. 155–177, 1972.

DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M.; SUNDAR, N.; VIANNA, M. C.; BANDINI, L. M.; YAI, L. E.; KWOK, C. H.; SU, C. Diverse and atypical genotypes identified in *Toxoplasma gondii* from dogs in São Paulo, Brazil. **J. Parasitol**., v.93, p.60-64, 2007a

DUBEY, J. P.; PARNELL, P. G.; SREEKUMAR, C.; VIANNA, M. C.; De YOUNG, R. W.; DAHL, E.; LEHMANN, T. Biologic and molecular characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from striped skunk (Mephitis mephitis), Canada goose (Branta canadensis), black-winged lory (Eos cyanogenia), and cats (Felis catus). **J. Parasitol**., v.5, p.11171-11174, 2004.

DUBEY, J. P.; VELMURUGAN, G. V.; CHOCKALINGAM, A.; PENA, H. F.; DE OLIVEIRA, L. N.; LEIFER, C.A.; GENNARI, S. M.; BAHIA OLIVEIRA, L. LM.; SU, C. Genetic diversity of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Brazil. **Vet. Parasitol**., v.157 (3-4), p.299-305, 2008.

DUBEY, J.P.; SUNDAR, N.; GENNARI, S. M.; MINERVINO, A. H. H.; FARIAS, N. A.; RUAS, J. L.; DOS SANTOS, T. R. B.; CAVALCANTE, G. T.; KWOK, O. C. H.; SU, C. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Pará state and southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. **Vet Parasitol.**, v.143, p.182-188, 2007b

FERREIRA, A. M.; VITOR, R. T. G.; MELO, M. N.; Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. Infect Genet. Evol., v.6, p.22-31, 2006.

FERREIRA, A. M.; VITOR, R. W.; CARNEIRO, A. C.; BRANDÃO, G. P.; MELO, M. N. Genetic variability of Brazilian *Toxoplasma gondii* strains detected by random amplified polymorphic DNA-polymerase chain reaction (RAPD-PCR) and simple sequence repeat anchored-PCR (SSR-PCR). **Infect. Genet. Evol.,** v. 2, p.131-142, 2004.

FINKELMAN, F. D., HOLMES, J., KATONA, I. M., URBAN, J. F., BECKMANN, M. P., PARK, L. S., SCHOOLEV, K. A., COFFMAN, R. L., MOSMANN, T. R., PAUL, W. E. Lymphokine control of in vivo immunoglobulin isotype selection. **Annu. Rev. Immunol.,** v. 8, p.303-333, 1990.

FIORENTINO, B. F.; BOND, M. W.; MOSMANN, T. R. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. **J Exp Med** 170, 2081–2095, 1989.

FIORENTINO, D.F., BOND, M. W., MOSMANN, T. R. Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. **J. Exp. Med.,** v. 6; p. 2081-2095, 1989.

FISCHER, H. G., BONÍFAS, U., REICHMANN, G. Phenotype and functions of brain dendritic cells emerging during chronic infection of mice with *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol.,** v. 9; p. 4826-4834, 2000.

FOSTER, B. G., MCCULLOCH, W. F. Studies of active and passive immunity in animals inoculated with *Toxoplasma gondii*. **Can. J. Microbiol**, v. 14, p. 103-110, 1968.

FREEMAN, G.J.; BORRIELLO, F. HODES, R.J.; REISER, H. GRIBBEN, J.G.; NG, J.W.; KIM, J.; GOLBERG, J.M.; LASZLO, G et al. Murine B7-2, an alternative CTLA4 counter-receptor that costimulates T cell proliferation and interleukin 2 production. **J. Exp. Med.,** v. 6, p..2185-2192, 1993.

FRENKEL, J. K. Toxoplasmosis: parasite life cycle pathology and immunology. In: Hammond D M, Long P L, eds. The Coccidia. **Baltimore: University Park Press**, 1973. p. 343–410.

FRENKEL, J. K.; PFEFFERKORN, E. R; SMITH, D. D; FISHBACK, J. L. Prospective vaccine prepared from a new mutant of *Toxoplasma gondii* for use in cats. **Am. J. Vet Res.,** v. 52, p. 759-763, 1991.

FREYRE, A.; DUBEY, J. P.; SMITH, D. D.; FRENKEL, J. K. Oocystinduced *Toxoplasma gondii* infections in cats. **J. Parasitol**., v. 75, p. 750–755, 1989.

FUENTES, I.; RODRIGUEZ, M.; DOMINGO, C. J.; DEL CASTILLO, F.; JUNCOSA, T.; ALVAR, J. Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR. **J. Clin. Microbiol**., v. 34, p. 2368–2371, 1996.

FUENTES, I.; RUBIO, J.M.; RAMIREZ, C.; ALVAR, J. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. **J. Clin. Microbiol**., v. 39(4), p.1566-1570, 2001.

