

Toxoplasma gondii



Daniel Y. Bargieri
ICB-USP

Prevalência

- Um dos parasitas mais bem sucedidos que conhecemos.
 - Capaz de infectar qualquer animal de sangue quente.
 - Alta prevalência em animais domesticados.
 - Estima-se que cerca de 1/3 da população mundial esteja infectada.
 - Formas dormentes.

Estudo de soroprevalência e fatores de risco para a infecção no norte do Estado do Rio de Janeiro

- **Realizado em Campos dos Goytacazes, RJ.**
- **Soroprevalência de 57,2% em amostra representativa de três estratos socioeconômicos (n=1436).**
- **Fatores de risco:**
 - **Idade (Prevalência: 39,7% entre 0 a 9 anos; 83% nos maiores de 30 anos).**
 - **Estrato socioeconômico (Prevalência: 16,9% no alto; 61,4% no médio; e 84,8% no baixo).**
 - **Consumo de água não tratada.**

Estudo de soroprevalência em grávidas em Lages Santa Catarina



Estudo realizado entre mulheres grávidas atendidas por 19 equipes de SF, em 14 bairros periféricos de Lages, SC.

N = 148 (idade entre 14 e 41 anos). Soroprevalência: IgG 16%. IgM 1%.

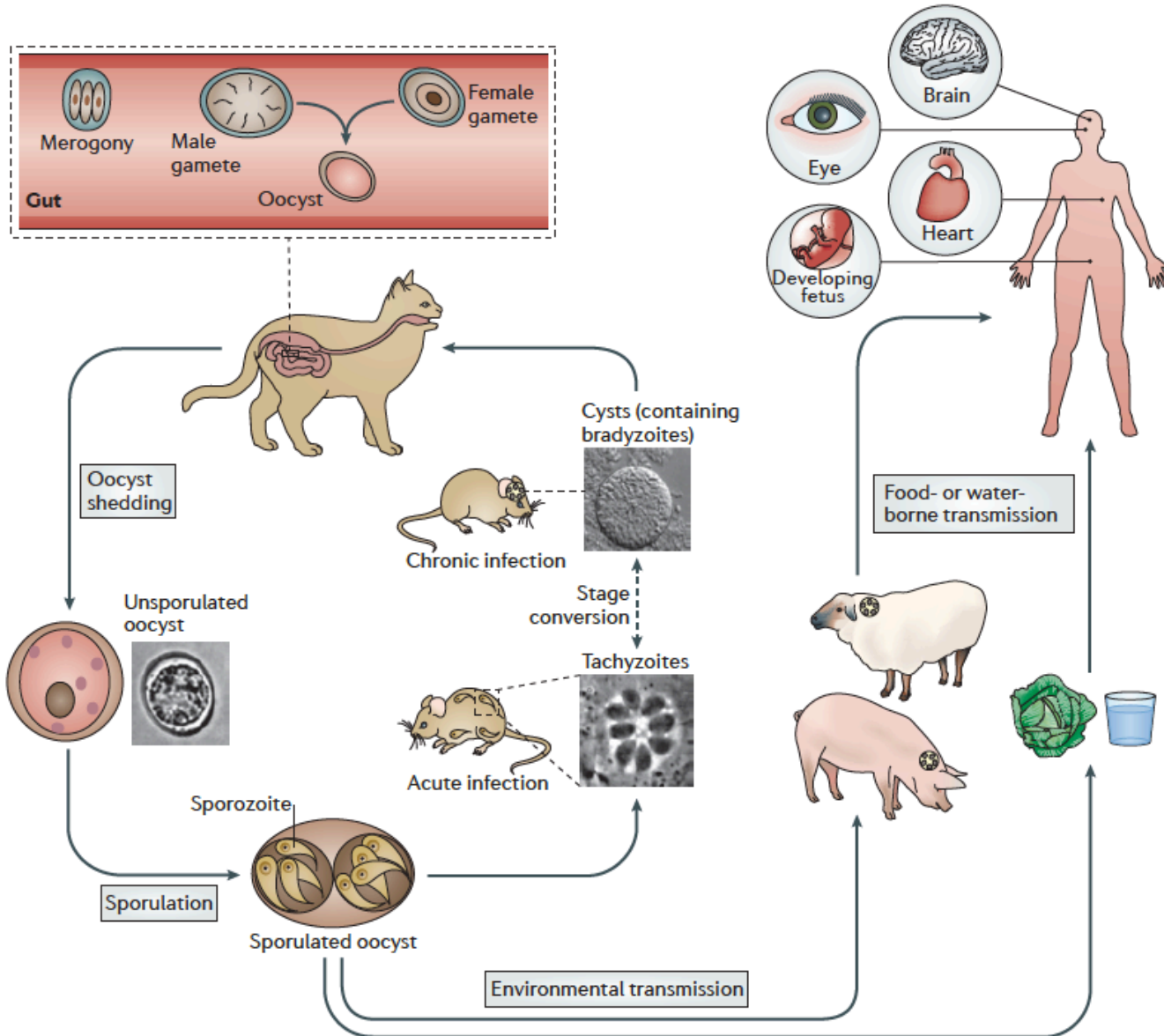
Fator de risco identificado: atividade de jardinagem.

Importância

- Infecção oportunista ou reativação de formas dormentes em imunocomprometidos.
 - Encefalite, meningite.
- Infecção congênita.
 - Aborto espontâneo.
 - Natimorto.
 - Consequências neurológicas e/ou oculares.

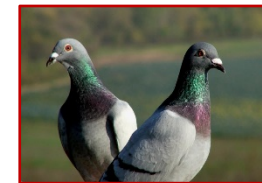
Intracelular obrigatório

Ciclo de vida

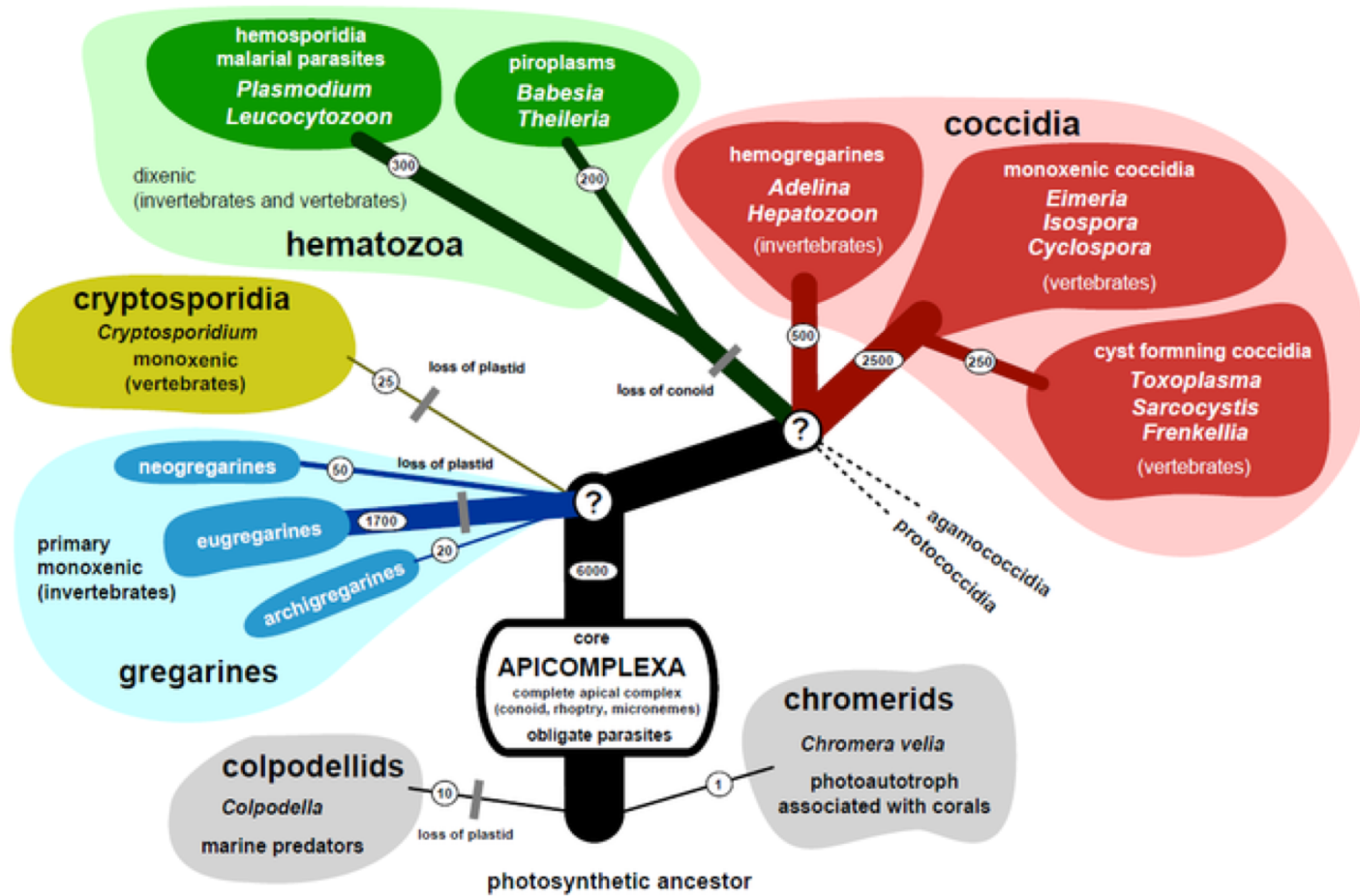


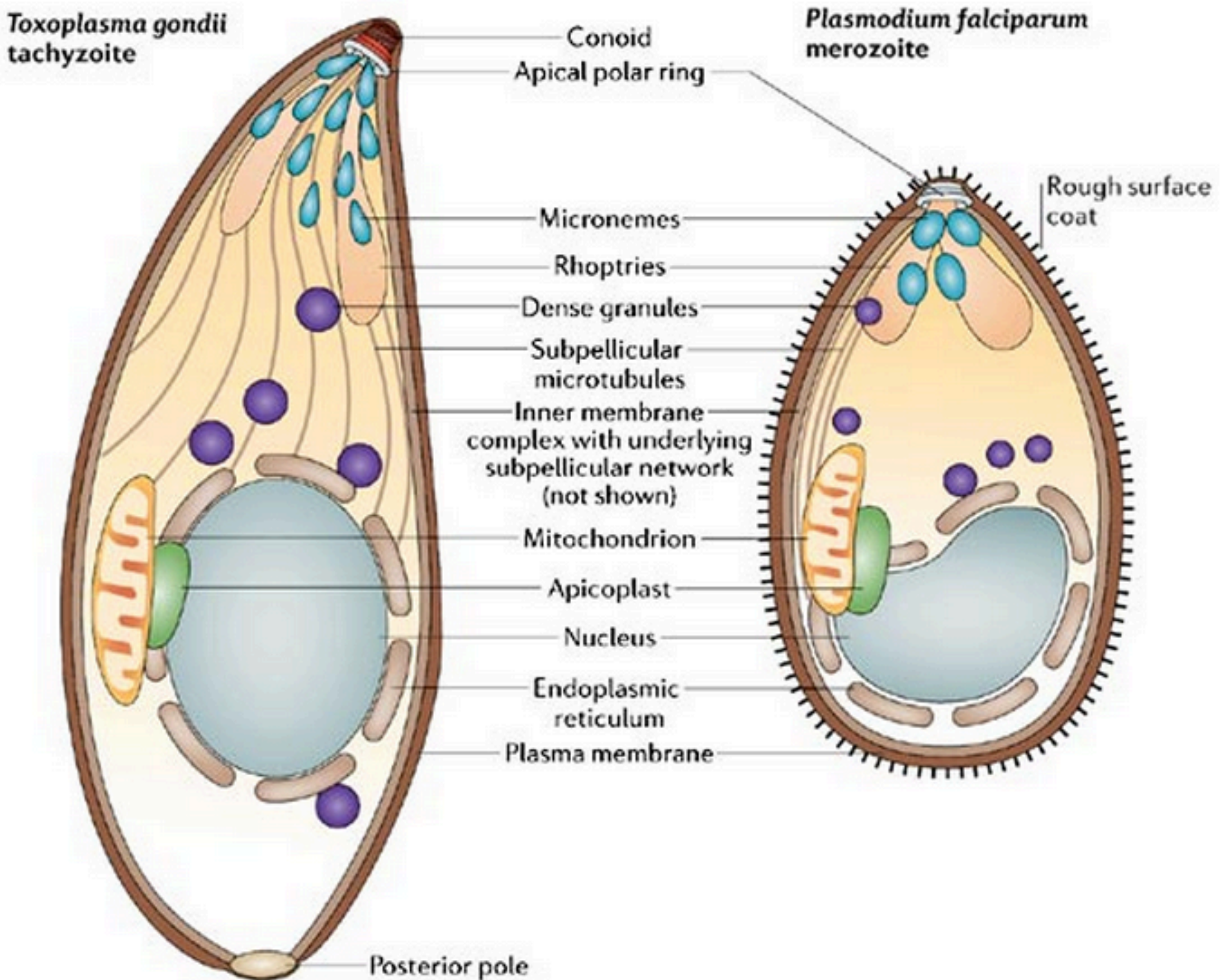
Hospedeiros importantes

Gado bovino, suínos, ovinos, caprinos, roedores, galinhas e outras aves, que podem ser portadores de **cistos** em seus tecidos, especialmente nos músculos e no cérebro.



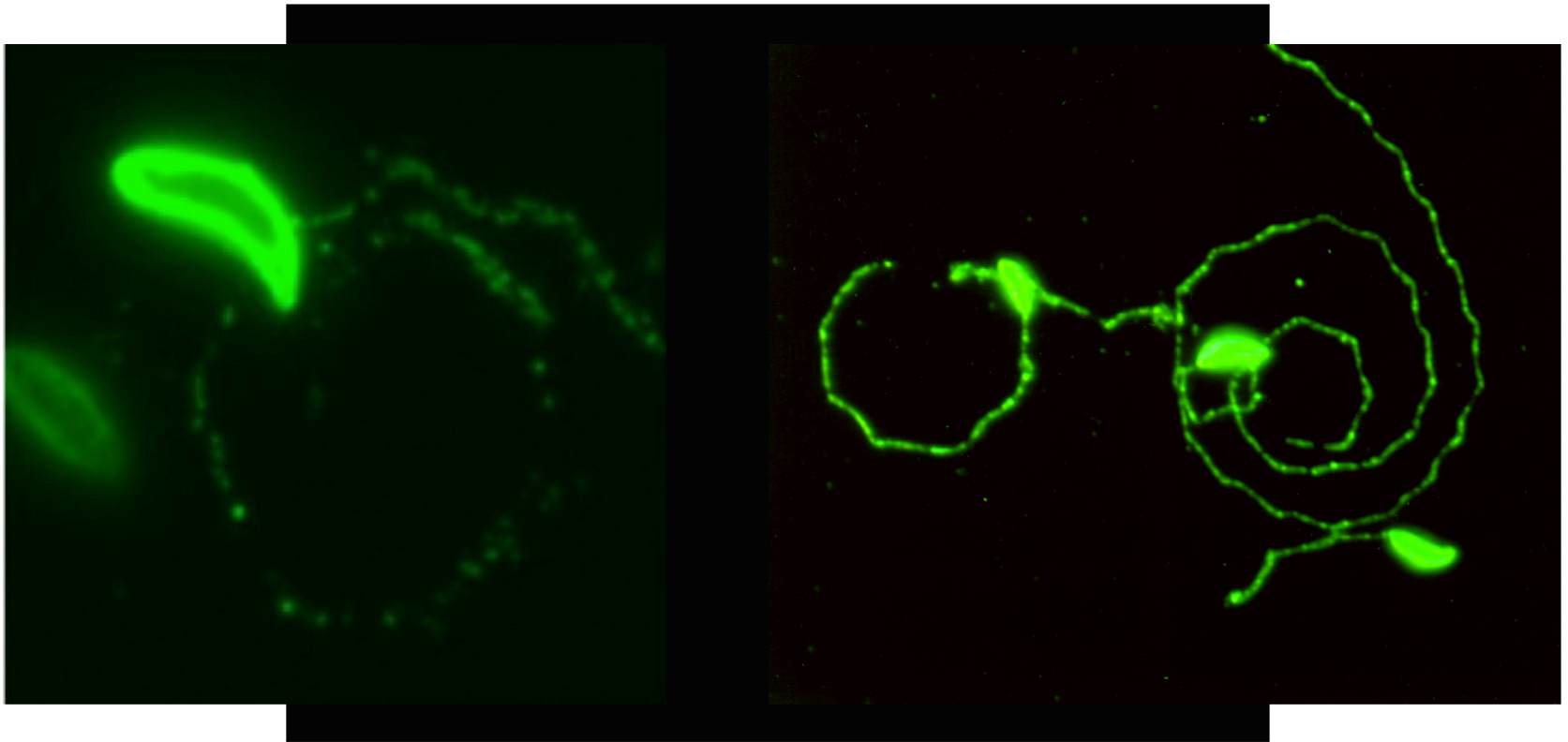
Apicomplexa



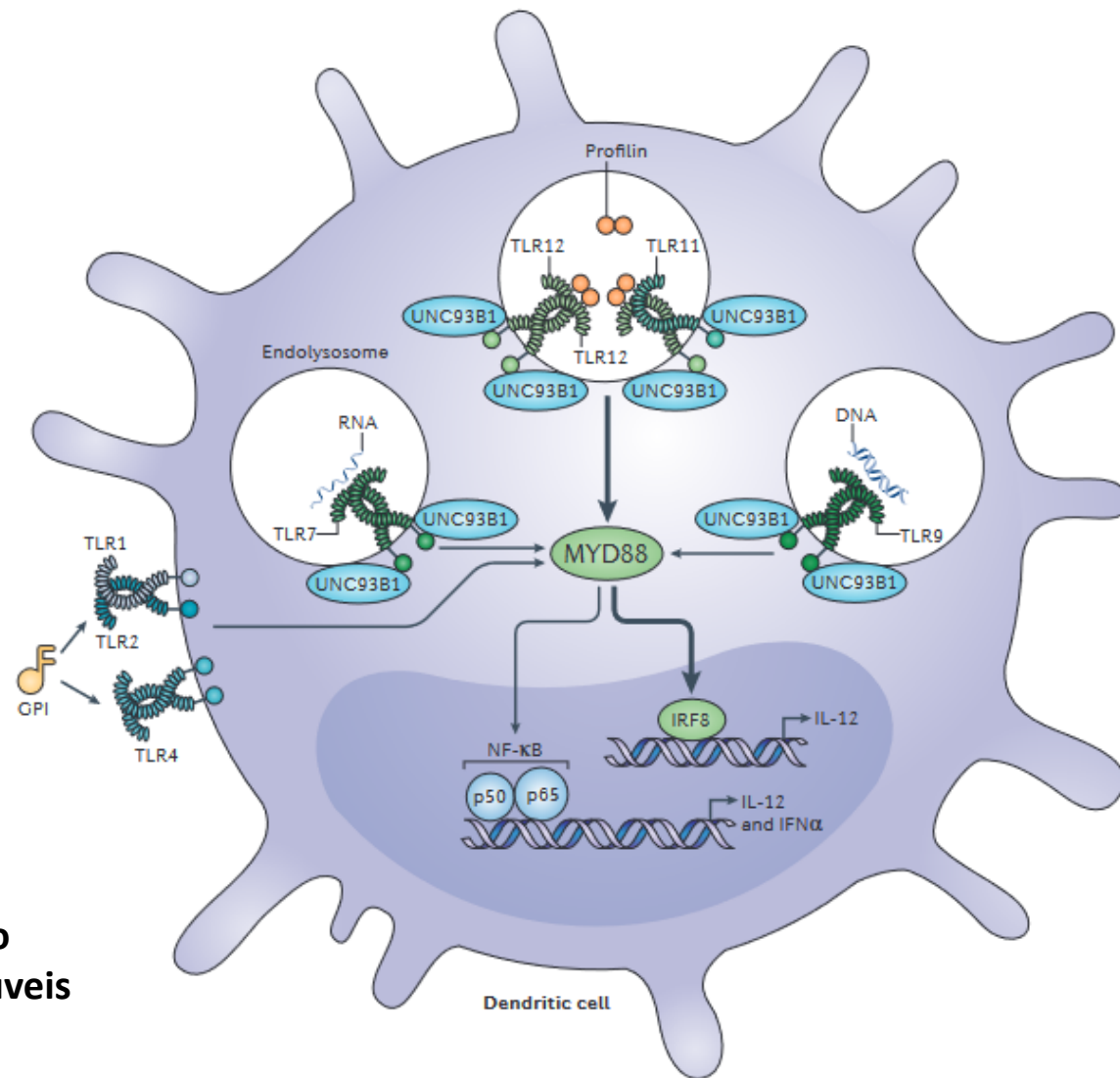


Gliding com rastros

- Motilidade rápida (até $2 \mu\text{m/s}$) sem deformação celular.

