

PROJETO PEPPE 1.06

TÍTULO: Toxoplasmose: Aspectos epidemiológicos e experimentais

COORDENADOR DO PROJETO:

NOME: SERGIO GOMES COUINHO PROFISSÃO: MÉDICO.....

FUNÇÃO ATUAL: PROFESSOR TITULAR - PARASITOLOGIA - IPCB.....

TÍTULOS PRINCIPAIS: A) Premio Gerhard Domagk da Soc. Bras. Med. Trop.
Curriculo aprovado pelo C.V.E. como Prof. de Parasit. do Curso
B) de Pós Graduação da Doença Inf. Parasit. da Fac. Med. da UFRJ.
C) Chefe do Laboratório de Protozoologia do IPCB.....

PUBLICAÇÕES PRINCIPAIS:

- A) Segmental Hepatic Angiography - Am. J. Dig. Dis. 12:685, 1967.
- B) Studies on Schistosomiasis - Edited by F.K. Mostofi - Spinger-Verlag, New York, 1967.
- C) Análise comparativa das reações..... Na pesquisa de anticorpos para toxoplasmose - Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 6: 318, 1972.

INSTITUIÇÕES QUE PARTICIPAM DO PROJETO (CITAR FORMA DE PARTICIPAÇÃO):

- A) Instituto Presidente Castello Branco da Fundação Oswaldo Cruz.....
- B) Instituto Fernandes Figueira - Amostras de sangue de parturientes e neonatos.....
- C) Carmela Dutra (Maternidade) - Amostra de sangue de parturientes e neonatos.....
- D)

RELAÇÃO DE INVESTIGADORES DOCENTES DO PROJETO::

- A) PAULO CHAGASTELLES SABROZA FUNÇÃO: Professor Assistente
- B) FUNÇÃO:
- C) FUNÇÃO:

DESCRIÇÃO DO PROJETO:

- a) INTRODUÇÃO - JUSTIFICATIVA
- b) OBJETIVOS E METAS
- c) MÉTODOS E ESTRATÉGIA



MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO PRESIDENTE CASTELLO BRANCO

1.06

TOXOPLASMOSE. A - Aspectos Epidemiológicos
D - Aspectos Experimentais

Pesquisador Chefe: Sergio Gomes Coutinho

Pesquisador Assistente: Paulo Chagastelles Sabroza

A toxoplasmose é um problema cuja grandeza pode ser medida pela imensa produção bibliográfica dos últimos anos, sendo que Jira e Kozjed em 1967 referem cerca de 8.000 publicações na literatura mundial sobre o assunto. O problema maior continua sendo a importância da doença quando transmitida congenitamente, podendo acarretar embriopatias e fetopatias como tem sido relatado por inúmeros autores, ressaltando em nosso meio o trabalho de Delascio.

A importância da transmissão congênita de toxoplasmose tem sido analisada em vários trabalhos, sendo que Aho e cols. citado por Campillo refere que a toxoplasmose representa 0,5% das causas de aborto. Por outro lado, Canvreur e Decmonts cifram em 1:1000 a taxa de infecção congênita.

Como a transmissão congênita da doença ocorre principalmente nos casos de gestantes que adquirem a toxoplasmose na vigência da gravidez, parece importante avaliar-se em que grupo etário, (crianças e adultos) são mais frequentes os casos novos de toxoplasmose adquirida.

Na literatura mundial existem trabalhos a este respeito, e nós mesmos no Rio de Janeiro, fizemos estudos iniciais em crianças de 1 a 5 anos de idade e 6 a 10 anos de idade, estudos estes que devem ser ampliados e aprofundados para que conclusões efetivas possam ser tiradas.

A parte experimental do presente plano de trabalho refere-se ao isolamento de cepas de parasito de doentes em nossa população, e avaliar-se através infecção de animais em laboratório, a virulência destas cepas, assim como, a transferência de anticorpos materno-fetal e sua importância na proteção dos animais jovens.

Assim sendo, o presente plano de trabalho consta de duas partes: A e B.

/...



MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO PRESIDENTE CASTELLO BRANCO

.2.

PLANO DE TRABALHO

PARTE A

I. OBJETIVOS

Relaciona-se à pesquisa de anticorpos específicos para Toxoplasma gondii em grupos de escolares no Rio de Janeiro, duas vezes por ano, para verificar-se a incidência anual de toxoplasmose doença ou infecção segundo o grupo etário. Também irá pesquisar-se em recém nascidos a presença de anticorpos específicos para Toxoplasma gondii em níveis de IgM para avaliar-se a magnitude do problema da transmissão congênita da doença em grupos populacionais no Rio de Janeiro.