GARCIA J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R. C.; GARCIA, S. M. F.; LEITE, J. Soroepidemiologia da toxoplasmose e avaliação ocular pela Tela de Amslerr, em pacientes da zona rural, atendidos na unidade de saúde do município de Jaguapitã, PR, Brasil. **Rev. Inst. Med. Trop**., v.45(3), p. 147-151, 2003.

GAZZILNELLI, R.; XU, Y.; HIENY, S.; CHEEVER, A.; SHER, A. Simultaneous depletion of CD4_ and CD8_ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii.* **J. Immunol**., v. 149, p. 175–180, 1992.

GAZZINELLI, R. T., DENKERS, E. Y., SHER, A. Host resistance to *Toxoplasma gondii*: model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracelular parasites. **Infect. Agents. Dis.,** v. 2(3), p.139-149, 1993.

GAZZINELLI, R. T..; WYSOCKA, M.; HIENY, S.; SCHARTON-KERSTEN, T.; CHEEVER, A.; KUHN, R.; MULLER, W.; TRINCHIERI, G.; SHER, A. In the absence of endogenous IL-10, mice acutely infected with *Toxoplasma gondii* succumb to a lethal immune response dependent of CD4+ T cells and accompanied by overproduction of IL-12, IFN-γ, and TNF-α. **J. Immunol**., v. 157(2), p. 798-805, 1996.

GAZZINELLI, R. T.; BREZIN, A.; LI, Q.; NUSSENBLATT, R. B.; CHAN, C.C. .*Toxoplasma gondii*: acquired ocular toxoplasmosis in the murine model, protective role of TNF-α and IFN-γ. **Exp. Parasitol**.,v. 78, p.217–229, 1994.

GAZZINELLI, R. T.; HAKIM, F. T.; HIENY, S.; SHEARER, G. M.; SHER, A. Synergistic role of CD4þ and CD8þ T lymphocytes in IFN-γ production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. **J. Immunol.**, v. 146, p. 286–292, 1991.

GAZZINELLI, R. T.; HEINY S.; WYNN T. A.; WOLF S.; SHER A. Interleukin 12 is required for the T-lymphocyte-independent induction of interferon γ by an intracellular parasite and induces resistance in T-cell-deficient mice. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.,** v. 90(13), p.6115-6119, 1993.

GAZZINELLI, R.; WYSOCKA, M.; HAYASHI, S.; DENKERS, E.; HIENY S.; CASPAR, P.; TRINCHIERI, G.; SHER, A.. Parasite-induced IL-12 stimulates early IFN-γ synthesis and resistance during acute infection with *Toxoplasma gondii.* **J. Immunol***.,* v. 153(6), p.2533-2543. 1994

GILBERT, R. E; STANFORD, M. R; Is ocular toxoplasmosis caused by prenatal or postnatal infection? **Br. J. Ophthalmol.**, v. 84, p.224-226, 2000

GILL, H. S; PRAKASH, O. A study on the active and passive immunity in experimental toxoplasmosis. **Indian J. Med. Res.,** v. 58, p. 1157-1163, 1970.

GLASNER, P. D.; SILVEIRA, C.; KRUSZON-MORAN, D.; MARTINS, M. C.; BURNIER, M. JR.; SILVEIRA, S.; CAMARGO, M. E.; NUSSENBLATT, R. B.; KASLOW, R.A.; BELFORT, R. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. **Am. J. Ophthalmol.,** v.114, p. 136-144, 1992.

GÓMEZ-MARÍN, J. E.; MONTOYA-DE-LONDOÑO, M. T.; CASTAÑO-OSORIO, J. C.; HEINE, F. A.; DUQUE, A.M.; CHEMLA, C.; AUBERT, D.; BONHOMME, A.; PINON, J. M. Frequency of Specific anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgA and IgE in Colombian Patients with Acute and Chronic Ocular Toxoplasmosis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 95(1), p. 89-94, 2000.

GRAVRILESCU L. C.; DENKERS, E. Y. Interleukin-12 p40- and Fas Ligand-Dependent Apoptotic PathwaysInvolving STAT-1 Phosphorylation Are Triggered duringInfection with a Virulent Strain of *Toxoplasma gondii.* **Infect. Immun**., v.71(5), p.2577-2583, 2003.

GRAVRILESCU, L. C.; DENKERS**,** E. Y. IFN-gamma overproduction and high level apoptosis are associated with high but not low virulence *Toxoplasma gondii* infection. **J. Immunol**., v.167, p.902–909, 2001.

GRIGG, M. E.; GANATRA, J.; BOOTHROYD, J. C.; MARGOLIS, T. P. Unusual abundance of atypical strains associated with human ocular toxoplasmosis. **J. Infect. Dis.**, v.184, p.633–639, 2001.

GROSS, U., HOLPERT, M., GOEBEL, S. Impact of stage differentiation on diagnosis of toxoplasmosis. **Ann. Ist. Super. Sanità**, v. 40(1), p. 65-70, 2004.

