

AVALIAÇÃO PELA IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA DOS ASPECTOS IMUNOGÊNICOS E ANTIGÊNICOS DE DIFERENTES AMOSTRAS DE *TOXOPLASMA GONDII* INOCULADAS EM SUÍNOS.

A. C. BEKNER DA SILVA¹, R. MITSUKA¹, I. T. NAVARRO², R. L. FREIRE³, S. I. JANKEVICIUS⁴, O. VIDOTTO² & J. V. JANKEVICIUS⁴

(1) Mestranda do curso de Microbiologia da UEL; (2) Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Centro de Ciências Agrárias - Caixa Postal: 6001 CEP: 86051-970 Londrina - PR; (3) Mestranda do curso de Sanidade Animal da UEL; (4) Departamento de Patologia Geral, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Caixa Postal 6001, CEP 86051-970, Londrina, PR.

SUMÁRIO: Suínos da raça Landrace foram imunizados com as amostras RH (humana), LIV-IV e LIV-V (suínas), CPL-I (caprina) e HV-III (canina) de *Toxoplasma gondii*. Foram utilizados taquizoítas vivos em inóculos endovenosos de 1×10^6 (1^o inóculo) e 2×10^7 (2^o inóculo-20 dias após). Nos 45 dias de acompanhamento clínico, nenhuma sintomatologia clínica foi constatada. O nível de anticorpos na imunização foi acompanhado através da reação de Imunofluorescência Indireta com conjugado anti-IgG de suíno e observado um comportamento semelhante nas várias amostras. Os títulos individuais obtidos no 19^o dia oscilaram entre 1:256 e 1:4.096 e no 44^o dia entre 1:1.024 e 1:32.768. As reações homólogas com soros do 44^o dia foram equivalentes às heterólogas, não ocorrendo diferenças sorológicas entre as amostras. Quando os soros foram adsorvidos com taquizoítas vivos, ocorreu uma redução dos títulos, tanto nas reações homólogas como heterólogas. Estes resultados sugerem que antígenos de superfície são comuns às várias amostras de *T. gondii* analisadas e têm papel predominante na reação de Imunofluorescência Indireta para Toxoplasmose.

PALAVRAS-CHAVE: *Toxoplasma gondii*, Imunofluorescência indireta, Imunização, Suínos, Reações homólogas, Reações heterólogas.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma das zoonoses mais difundidas do mundo, sendo a infecção muito comum (são estimados por sorodiagnóstico 500 milhões de seres humanos infectados) mas a enfermidade clínica é pouco frequente (SHARMA, 1990). Pode-se afirmar que quase todas as espécies de animais de sangue quente são susceptíveis à infecção por *Toxoplasma gondii*, ainda que em diferentes graus (ACHA & SZYFRES, 1986). A infecção é descrita em animais de interesse econômico, como bovinos, ovinos, eqüinos, suínos e também em animais domésticos, como o gato, que é o hospedeiro definitivo e o cão. A infecção por toxoplasma em suínos foi descrita por FARREL *et alii* (1952) nos Estados Unidos e por SILVA (1959) no Brasil. Em suínos, manifestações clínicas foram caracterizadas por pneumonia, encefalite e aborto (DUBEY, 1977), causando prejuízos econômicos para as regiões que desenvolvem a suinocultura, como ocorre no Norte do Paraná (VIDOTTO *et alii*, 1990). GIRALDI *et alii* (1991) ao realizarem um extenso trabalho a nível de granjas de suínos na região de Londrina,