II. MATERIAL E MÉTODO

Serão examinadas crianças de 7 a 15 anos de idade, pertencentes à rede escolar do Rio de Janeiro. O sangue será coletado ou por punção venosa ou digital segundo técnica de Wallace, por duas vezes de cada indivíduo, com intervalo aproximado de 12 meses.

O material coletado será submetido a técnica de imunofluorescência, para pesquisa de anticorpos (IgG) específicas para toxoplasma gondii. A análise do número de indivíduos que apresentarem soro não reagente ao primeiro exame e reagente ao segundo exame, permitirá a avaliação da incidência anual da toxoplasmose no grupo estudado. As vantagens da técnica de imunofluorescência já foram estudadas por Camargo, Nery Guimarães e Coutinho, além de outros.

Para avaliar-se o problema da transmissão congênita, crianças de até 7 dias de idade, nascidas na Maternidade Thompson Mota e outras, terão o sangue coletado por punção venosa ou digital. O material coletado, será submetido a técnica de imunofluorescência para pesquisa de anticorpos (IgM) específicos para Toxoplasma gondii.

Esta técnica é de grande valor, como demonstraram Remington, Camargo e outros, tendo em vista que as globulinas IgM não atravessam a barreira placentária, e portanto todo anticorpo específico para toxoplasma gondii em níveis de IgM evidenciadas no recém nascido, estão relacionadas com uma infecção congênita.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO PRESIDENTE CASTELLO BRANCO

III BIBLIOGRAFIA

Jira J, Kozajed V - Toxoplasmoses 1908 - 1967. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1970.

Delascio, D. Toxoplasmoses congênita, Aspectos clínicos, obstétricos e experimentais - Maternidade e Infancia 15: 183, 1956.

Campillo J.C - Sobre la epidemiologia de la Toxoplasmosis. Rev.Iber. Parasitol. 33 (2-3)- 1973.

Couvreur J, Desmonts G- Develop. Med and child. Neurol. 3- 519, 1962.

Coutinho S.G. Oliveira G. Resultado da reação indireta para Toxoplasmoses em crianças de 1 a 5 anos de idade residentes em suburbio do Rio de Janeiro. Soc. Bras.Med. Trop. 6º Congresso - 1970.

Coutinho S.G - Resultados da reação de imunofluorescencia indireta para Toxoplasmoses em crianças de 6 a 10 anos de idade residentes no Rio de Janeiro. Rev.Soc.Bras.Med.Trop. 6- 318, 1972.

Coutinho S.G. Andrade C.M. Ferreira L.F.- Analise comparativa entre as sensibilidades da reação indireta de anticorpos fluorescentes e da reação de Sabin e Feldman na pesquisa de Anticorpos para Toxoplasmoses. Rev.Soc.Bras.Med.Trop. 4- 315, 1970.

Camargo M.- Estudo comparativo das reações de Sabin e Feldman e de imuno fluorescencia indireta para Toxoplasmoses em 1000 soros humanos. Rev.Inst.A.Lutz. 24- 1, 1964.

Nery Guimarães F. Grimberg N, Lage II- Reação indireta de anticorpos fluorescentes no Diagnóstico da Toxoplasmoses. J.B.M. 15- 89, 1968.



MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO PRESIDENTE CASTELLO BRANCO

PLANO DE TRABALHO

PARTE B

I- OBJETIVO

1a. Parte

Refere-se ao estudo da virulência para camundongos, de quatro amostras de *T. gondii*: a amostra "Sonia", "Elsa" e "I", que foram isoladas de casos humanos de toxoplasmose linfaglandular, e a amostra "Congênita", que foi isolado de um caso de toxoplasmose congênita.

2a. Parte

Refere-se a verificação de transferência de anticorpos para toxoplasma *gondii* de camundongos grávidas para seus bebês. Verificar-se-á também, como estes camundongos filhos de mães doentes reagirão a uma nova infecção com toxoplasma *gondii*.

II- MATERIAL E MÉTODO

Para o estudo da virulência das amostras "Sonia", "Elsa", "I" e Congênita, será utilizada aproximadamente 350 camundongos, albinos, fêmeas, de 57 dias de idade e com um peso médio aproximado de 21 g.