GROSS, U.; BOHNE, W.; SOÊTE, M.; DUBREMETZ, J. F. Developmental differentiation between tachyzoites and bradyzoites of *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Today**, v. 12(1), p.31-33, 1996.

GUERMONPREZ P, VALLADEAU J, ZITVOGEL L, THERY C, AMIGORENA S. Antigen presentation and T cell stimulation by dendritic cells. **Annu. Rev. Immunol**., v. 20, p.621-667, 2002.

HAKIM, F. T.; GAZZINELLI, R. T.; DENKERS, E. HIENY, S.; SHEARER, G. M.; SHER, A. CD8+ T cells from mice vaccinated against *Toxoplasma gondii* are cytotoxic for parasite-infected or antigen-pulsed host cells. **J. Immunol**., v.147, p. 2310-2316, 1991.

HASKO, G.; VIRAG, L.; EGNACZYK, G.; SALZMAN, A. L.; SZABO, C. The crucial role of IL-10 in the suppression of the immunological response in mice exposed to staphylococcal enterotoxin B**. Eur. J. Immunol**., v.28, p.1417–1425, 1998

HEINZEL, F. P.; SADICK, M. D.; HOLADAY, B. J. COFFMAN, R. L.; LOCKSLEY, R. M. Reciprocal expression of interferon gamma or interleukin 4 during the resolution or progression of murine leishmaniasis. Evidence for expansion of distinct helper T cell subsets. **J. Exp. Med.,** v. 1, p. 59-72, 1989.

HILL, D. E.; CHIRUKANDOTH, S.; DUBEY, J. P. Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. **Anim Health Res Rev**., v.1, p.41-61, 2005.

HIRAI, K.; HIRATO, K.; YANAGAWA, R. A cinematographic study of the penetration of cultured cells by *Toxoplasma gondii*. **Jpn. J. Vet. Res.,** v.14, p. 81–99, 1966.

HOLLAND, G. N. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. **Am. J. Ophthalmol.,** v. 136(6), p.973-988, 2003.

HOLLAND, G. N; Ocular toxoplasmosis: new directions for clinical investigation. **Ocul. Immunol. Inflamm.,** v. 8, p. 1-7, 2000.

HONORE S.; COUVELARD A.; GARIN Y. J.; BEDEL C.; HENIN D.; DARDE M. L.; DEROUIN F. [Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains from immunocompromised patients] **Pathol. Biol.**;v. 48(6), p.541-547, 2000.

HOWE, D. K.; HONORE, S.; DEROUIN, F.; SIBLEY, L. D. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. **J. Clin. Microbiol**., v.35, p.1411–1414, 1997.

HOWE, D. K.; SIBLEY, D. L.; *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **J. Infect Dis.**, v.172, p. 1561-1566, 1995.

HOWE, D. K.; SUMMERS, B. C.; SIBLEY, L. D. Acute virulence in mice is associated with markers on chromosome VIII in *Toxoplasma gondii*. **Infect. Immun**., v.64, p.5193–5198, 1996.

HUNTER, C. A.; CANDOLFI, E.; SABAUSTE, C.; VAN CLEAVE, V.; REMINGTON, J. S. Studies on the role of interleukin-12 in acute murine toxoplasmosis. **Immunology.,** . v. 84(1), p. 16-20, 1995.

HUNTER, C. A.; SUBAUSTE, C. S.; VAN CLEAVE, V. H.; REMINGTON, J. S. Production of gamma interferon by natural killer cells from *Toxoplasma gondii*-infected SCID mice: regulation by interleukin-10, interleukin-12, and tumor necrosis factor alpha. **Infect. Immun.** v. 62, p.2818–2824, 1994.

HUNTER, C.A.; BERMUDEZ, L.; BEERNIK, H.; WAEGELL, W.; REMINGTON, J. S. Transforming growth factor-beta inhibits interleukin-12-induced production of interferon-gamma by natural killer cells: a role for transforming growth factor-beta in the regulation of T cell-independent resistance to *Toxoplasma gondii*. **Eur. J. Immunol.** v.4; p.994-1000, 1995.

INABA, K.; METLAY, J. P.; CROWLEY, M. T. STEINMAN R. M. Dendritic cells pulsed with protein antigens in vitro can prime antigen-specific, MHC-restricted T cells in situ. **J. Exp .Med.** v. 2, p. 631-40, 1990.

ISRAELSKI, D. M.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmosis in the non-AIDS immunocompromised host. In: Remington J, Swartz M, eds. Current clinical topics in infectious diseases. London: Blackwell Scientific Publications, 1993**,** p. 322–356.

JOHNSON, A. M.; MCDONALD, P. J.; NEOH, S. H. Monoclonal antibodies to Toxoplasma cell membrane surface antigens protect mice from toxoplasmosis. **J. Protozool**, v.30, p.351-356, 1983.