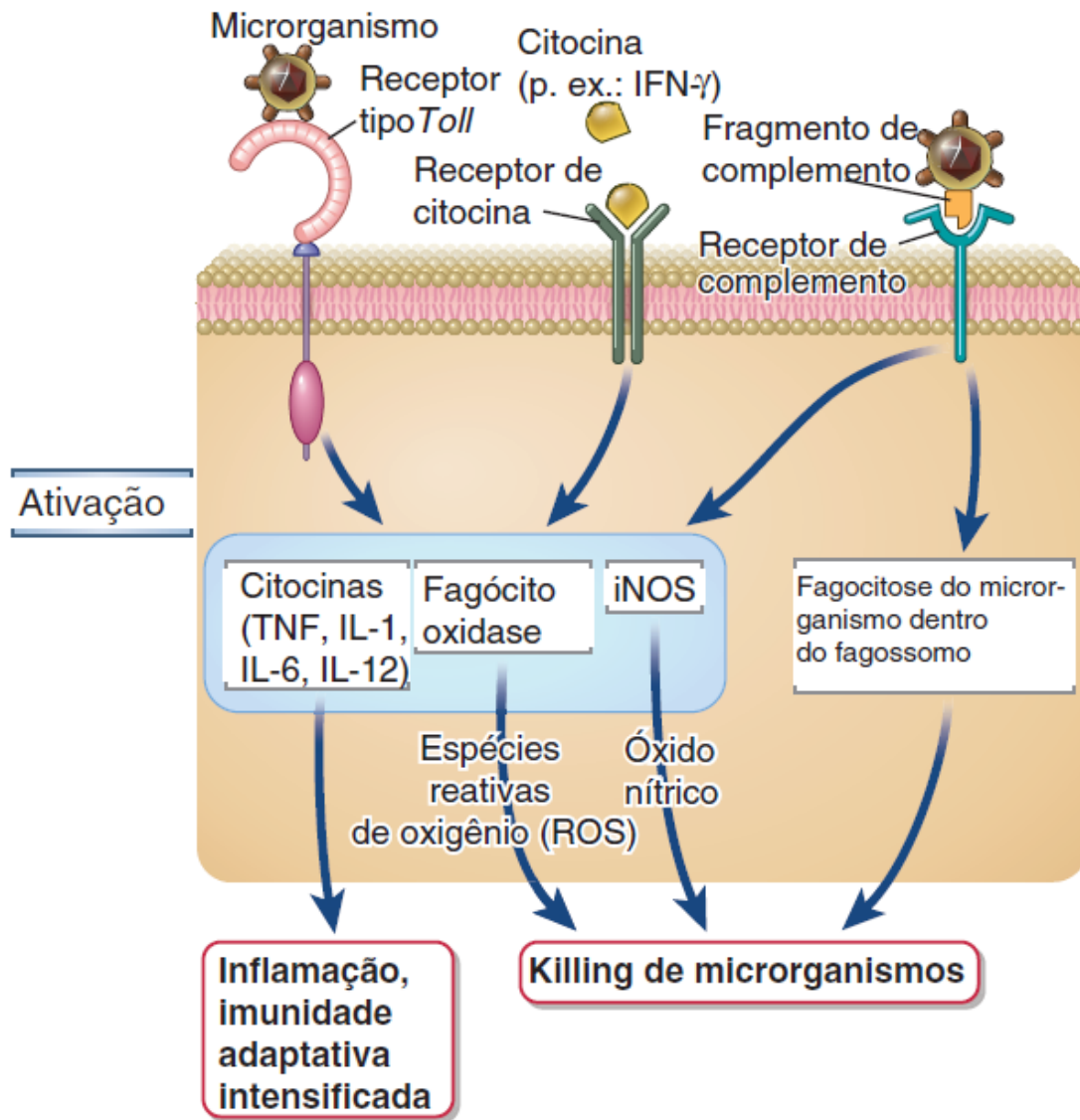
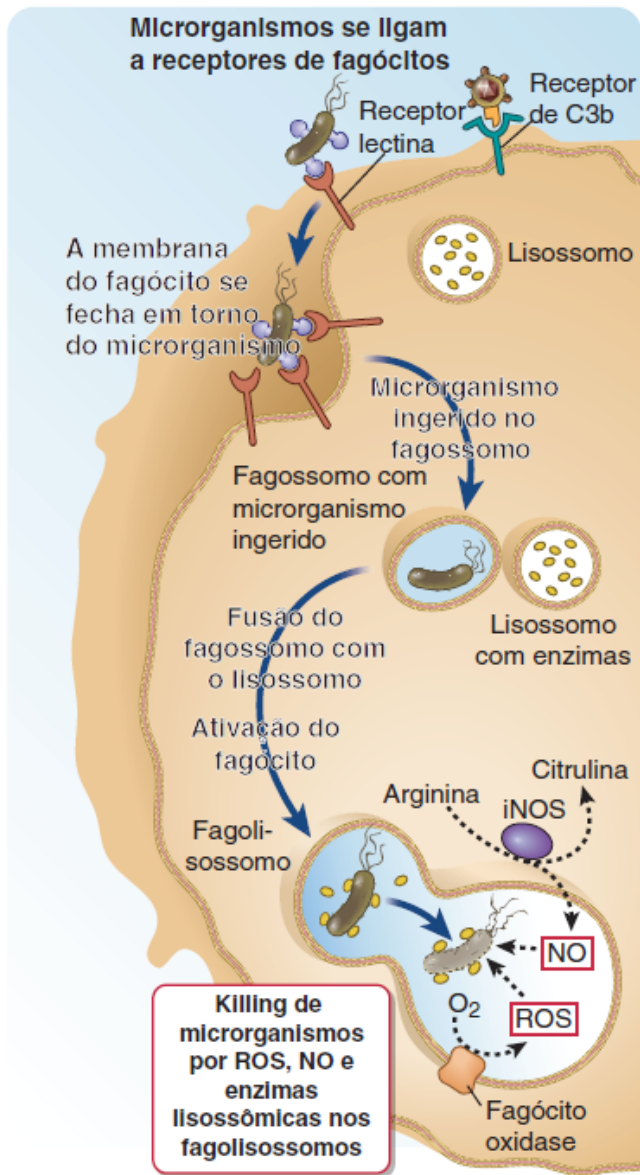


Reconhecimento dos PAMPs de *Toxoplasma gondii*

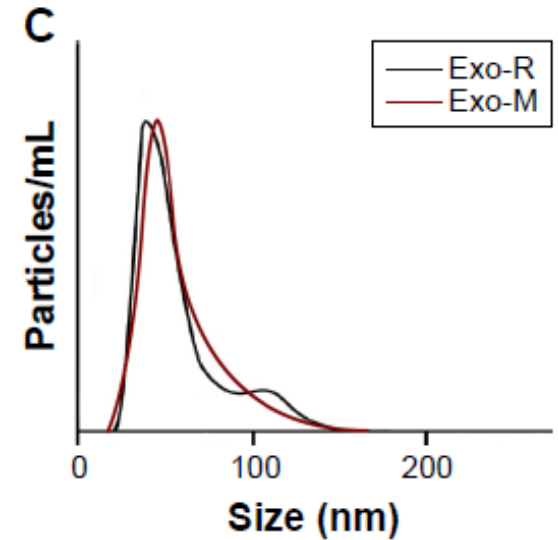
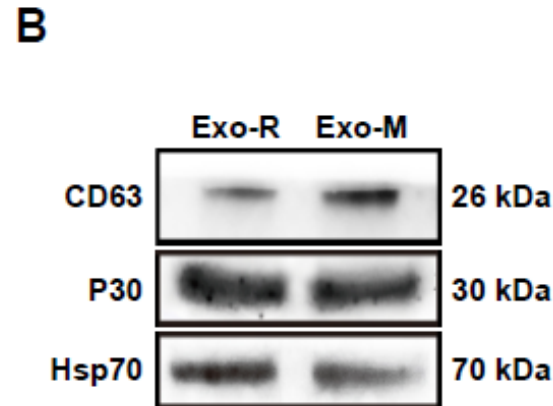
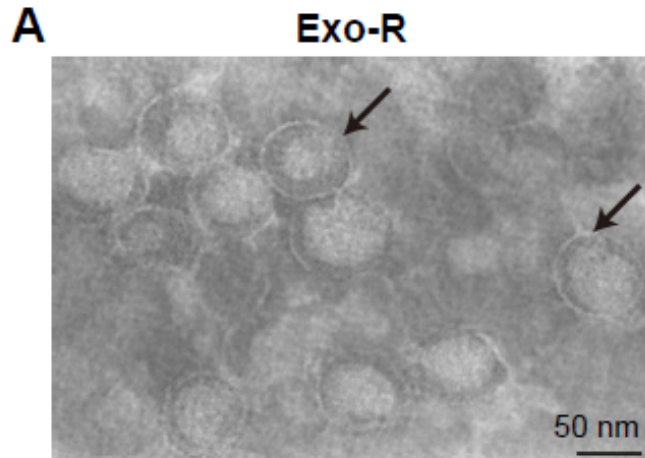


- Parasita inteiro
- Antígenos solúveis
- Exossomos

Resistência Natural as Infecções



Toxoplasma gondii libera exossomos



D

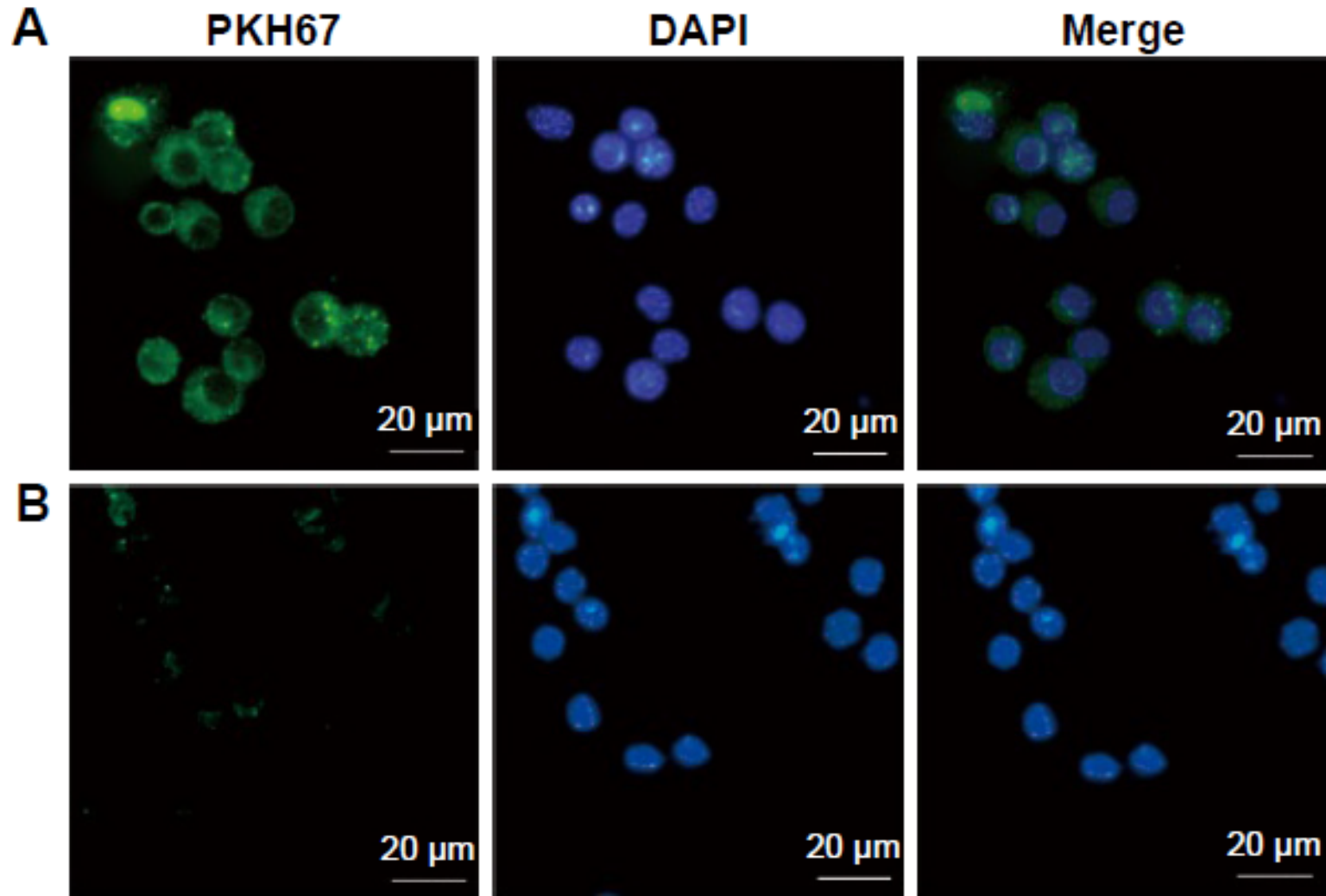
Particle size (nm)	Population (Exo-R) %	Population (Exo-M) %
1–50	81.3	79.3
51–100	12.7	17.2
101–150	5.6	3.2
151–500	0	0

Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* cultivados em meio de cultura

Exo-R: cepa RH

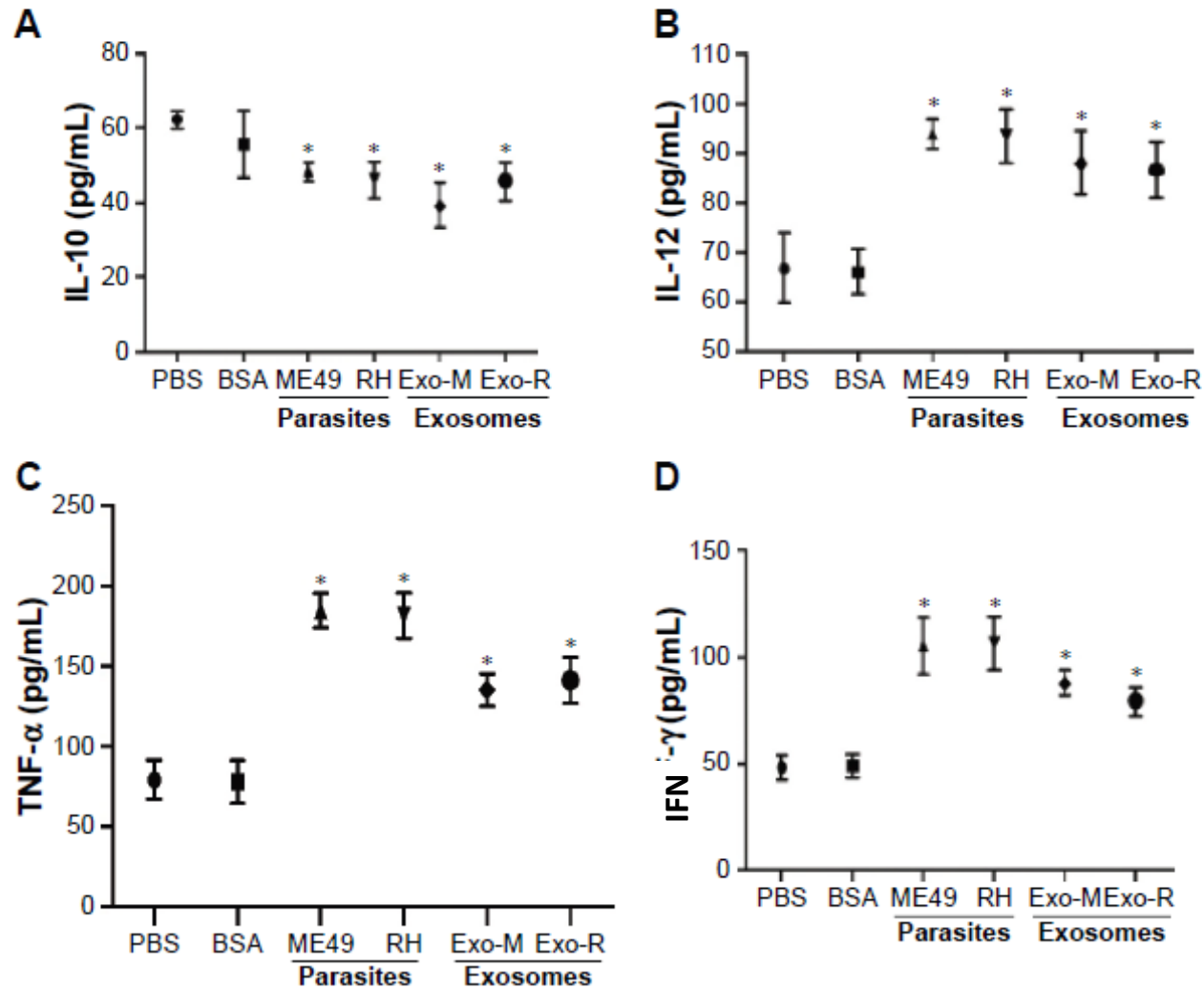
Exo-M: cepa ME49

Macrófagos fagocitam exossomos de T. gondii



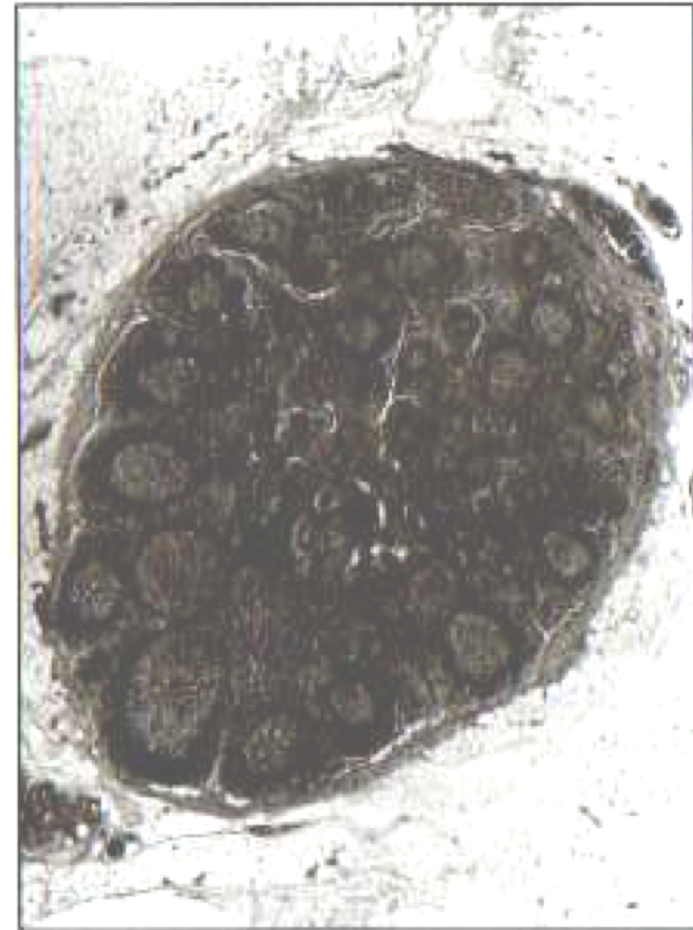
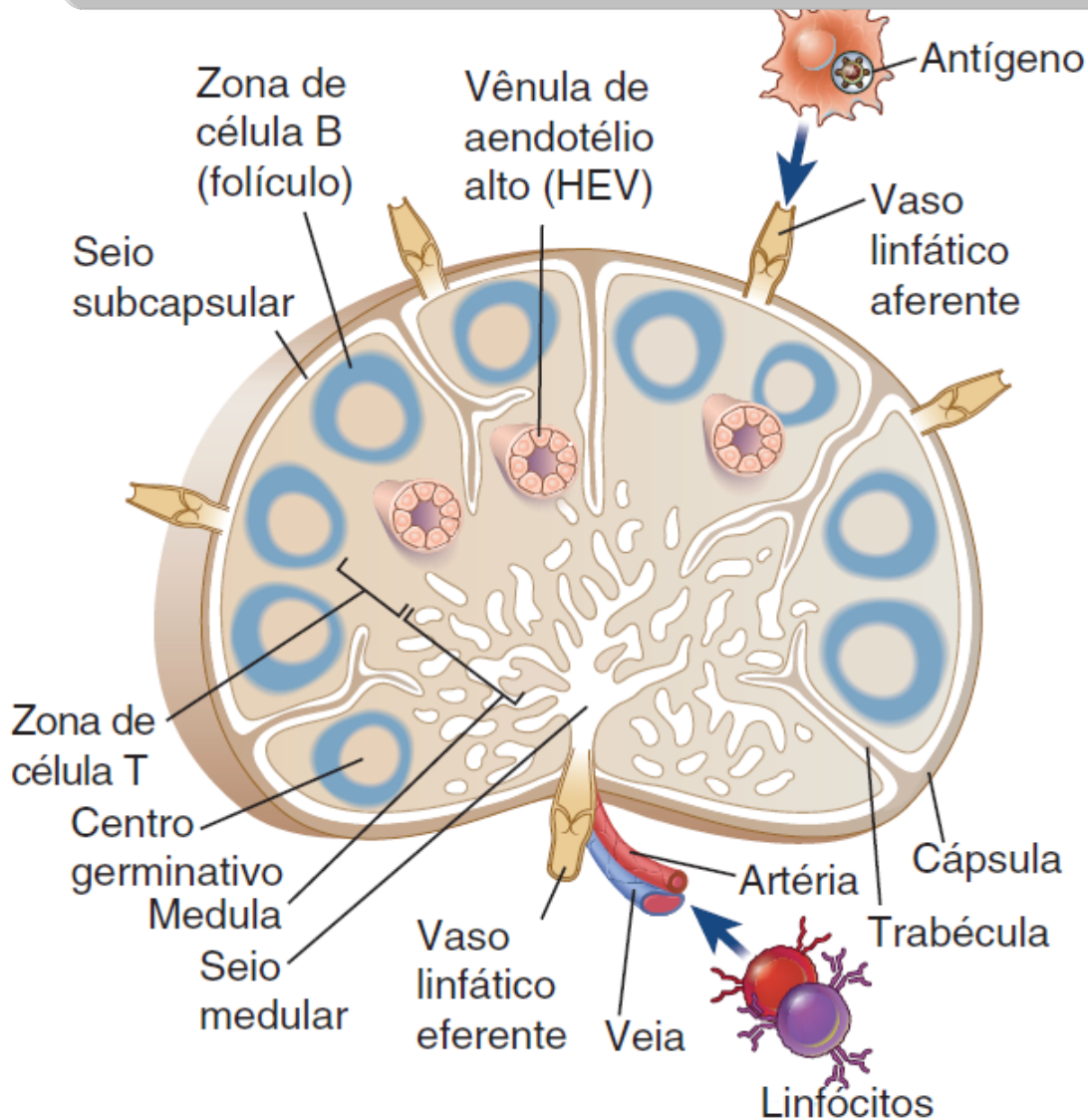
PKH67: marcador fluorescente
DAPI: marcador de núcleo

T. gondii e seus exossomos induzem produção de citocinas inflamatórias



Linhagem RAW264.7

Imunidade Adaptativa ao Toxoplasma gondii



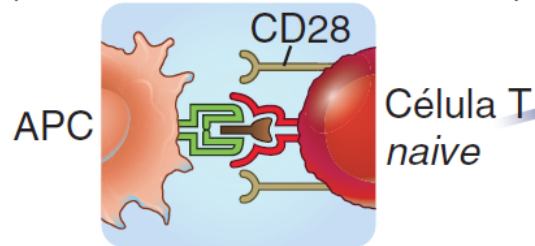
Abbas, Lichtman, Pillai, 6a. Edição, 2008.