Os camundongos serão divididos em grupos, que serão inoculados por via subcutânea com 1000 trofozoitos de toxoplasma *gondii* das amostras acima citadas. Haverá também um grupo controle.

Para a contagem dos toxoplasmas a ser inoculados, será utilizada a câmara de Neubauer.

A contagem dos toxoplasmas será feita empregando-se a mesma técnica usada para a contagem de leucócitos, dela diferida apenas quanto ao emprego do líquido diluidor, que neste trabalho será substituído por salina estéril.

Será usada nas inoculações penicilina e estreptomicina na tentativa de prevenir infecção bacteriana.

No estudo da transferência de anticorpos para toxoplasma de camundongas grávidas para seus bebês, usaremos a amostra do toxoplasma *gondii* que for no todo a menos virulenta, primeira parte do trabalho.

/...

1747



Neste artigo serão usadas aproximadamente 90 camundongos fêmeas, albinos e primíparas.

Estas camundongas ficarão grávidas, e quando completarem o 10º dia de gravidez, serão divididas em 3 grupos:

O primeiro grupo será inoculado com 1000 trofozoítos de *Toxoplasma gondii* por via subcutânea, este grupo não será tratado.

No segundo grupo, as camundongas serão inoculadas com 1000 trofozoítos de *Toxoplasma gondii* por via subcutânea, e serão tratadas com sulfá e pirimetamina, via oral, de acordo com o peso médio das camundongas, de acordo com a técnica de Brus 1957.

O terceiro grupo não inoculado, será o grupo controle. Conforme o início do tratamento, o segundo grupo será subdividido em 3 grupos, o primeiro que começará a ser tratado no dia da inoculação, o 2º que será tratado no dia seguinte no da inoculação, e o 3º, no segundo dia após a inoculação.

Quando as babies das camundongas inoculadas e não tratadas, e as das camundongas inoculadas e tratadas nascerem, metade delas será sacrificada para pesquisa de anticorpos pela Sabin-Feldman, e para isolamento de *Toxoplasma gondii*. A outra metade crescerá e quando alcançarem o 21º dia de vida, serão inoculadas por via subcutânea com 1000 trofozoítos de *Toxoplasma gondii*.

Os camundongos nascidos de mães não inoculadas quando completarem 21 dias de idade, serão também inoculados com 1000 trofozoítos de *Toxoplasma gondii* por via subcutânea.

Será comparado depois o tempo de sobrevivência dos camundongos babies das mães inoculadas e tratadas, das mães inoculadas e não tratadas, e das mães não inoculadas.

Com esta, poderá verificar-se, se os anticorpos levados pela mãe, têm influência na evolução da toxoplasmose experimental de seus filhotes.

III- BIBLIOGRAFIA

- Snitch, T. Petrozutech, Z. Bordjachki, A.E Pop. Centch. S: Observations on the virulence of *Toxoplasma gondii*. Arch. Inst. Pasteur d'Algérie. 1958, Junho, V. 36, No 2, 165-72.

/...

1748



MINISTÉRIO DA SAÚDE
FUNDAÇÃO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO PRESIDENTE CASTELLO BRANCO

3.

Eyles, D. E. & Coleman, Nell: Relationship of size of inoculum to time to death in mice infected with *Toxoplasma gondii*. *J. Parasitology*. 1956, June, V. 42. No 3, 272-276.

Werner, H. & Eggler: I Latent toxoplasma infection of the uterus and its importance for pregnancy. II Experimental investigations on the influence of latent toxoplasma infection on the course of pregnancy in mice. *Zentralbl. Bakt., Orig.* 1938. V. 208, No 1/2, 122-135

Nakayama, I.: Investigation on the congenital transmission of toxoplasmosis in chronically infected mice which were re-inoculated during pregnancy. *Jap. J. Parasit.*, 1968. 17. No. 2. 123-138.

Von Der Waay, D. Congenital Transmission of avirulent *Toxoplasma gondii* after experimental infection in mice prior to gestation. *Trop. & Geograph. Med.* Amsterdam, 1960 Sept., V.12, No. 3, 251-257.

Machado, J. O. De Pinho, A.L., Silva, S.L. Gomes: Transmissão de anticorpos congênitos em animais com placenta hemo-serial na toxoplasmose experimental. *Hosp.*, Rio de Janeiro, 1968, V. 74, No 1, 173-180.

Sikorski, R.: Treatment of toxoplasmosis in animals experimentally infected with the RH strain of *T. gondii*. *Acta Parasit. Pol.*, 1966-67, V.14, No 25, 229-239.