JOHNSON, L. L. SCID mouse models of acute and relapsing chronic *Toxoplasma gondii* infections. **Infect. Immun.,** v. 60, p.3719–3724, 1992.

JONES, T. C.; YEH, S.; HIRSCH, J. G. The interaction between *Toxoplasma gondii* and mammalian cells. I. Mechanism of entry and intracellular fate of the parasite. **J. Exp. Med.,** v. 136, p.1157–1172, 1972.

KAUFMANN S. H. Immunity to intracellular bacteria. **Annu. Rev. Immunol.,** .v. 11, p. 129-163, 1993.

KHAN, A.; JORDAN, C.; MUCCIOLI, C.; VALLOCHI, A. L.; RIZZO, L. V.; BELFORT JR, R.; VITOR, R. W. A.; SILVEIRA, C.;SIBLEY L. D. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii s*trains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil**. Emerg. Infect. Dis**., v. 12, p. 942-949, 2006.

KHAN, I. A.; ELY, K. H.; KASPER, L. H. Antigen-specific $CD8^+$ T cell clone protects against acute *Toxoplasma gondii* infection in mice. **J. Immunol**., v.152, p.1856–1860, 1994.

KING, C. A**.** Cell motility of sporozoan protozoa. **Parasitol. Today. ,** v. 4, p. 315–319, 1988.

KOHLER, S.; DELWICHE, C. F.; DENNY, P. W.; TILNEY, L. G.; WEBSTER, P.; WILSON, R. J. M.; PALMER, J. D.; ROOS, D. S. A plastid of probable green algal origin in apicomplexan parasites. **Science.,**. v. 275, p. 1485–1489, 1997.

KONG, J. T.; GRIGG, M.E.; UYETAKE, L.; PARMLEY, S.; BOOTHROYD, J.C. Serotyping of *Toxoplasma gondii* infections in humans using synthetic peptides. **J. Infect. Dis**., v.187(9), p.1484-1495, 2003.

LAPPALAINEN, M.; HEDMAN, K. Serodiagnosis of toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. **Ann. Ist. Super Sanità.,** v. 40(1), p. 81-88, 2004.

LARSEN, C. P.; STEINMAN, R. M.; WITMER-PACK, M.; HANKINS, D. F.; MORRIS, P. J.; AUSTUN, J. M. Migration and maturation of langerhans cells in skin transplants and explants. **J. Exp. Med.,** v.5, p.1483-93, 1990.

LEHMANN, T.; GRAHAM, D. H.; DAHL, E. R.; BAHIA-OLIVEIRA L. M.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P. Variation in the structure of *Toxoplasma gondii* and the roles of selfing, drift, and epistatic selection in maintaining linkage disequilibria. **Infec.t Genet. Evol.,** . v. 2, p.107-14, 2004.

LEHMANN, T.; MARCET, P.L.; GRAHAM, D. H.; DAHL, E. R.; DUBEY, J. P. Globalization and the population structure of *Toxoplasma gondii.* **Proc Natl. Aacd. Sci**., v.103, p.11423-11428, 2006.

LEVINE, B. L.; UEDA, Y.; CRAIGHEAD, N.; HUANG, M. L.; JUNE, C. H. CD28 ligands CD80 (B7-1) and CD86 (B7-2) induce long-term autocrine growth of CD4+ T cells and induce similar patterns of cytokine secretion in vitro. **Int. Immunol.** v 6, p..891-904, 1995.

LINDBERG, R. E.; FRENKEL, J. K. Cellular immunity to toxoplasma and besnoitia in hamsters: specificity and the effects of cortisol. **Infect. Immun.,** v. 3, p. 855-862, 1977.

LINSLEY P. S.; LEDBETTER, J. A. The role of the CD28 receptor during T cell responses to antigen. **Annu. Rev. Immunol.,** v. 11, p.191-212, 1993.

LIU L. M.; MacPHERSON C. G. Antigen acquisition by dendritic cells: intestinal dendritic cells acquire antigen administered orally and can prime naive T cells in vivo. **J. Exp. Med**., v. 177(5), p. 1299-307, 1993

LÜDER, C. G.; LANG, T.; BEUERLE, B.; GROSS, U. Down-regulation of MHC class II molecules and inability to up-regulate class I molecules in murine macrophages after infection with *Toxoplasma gondii*. **Clin. Exp. Immunol.** v. 2, p. 308-316, 1998.

LÜDER, C. G.; WALTER, W.; BEUERLE, B.; MAEURER, M. J.; GROSS, U. *Toxoplasma gondii* down-regulates MHC class II gene expression and antigen presentation by murine macrophages via interference with nuclear translocation of STAT1alpha. **Eur. J. Immunol**., v. 5, p. 1475-1484, 2001.

LUFT, B. J.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. **Clin. Infect. Dis.** v. 2, p.211-222, 1992.