Imunidade Adaptativa ao Toxoplasma gondii

Reconhecimento do antígeno

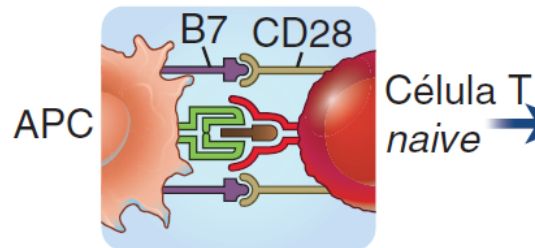
Resposta da célula T

- A APC não ativada
(deficiente em coestimulador)



**Ausência de resposta
ou tolerância**

- B APC ativada por microrganismos,
respostas imunes inatas:
expressão aumentada
de coestimuladores



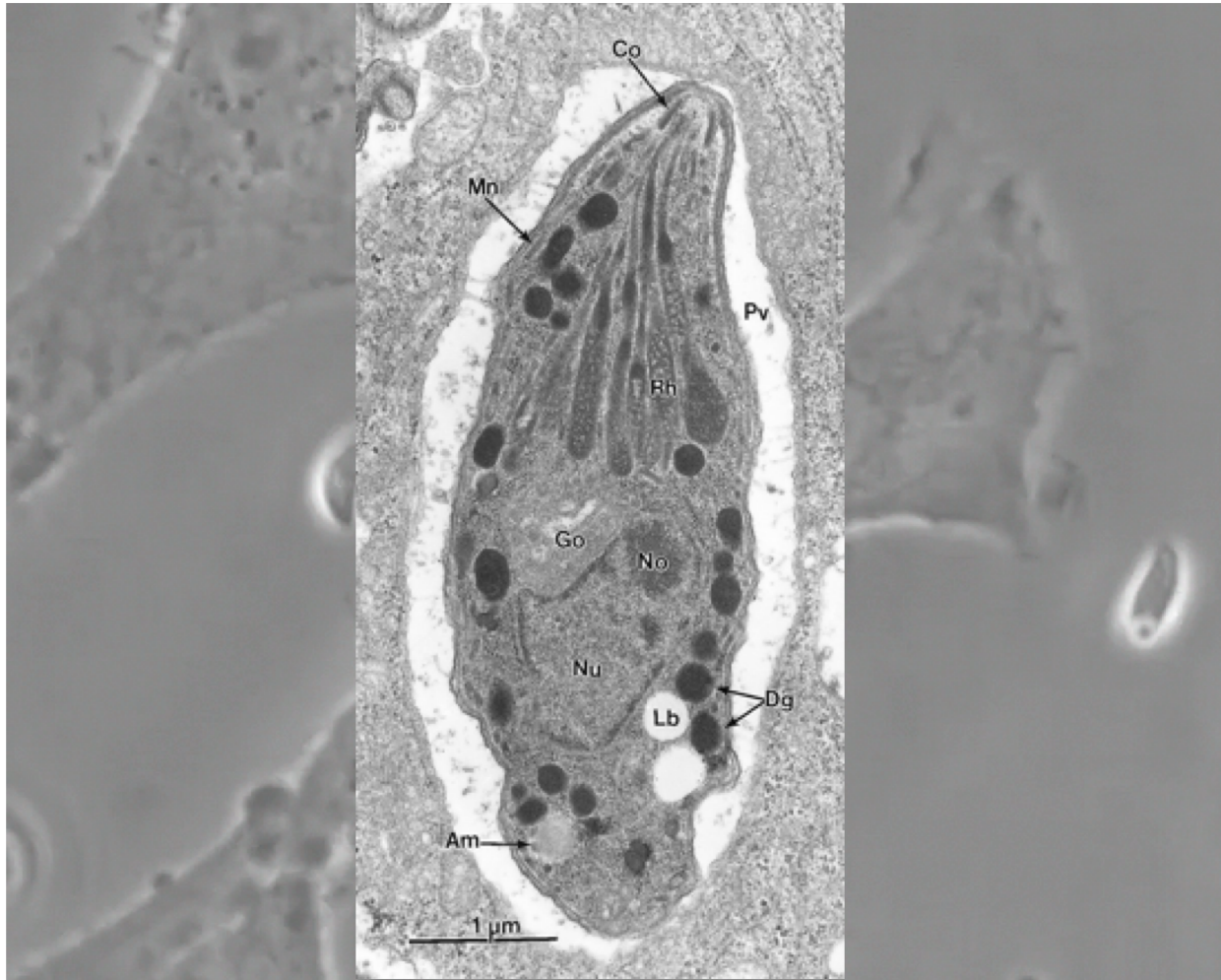
Células T
efetoras

**Sobrevivência da
célula T, proliferação
e diferenciação**

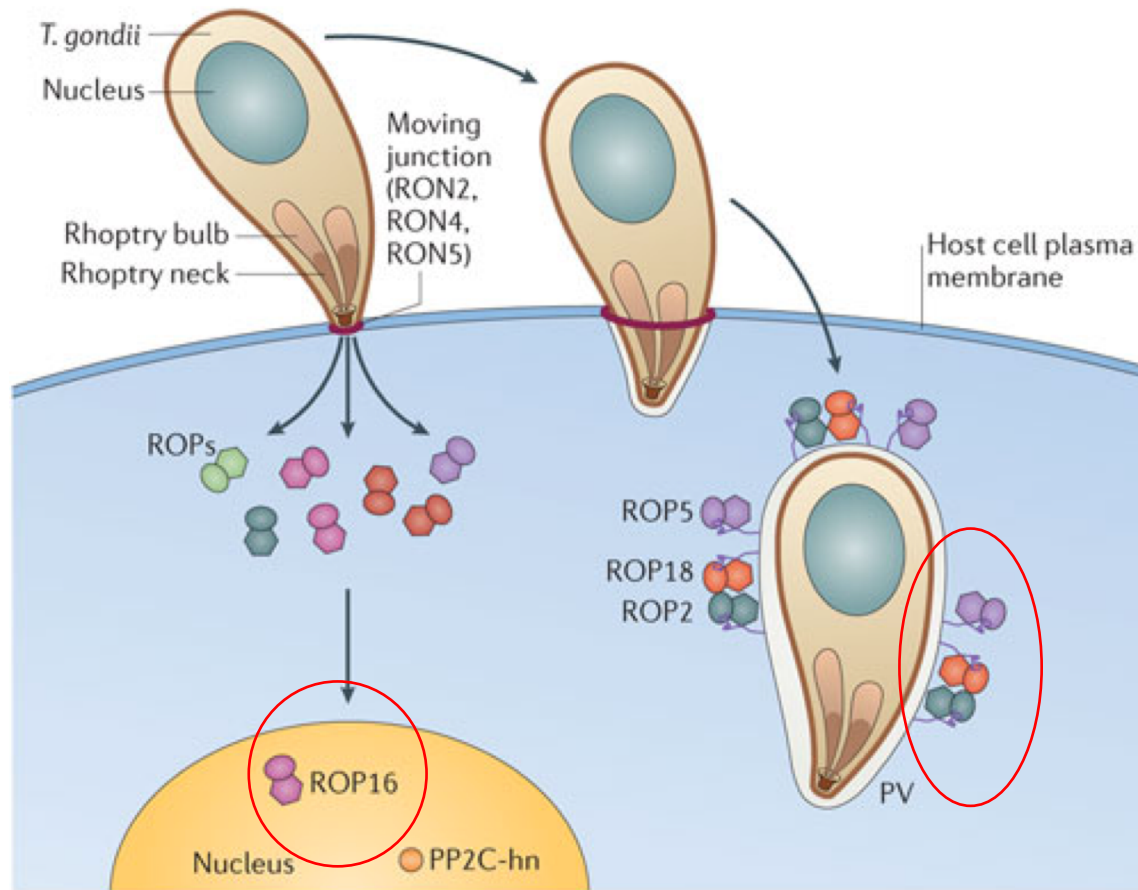
Invasão

- Parasitas intracelulares obrigatórios.
- Taquizoítos de *T. gondii* invadem qualquer célula nucleada.
- Desenvolvem-se dentro de um vacúolo parasitóforo.
- Invasão (depende de motilidade):
 - Aproximação
 - Adesão
 - Formação de junção entre as membranas
 - Entrada no VP

T. gondii + HFF in vitro

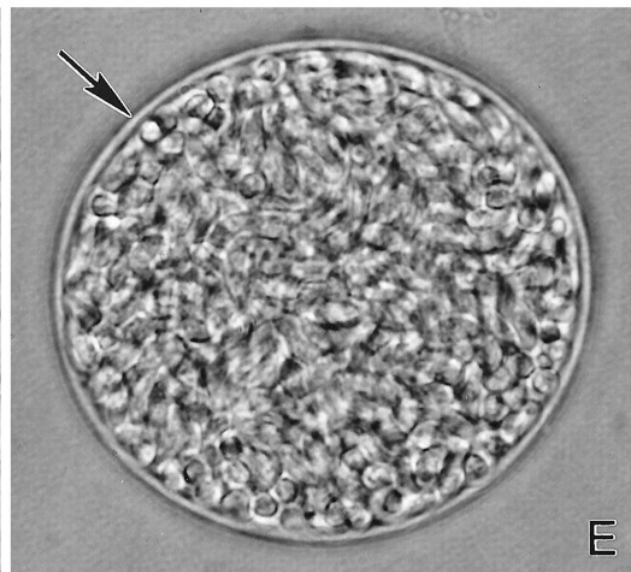
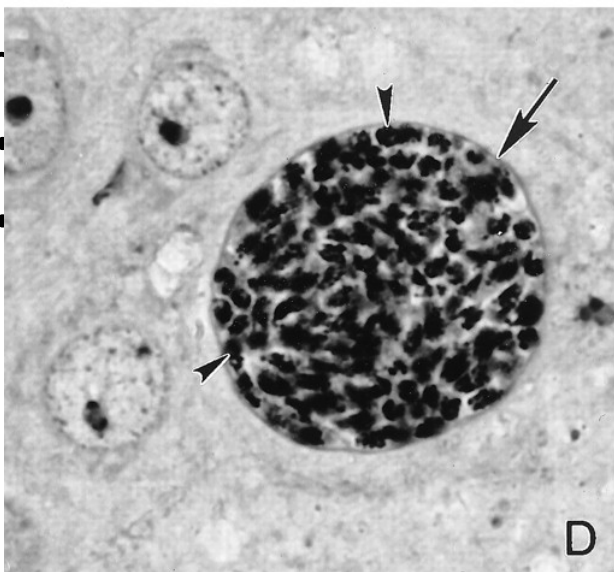
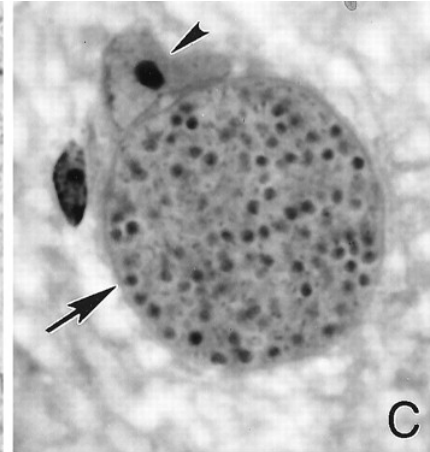
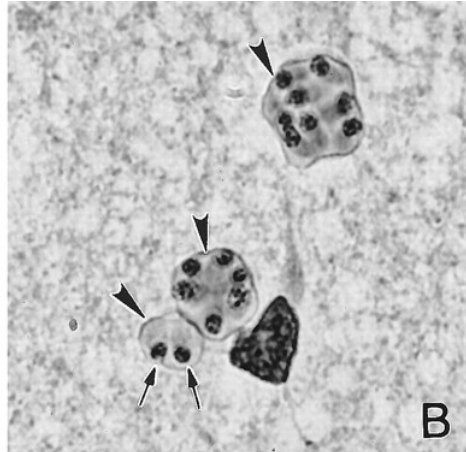


Modelo de invasão



Evasão

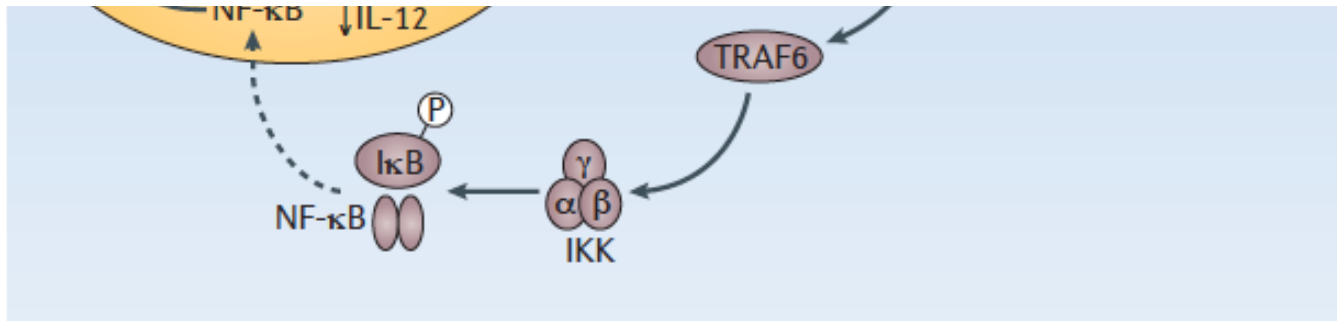
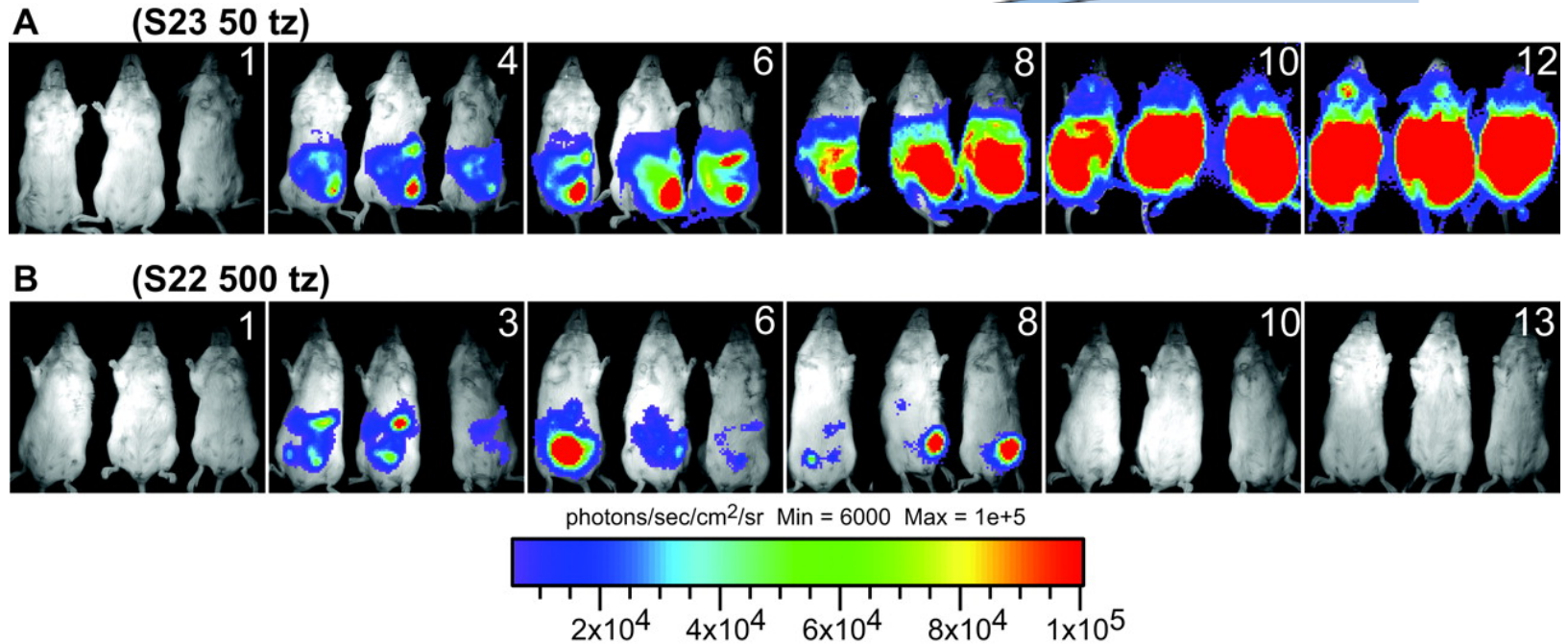
- Assim
- fusã
- Algu
- tecio



pede a
cistos
das

Tissue cysts of *T. gondii* in mouse brains.

Manipulação da célula hospedeira



Citocinas: "3^o sinal": diferenciação

IL-12

IL-18

IFN tipo I

IFN- γ

IL-4

IL-25

IL-33

TSLP

IL-6

TGF- β

IL-1

IL-23

TGF- β

IL-2

CXCL13

IL-6

IL-21

STAT1
STAT4
T-bet

STAT6
GATA-3

STAT3
ROR γ t

STAT5
Foxp3

Bcl6

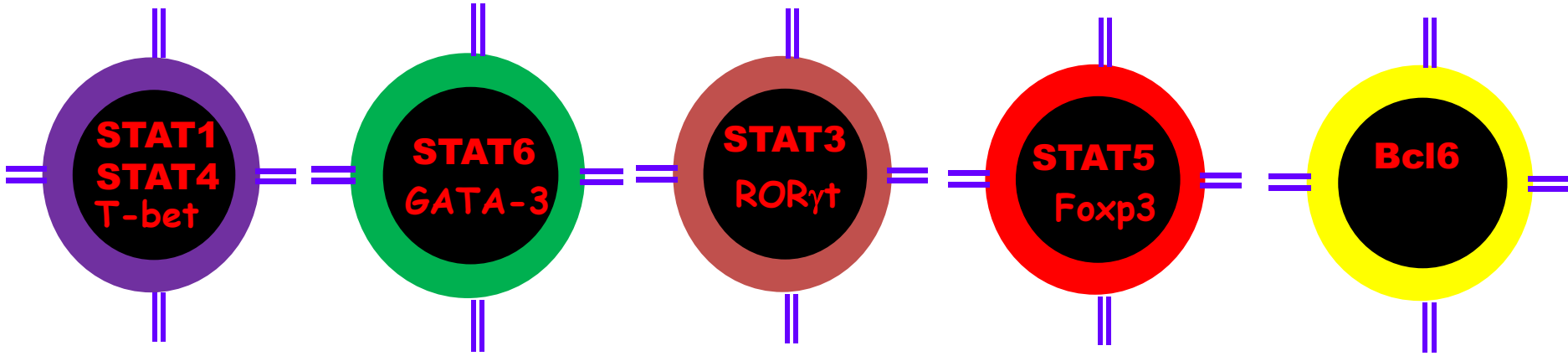
Th1

Th2

Th17

Treg

Tfh



Citocinas: “3^o sinal”: diferenciação

IL-12

IL-18

IFN tipo I

IFN- γ

IL-4

IL-25

IL-33

TSLP

IL-6

TGF- β

IL-1

IL-23

TGF- β

IL-2

CXCL13

IL-6

IL-21

STAT1
STAT4
T-bet

STAT6
GATA-3

STAT3
ROR γ t

STAT5
Foxp3

Bcl6

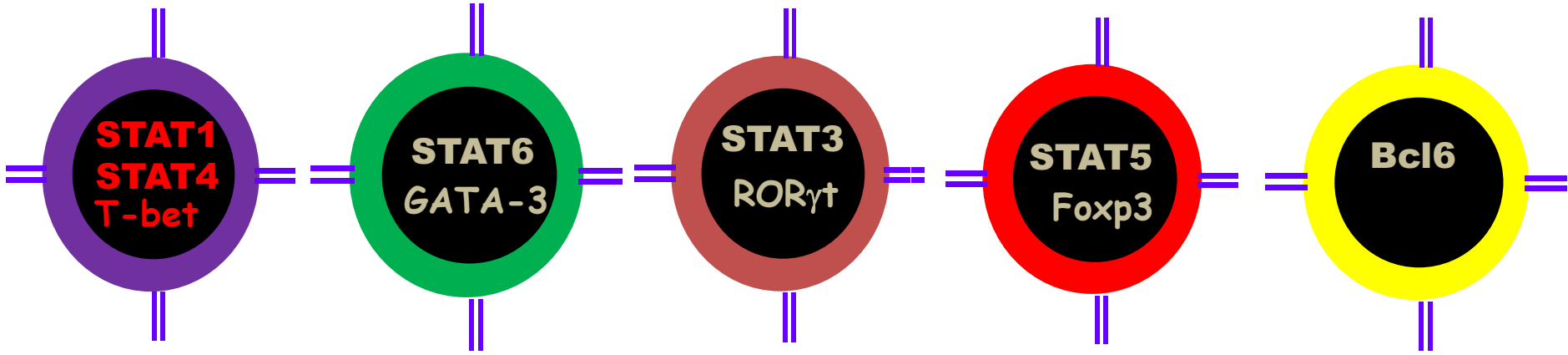
Th1

Th2

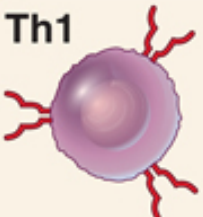

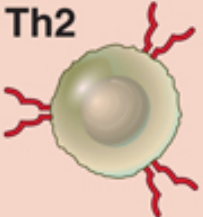


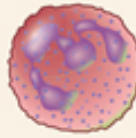
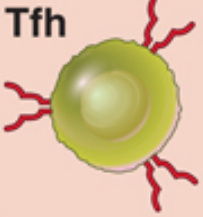
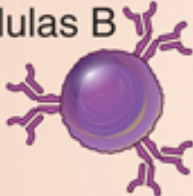
Th17

Treg

Tfh



Subpopulações de Células CD4+ (T helper)

Células T efectoras	Citocinas definidoras	Principais células-alvo	Principais reações imunes	Defesa do hospedeiro	Papel na doença
Th1 	IFN- γ	Macrófagos 	Ativação de macrófago	Patógenos intracelulares	Autoimunidade; inflamação crônica
Th2 	IL-4 IL-5 IL-13	Eosinófilos 	Ativação de eosinófilos e mastócitos; ativação alternativa de macrófagos	Helmintos	Alergia
Th17 	IL-17 IL-22	Neutrófilos 	Recrutamento e ativação de neutrófilos	Bactérias e fungos extracelulares	Autoimunidade; inflamação
Tfh 	IL-21 (e IFN- γ ou IL-4)	Células B 	Produção de anticorpos	Patógenos extracelulares	Autoimunidade (autoanticorpos)

Subpopulações de Células CD4+ (T helper)

Células T efectoras	Citocinas definidoras	Principais células-alvo	Principais reações imunes	Defesa do hospedeiro
Th1 	IFN- γ	Macrófagos 	Ativação de macrófago	Patógenos intracelulares

Resposta do macrófago

Papel na imunidade mediada por célula

Produção de óxido nítrico, aumento de enzimas lisossômicos, espécies reativas de oxigênio

Killing de microrganismos em fagolisossomos (função efetora de macrófagos)

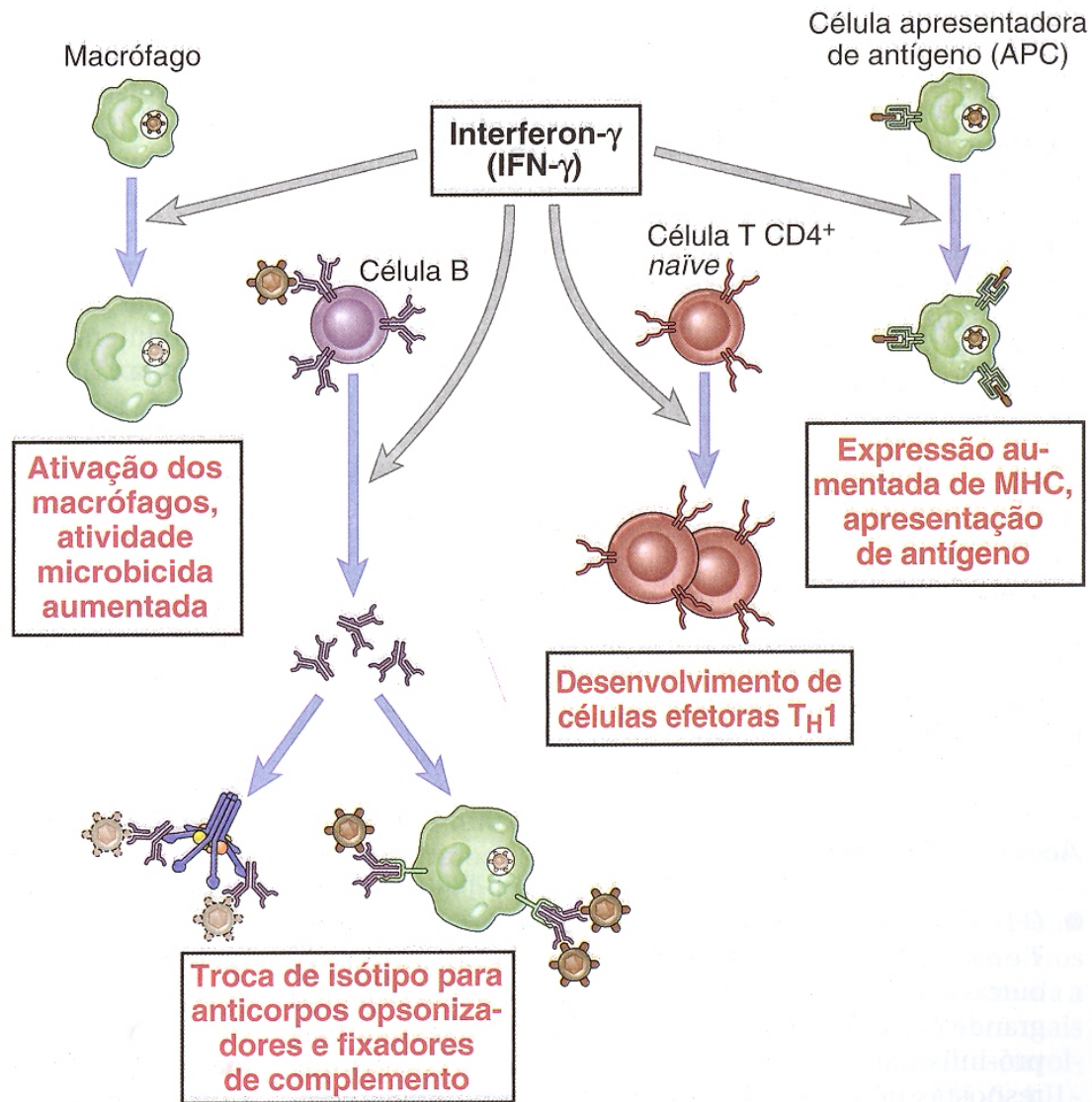
Secreção de citocinas (TNF, IL-1, IL-12) e quimiocinas