Bakala, A., Herman, Z. & Szafiarzki. I: Tentative treatment of sulfamithoxyprazine pyrimethanole combination and effect of sulfamithoxyprazine - in the treatment of experimental toxoplasmosis in the mouse. *Acta Parasit. Pol.*, 1970, V. 18, No 43, 483-83.

Brios, R., Chrusciel, T.L., Steffca J. & Szafiarzki J. Tentative treatment of experimental toxoplasmosis in mice. VI Effect of prednisone, dianabol, metopiron and guanidine derivatives on the course of subacute toxoplasmosis. *Acta Parasit. Pl.* 1967, V. 15, No 11, 81-4.

/...

1749

RELAÇÃO DE OBRAS, EQUIPAMENTO DE PESQUISA, MATERIAL PERMANENTE, DOCUMENTAÇÃO E MATERIAL DE CONSUMO NECESSÁRIOS AO PROJETO

DISCRIMINAÇÃO	CUSTO UNITÁRIO	ANO I	ANO II	ANO III
1 Microscópio Binocular	40.000,00	40.000,00	—	—
1 Equipamento Wild p/campo ruivo	10.000,00	10.000,00	—	—
1 caixa de ar de lamina vertical	30.000,00	30.000,00	—	—
2 carros de injeção	600,00	1.200,00	—	—
2 geladeiras	2.000,00	4.000,00	—	—
material de escritório	—	1.000,00	1.000,00	1.000,00
Viduaia	—	5.000,00	3.750,00	3.750,00
Drogas e Reagentes	—	20.000,00	17.000,00	17.000,00
1 lâmpada HB0200	2.000,00	2.000,00	—	—

CONTRIBUIÇÃO ADICIONAL PARA PESSOAL REQUERIDO PARA O PROJETO

	ANO I		ANO II		ANO III	
	PRO-LABORE	CONTRATO 20 h 40 h	PRO-LABORE	CONTRATO 20 h 40 h	PRO-LABORE	CONTRATO 20 h 40 h
A. PESSOAL DE PESQUISA						
COORDENADOR DO PROJETO	1	— —	1	— —	1	— —
INVESTIGADOR DOCENTE	—	— —	—	— —	1	— —
INVESTIGADOR C	—	— 1	—	— 1	—	— 1
INVESTIGADOR (A ou B)						
B. PESSOAL TÉCNICO						
SUPERIOR: a)						
b)						
c)						
d)						
MÉDIO: a) Tec. Labor.	1	— —	1	— —	1	— —
b)						
c)						
d)						
C. PESSOAL DE APOIO						
a)						
b)						
c)						
d)						
e)						
f)						
g)						
h)						
i)						
j)						
k)						
						1750

PREVISÃO ORÇAMENTÁRIA:

ITENS DO DISPÊNDIO	ANO I	ANO II	ANO III	TOTAL
1. DESPESAS DE INVESTIMENTO				
1- OBRAS				80.000,00
2- EQUIPAMENTO DE PESQUISA	80.000,00	—	—	5.200,00
3- MATERIAL PERMANENTE	5.200,00	—	—	
4- DOCUMENTAÇÃO				
2. DESPESAS DE OPERAÇÃO				
1- PESSOAL				430.660,00
1. Pró-labores	30.000,00	30.000,00	44.400,00	104.400,00
2. Salários * 19.000,00 —	96.000,00	96.000,00	96.000,00	264.000,00
3. Encargos sociais * 16.980,00 —	22.640,00	22.640,00	22.640,00	62.260,00
2- MATERIAL DE CONSUMO	28.000,00	21.750,00	21.750,00	71.500,00
FORMAÇÃO DE PESSOAL (BOLSAS) * 22.000,00	96.000,00	96.000,00	96.000,00	264.000,00
APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL				12.000,00
1. Cursos				
2. Congressos	4.000,00	4.000,00	4.000,00	12.000,00
5. ASSISTÊNCIA TÉCNICA				
1. Consultoria				
2. Processamento				
3. Exames complementares				6.000,00
6. ITENS SUPLEMENTARES				
1. Viagens				
2. Diárias				
3. Manutenção equipamentos, etc.				
4. Transporte urbano e pronto pagamento	2.000,00	2.000,00	2.000,00	6.000
5. Outros serviços de terceiros				
	310.180,00	272.390,00	286.790,00	869.360,00 ✓

OBSERVAÇÕES:

* Sofreu redução de 25% no ano I.

1751

/Mev.