MACATONIA, S. E.; HOSKEN N. A.; LITTON, M.; VIEIRA, P.; HSIEH, C. S.; CULPEPPER, J. A.; WVSOCKA, M.; TRINCHIERI, G.; MURPHY, K. M.; O'GARRA, A. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. **J. Immunol.,** v. 10, p. 5071-5079, 1995.

MASIHI, K. N.; WERNER, H. The effect of passively transferred heterologous serum on *Toxoplasma gondii* in NMRI mice. Influence of the treatment on course of infection and cyst formation. **Zentralbl Bakteriol [Orig A]**, v. 240, p.135-142, 1978.

McLELLAN, A.; HELDMANN, M.; TERBECK, G.; WEIH, F.; LINDEN, C.; BRÖCKER, E.B.; LEVERKUS, M.; KÄMPGEN, E. MHC class II and CD40 play opposing roles in dendritic cell survival. **Eur. J. Immunol.** v. 9, p. 2612-2619, 2000.

MEDZHITOV, R.; JANEWAY, C. Jr. The Toll receptor family and microbial recognition. **Trends Microbiol.,** v. 10, p.452-456, 2000.

MELLMAN I.; STEINMAN R. M. Dendritic cells: specialized and regulated antigen processing machines. **Cell,** v. 106(3), p.:255-258, 2001.

MELLMAN, I.; TURKEY, S. J.; STEINMAN, R. M. Antigen processing for amateurs and professionals. **Trends Cell Biol.,** v..6, p.231-237, 1998.

MILLER, M. A.; GRIGG, M. E.; KREUDER, C.; JAMES, E. R.; MELLI, A. C.; CROSBIE, P. R.; JESSUP, D. A.; BOOTHROYD, J. C.; BROWNSTEIN, D.; CONRAD, P.A. An unusual genotype of *Toxoplasma gondii* is common in California sea otters (Enhydra lutris nereis) and is a cause of mortality**. Int. J. Parasitol**., v.34(3), p.:275-284, 2004.

MONTOYA, J. G., LIESENFELD, O. Reviews:Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, p.1965-1976, 2004.

MOORE, K. W.; DE WAAL MALEFYT, R.; COFFMAN, R.L.; O'GARRA A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. **Annu. Rev. Immunol**., v.19, p.683–765, 2001.

MORDUE, D. A.; MONROY F.; LA REGINA, M.; DINARELLO, C. A.; SIBLEY, L. D. Acute Toxoplasmosis Leads to Lethal Overproduction of Th1 Cytokines. **J. Immunol**., v.167(8), p. 4574-4584, 2001.

MOSMANN, T. R.; CHERWINSKI, H.; BOND, M. W.; GIEDLIN, M. A.; COFFMAN, R. L. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **J. Immunol.** v. 7, p. 2348-2357, 1986.

MOSMANN, T. R.; CHERWINSKI, H.; BOND, M. W.; GIEDLIN,M. A.; COFFMAN, R. L. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. **J. Immunol.,** v.136, p. 2348–2357, 1986.

MOSMANN, T. R.; COFFMAN, R. L. Thl and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. **Annu. Rev. Immunol**., v. 7, p.145-173, 1989.

MOZZATTO, L.; SOEIBELMANN PROCIANO, R. Incidence of Congenital Toxoplasmosis in Southern Brazil: a Prospective Study. **Rev. Inst. Med. Trop**., v. 45(3), p. 147-151, 2003.

NGUYEN, T. D.; BIGAIGNON, G.; MARKINE-GORIAYNOFF, D.; HEREMANS, H.; NGUYEN, T. N., WARNIER, G.; DELMEE, M.; WARNY, M.; WOLF, S. F.; UYTTENHOVE, C.; VAN SNICK, J., COUTELIER, J. P. Virulent *Toxoplasma gondii* strain RH promotes T-cell-independent overproduction of proinflammatory cytokines IL12 and α-interferon. **J. Med. Microbiol.,** v. 52, p. 869–876, 2003.

NGUYEN, T. D.; DE KESEL, M.; BIGAIGNON, G.; HOET, P.; PAZZAGLIA,G.; LAMMENS, M.; DELMEE, M. Detection of *Toxoplasma gondii* tachyzoites and bradyzoites in blood, urine, and brains of infected mice. **Clin. Diagn. Lab. Immunol**. v. 6, p.635-639, 1996.

NICHOLS, B. A.; O'CONNOR, R. G. Penetration of mouse peritoneal macrophages by the protozoan *Toxoplasma gondii*. **Lab. Investig**., v. 44, p.324–355, 1981.

NICOLL, S.; BURNS, S. M.; BRETTLE, R. P.; LEEN, C. S. L. A comparison of two methods of gene amplification for the diagnosis of *Toxoplasma gondii* in AIDS. **J. Infect.,** v. 33, p. 177–183, 1996.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection à corps de leishman (ou organisms voisins) de Gondii. **Compt. Rend. Acad. Sci.,** v. 147, p. 763-766, 1908.