constatarem a presença do *T. gondii* em casos clínicos de abortos, natimortos e leitões mortos após o parto, caracterizando assim a toxoplasmose congênita natural em suínos na região. A infecção experimental em porcas gestantes foi realizada por WORK *et alii* (1970), por via endovenosa (taquizoítas) e subcutânea (oocistos), verificando-se severa sintomatologia clínica, inclusive morte dos animais. Segundo DUBEY (1977), a sintomatologia clínica da toxoplasmose experimental em suínos depende do tamanho do inóculo e da amostra utilizada. As amostras de *T. gondii* de diferentes origens, apesar de serem morfológicamente indistinguíveis, variam consideravelmente quanto à virulência em animais de laboratório (HARBOE & ERICHSEN, 1955; DUBEY & FRENKEL, 1973). Estas diferenças "in vivo" têm levado a inúmeros estudos sobre a composição antigênica de *T. gondii* na tentativa de diferenciar as várias amostras isoladas. SUGGS *et alii* (1968), ao compararem 5 amostras de *T. gondii* observaram similaridades e diferenças entre elas, através do uso de testes imunológicos como Imunofluorescência e Fixação de Complemento. No entanto, HANDMAN & REMINGTON

(1980) não encontraram diferenças antigênicas entre 3 amostras analisadas pela marcação de proteínas de superfície e eletroforese bidimensional. Já WARE & KASPER (1987); WEISS *et alii* (1988) e DE LA CRUZ *et alii* (1989), utilizando-se da técnica de "Western Blot" sugeriram diferenças antigênicas qualitativas e quantitativas entre amostras de *T. gondii*. Em relação à imunologia da toxoplasmose suína, a infecção experimental com taquizoítas mostra uma resposta imunológica rápida, permitindo detectar anticorpos a partir do 7º dia da inoculação (D'ANGELINO, 1983), sendo a reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) a que detectou maior número de soros positivos e com títulos mais elevados.

O nosso objetivo foi estudar o comportamento imunológico básico de amostras de *T. gondii* de várias origens em suínos, que devido às repercussões econômicas da toxoplasmose suína na região, está sendo estudada em nosso laboratório, através da técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Neste trabalho serão analisados os aspectos imunogênicos, através da imunização de suínos com várias amostras de *T. gondii* de diferentes origens e os antigênicos, através das reações homólogas e heterólogas bem como adsorções dos antisoros obtidos, utilizando a reação de Imunofluorescência Indireta com conjugados anti-IgG de suíno.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de *Toxoplasma gondii*: As amostras utilizadas estão relacionadas na Tabela 1.

A amostra RH foi cedida pelo Departamento de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo - SP e as demais foram isoladas através da técnica de digestão péptica proposta por JACOBS & MELTON (1957). Todas as amostras foram mantidas por repiques intraperitoniais de dois em dois dias em camundongos albinos Swiss.

Preparação de antígenos de *T. gondii*: Para cada amostra de *T. gondii* foram inoculados quatro camundongos com 0,2 ml de uma suspensão de taquizoítas vivos em solução salina comum estéril, obtida através da lavagem peritoneal de camundongos previamente inoculados. Quarenta e oito horas após a inoculação, os camundongos foram sacrificados em ambiente saturado com éter e, em seguida, procedeu-se a lavagem da cavidade peritoneal com 3 ml de salina estéril, colhendo-se desta forma, a suspensão de taquizoítas vivos. Para remoção de células do hospedeiro, foi utilizada a filtração em membranas de polycarbonato, com poros de 3 µm (Nucleopore Corporation) segundo HANDMAN & REMINGTON (1980). Após purificação, as amostras foram centrifugadas (3.000 g, 15 minutos), padronizadas por contagem dos taquizoítas em câmara de Neubauer e ressuspensas em salina estéril.

Tabela 1 - Origem das amostras de *Toxoplasma gondii* utilizadas nos experimentos de imunização de suínos e imunofluorescência indireta, Londrina, PR, 1992.