TNF, IL-1, quimiocinas: recrutamento de leucócitos (inflamação)
IL-12: diferenciação Th1, produção de IFN- γ

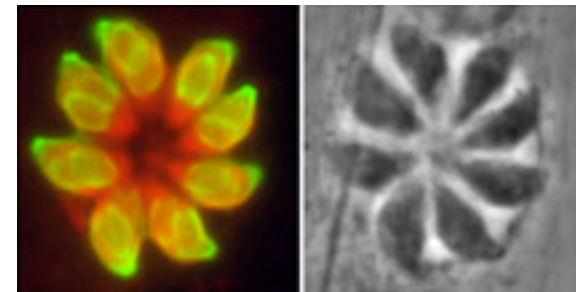
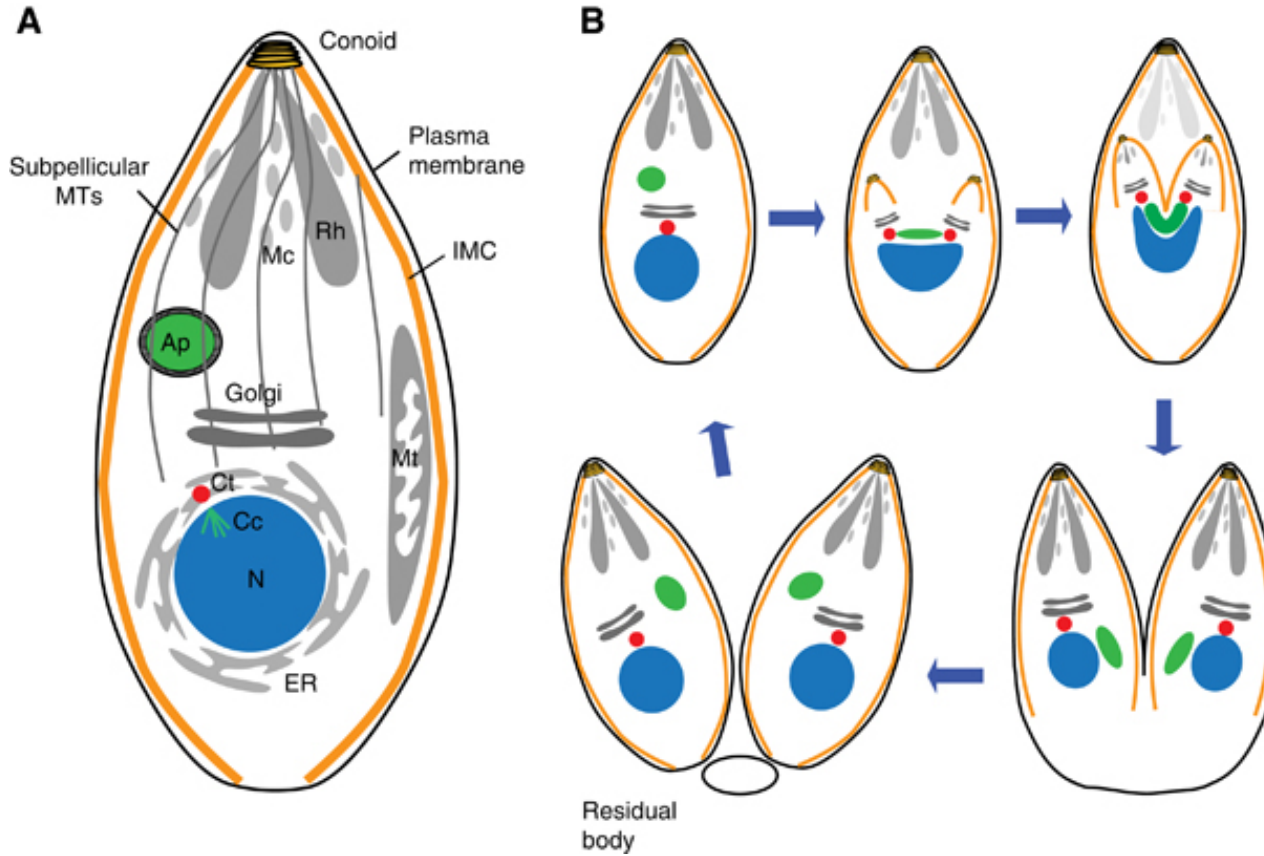
Expressão aumentada de coestimuladores B7, moléculas do MHC

Ativação aumentada de célula T (amplificação da resposta de célula T)

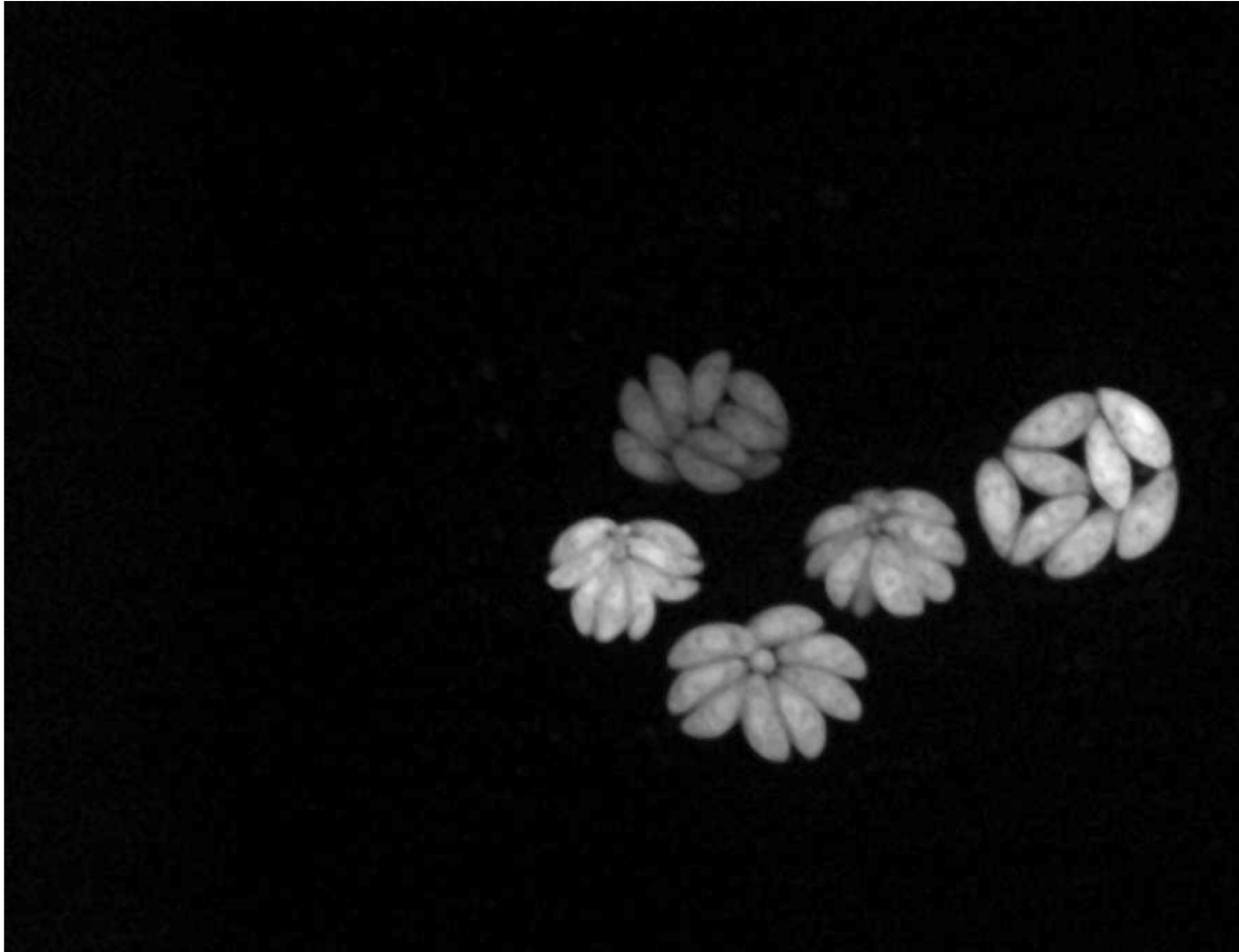
Subpopulação de Células Th1



Endodiogenia



Multiplicação no vacúolo

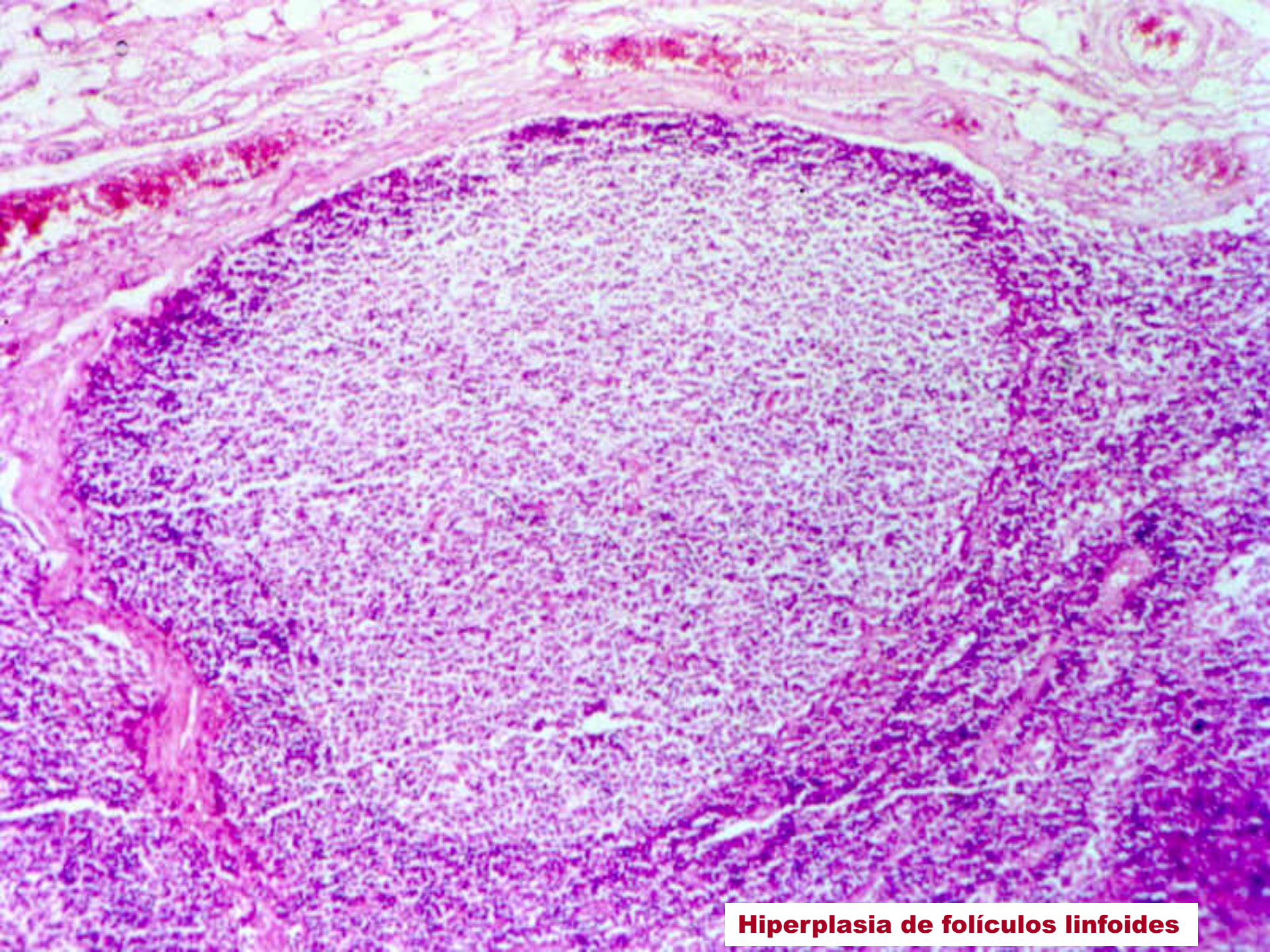


Egresso



Toxoplasmose

- Aguda – linfadenopatia
- Congênita – placentite, encefalite, disseminada
- Crônica
 - Reativação em imunossuprimidos (HIV)
- Ocular

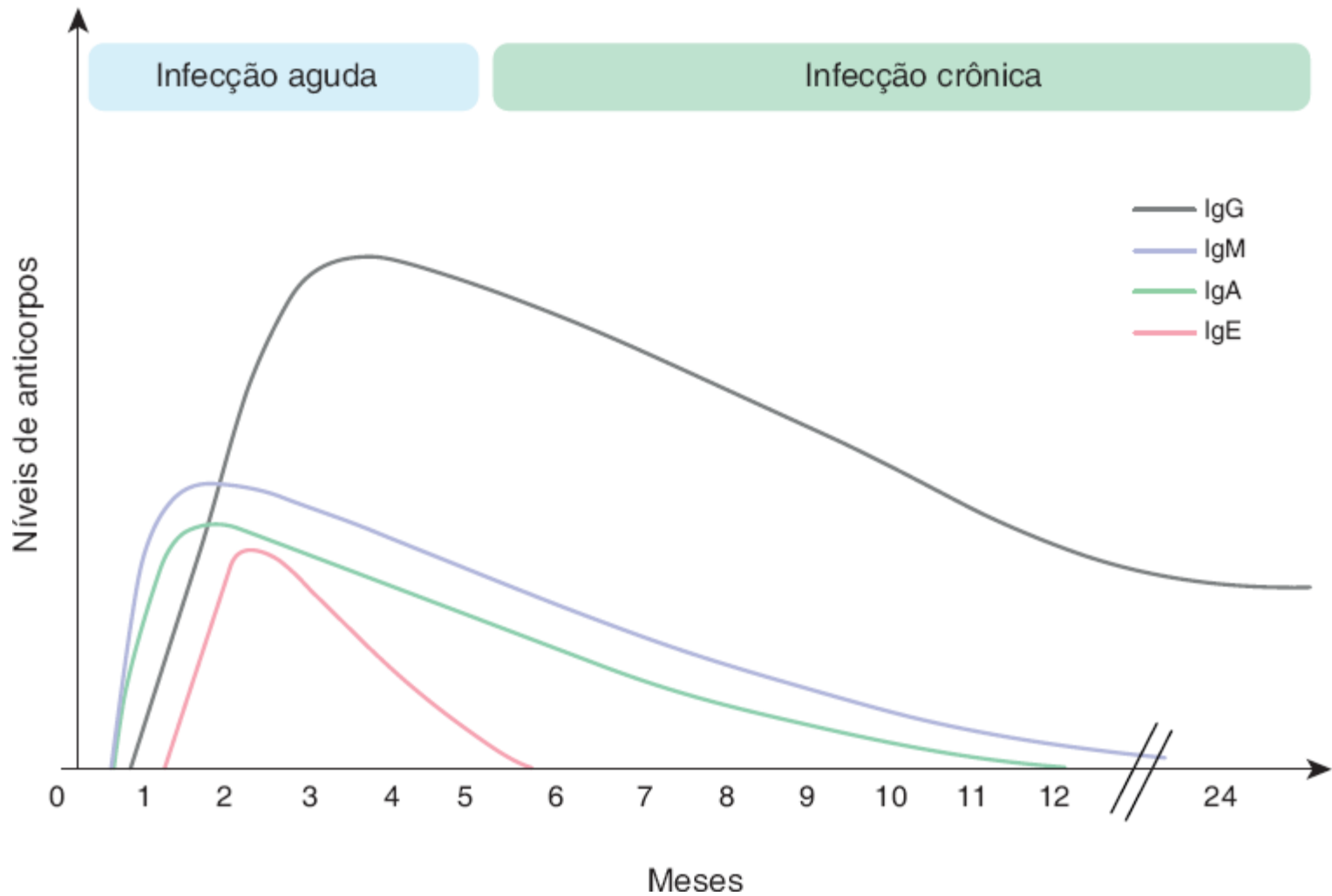


Hiperplasia de folículos linfoides

Diagnóstico parasitológico

- Demonstração do organismo em necropsia ou biópsia
- Inoculação intraperitoneal em camundongo de material de biópsia de gânglio linfático, fígado ou baço
- Cultura dos parasitos em fibroblastos
- Técnica de PCR para detecção do DNA do parasito em amostras de tecido.

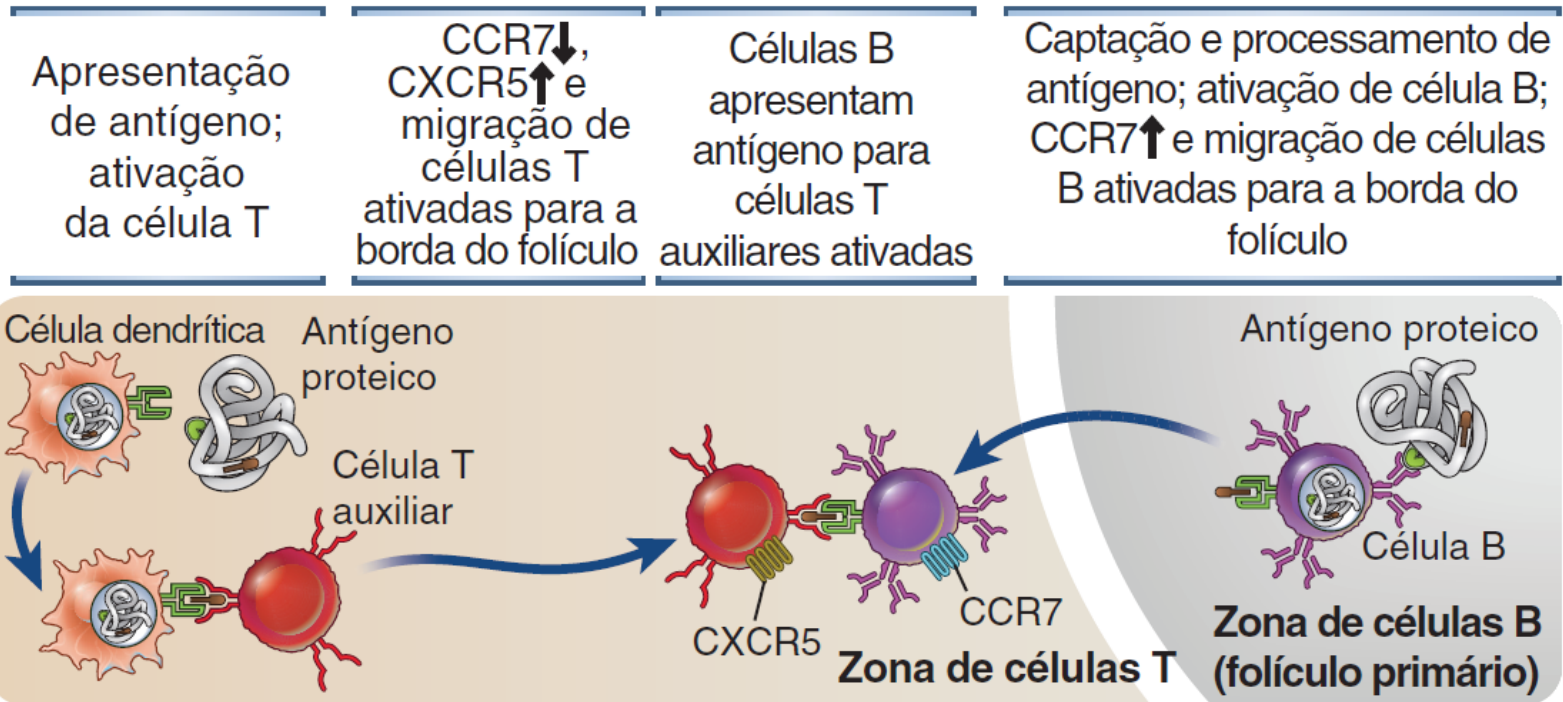
Cinética de Produção de Anticorpos ao Longo da Infecção por T. gondii



DO do Estado de São Paulo - 2010

IgG	IgM	Interpretação
Reagente	Não reagente	Gestante com infecção prévia ou toxoplasmose crônica Não tratar
Reagente	Reagente	Gestante pode ter infecção recente - Confirmar com teste de avidéz de IgG
Não reagente	Reagente	Gestante pode estar em soroconversão com infecção recente ou toxoplasmose aguda Tratar
Não reagente	Não reagente	Gestante suscetível (nunca foi infectada) Reforçar orientação de profilaxia