PARMLEY, S. F.; YANG, S.; HARTH, G.; SIBLEY, L. D.; SUCHARCZUK, A.; REMINGTON, J. S. Molecular characterization of a 65-kilodalton *Toxoplasma gondii* antigen expressed abundantly in the matrix of tissue cysts. **Mol. Biochem. Parasitol.,** v. 2, p. 283-296, 1994.

PENA, H. F.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P.; SU, C. Population structure and mouse-virulence of *Toxoplasma gondii* in Brazil. **Int. J. Parasitol.**, v.38(5), p.561-569, 2007.

REICHMANN, G. WALKER, W.; VILLEGAS, E. N.;.; CRAIG, L.; CAI, G.; ALEXANDER, J.; HUNTER, C. A.; The CD40/CD40 ligand interaction is required for resistance to toxoplasmic encephalitis. .**Infect. Immun**., v. 3, p.1312-8, 2000.

REIS E SOUZA, C.; HIENY, S.; SCHARTON-KERSTEN, T. In vivo microbial stimulation induces rapid CD40 ligand-independent production of interleukin 12 by dendritic cells and their redistribution to T cell areas. **J. Exp. Med.**, v. 198, p. 1819-1829, 1997.

RIOS, L. S.; OLIVEIRA, N. N.; FALCAI, A.; SILVEIRA, C.; MUCCIOLL, C.; BELFORT R.; RIZZO, L. V.; VALLOCHI, A. L. Correlation between humoral immune response and toxoplasmic retinochoroiditis. **In press**

ROBBEN, P. M.; MORDUE, D. G.; TRUSCOTT, S. M.; TAKEDA, K.; AKIRA, S.; SIBLEY, L.D. Production of IL-12 by macrophages infected with *Toxoplasma gondii* depends on the parasite genotype. **J. Immunol.** v.6; p. 3686-3694, 2004.

ROBERTS, F; McLEOD, R. Pathogenesis of toxoplasmic retinochoroiditis. **Parasitol Today.** v. 15, p. 51-57, 1999.

RONDAY, M. J. H.; ONGKOSUWITO, J. V.; ROTHOVA, A.; KIJLSTRA, A. Intraocular anti– *Toxoplasma gondii* IgA antibody production in patients with ocular toxoplasmosis. **Am. J. Ophthalmol**., v. 127(3), p. 294-300, 1999

SAEJI, J.P.J.; BOYLE, J.P.; BOOTHROYD, J.C. Differences among the three major strains of *Toxoplasma gondii* and their specific interations with the infected host. **Trends Parasitol**. , v. 10, p.476-481 2005.

SALLUSTO, F; CELLA, M. DANIELI, C. LANZAVECCHIA A. Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment: downregulation by cytokines and bacterial products. **J. Exp. Med.** v. 2, p.389-400, 1995.

SAYLES, P.C.; JOHNSON, L.L. Intact immune defenses are required for mice to resist the ts-4 vaccine strain of *Toxoplasma gondii*. **Infect. Immun.,** v. 8, p. 3088-3092, 1996.

SCHLÜTER, D.; LÖHLER, J. DECKERT, M.; HOF, H.; SCHWENDEMANN, G. Toxoplasma encephalitis of immunocompetent and nuce mice: immunohistochemical characterization of Toxoplasma antigen, infiltrates and major histocompatibility complex gene products. **J. Neuroimmunol.** v. 3, p.185-198, 1991.

SCHULZ, O.; EDWARDS, A. D.; SCHITO, M.; ALIBERTI, J.; MANICKASINGHAM, S.; SHER, A.; REIS E SOUZA, C. CD40 triggering of heterodimeric IL-12p70 production by dendritc cells in vivo requires a microbial priming signal. **Immunity.** v. 4, p.453-462, 2000.

SEGUIN, R.; KASPER L. H. Sensitized lymphocytes and CD40 ligation augment interleukin-12 production by human dendritic cells in response to *Toxoplasma gondii.* **J. Infect. Dis.,** v.179, p.467–74, 1999.

SHAPIRA, S.; HARB, O. S.; CAAMANO, J.; HUNTER, C. A. The NF-kappaB signaling pathway: immune evasion and immunoregulation during toxoplasmosis. **Int. J. Parasitol.** v.3, p.393-400, 2004.

SHARMA, S. D.; ARAUJO, F. G.; REMINGTON, J. S. Toxoplasma antigen isolated by affinity chromatography with monoclonal antibody protects mice against lethal infection with *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol**, v. 133, p. 2818-2820, 1984.

SHEFFIELD, H. G.; MELTON, M. L.. The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. **J. Parasitol**. v. 54, p.209–226, 1968.

SHER A.; COFFMAN, R. L. Regulation of immunity to parasites by T cells and T cell-derived cytokines. **Annu Rev. Immunol**., v.10, p.385-409, 1992.