AMOSTRAS	ISOLAMENTO			
	ORIGEM	LOCAL	DATA	REFERÊNCIA
RH	HUMANA	EUA	1939	Sabin, 1941
LIV-IV	SUÍNA	Londrina, PR	1987	Navarro <i>et alii</i> , 1992
CPL-I	CAPRINA	Londrina, PR	1988	não publicado
HV-III	CANINA	Londrina, PR	1988	Tudury <i>et alii</i> , 1991
LIV-V	SUÍNA	Londrina, PR	1989	Navarro <i>et alii</i> , 1992

Imunofluorescência Indireta: Os antígenos utilizados foram preparados a partir de cada amostra segundo técnica descrita por CAMARGO (1973). As amostras dos soros, diluídas em PBS pH 7,2 (1:16, 1:64, 1:256, 1:1.024, 1:4.096, 1:8.192, 1:16.384 e 1:32.768) foram incubadas com as várias amostras do parasita em lâminas apropriadas para imunofluorescência. Utilizou-se o conjugado IgG de coelho anti-IgG de suíno, marcado com isotiocianato de fluoresceína, produzido no Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Universidade Estadual de Londrina, segundo HEINEMAN *et alii* (1991). Foi utilizado um microscópio de Imunofluorescência Nikon, dotado de epiluminação por lâmpada de halogênio, filtro B, para leitura das reações. Em todas as lâminas havia um soro controle positivo e um soro controle negativo, os quais orientavam a interpretação de cada reação, de acordo com a intensidade e localização da fluorescência visualizada nos taquizoítas, segundo CAMARGO (1973).

Imunização dos suínos: Foram selecionados suínos da raça Landrace com 2 meses de idade, peso médio de 25 Kg e negativos (título menor que 1:16) para anticorpos anti-toxoplasma pela Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Antes da imunização, obteve-se soro de cada animal que serviu de controle para todos os experimentos. Os suínos foram inoculados, em duplicata, com 1×10^6 taquizoítas vivos de cada amostra, por via endovenosa e 20 dias após, receberam uma segunda dose de 2×10^7 taquizoítas vivos, pela mesma via. Os suínos foram acompanhados diariamente por exames clínicos durante 45 dias e as coletas de sangue para obtenção das amostras de soro para RIFI foram realizadas aos 16, 19, 24, 32, 37 e 44 dias após a primeira imunização. Amostras colhidas no 44º dia serviram como soros hiperimunes utilizados neste trabalho.

Adsorção dos soros imunes: Alíquotas de 0,5 ml de cada soro hiperimune foram utilizados para ressuspender 10^7 taquizoítas vivos de cada amostra, previamente sedimentados a 15.000 g por três minutos em centrífuga Eppendorf e foram incubadas por 45 minutos a 37 °C e novamente centrifugadas a 15.000 g, durante três minutos, separando-se o sobrenadante (soro adsorvido). Como

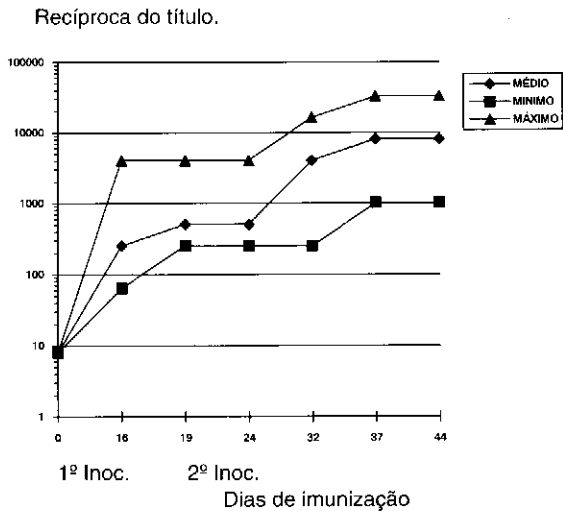


Fig. 1. Evolução dos títulos de anticorpos obtidos pela RIFI em suínos inoculados, via endovenosa, com 1×10^6 (1º inóculo e 2×10^7 (2º inóculo - 20 dias após) taquizoítas vivos de *Toxoplasma gondii*. Londrina, PR, 1992.

modelo, foram realizadas duas adsorções adicionais com taquizoítas da amostra CPL-I.