Importância das Quimiocinas para as Interações B:T

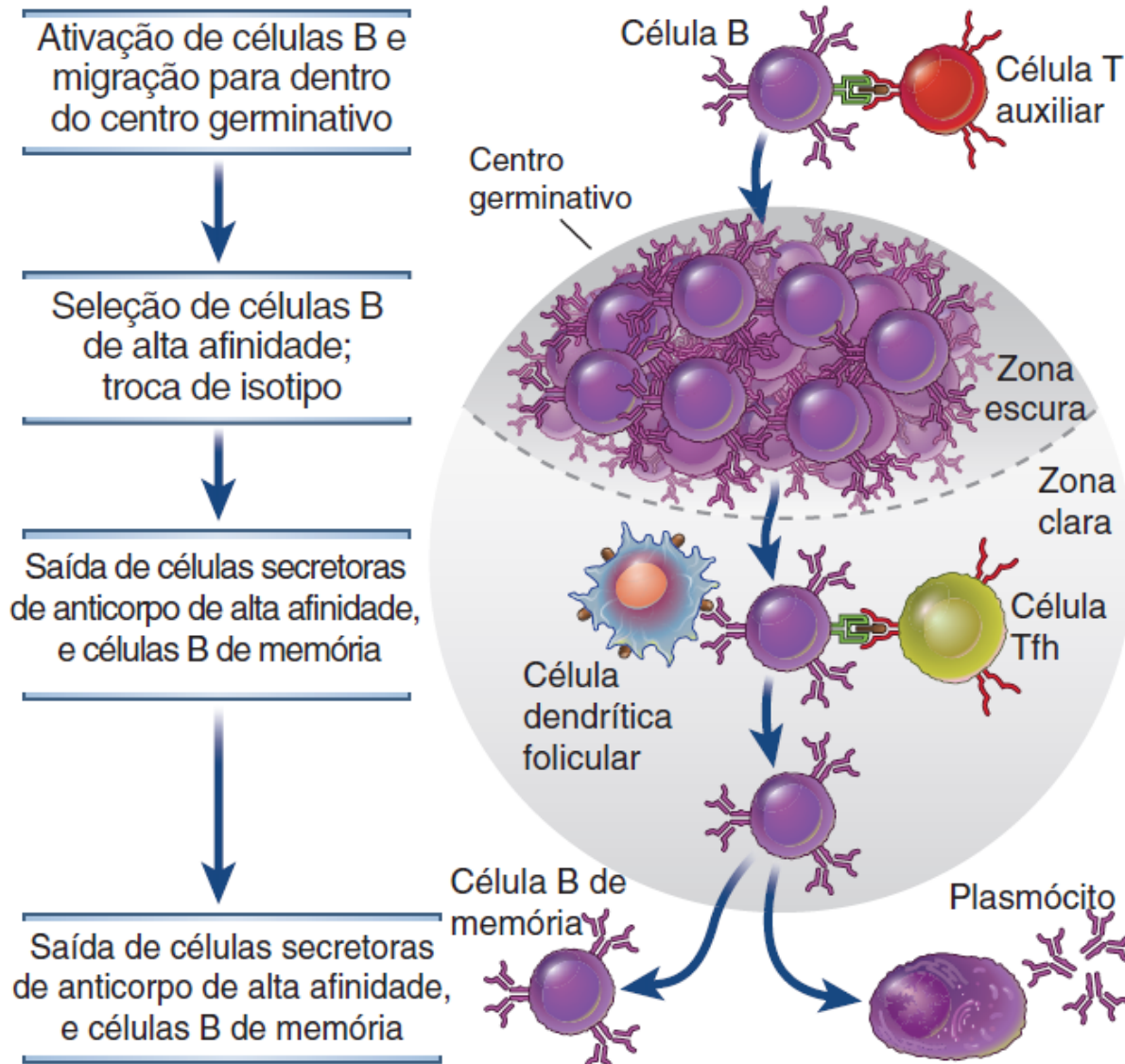


- CXCL13: liga CXCR5 (folículo)

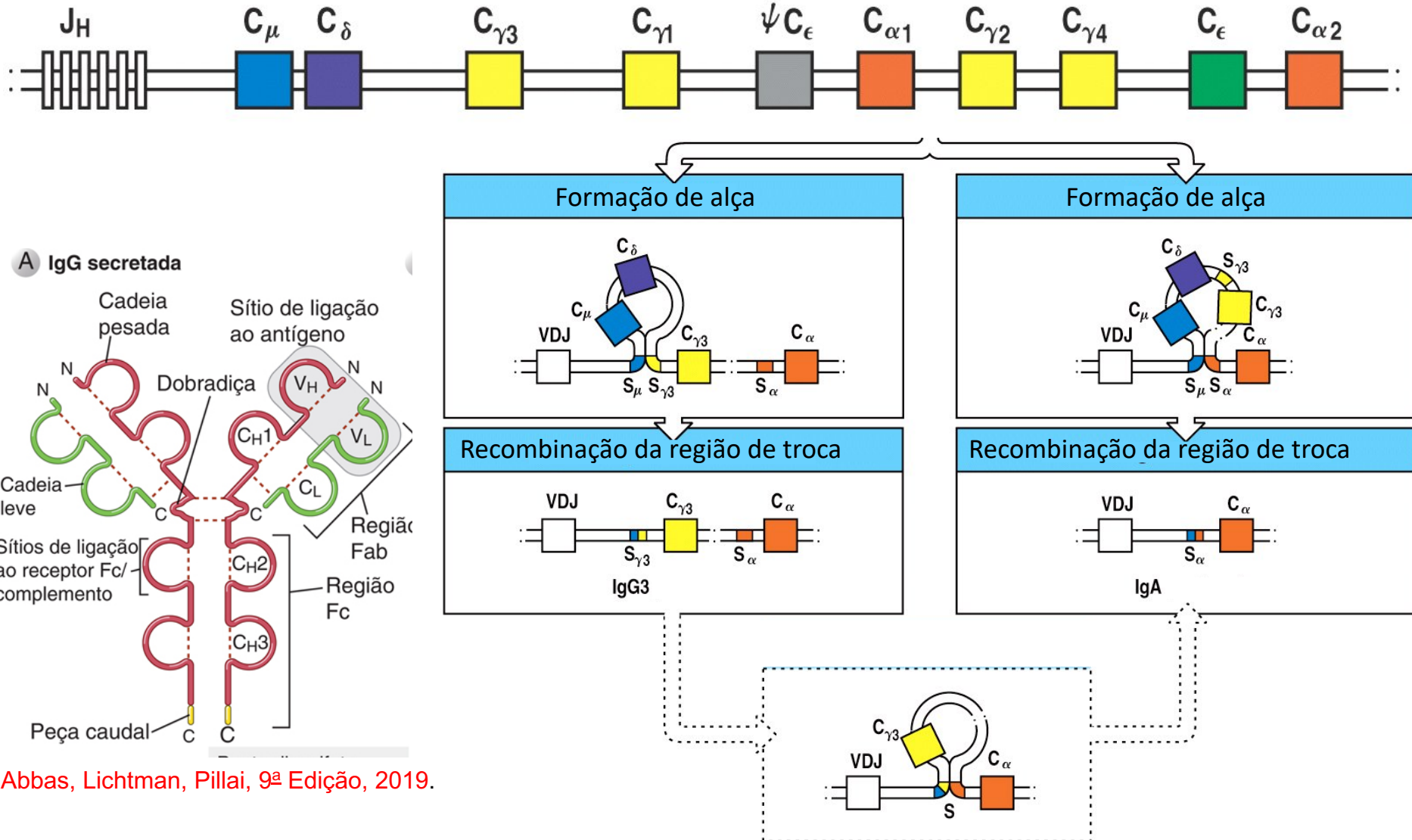
- CCL19 e CCL21: ligam CCR7 (região parafolicular/paracortical)

<https://www.youtube.com/watch?v=GZv6jpsB01I>

Reação de Centro Germinativo



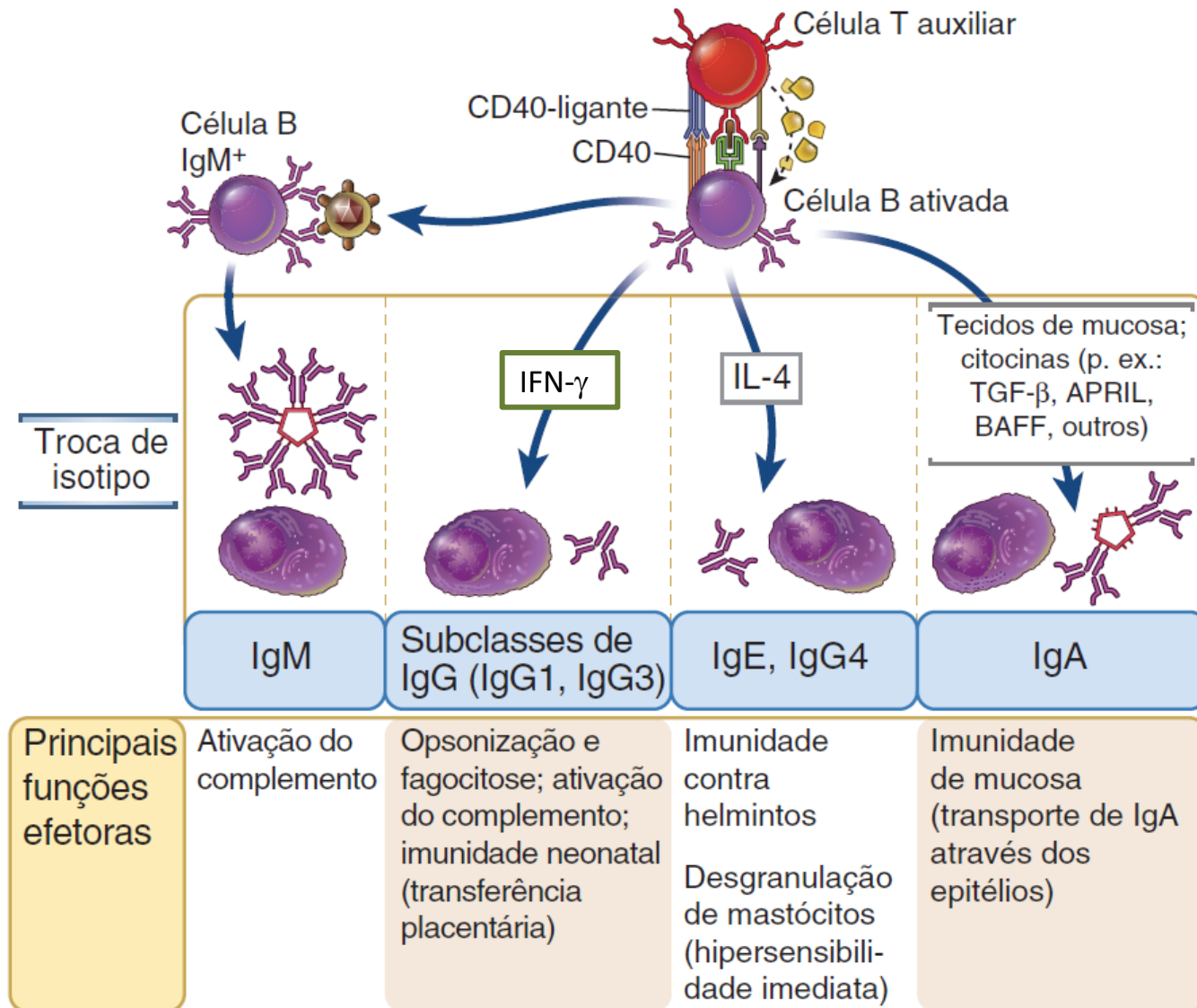
Troca de isotipo (“switch” de classe)



Abbas, Lichtman, Pillai, 9ª Edição, 2019.

Figure 4-21 Immunobiology, 6/e. © Garland Science 2005)