SHER, A.; OSWALD, I. O.; HIENY, S.;GAZZINELLI, R. T. *Toxoplasma gondii* induces a T-independent IFN-γ response in NK cells which requires both adherent accessory cells and TNF-α. J. **Immuno**l., v.150, p. 3982-3989, 1993.

SHORTMAN, K.; LIU, Y. J. Mouse and human dendritc cell subtypes. **Nat. Rev. Immunol**. v. 3, p.151-61, 2002.

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

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

SIBLEY, L. D.; MORDUE, D.G.; SU, C.; ROBBEN, P.M.; HOWE, D.K. Genetic approaches to studying virulence and pathogenesis in *Toxoplasma gondii.* **Philos. Trans. R. Soc.,** v.357, p.81–88, 2002.

SILVEIRA C.; FERREIRA R.; MUCCIOLI C.; NUSSENBLATT R.; BELFORT R. Toxoplasmosis transmitted to a newborn from the mother infected 20 years earlier. **Am. J. Ophthalmol**., v. 136, p.370-371. 2003

SILVEIRA, C. A. M. **Toxoplasmose: dúvidas e controvérsias**. Rio Grande do Sul, Edifapes, 2002, p. 57.

SILVEIRA, C.; BELFORT, R. JR.; BURNIER, M. JR; NUSSENBLATT, R. B. Acquired toxoplasmic infection as the cause of toxoplasmic retinochoroiditis in families. **Am J Ophthalmol.** v. 106, p.362-364, 1988.

SILVEIRA, C.; BELFORT, R.; MUCCIOLI, C.; ABREU, M. T.; MARTINS, M. C.; VICTORIA, C.; NUSSENBLATT, R. B.; HOLLAND, G. N. A Follow-up Study of *Toxoplasma gondii* Infection in Southern Brazil. **Am. J. Ophthalmol**. v. 131, p. 351-354, 2001.

SILVEIRA, F.; SILVEIRA, L.; SILVEIRA, C. **Toxoplasmose ocular**. In: CURSOS DE UVEÍTES. Bogotá, Clínica Barraquer, 1975.

SKLENAR, I.; JONES, T.C.; ALKAN, S.; ERB, P. Association of symptomatic human infection with *Toxoplasma gondii* with imbalance of monocytes and specific T cell subsets. **J. Infect. Dis.** v. 2, p.315-324, 1986.

SPALDING, S. M.; AMENDOEIRA, M. R. R.; RIBEIRO, L. C.; SILVEIRA, C.; GARCIA, A. P.; CAMILLO-COURA, L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop**., v. 34(4), p. 483-491, 2003.

SPLENDORE, A. Un nuovo protozoa parassita dei conigli: incontrato nell lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in molti punti kala-azar dell'uommo. **Rev. Soc. Sci.,** v. 3, p. 109-112, 1908.

STEINMAN, L. Prospects for immunotherapy directed to the T cell receptor in human autoimmune disease. **Ann. N Y Acad. Sci**. v. 30, p.147-153, 1991.

STEINMAN, R. M. Some interfaces of dendritic cell biology **APMIS,** v.111(7-8), p.:675-697, 2003.

STRAW, A. D.; MacDONALD, A. S.; DENKERS, E. Y.; PEARCE, E. J. CD154 plays a central role in regulating dendritic cell activation during infections that induce Th1 or Th2 responses. **J. Immunol**., v. 2, p. 727-734, 2003.

SU, C.; ZHANG, X.; DUBEY, J. P.; Genotyping of *Toxoplasma gondii* by multilocus PCR-RFLP markers: ahigh resolution and simple method for identification of parasites. **Int. J. Parasitol**., v.36, p.841-848, 2006.

SUBAUSTE, C. S., REMINGTON, J. S. Immunity to *Toxoplasma gondii*. **Curr. Opin. Immunol.,** v.5, p.:532-537, 1993.

SUBAUSTE, C. S., WESSENDARP, M. Human dendritic cells discriminate between viable and killed *Toxoplasma gondii* tachyzoites: dendritic cell activation alter infection with viable parasites results in CD28 and CD40 ligand signaling that controls IL-12-dependent and –independent T cell production of IFN-γ. **J. Immunol**., v.165(3), p.1498-1505, 2000.

SUBAUSTE, C. S.; deWALL MALEFYT, R.; FUH, F. Role of CD80 (B7.1) and CD86 (b7.2) in the immune response toa n intracellular pathogen. **J. Immunol.,** v. 160, p. 1831-1840, 1998.

SUBAUSTE, C. S.; KONIARIS, A. H.; REMINGTON, J. S. Murine CD8+ cytotoxic T lymphocytes lyse *Toxoplasma gondii*-infected cells. **J. Immunol.,**. v.147, p. 3955-3959, 1991.