RESULTADOS

O acompanhamento clínico dos suínos durante os 45 dias de imunização não revelou qualquer manifestação clínica digna de nota que pudesse ser atribuída à Toxoplasmose, a não ser ligeira hipertermia retal observada após as inoculações. Na Tabela 2 estão representados os resultados homólogos da RIFI durante a imunização e a Fig.1 mostra a evolução dos títulos dos soros durante o processo de imunização dos suínos com as várias amostras de *T. gondii*. O título médio é em relação a todos os animais imunizados e estão representadas também a amostra com melhor resposta e a com título mais baixo. Os resultados dos suínos individuais obtidos pela primeira imunização mostram títulos oscilando entre 1:256 e 1:4.096 no 19º dia e após a dose de reforço, estes títulos subiram ainda mais no 44º dia, oscilando entre 1:8.192 e 1:32.768, exceto a amostra HV-II, que originou no animal 9 um título de 1:1.024.

Os resultados individuais de cada soro nas reações homólogas e heterológicas estão na Tabela 3, onde observam-se títulos com no máximo uma diluição de variação, independente do antígeno utilizado. Quando são comparados os títulos de cada antígeno frente aos vários soros hiperimunes, observa-se que exceto um dos soros anti-HV-III, todos oscilam entre 1:8.192 e 1:32.768, que é a mesma faixa de variação quando se comparam os títulos dos soros dos animais imunizados em duplicata com a mesma amostra.

Tabela 2 - Recíproca dos títulos de imunofluorescência indireta de suínos imunizados com 1×10^6 e 2×10^7 (20 dias após) taquizoítas vivos de várias amostras de *Toxoplasma gondii* inoculadas parenteralmente, Londrina, PR, 1992.

SUÍNO N°	AMOSTRA	DIAS APÓS INOCULAÇÃO						
		0	16	19	24	32	37	44
01	RH	neg.	256	256	256	8.192	8.192	8.192
02	RH	neg.	1.024	1.024	1.024	8.192	16.384	32.768
03	LIV-IV	neg.	256	256	256	16.384	16.384	16.384
04	LIV-IV	neg.	256	256	256	1.024	16.384	32.768
05	CPL-I	neg.	256	1.024	1.024	8.192	16.384	16.384
06	CPL-I	neg.	64	256	256	8.192	16.384	16.384
07	LIV-V	neg.	4.096	4.096	4.096	16.384	32.768	32.768
08	LIV-V	neg.	1.024	1.024	1.024	4.096	8.192	8.192
09	HV-III	neg.	64	256	256	256	1.024	1.024
10	HV-III	neg.	64	256	256	4.096	8.192	8.192

neg.: título menor que 1:16.

Tabela 3 - Recíprocas dos títulos de anticorpos obtidos pela reação de imunofluorescência indireta em soros homólogos e heterólogo de suínos imunizados via parenteral com 1×10^6 (1º inóculo) e 2×10^7 (2º inóculo) taquizoítas vivos de várias amostras de *Toxoplasma gondii*. Londrina, PR, 1992.

ANTISOROS Suíno-Amostra	ANTÍGENOS				
	RH	LIV-IV	CPL-I	LIV-V	HV-III
01-RH	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
02-RH	32.768	32.768	32.768	32.768	32.768
03-LIV-IV	16.384	16.384	16.384	16.384	16.384
04-LIV-IV	32.768	32.768	32.768	32.768	32.768
05-CPL-I	16.384	16.384	16.384	16.384	16.384
06-CPL-I	16.384	16.384	16.384	16.384	16.384
07-LIV-V	32.768	32.768	32.768	32.768	16.384
08-LIV-V	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
09-HV-III	1.024	1.024	1.024	1.024	1.024
10-HV-III	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192

Obs.: Os títulos homólogos estão assinalados em negrito.

Os resultados dos soros adsorvidos com as várias amostras na Tabela 4 mostram que a adsorção de um soro hiperimune por uma amostra de *T. gondii* acarreta uma queda do título homólogo mas equivalente também nas reações heterológicas deste soro, dentro da faixa de 1 a 2 diluições em relação às reações homólogas.

Quando a adsorção do soro é repetida (Tabela 5), observa-se uma queda adicional dos títulos a cada nova adsorção e que também se reflete nas reações heterológicas, ainda que com uma flutuação um pouco maior dos títulos.