Mudanças de Isotipo da Cadeia Pesada

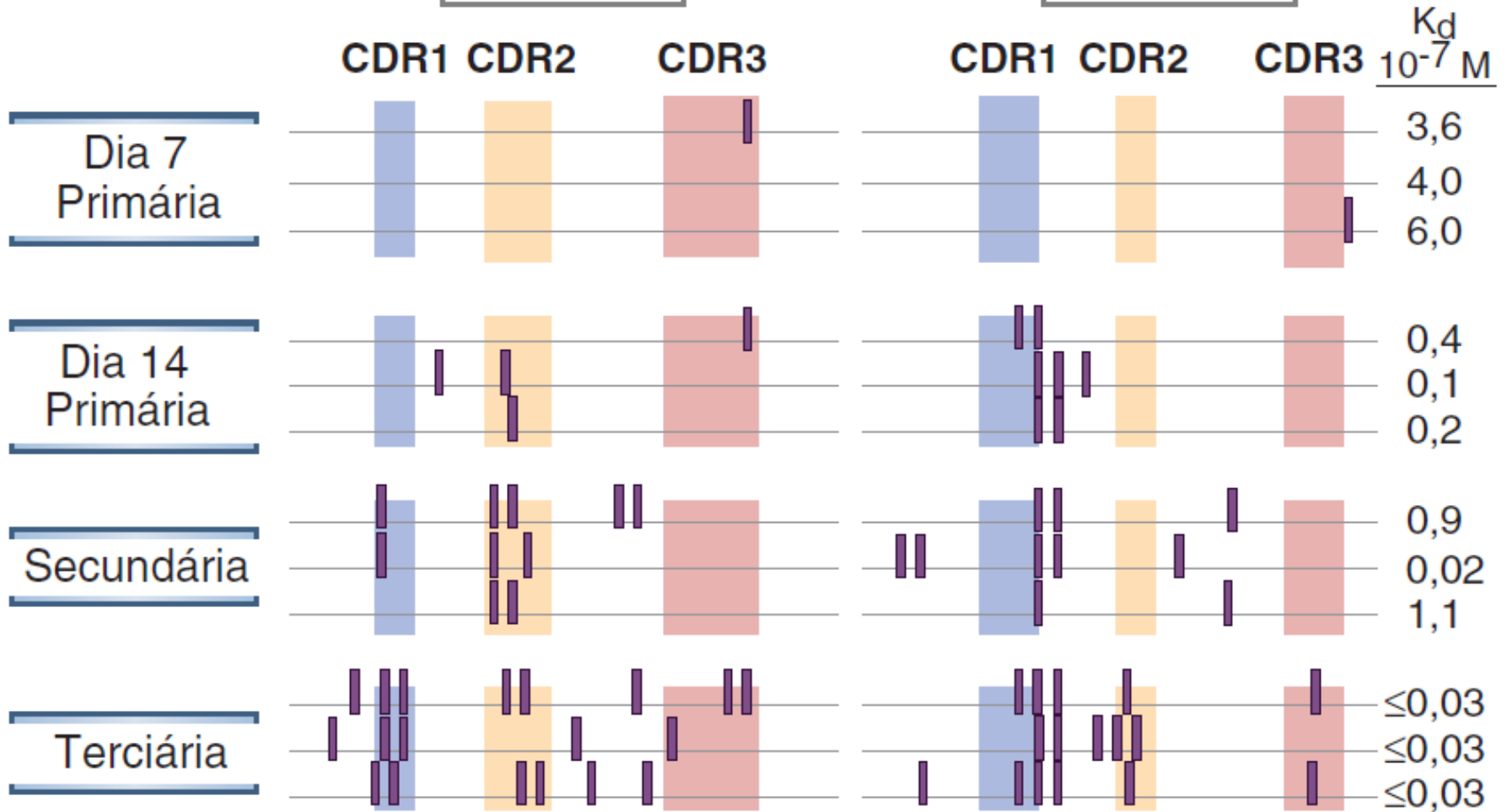


Hipermutações somáticas

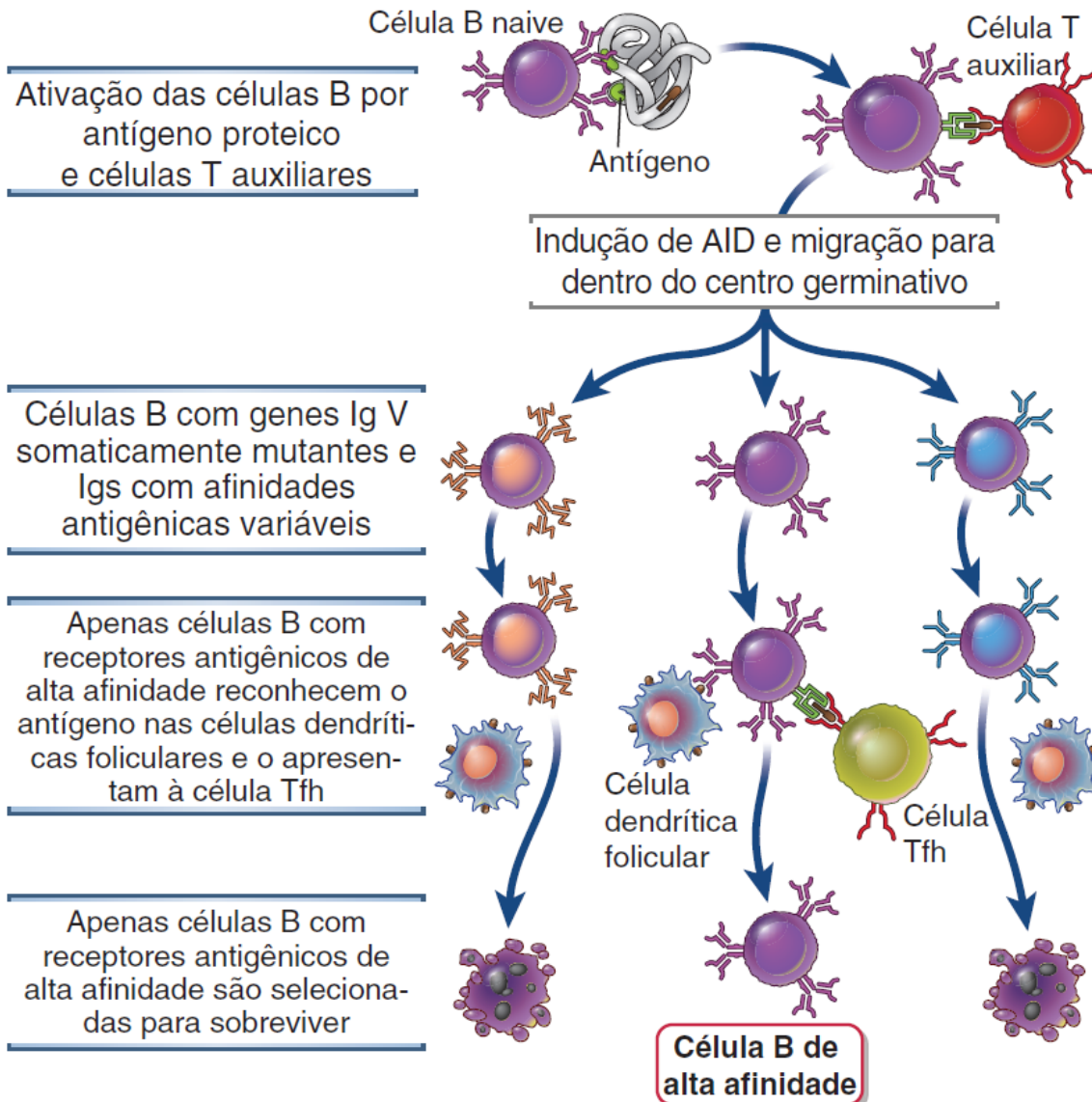
▬ Mutação pontual

Regiões V de
cadeia pesada

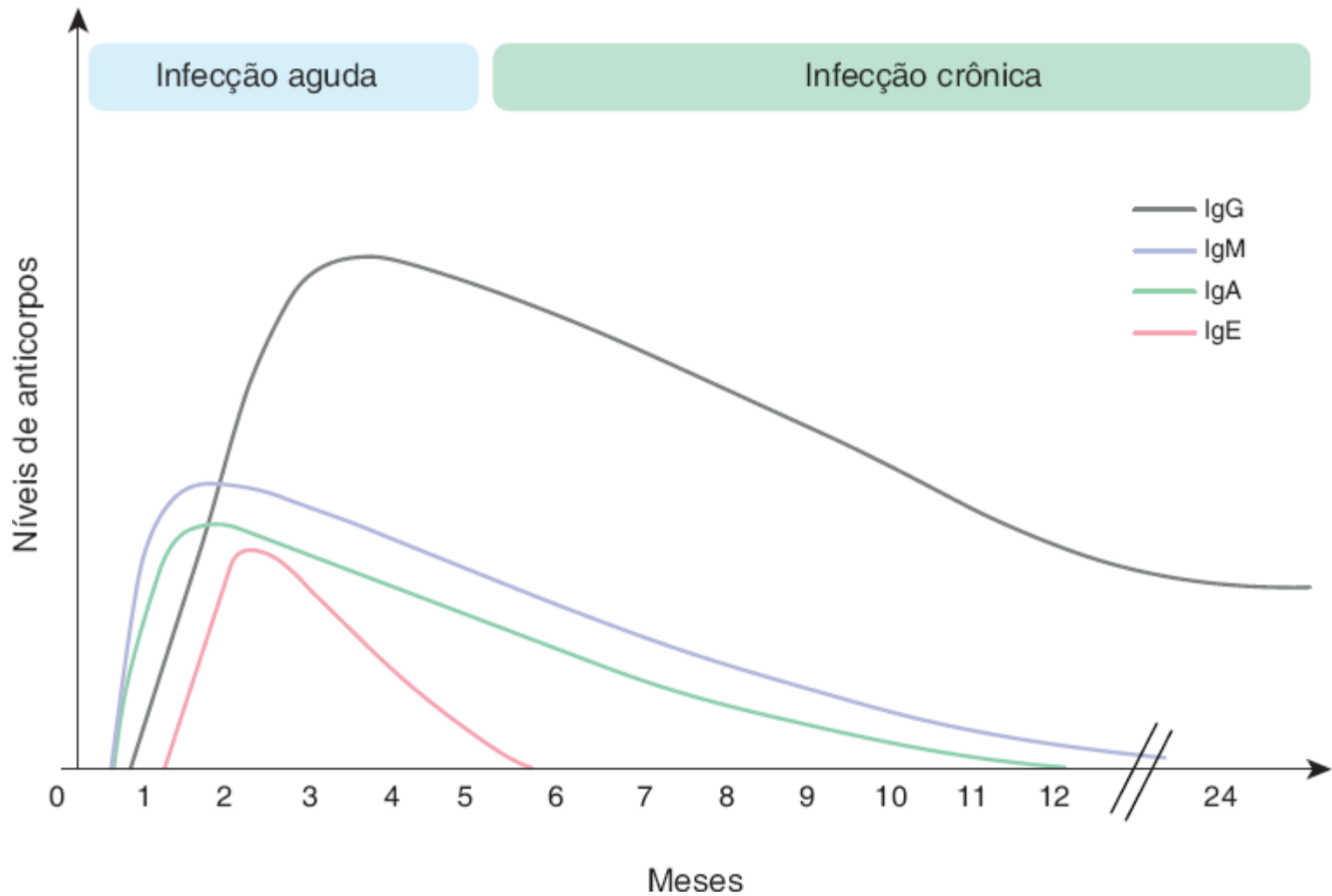
Regiões V de
cadeia leve



Seleção de Células B nos Centros Germinativos

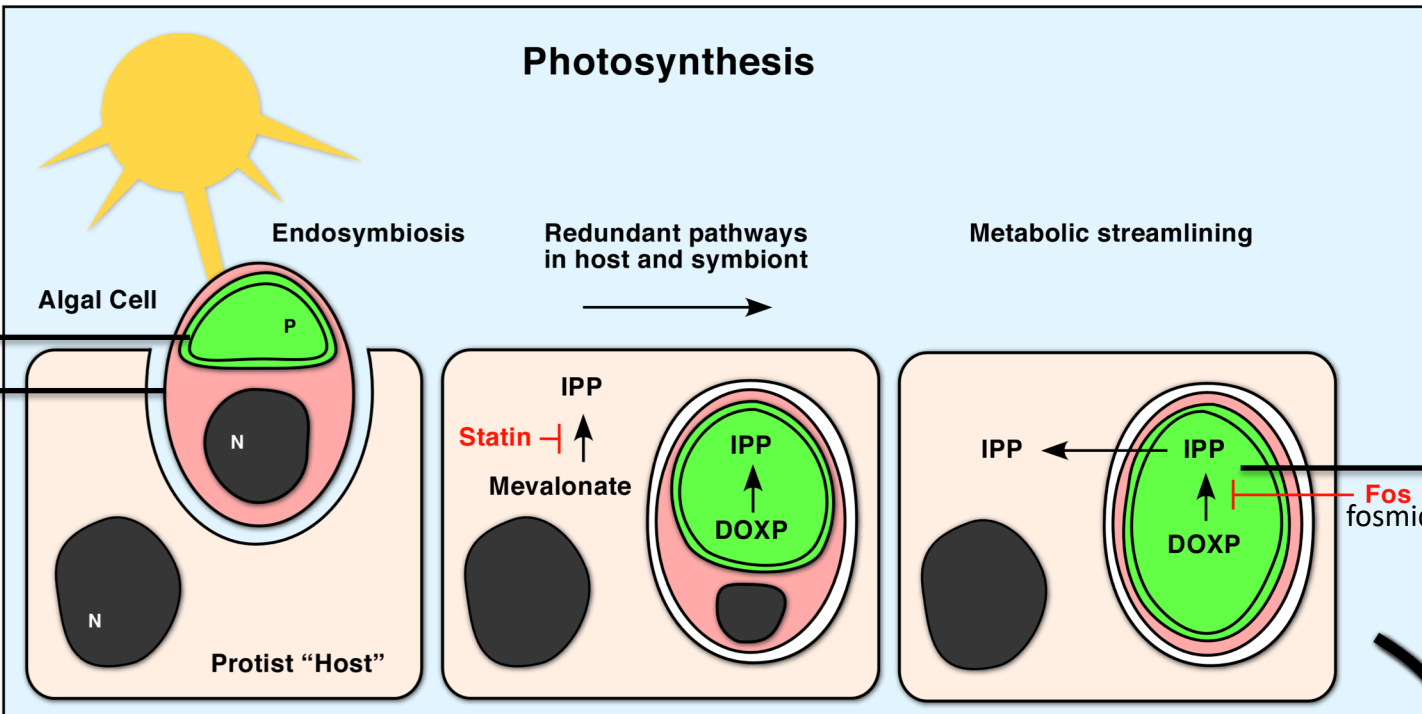


Cinética de Produção de Anticorpos ao Longo da Infecção por T. gondii

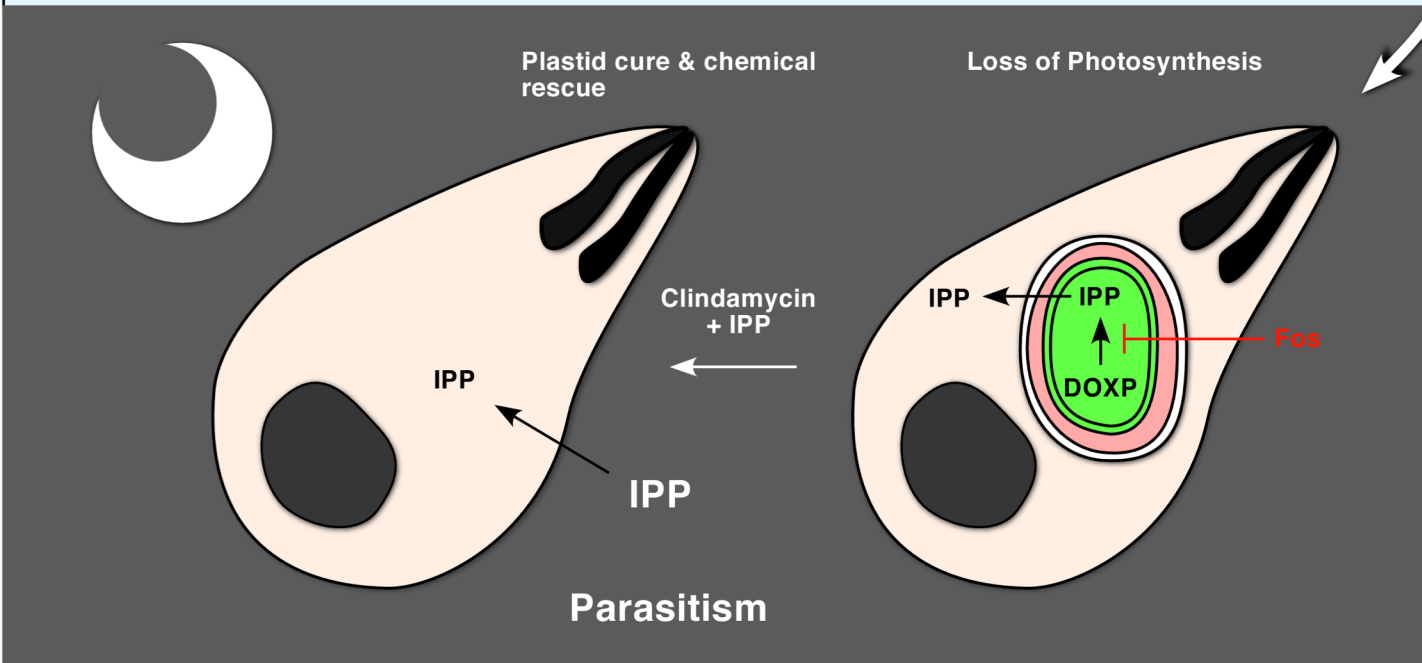


Como tratar a gestante:

Tempo de infecção	Medicamento	Duração
Primeiras 21 semanas	Espiramicina	Até o fim da gestação se o concepto não infectado
Fim do segundo trimestre ou no terceiro trimestre ou infecção fetal confirmada ou altamente suspeita	Sulfadiazina Pirimetamina Ac.folinico	até o fim da gestação



IPP (isoprenoides)
 Prenilação
 Membrana
 N-glicosilação
 Hormônios



Folate metabolism

TOXOPLASMA

Pteridine + PABA

Dihydropteroate synthetase

sulfadoxine

Dihydropteroic acid

Dihydrofolate

Dihydrofolate reductase

pyrimethamine

Tetrahydrofolate

FAH₄ cofactors

Thymidine

DNA

Purines

DNA
RNA

Methionine
Glycine
f-met-tRNA

PROTEINS

HUMAN

Preformed dietary folates

Dihydrofolate reductase

Tetrahydrofolate

FAH₄ cofactors

Thymidine

DNA

Purines

DNA
RNA

Methionine
Glycine
f-met-tRNA

PROTEINS

Parasites synthesize their own folic acid; unlike man, they cannot import preformed folic acid. Tetrahydrofolic acid is an essential cofactor for the synthesis of nucleic acid precursors, and some amino acids.

Vias de transmissão e Métodos de Controle

Ingestão de oocistos viáveis

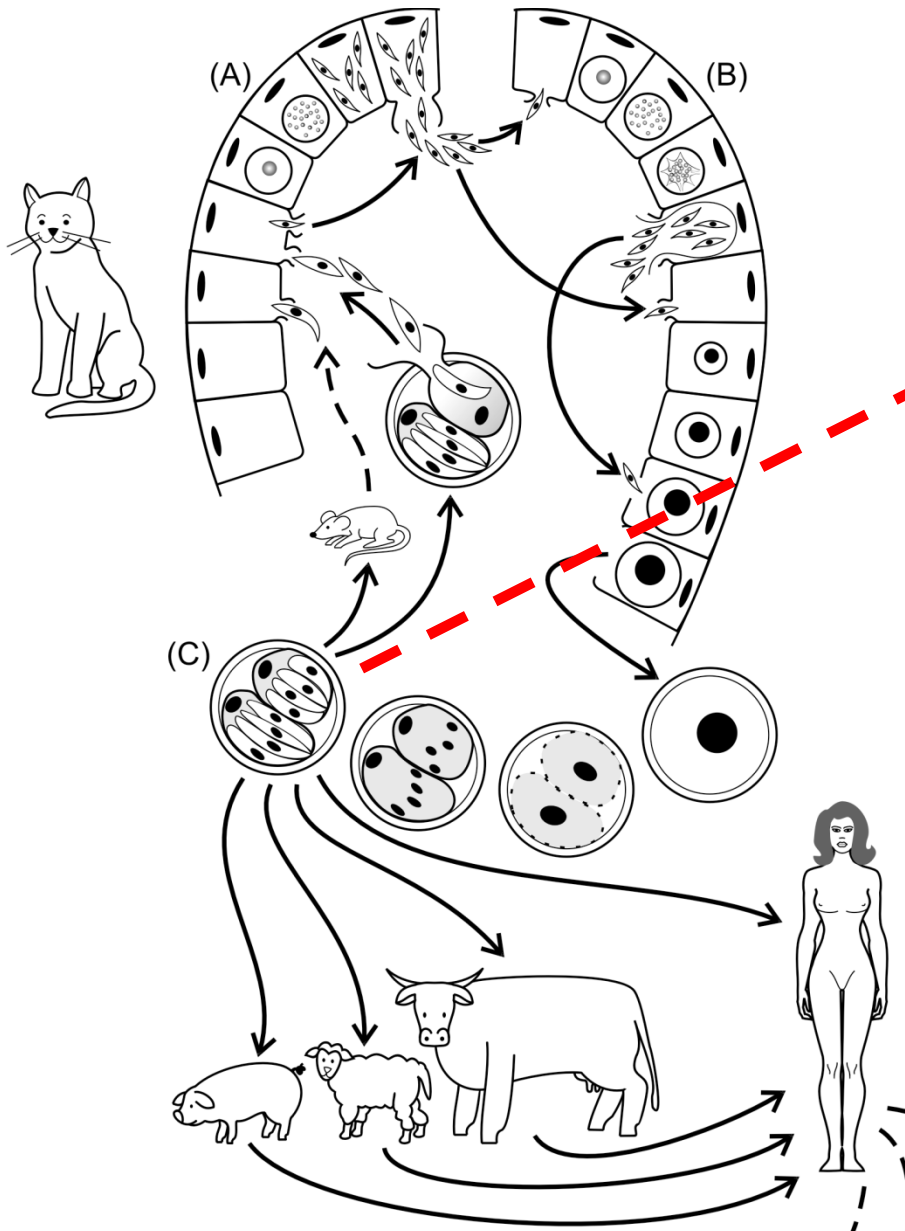
Higiene pessoal
(especialmente após
manipulação de gatos)

Cobrir caixas ou tanques de
areia

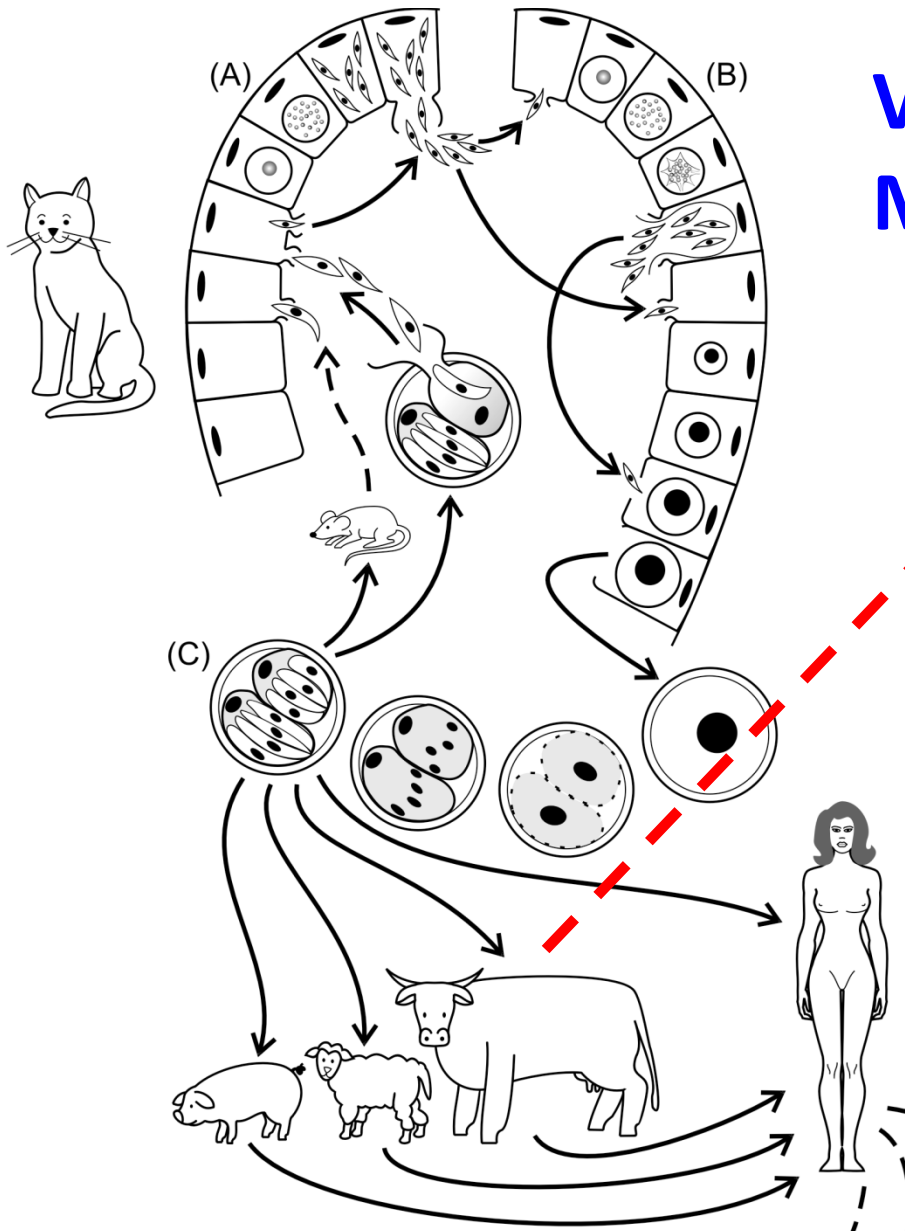
Não alimentar gatos com
carne crua

Água tratada

Lavar bem os alimentos



Vias de transmissão e Métodos de Controle

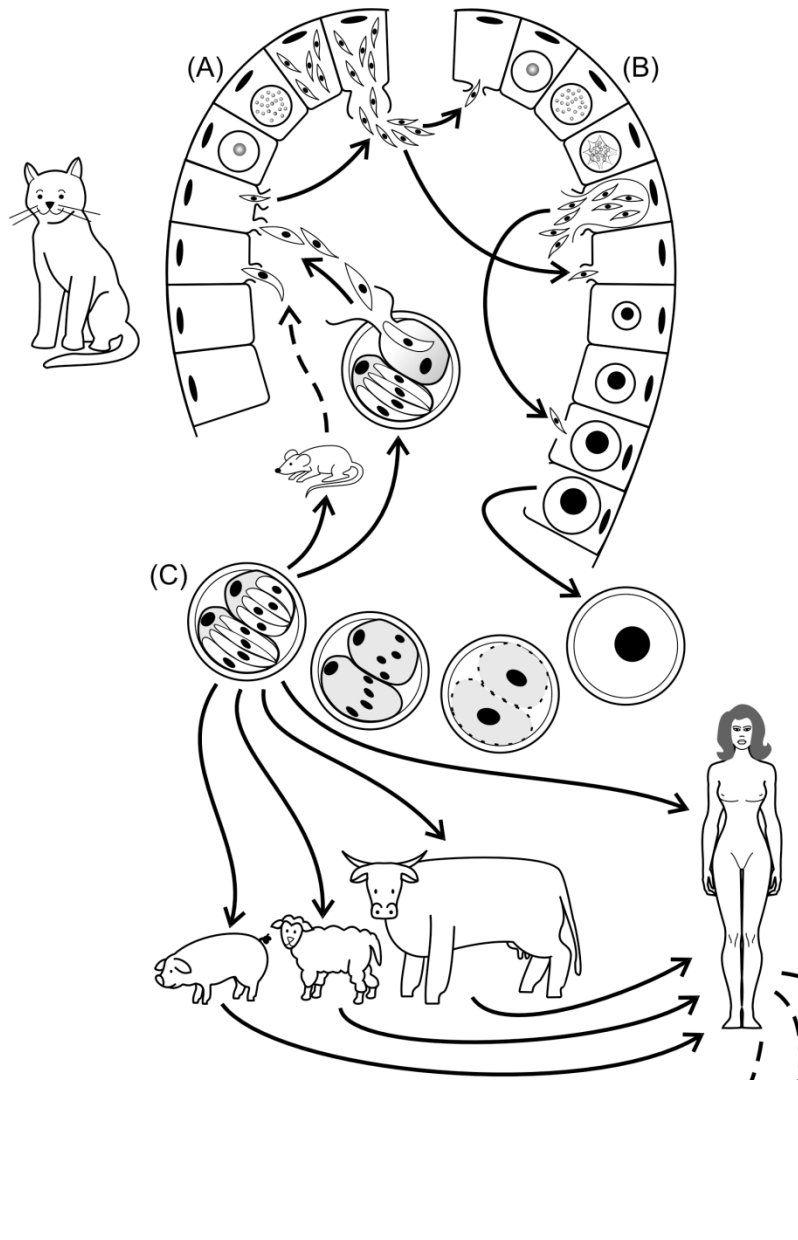


Consumo de carne

Ingerir carne bem cozida

Congelar a carne
(-20°C 24 horas)

Vias de transmissão e Métodos de Controle



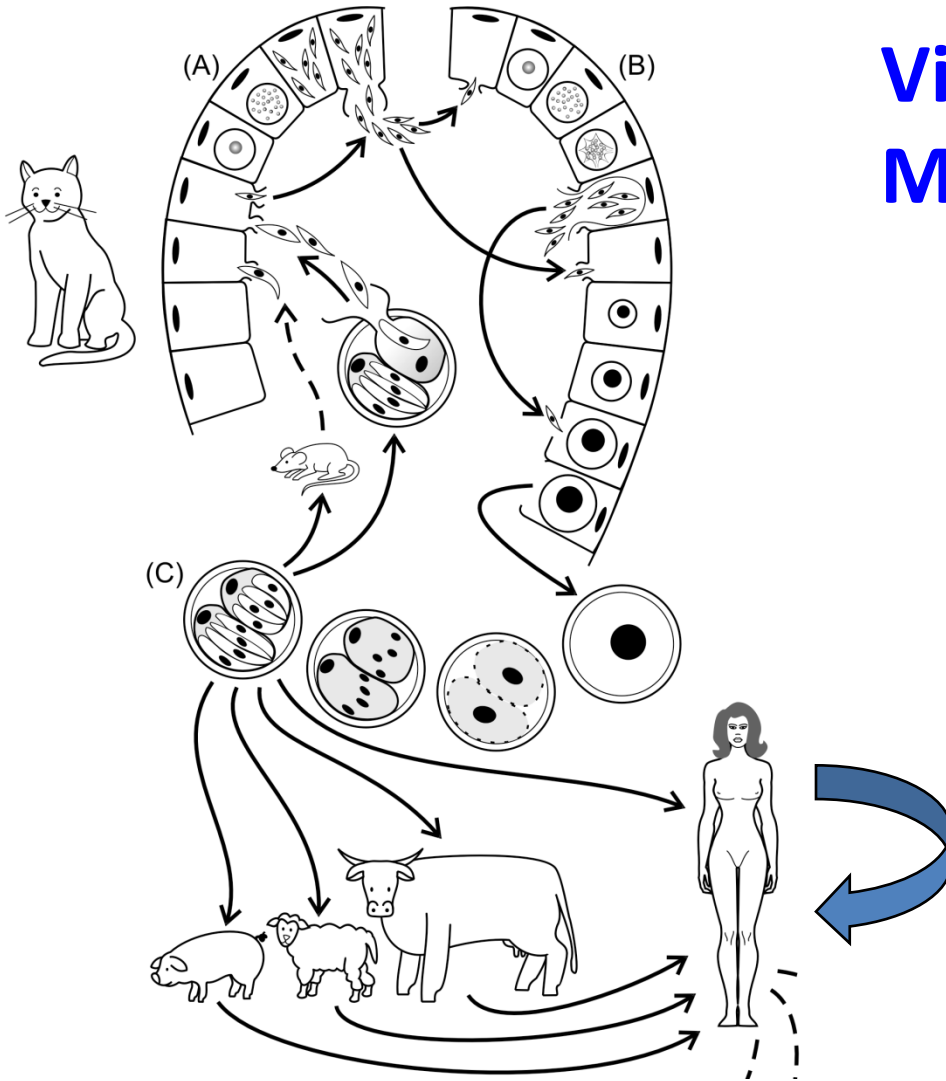
Transmissão congênita
decorrente de toxoplasmose
aguda durante a gestação

Acompanhamento de
gestantes com
sorologia negativa

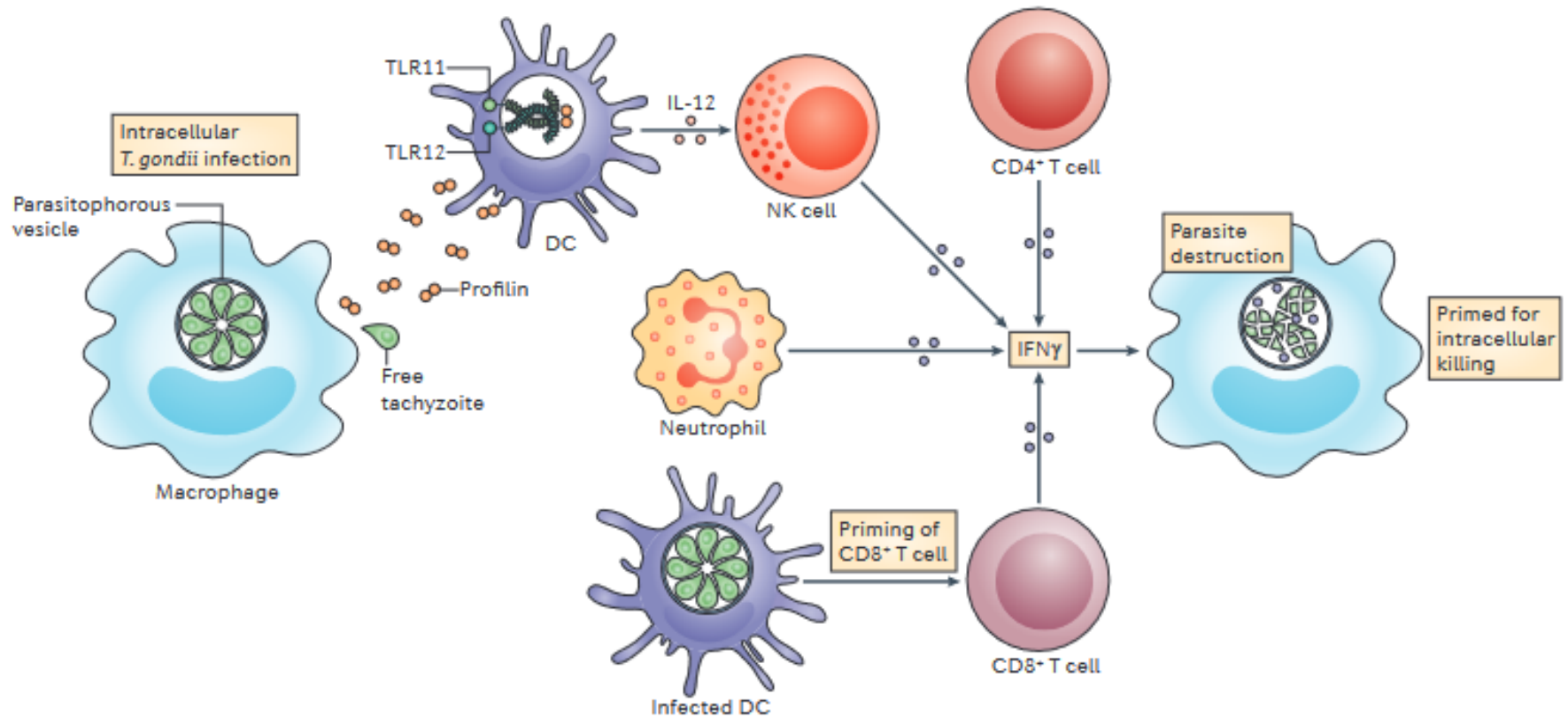
Vias de transmissão e Métodos de Controle