SUBAUSTE, C. S.; WESSENDRAP, M.; SORENSEN, R. U.; LEIVA, L. E. CD40-CD40 ligand interaction is central to cell-mediated immunity against *Toxoplasma gondii*: patients with hyper IgM syndrome have a defective type 1 immune response that can be restored by soluble CD40 ligand trimer. **J. Immunol.,** v. 11, p. 6690-6700, 1999.

SUZUKI Y.; REMINGTON J. S. The effect of anti-IFN-gamma antibody on the protective effect of Lyt-2+ immune T cells against toxoplasmosis in mice. **J. Immunol.** v. 5, p. 1954-1956, 1990.

SUZUKI, Y.; CONLEY, F. K.; REMINGTON, J. S. Importance of endogenous IFN-gamma for prevention of toxoplasmic encephalitis in mice. **J. Immunol.,** v. 6, p. 2045-2050, 1989.

TAYLOR, L. H.; WELBURN, S. C.; WOOLHOUSE, M. E. *Theileria annulata*: virulence and transmission from single and mixed clone infections in cattle. **Exp. Parasitol.** v. 3, p.186-195, 2002.

TENTER, A. M., HECKEROTH, A. R., WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int. **J. Parasitology**, v. 30 (12-13), p. 1217-1258, 2000

TRIPP, C. S.;. WOLF, S. F.;. UNANUE, E. R. Interleukin 12 and tumor necrosis factor alpha are costimulators of interferon gamma production by natural killer cells in severe combined immunodeficiency mice with listeriosis, and interleukin 10 is a physiologic antagonist. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**., v.90, p.3725–3729, 1993.

TURNER, C. M.; ASLAM, N.; ANGUS, S. D. Inhibition of growth of Trypanosoma brucei parasites in chronic infections. **Parasitol. Res**. v. 1, p.61-66, 1996.

VALLOCHI A. L; YAMAMOTO, J. H; SCHLESINGER, D; MACHADO, M. A; SILVEIRA, C; MARTINS, M.C; BELFORT, R.; KALIL, J; RIZZO, L. V. Lack of evidence for superantigen activity of *Toxoplasma gondii* towards human T cells. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 34, p. 1023-1031, 2001.

VALLOCHI, A. L.; MUCCIOLI, C.; MARTINS, M. C.; SILVEIRA, C.; BELFORT, R.; RIZZO, L.V. The genotype of *Toxoplasma gondii* strains causing ocular toxoplasmosis in humans in Brazil**. Am. J. Ophthalmol**., v. 139(2), p.:350-351, 2005.

VALLOCHI, A. L.; NAKAMURA, M.V.; SCHLENSINGER, D.; MARTINS, M. C.; SILVEIRA, C.; BELFORT JR, R.; RIZZO, L. V. Ocular Toxoplasmosis: More Than Just What Meets the Eye. Scand **J. Immunol**., v. 55, p. 324-328, 2002.

VIVIER, E.; PETITPREZ, A. Données ultrastructurales complémentaires, morphologiques et cytochimques, sur *Toxoplasma gondii*. **Protistologica.** v. 8, p. 199-221, 1972.

WARE, P. L.; KASPER, L. H. Strain-specific antigens of *Toxoplasma gondii*. **Infect. Immun**., v.3, p.778-783, 1987.

WATTS, C.; AMIGORENA, S. Antigen traffic pathways in dendritic cells. **Traffic.** v. 4, p. 312-317,2000.

WILLE, U.; VILLEGAS, E. N.; STRIEPEN, B.; ROOS, D. S.; HUNTER, C. A. Interleukin-10 does not contribute to the pathogenesis of a virulent strain of *Toxoplasma gondii*. **Parasite Immunol.** v. 6; p. 291-296, 2001.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. **AIDS**. v. 7**, p.** 299–316, 1993.

YAMAMOTO, J. H.; VALLOCHI, A L.; SILVEIRA, C.; FILHO, J. K.; NUSSENBLATT, R. B.; CUNHA-NETO, E.; GAZZINELLI, R. T.; BELFORT R.; RIZZO, L. V. Discrimination between Pacients with Acquired Toxoplasmosis and Congenital Toxoplasmosis on the Basis of the Immune Response to Parasite Antigens. **J. Infect. Dis**., v. 181, p. 2018-2022, 2000.

YANO, A.; AOSAI, F.; OHTA M.; HASEKURA, H.; SUGANE, K.; HAYASHI, S. Antigen presentation by *Toxoplasma gondii*-infected cells to CD4+ proliferative T cells and CD8+ cytotoxic cells. **J. Parasitol.,** v. 75, p.411-416, 1989.

YAP, G.; PESÍN, M.; SHER, A. Cutting edge: IL-12 is required for the maintenance of IFN-gamma production in T cells mediating chronic resistance to the intracellular pathogen, *Toxoplasma gondii*. **J. Immunol**. v. 2, p. 628-631, 2000.

YAP, G.S.; SHER, A. Cell-mediated immunity to *Toxoplasma gondii*: initiation, regulation and effector function. **Immunobiology.** v.2, p.240-247, 1999.