Tabela 4 - Recíprocas dos títulos de anticorpos obtidos pela reação de imunofluorescência indireta em soros homólogos e heterólogos de suínos imunizados via parenteral com 1×10^6 (1^o inóculo) e 2×10^7 (2^o inóculo) taquizoítas vivos de várias amostras de *Toxoplasma gondii*, adsorvidos com diferentes amostras do parasita, Londrina, PR, 1992.

ANTISOROS DE SUÍNOS	ADSORVIDO COM ANTIG.	ANTÍGENOS				
		RH	LIV-IV	CPL-I	LIV-V	HV-III
2-RH	sem ads.	32.768	32.768	32.768	32.768	32.768
	CPL-I	4.096	16.384	4.096	4.096	4.096
	RH	4.096	4.096	4.096	4.096	4.096
	LIV-IV	4.096	4.096	4.096	8.192	4.096
	LIV-V	4.096	4.096	4.096	4.096	4.096
	HV-III	4.096	8.192	4.096	4.096	4.096
4-LIV-IV	sem ads.	32.768	32.768	32.768	32.768	32.768
	CPL-I	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
	RH	8.192	4.096	4.096	8.192	4.096
	LIV-IV	8.192	4.096	8.192	8.192	4.096
	LIV-V	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
	HV-III	4.096	4.096	4.096	4.096	4.096
6-CPL-I	sem ads.	16.384	16.384	16.384	16.384	16.384
	CPL-I	4.096	8.192	4.096	4.096	4.096
	RH	8.192	4.096	4.096	8.192	4.096
	LIV-IV	4.096	4.096	4.096	4.096	4.096
	LIV-V	4.096	4.096	4.096	4.096	4.096
	HV-III	4.096	4.096	4.096	4.096	4.096
7-LIV-V	sem ads.	32.768	32.768	32.768	32.768	16.384
	CPL-I	8.192	16.384	16.384	4.096	8.192
	RH	8.192	4.096	4.096	8.192	8.192
	LIV-IV	8.192	8.192	8.192	16.384	4.096
	LIV-V	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
	HV-III	4.096	4.096	4.096	4.096	4.096
10-HV-III	sem ads.	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
	CPL-I	1.024	8.192	4.096	1.024	1.024
	RH	256	4.096	1.024	1.024	1.024
	LIV-IV	1.024	1.024	1.024	1.024	1.024
	LIV-V	1.024	1.024	1.024	1.024	1.024
	HV-III	1.024	1.024	1.024	1.024	1.024

Obs.: As reações homólogas estão assinaladas em negrito.

DISCUSSÃO

Mesmo com a inoculação endovenosa de mais de 10^6 taquizoítas vivos das várias amostras de *T. gondii*, nenhum dos suínos imunizados desenvolveu sintomas de toxoplasmose. Considerando-se que as várias amostras são de origens diferentes e a amostra RH está sendo mantida por mais de 50 anos por repiques em camundongos, o mesmo comportamento quanto à patogenicidade é inesperado. As diferenças clássicas descritas por HARBOE & ERICHSEN (1955) e DUBEY & FRENKEL (1973) não puderam ser observadas nestas amostras e em suínos. Amostras de alta virulência para camundongos (RH) tiveram o mesmo comportamento das de média virulência LIV-IV e LIV-V (provenientes de suínos), CPL-I (isolada de cabra) e HV-III (oriunda de cão) quando inoculadas em suínos. Isto vem reforçar o conceito de graus de susceptibilidade à infecção das várias espécies animais, indicando que a virulência não é

Tabela 5 - Recíprocas dos títulos de anticorpos obtidos pelas reações homólogas e heterólogas de várias amostras de *T. gondii* na reação de imunofluorescência indireta após adsorção repetida com amostra CPL-I dos antisoros de suínos imunizados com taquizoítas vivos por via parenteral de várias amostras de *T. gondii*, Londrina, PR, 1992.