Transplantes

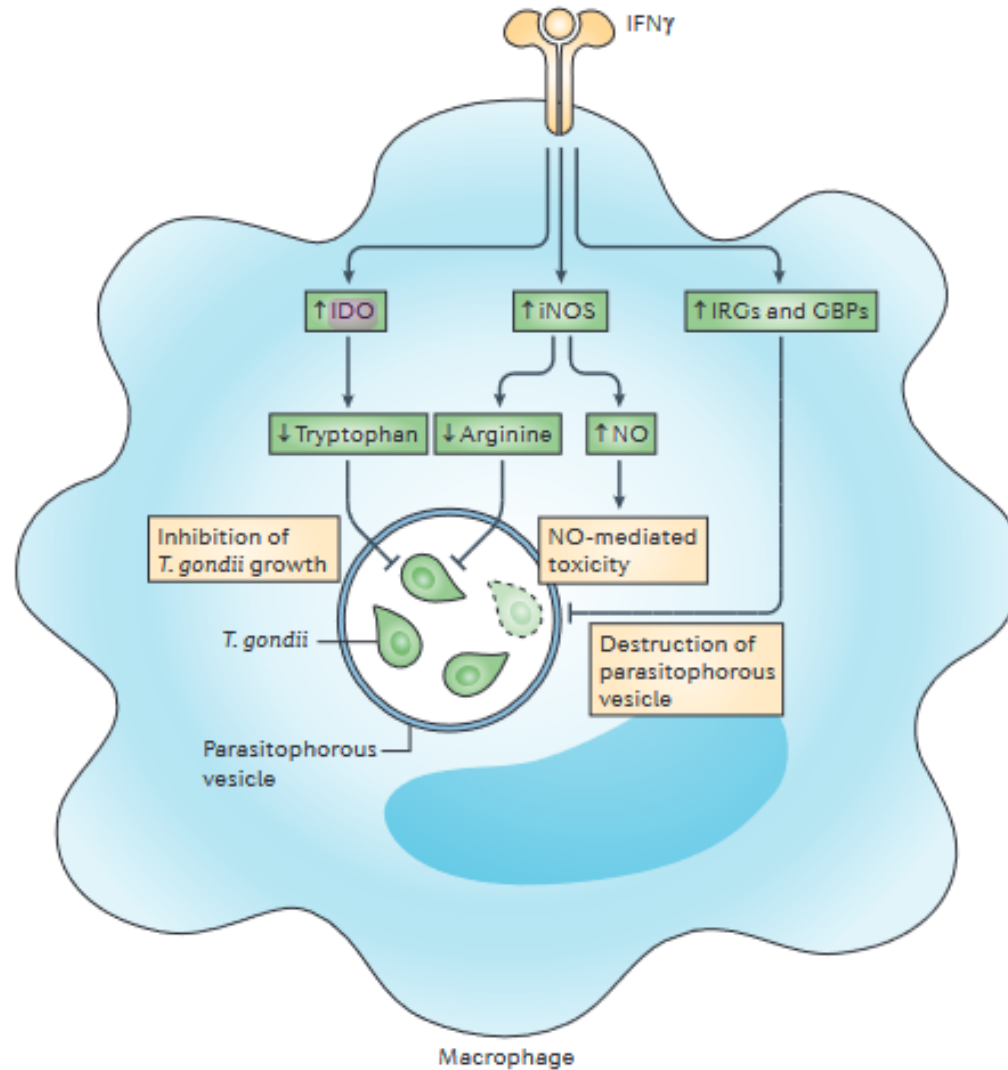
Diagnóstico de doador e receptor
Profilaxia e/ou tratamento.



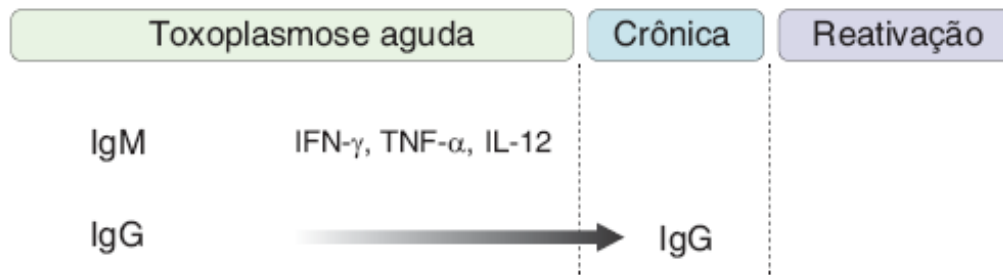
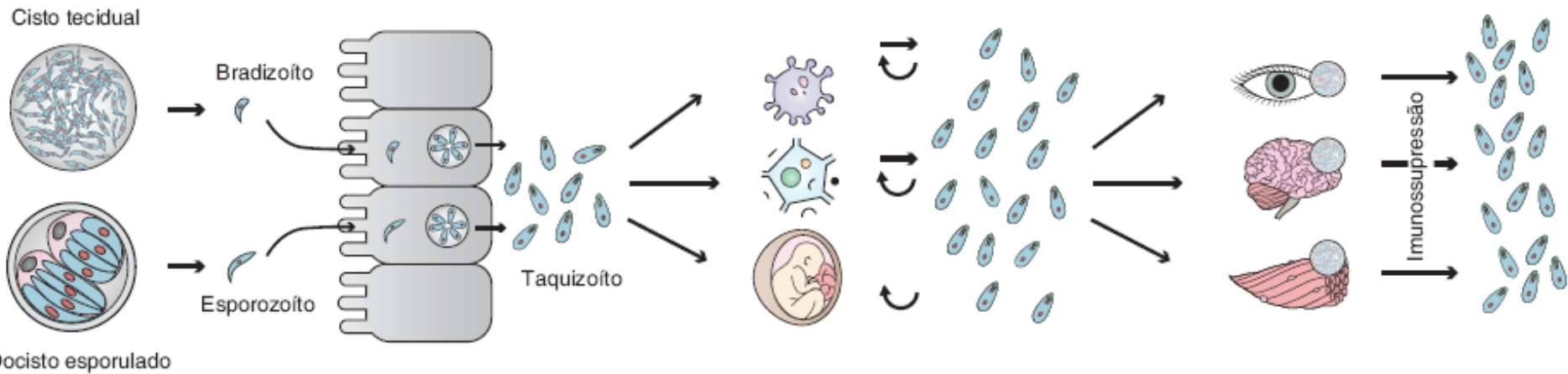
Fontes de IFN- γ na Infecção por Toxoplasma gondii



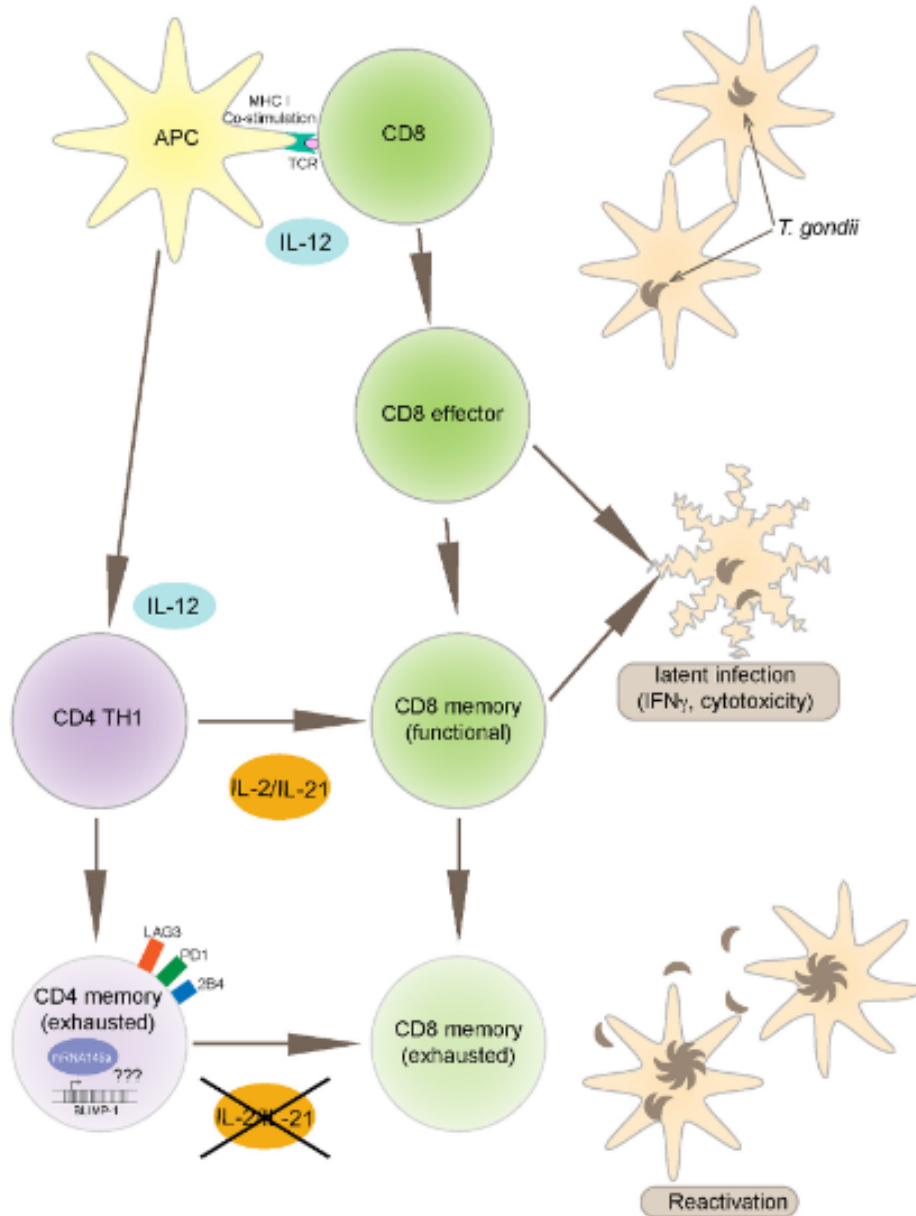
Papéis do IFN- γ na Infecção por Toxoplasma gondii



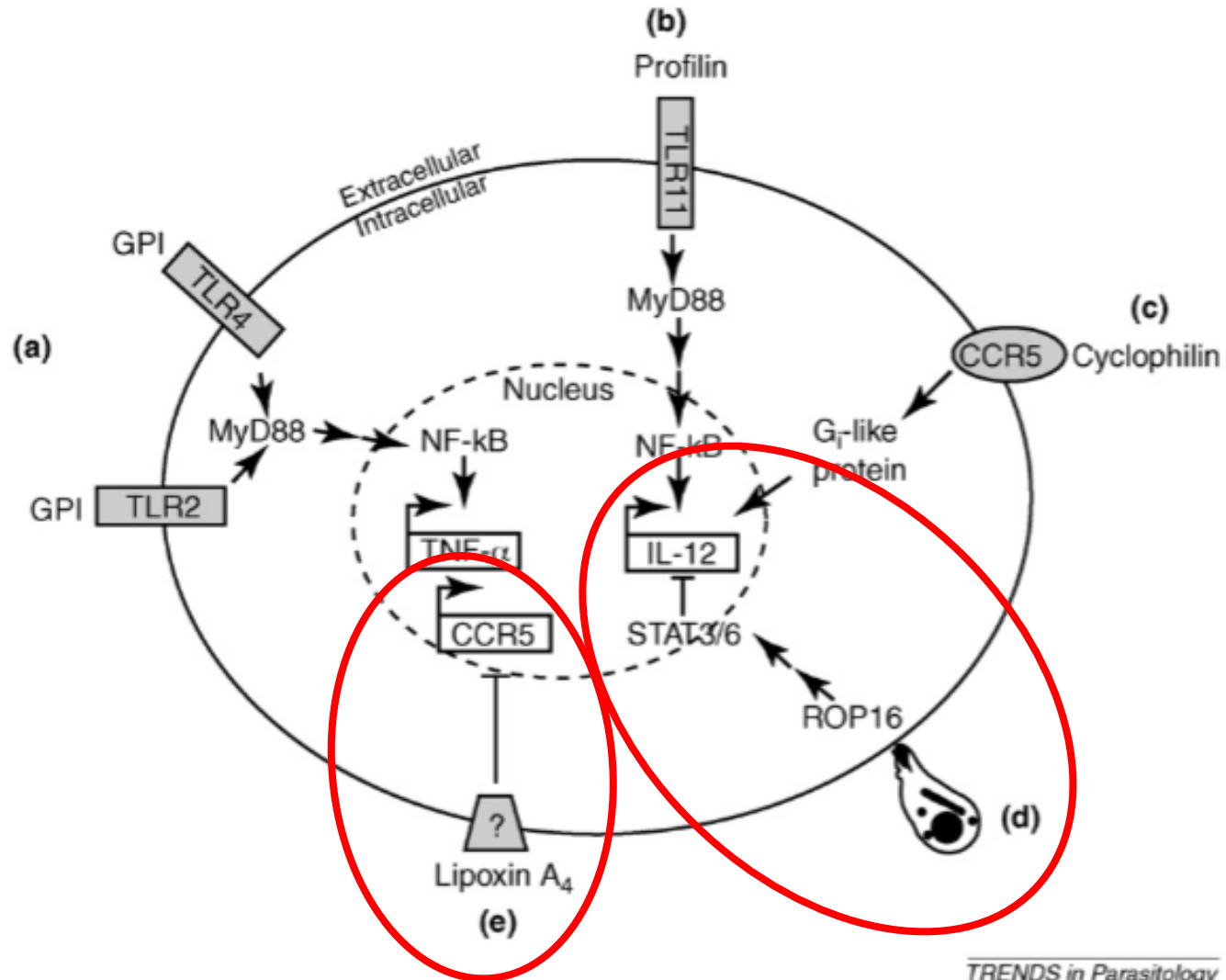
Visão Geral da Infecção por Toxoplasma gondii



Exaustão de Células T induzida por IL-12



Mecanismos de escape de T. gondii

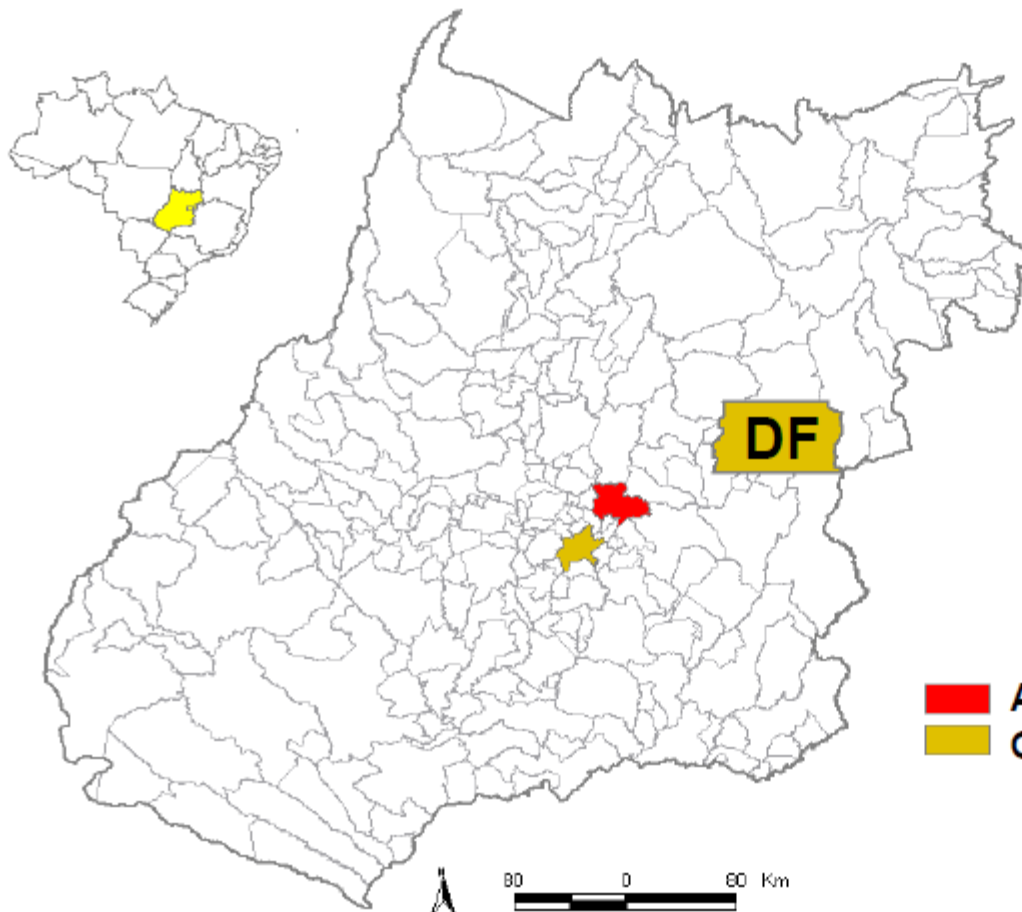


Mecanismos de escape de T. gondii

- **Indução de STAT6 e STAT3 (ROP16)**
- **Lipoxina A4 (LXA4) atua via CCR5 e suprime produção de IL-12**
- **“Cavalo de Troia”**
- **Inibição da fusão do vacúolo parasitóforo com lisossomos**
- **Secreção de proteínas dos grânulos densos (GRAs)**
- **Repressão de genes induzíveis por IFN- γ : TgIST**
- **Bloqueio da apoptose de células infectadas**
- **Cisto tecidual: membrana com polissacarídeos e glicoproteínas contendo bradizoítos**

Surto de Toxoplasmose – Anápolis/GO-2006

Localização Geográfica de Anápolis



Anápolis

- 54 km de Goiânia
- 140 km de Brasília
- População: 313.415

27 de janeiro de 2006
a VE SES/ GO foi
informado de suspeita
de um surto de
toxoplasmose

Surto de toxoplasmose em Anápolis/Goiás

- ❖ **26 pacientes (2 gestantes):**
 - ❖ **Enfartamento ganglionar**
 - ❖ **Febre**
 - ❖ **Mal-estar geral**
 - ❖ **Sorologia positiva pra toxoplasmose**
 - ❖ **Todos os casos estiveram presentes em uma festa de confraternização de natal, ocorrida dia 17 de dezembro de 2005 com a presença de cerca de cerca de 700 convidados, sendo 300 funcionários na Polícia Civil.**

Surto de toxoplasmose em Anápolis/Goiás

Investigação do surto

- ❖ **Definição de caso suspeito:**
 - ❖ **Pelo menos dois dos seguintes sintomas:**
 - ❖ **linfadenopatia**
 - ❖ **Febre**
 - ❖ **Cefaléia e astenia**
 - ❖ **ou tivesse evidência de sorologia para toxoplasmose no período de 22/12/2005 a 17/01/2006.**
- ❖ **Casos confirmados de toxoplasmose em dois laboratórios públicos e 10 privados de Anápolis, no período de 22/12/2005 a 17/01/2006 (busca ativa).**

Surto de toxoplasmose em Anápolis/Goiás

Investigação do surto

- ❖ **Todos os suspeitos passaram por médico infectologista e oftalmologista.**
- ❖ **Gestantes com toxoplasmose tiveram acompanhamento ginecológico pré e pós parto.**
- ❖ **Exames laboratoriais realizados:**
 - ❖ **Elisa para captura de AC antitoxoplasma IgM e IgG**
 - ❖ **Avidez de IgG por método de Elisa para confirmar toxoplasmose recente**

Surto de toxoplasmose em Anápolis/Goiás

Investigação do surto

- ❖ **Estudo soroprevalência para identificar:**
 - ❖ **Toxoplasmose adquirida recente**
 - ❖ **Toxoplasmose antiga**
 - ❖ **Susceptíveis**
- ❖ **Questionário padronizado:**
 - ❖ **Identificação do indivíduo**
 - ❖ **Alimentos ingeridos durante a festa**
 - ❖ **Hábitos alimentares nos 16 dias anteriores à festa**
 - ❖ **Manifestações clínicas**
 - ❖ **Assistência médica, tratamento e exames laboratoriais**

Estudo Analítico e Laboratorial

Participantes da festa de Natal (17/12/2005)

706 (100%)



Entrevistados

612 (87%)



Excluídos

Toxoplasmose antiga

(n= 297)



População do estudo

(n=315)



Doentes (Tox. Recente)

(n= 61)