ANTISOROS DE SUÍNOS	ADSORVIDO COM CPL-I	ANTÍGENOS				
		RH	LIV-IV	CPL-I	LIV-V	HV-III
2-RH	sem ads.	32.768	32.768	32.768	32.768	32.768
	1ª ads.	4.096	16.384	4.096	4.096	4.096
	2ª ads.	4.096	4.096	1.024	1.024	1.024
	3ª ads.	256	256	1.024	256	256
4-LIV-IV	sem ads.	32.768	32.768	32.768	32.768	32.768
	1ª ads.	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
	2ª ads.	4.096	1.024	1.024	4.096	1.024
	3ª ads.	256	64	1.024	256	1.024
6-CPL-I	sem ads.	16.384	16.384	16.384	16.384	16.384
	1ª ads.	4.096	8.192	4.096	4.096	4.096
	2ª ads.	1.024	4.096	1.024	4.096	1.024
	3ª ads.	256	256	256	256	256
7-LIV-V	sem ads.	32.768	32.768	32.768	32.768	16.384
	1ª ads.	8.192	16.384	16.384	4.096	8.192
	2ª ads.	4.096	1.024	1.024	4.096	1.024
	3ª ads.	256	256	1.024	256	1.024
10-HV-III	sem ads.	8.192	8.192	8.192	8.192	8.192
	1ª ads.	1.024	8.192	4.096	1.024	1.024
	2ª ads.	256	1.024	256	256	1.024
	3ª ads.	64	64	64	64	256

Obs.: As reações homólogas estão assinaladas em negrito.

um fator intrínseco ao parasita mas depende da interação parasita-hospedeiro. CRISTINA *et alii* (1991), ao estudarem variação genética no gênero *Toxoplasma* não conseguiram demonstrar fatores genéticos relacionados à patogenicidade. Em relação aos títulos de Imunofluorescência, os resultados indicam que as reações homólogas (Tabela 3) oscilam entre 1:8.192 e 1:32.768, exceto o suíno nove inoculado com a amostra HV-III. Se analisarmos os resultados dos suínos 1, 2, 7 e 8, inoculados em duplicata com as amostras RH e LIV-V, respectivamente, também os resultados homólogos oscilaram na mesma faixa, o que indica que esta variação pode ser devida à capacidade de resposta individual de cada animal ou à problemas inerentes ao próprio método de Imunofluorescência Indireta. De maneira geral (Fig. 1) todas as amostras tiveram um comportamento idêntico na imunogenicidade. Em relação à amostra HV-III, o título final menor pode ter origem na baixa capacidade de resposta do animal 9, pois o animal 7, inoculado com a amostra LIV-V mostrou o melhor título obtido mas o animal 8, inoculado com a mesma amostra, teve um título final idêntico ao animal 10, inoculado com a amostra HV-III, demonstrando que não existe uma diferença imunogênica das amostras e sim uma diferente capacidade de resposta dos animais frente aos mesmos antígenos. A antigenicidade destas amostras foi praticamente idêntica e equivalente às

demais (conforme colunas HV-III e LIV-V das Tabelas 3, 4 e 5), não mostrando qualquer diferença antigênica significativa entre si e em relação às demais amostras. Está claramente demonstrado que os genes dos antígenos de histocompatibilidade H-2 são a base da resistência do hospedeiro contra o *T. gondii* em camundongos (SHARMA, 1990). Como os suínos utilizados nestes experimentos não eram geneticamente homogêneos, pois vieram de granjas de suínos da região, é provável que apresentassem diferenças genéticas que pudessem explicar esta discrepância nos títulos da imunização. Ainda conforme a Tabela 4, de 50 reações analisadas, apenas uma reação heteróloga (soro anti-LIV-V X antígeno HV-III) não foi absolutamente equivalente à homologa, o que indica que os antisoros produzidos, independente da amostra que induziu os anticorpos, reconhecem igualmente todas as amostras testadas. Desta maneira, qualquer que seja o antígeno utilizado, o resultado sorológico será provavelmente o mesmo. Como a RIFI é realizada com antisoros policlonais, compreendendo anticorpos contra o conjunto de todos os determinantes antigênicos de cada parasita, tanto citoplasmáticos como de superfície, o resultado final é igual, não permitindo qualquer distinção entre as amostras analisadas por esta técnica. Quando taquizoítas vivos foram adicionados em excesso às alíquotas de antisoros, incubados e sedimentados, os anticorpos que reconheceram componentes de superfície dos parasitas devem ter sido sequestrados. Ao analisar os resultados dos soros adsorvidos (Tabela 4), observa-se que houve uma redução nos seus títulos. Entretanto, continuaram reconhecendo da mesma maneira todas as amostras do parasita. Ao se repetir a adsorção, constatou-se uma queda acentuada dos títulos, mantendo porém a reação cruzada entre as amostras (Tabela 5). Estes resultados sugerem que os antígenos de superfície são os responsáveis pela maior parte das reações sorológicas de *T. gondii*, sendo semelhantes em todas as amostras analisadas. Se houverem diferenças sorológicas entre várias amostras, muito provavelmente elas estão sendo mascaradas pelas reações comuns, muito mais intensas. Concluindo, a Reação de Imunofluorescência Indireta não mostrou-se adequada para distinguir sorologicamente amostras de *T. gondii* mas, por outro lado, antígenos das diferentes amostras testadas foram capazes de detectar igualmente a infecção por *T. gondii*, independente da amostra utilizada na infecção dos suínos. É provável que somente métodos capazes de individualizar os antígenos envolvidos nestas reações sorológicas, como o "Western Blot", consigam demonstrar diferenças antigênicas entre as várias amostras de *T. gondii*, conforme WARE & KAPER (1987); WEISS *et alii* (1988) e DE LA CRUZ *et alii* (1989) e é o que está sendo realizado no momento em nosso laboratório.

SUMMARY

Landrace line pigs were immunized with *Toxoplasma gondii* strains RH (human), LIV-IV and LIV-V (porcine), CPL-I (goat) and HV-III (canine). Live tachyzoites were utilized in intravenous inocula of 1×10^6 (first inoculum) and 2×10^7 (second inoculum-20 days later). No clinical symptoms were detected during 45 days of observation. The antibody response after immunization was followed by Indirect Immunofluorescence Test by the use of anti-swine IgG conjugate and similar response was observed to the various strains. The individual antibody titers obtained at the 19 th day varied from 1:256 to 1:4,096, and from 1:1,024 to 1:32,768 at the 44th day. The homologous titers at the 44th day were equivalent to the heterologous ones, without any serological difference among the strains. When the immune sera were adsorbed with live tachyzoites a reduction in the antibody titers was demonstrated both in homologous and heterologous levels. These results suggest that the surface antigens are common among the strains of *T. gondii* studied and play a preponderant role in the indirect Immunofluorescence Test for the laboratorial diagnosis of Toxoplasmosis.

KEY WORDS: Indirect immunofluorescence, immunization, swine, homologous reactions, heterologous reactions.

REFERÊNCIAS

- ACHA, P. N. & SZYFRES, B. (1986) Toxoplasmosis. In: ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. Organización Mundial de la Salud, Publ.científica n° 503 2ªed. Washington 989 pag.
- CAMARGO, M.E. (1973) Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Rev. Bras. Pat. Clin.* 10: 143-171.
- CRISTINA, N.; LIAUD, M. F.; SANTORO, F.; OURY, B. & TOMAS, P.A. (1991) A family of repeated DNA sequences in *Toxoplasma gondii*: cloning, sequence analysis, and use in strain characterization. *Exp. Parasitol.* 73: 73-81.
- D'ANGELINO, J. L. (1983) Toxoplasmosis suína: Contribuição para o estudo epidemiológico. Tese de doutorado - Universidade de São Paulo - São Paulo 90 pag.
- DE LA CRUZ, A. A.; DREESEN, D. W. & EVANS, D. L. (1989) Western blot analysis and LD₅₀ determinations of *Toxoplasma gondii* isolates. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 23: 355-364.
- DUBEY, J. P. & FRENKEL, J. K. (1973) Experimental *Toxoplasma* infection in mice with strains producing oocysts. *J. Parasitol.* 59: 505-512.