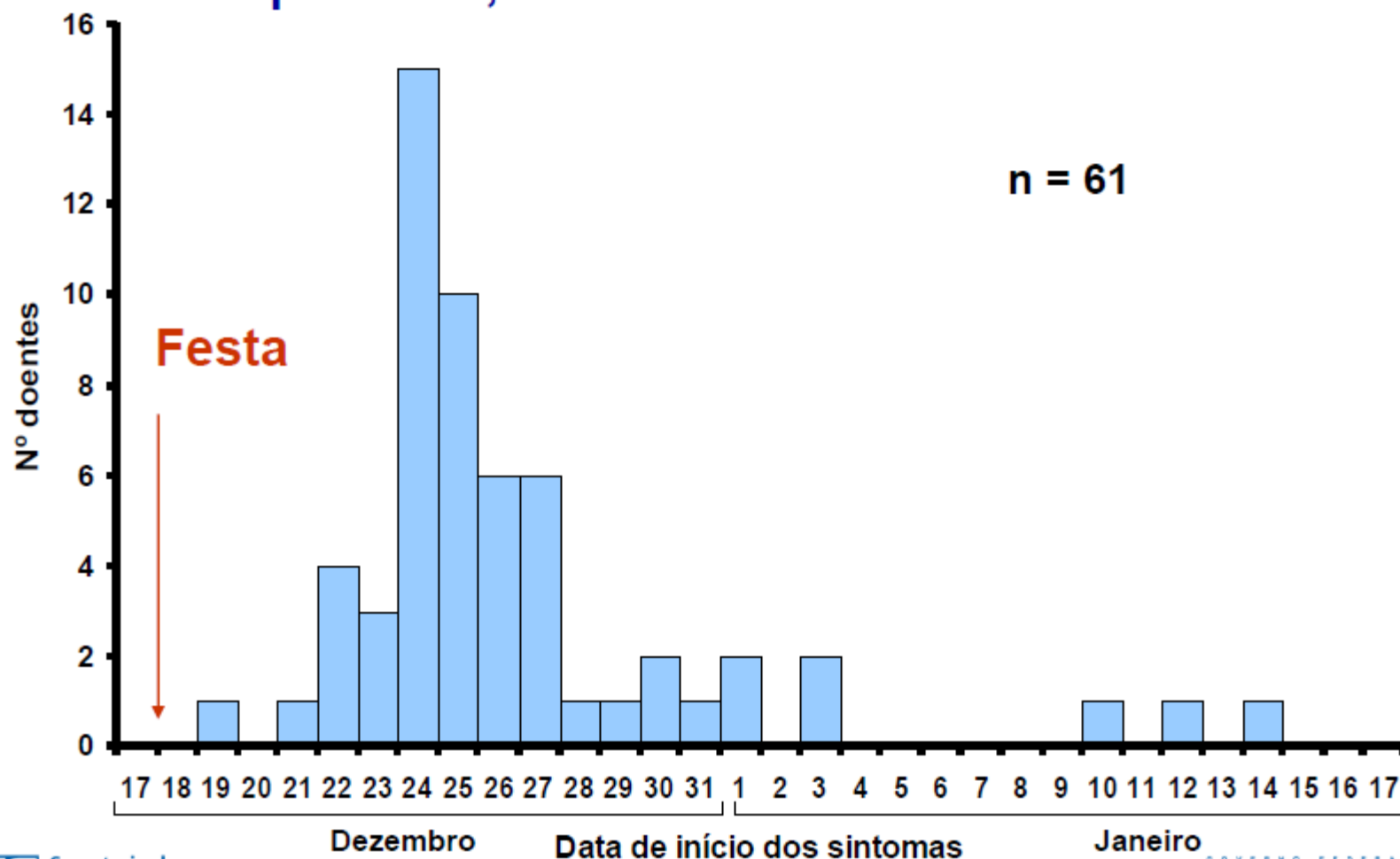


Não Doentes

(n=254)

Surto de Toxoplasmose – Anápolis/GO-2006

Número de doentes por data de início de sintomas, Anápolis/GO, Dezembro 2005 a Janeiro 2006



Surto de Toxoplasmose – Anápolis/GO-2006

Fatores de risco para Toxoplasmose recente, Anápolis/GO, Fevereiro 2006

Exposição		Doente			RR	IC _{95%}	valor p	% Doença
		Sim n=61 (%)	Não n=254 (%)	Total				
Quibe cru	Sim	56 (34)	108 (66)	164	10,3	4,2 - 25,0	< 0,01	92
	Não	05 (3)	146 (97)	151	1,0			
Pão sírio com quibe cru	Sim	51(36)	90 (64)	141	6,3	3,3 - 11,9	< 0,01	84
	Não	10 (6)	164 (94)	174	1,0			

Surto de toxoplasmose, Anápolis, GO, 2006

- **Investigação ambiental:**
- **O mesmo açougue onde o quibe cru da festa havia sido comprado, forneceu o alimento simultaneamente para um restaurante de Goiânia.**
 - **27 indivíduos expostos, 17 apresentaram toxoplasmose aguda (Taxa de ataque de 63%).**
- **Inspeção ambiental no açougue feita 2 meses depois do surto. Coleta de amostras de quibe cru: negativas para *T. gondii*.**



Surto de toxoplasmose associado à ingestão de água contaminada, Santa Isabel do Ivaí, PR, 2002

- Nov 2001 a Jan 2002 – mais de 600 moradores da cidade com sinais clínicos sugestivos de toxoplasmose.
- Mais de 300 com evidência sorológica de infecção aguda.

DISPATCHES

Waterborne Toxoplasmosis, Brazil, from Field to Gene

Lenildo de Moura,^{*†}

Lilian Maria Garcia Bahia-Oliveira,^{†‡}

Marcelo Y. Wada,^{*§} Jeffrey L. Jones,[‡]

Suely H. Tuboi,^{**} Eduardo H. Carmo,^{**}

Walter Massa Ramalho,^{**} Natal J. Camargo,[§]

Ronaldo Trevisan,[§] Regina M. T. Graça,[¶]

Alexandre J. da Silva,[‡] Iaci Moura,[‡]

J.P. Dubey,[#] and Denise O. Garrett^{**}

Water was the suspected vehicle of *Toxoplasma gondii* dissemination in a toxoplasmosis outbreak in Brazil. A case-control study and geographic mapping of cases were performed. *T. gondii* was isolated directly from the implicated water and genotyped as SAG 2 type 1.

Water has been considered an important vehicle for disseminating human toxoplasmosis in outbreaks (1,2) and in endemic settings in Brazil (3). We investigated a large toxoplasmosis outbreak in which the exposure to known sources of *Toxoplasma gondii* infection was assessed. We found that unfiltered, municipally treated water was the epidemiologically implicated source of infection for this outbreak. Isolation, polymerase chain reaction (PCR) detection, and genotyping of *T. gondii* from the implicated water source were demonstrated.

The Study

In November 2001, in Santa Isabel do Ivaí, (southern state of Paraná), a local physician requested serologic tests to diagnose dengue, mononucleosis, cytomegalovirus infection, hepatitis, and toxoplasmosis in 2 persons in whom fever, headache, and myalgias had developed. Positive results were obtained for anti-*T. gondii*-immunoglobulin M (IgM) and IgG only. Through the end of 2001, 294 similar cases, which were serologically confirmed as toxoplasmosis, were reported to health authorities in the same area.

*Ministério de Saúde, Brasília, Brasil; †Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, Brazil; ‡Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA; §Secretaria de Saúde do Estado do Paraná, Curitiba, Brazil; ¶Laboratório Central de Saúde Pública, Curitiba, Brazil; #United States Department of Agriculture, Beltsville, Maryland; **Centers for Disease Control and Prevention Foundation, Atlanta, Georgia, USA

The outbreak peaked between November 2001 and January 2002 (Figure 1). Symptoms were reported by 155 persons; the main symptoms were headache (n = 135), fever (n = 128), malaise (n = 128), myalgia (n = 124), lymphadenitis (n = 117), anorexia (n = 107), arthralgia (n = 95), night sweats (n = 83), vomiting (n = 60), and rash (n = 11). The duration and magnitude of the epidemic curve could have been influenced by the intensity of media reporting at specific times, which led to people seeking toxoplasmosis testing.

Case-patients were located by active contacting of and passive reporting from local physicians, and media campaigns (television, radio, and newspapers). A matched case-control study was conducted from January 15 to February 2, 2002. Acute cases were defined by standard serologic criteria (4) and were selected from a list of volunteers. A total of 2,884 of 6,771 persons living in the urban area of the city volunteered to be serologically tested. A total of 426 (11.5%) persons had anti-*T. gondii* IgM and IgG antibodies; 1,255 (51%) were positive only for IgG antibodies. Of 426 persons who had anti-*T. gondii* IgM and IgG antibodies, 176 met the case definition; of these, 156 (89%) participated in the case-control study. Sex and age matched controls (≤5 years, n=220) were selected from the same group of volunteer who were asymptomatic and seronegative for *T. gondii*.

Serum samples from case-patients and controls were tested for anti-*T. gondii* IgM and IgG antibodies by the Central Laboratory of the Paraná State by using 3 different commercially available enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) because it was not possible for a single vendor to provide the number of required kits. Fifty percent of the case serum samples (78 samples of 156 participants) were randomly retested in a toxoplasmosis

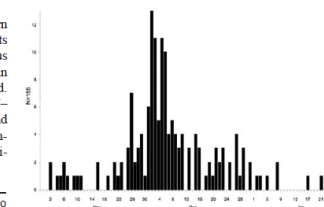
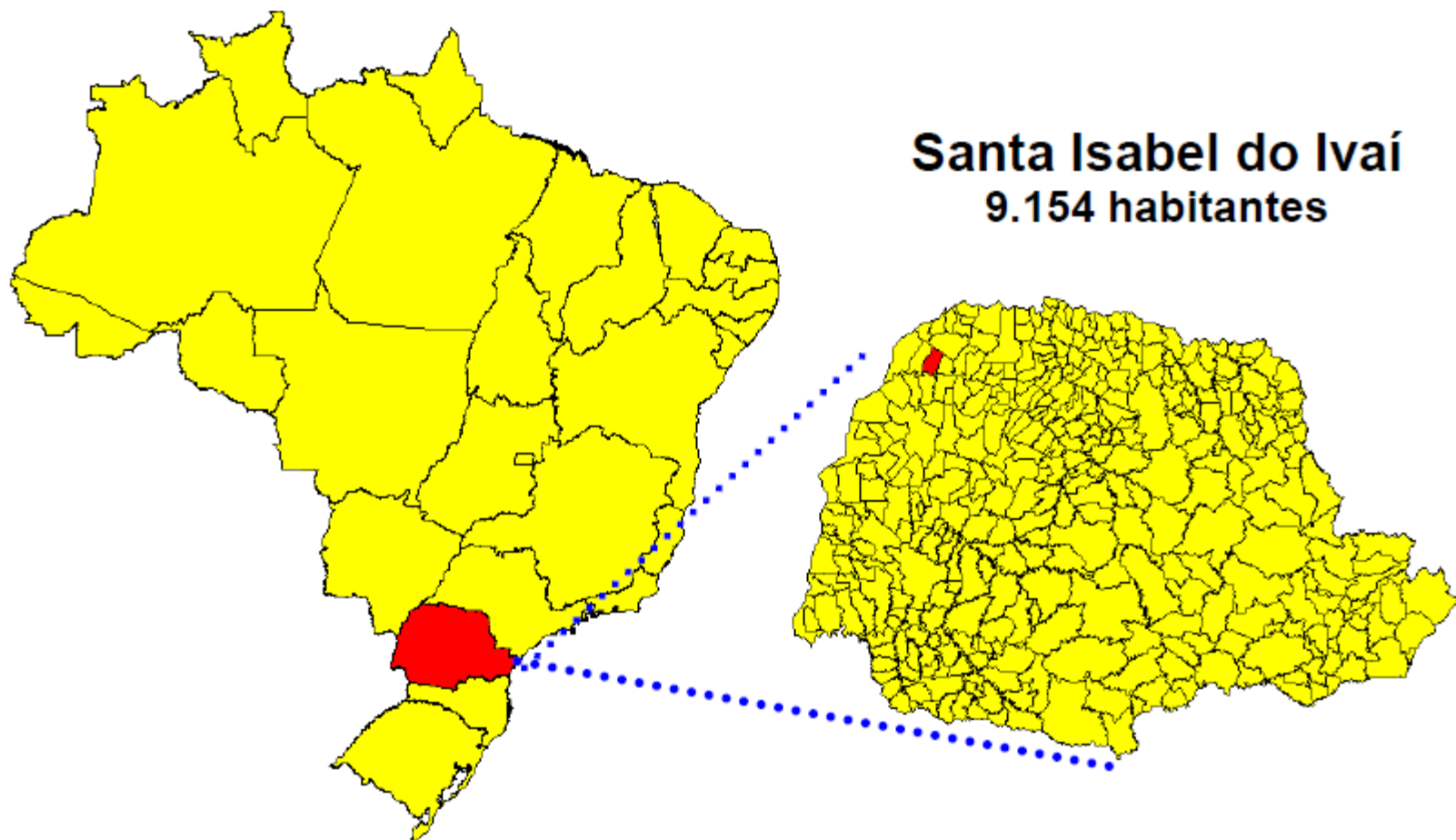


Figure 1. Epidemic plot of the 155 cases registered from November 2001 to January 2002. The dates of the initial symptoms are known only for the 155 individuals among 156 who participated in the case control study.

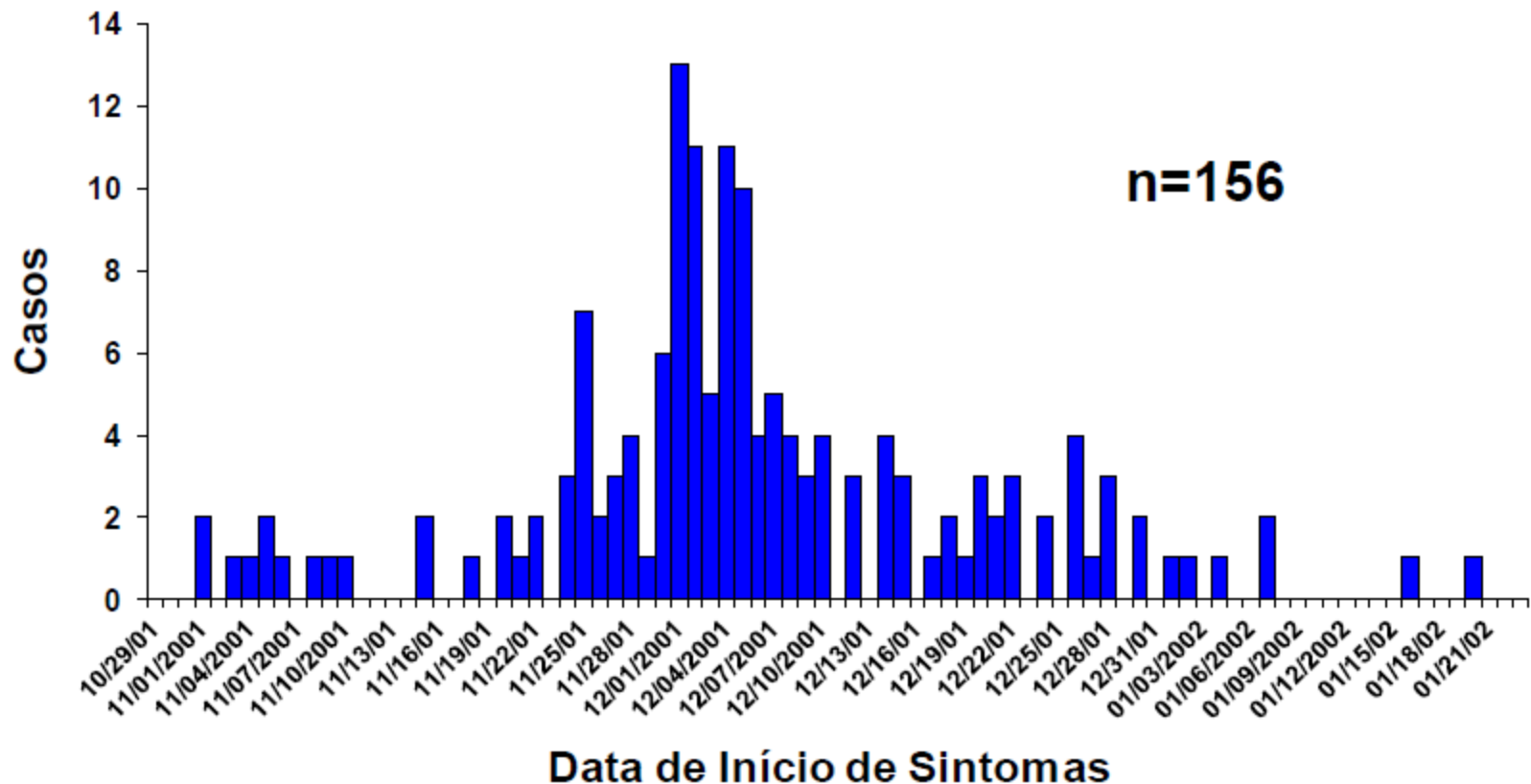
[†]These authors contributed equally to this study.

Surto de Toxoplasmose – Santa Isabel do Ivaí/PR - 2002



Surto de Toxoplasmose – Santa Isabel do Ivaí/PR - 2002

Número de Casos por Data de Início de Sintomas Santa Isabel do Ivaí, PR - Nov. 2001 a Jan. 2002



Linfadenopatia



Análise Multivariada

Fatores de Risco para Toxoplasmose

Fatores de risco	Odds Ratio pareada	I.C 95%	Valor p
Receber água do reservatório A	4.6	1.7 – 12.6	0.004
Ter caixa d'água	2.1	1.1 – 3.8	0.003

Reservatório A:

- Origem água: poço
- Armazenamento da água em reservatório enterrado
- Rachaduras e infiltrações
- ETA com cloração inadequada e não realização de filtração
- Gato doméstico residia e o parto foi na casa de bombas do reservatório



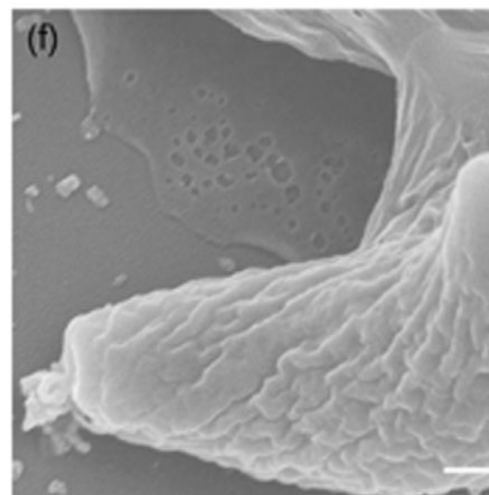
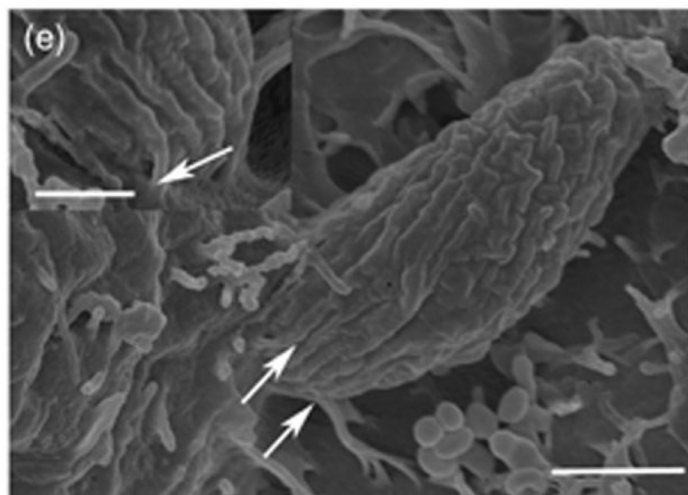
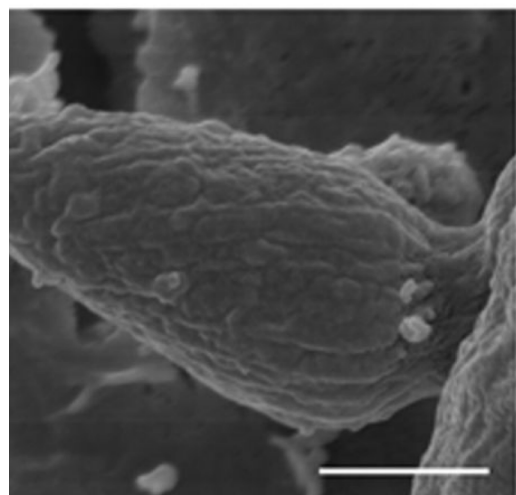
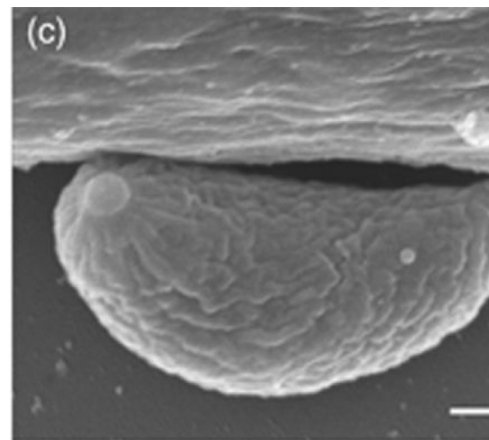
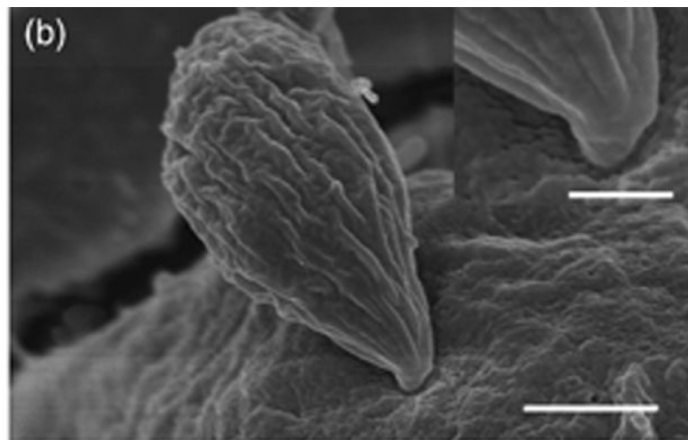
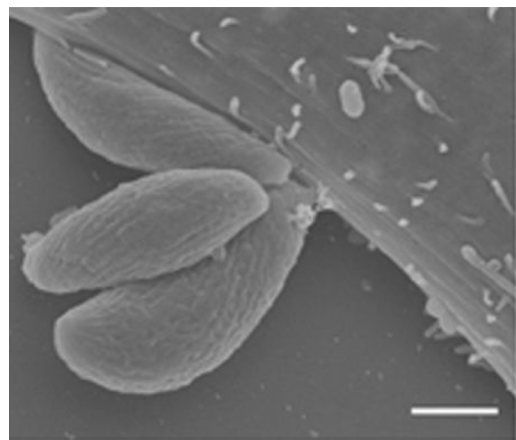
Resultados Laboratoriais

Sorologia de um filhote:

- Teste reativo para IgG

Detecção de oocistos do *T. gondii* na água do reservatório A:

- Filtração de água em membranas
- PCR – positivo
- Membranas – porcos e galinhas - positivo



Modificação comportamental?

Toxoplasma gondii infection reduces predator aversion in rats through epimodulation in the host medial amygdala. Hari Dass SA, Vyas A. Mol Ecol. 2014 Dec

Mice infected with low-virulence strains of *Toxoplasma gondii* lose their irredicence to cat urine, even after extensive parasite clearance. Ingram WM, Goodrich LM, Roeder RR. PLoS One. 2013 Sep 18;8(9):e75246

Toxoplasma gondii: a potential role in the genesis of **psychiatric disorders**. Fond G, Capdevielle D, Macgregor A, Attal J, Larue A, Brittner M, Ducasse D, Boulenger JP. Encephale. 2013 Feb;39(1):38-43

Toxoplasma gondii and **schizophrenia**. Torrey EF, Yolken RH (2003) Emerg Infect Dis 9: 1375–1380.

The probable relation between *Toxoplasma gondii* and **Parkinson's disease**. Miman O, Kusbeci OY, Aktepe OC, Cetinkaya Z (2010) Neurosci Lett 475: 129–131.

Could *Toxoplasma gondii* have any role in **Alzheimer disease**? Kusbeci OY, Miman O, Yaman M, Aktepe OC, Yazar S (2011) Alzh Dis Assoc Disord 25: 1–3.

Toxoplasma gondii antibody titers and history of **suicide** attempts in patients with recurrent mood disorders. Arling TA, Yolken RH, Lapidus M, Langenberg P, Dickerson FB, et al. (2009) J Nerv Ment Dis 197: 905–908.