- DUBEY, J. P. (1977) *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis* and other tissue cyst-forming coccidia of man and animals. In: KREIER, J.P. (ed.) *Parasitic Protozoa*. Vol. 3 Academic Press, New York-101 pg.
- FARREL, R. L.; DOCTON, F. L.; CHAMBERLAIN, D. M. & COLE, C. R. (1952) Toxoplasmosis. I-Toxoplasma isolated from swine. *Am. J. Vet. Res.* 13: 181-185.
- GIRALDI, N.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T. & VIDOTTO, O. (1991) Toxoplasmose congênita natural em suínos na região de Londrina, PR. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* 1: 1-5.
- HANDMAN, E. & REMINGTON, J. S. (1980) Detection and characterization of membrane antigens of *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 124: 2578-2583.
- HARBOE, A. & ERICHSEN, S. (1955) A comparative study of the length of the parasite of four strains of *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.* 37: 31.
- HEINEMAN, M. B.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O. & ALFIERI, A. A. (1991) Padronização de um método simples e rápido de purificação de IgG para o imunodiagnóstico da toxoplasmose. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo* 3(Supl. B): 519.
- JACOBS, L. & MELTON, M. L. (1957) A procedure for testing meat samples for *Toxoplasma* with preliminary results of a survey of pork and beef samples. *J. Parasitol.* 43: 38-39.
- NAVARRO, I. T.; VIDOTTO, O.; GIRALDI, N. & FREIRE, R. L. (1992) *Toxoplasma gondii*: Isolamentos a partir de carne e cérebro de suínos comercializados na região de Londrina-PR. *Semina* 13(1): 32-34.
- SABIN, A. B. (1941) Toxoplasmic encephalitis in children. *J. Am. Med. Assoc.* 116: 801-807.
- SHARMA, S. D. (1990) Immunology of toxoplasmosis. In: WYLER, D.I. (Ed.) *Modern parasite biology:cellular, immunological and molecular aspects*. W.H. Freeman, New York, 428 pg.
- SILVA, I. M. L. (1959) Sobre um caso de toxoplasmose espontânea em suínos. *Arq. Esc. Vet. U.F.M.G.* 12: 425-428.
- SUGGS, M.; WALLS, K. M. & KAGAN, I. G. (1968) Comparative antigenic study of *Besnoitia jellisoni*, *B. panamensis* and five *Toxoplasma gondii* isolates. *J. Immunol.* 101: 166-175.
- TUDURY, E. A.; VIOTTI, N. M. A.; LOUREIRO BRACARENSE, A. P. F. R.; FARIA DOS REIS, A. C.; NAVARRO, I. T.; BIAZZONO, L. & BARROS, C. (1991) Diferentes quadros neurológicos provocados pelo *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909) em 5 cães e 1 gato. Anais da XLVI Conferência Anual da Sociedade Paulista de Medicina Veterinária - São Paulo: 31.
- VIDOTTO, O.; NAVARRO, I. T.; GIRALDI, N.; MITSUKA, R. & FREIRE, R. L. (1990) Estudos epidemiológicos da Toxoplasmose em suínos da região de Londrina - PR. *Semina* 11: 53-59.
- WARE, P. & KASPER, L. H. (1987) Strain-specific antigens of *Toxoplasma gondii*. *Infection and Immunity* 55: 778-783.
- WEISS, L. M.; UDEN, S. A.; TANOWITZ, H. & WITTNER, M. (1988) Western blot analysis of the antibody response of patients with AIDS and *Toxoplasma* encephalitis: antigenic diversity among *Toxoplasma* strains. *J. Infect. Dis.* 157: 7-13.
- WORK, K.; ERIKSEN, I.; FENNESTAD, K. L.; MOLLER, T. & SIIM, J. C. (1970) Experimental toxoplasmosis in pregnant sows. *Acta Path. Microbiol. Scand. Section B* 78: 129-139.

(Received 13 September 1992, Accepted 31 August 1994)