

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DOUTORADO EM MEDICINA TROPICAL

**VALIDAÇÃO DO TESTE DE IgA SECRETORA
ESPECÍFICA DA LÁGRIMA EM PORTADORES DE
UVEÍTE POSTERIOR ATIVA PRESUMIVELMENTE
POR *Toxoplasma gondii*.**

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Medicina Tropical do Centro
de Ciências da Saúde da Universidade
Federal de Pernambuco para obtenção do
grau de Doutor em Medicina Tropical.
Área de Concentração: Doenças Infecto
Contagiosas.**

Orientadora. PROFA. DRA. ELIZABETH MALAGUEÑO

**Recife
2007**

Gaete, Maria Isabel Lynch

**Validação do teste de IgA secretora específica da lágrima em portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*/ Maria Isabel Lynch Gaete. – Recife : O Autor, 2007.
*xvii, 128 folhas ; il., quadros., fig., tab.***

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2007.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Uveíte – IgA secretora da lágrima 2. Uveíte - Toxoplasmose. I. Título.

**617.721.6
617.72**

**CDU (2.ed.)
CDD (22.ed.)**

**UFPE
CCS2007-34**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
 PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
 CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL – MESTRADO E DOUTORADO

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA TESE DA DOUTORANDA

MARIA ISABEL LYNCH GAETE

No dia 08 de março de 2007, às 14h00, na Sala Prof. Murillo LaGreca, no 3º. and. do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco – C.C.S./UFPE, os Professores: **Prof. Dr. Fernando Oréfice** (Depto. de Oftalmologia e Otorrinolaringologia/UFMG – Membro Externo), **Profª Drª Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque** (Depto. de Medicina Tropical/UFPE – Membro Interno), **Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes** (Depto. de Medicina Tropical/UFPE – Membro Interno), **Profª. Drª. Valdênia Maria Oliveira de Souza** (Depto. De Farmácia/UFPE – Membro Externo) e a **Profª Drª Vláudia Maria Assis Costa** (Depto. de Medicina Tropical/UFPE – Membro Externo), componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, argüiram a doutoranda **Maria Isabel Lynch Gaete** sobre a sua Tese intitulada **“Validação do teste de IgA secretora específica da lágrima em portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*”**. Ao final da argüição de cada membro da Banca Examinadora e resposta da doutoranda, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Prof. Dr. Fernando Oréfice

Profª. Drª. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque

Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Profª. Drª. Valdênia Maria Oliveira de Souza

Profª. Drª. Vláudia Maria Assis Costa

Fernando Oréfice

Aprovada c/ distinção

Aprovado e distinção

Valdênia Souza c/ distinção

Vláudia Maria Assis Costa c/ distinção

Fernando Oréfice
 Prof. Dr. Fernando Oréfice

Mônica C. P. A. Albuquerque
 Profª. Drª Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque

Ricardo Arraes de Alencar Ximenes
 Prof. Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes

Valdênia Souza
 Profª. Drª Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vláudia Maria Assis Costa
 Profª. Drª Vláudia Maria Assis Costa

À minha mãe, Adriana, eterna lição de renovação e coragem.

A Luiz, meu esposo, companheiro de todas as horas.

À Maria Antonieta e Luiz Felipe, meus filhos, pelo estímulo, compreensão e apoio irrestrito

AGRADECIMENTOS

À professora Elizabeth Malagueño, pela competência e seriedade profissional. Agradeço a sua valiosa orientação e colaboração, sem as quais este trabalho não teria sido possível.

Ao professor Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, pela ajuda desinteressada, pela dedicação aos alunos e seriedade científica, expressei meu respeito e admiração.

Ao professor Fernando Oréfice, Professor Titular de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais que em todos os momentos acreditou neste estudo, dando total apoio, especialmente no período transcorrido no serviço de Uveítes do Hospital São Geraldo, Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais.

À professora Heloísa Ramos Lacerda de Mello, pelo apoio constante.

Aos todos os profissionais do laboratório de Imunologia Keizo Azami (LIKA), que participaram desde trabalho, direta ou indiretamente. Sua participação foi inestimável.

Aos meus colegas, oftalmologistas e residentes do serviço de oftalmologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, pelo estímulo e colaboração irrestrita.

À Jupira Pinho e Walter Leite, funcionários da Secretaria do Departamento de Pós-graduação em Medicina Tropical pela presença, sempre solícita e gentil nestes anos de trabalho.

A todos os colegas oftalmologistas, que, enviando seus pacientes, viabilizaram este estudo.

**“SÓ É VISTO AQUILO QUE SE
QUER VER”**

Anônimo

ABSTRACT

Lynch , Maria Isabel. Validation of the lacrimal specific secretory IgA test for the diagnosis of posterior uveitis presumptively due to *Toxoplasma gondii*.

Toxoplasmosis is the principal cause of posterior uveitis in Brazil. Serological antibody determination gives some information about the etiological agent of this illness. IgG is considered the natural marker for previous infection while IgM reveals active infection as far as IgA and IgE. Although, as toxoplasmosis is a worldwide distributed parasitosis, IgG may be found in normal subjects and IgM is seldom found elevated in ocular toxoplasmosis. Antibody determination also is done in vitreous humor. Anti *T. gondii* specific secretory IgA are more frequently found in tears of ocular toxoplasmosis than in IgG positive normal people. This study aimed to validate lacrimal a-*T gondii* sIgA determination as diagnostic tool for ocular toxoplasmosis. Were analyzed 197 active posterior uveitis patients, 82 of them were clinically diagnosed as golden standard toxoplasmosis uveitis(UPAPTgroup); 74 suffered from other etiologies uveitis (UPAOE group)and 41 not golden standard lesion(UPANO). These consisted in posterior uveitis active lesions adjacent to preexisting scars. Sera specific IgG and IgM determination was done in all the groups through Immunofluorescence. Just one patient had IgM positive and 106(84,8) were positives. ELISA was used for specific lacrimal sIgA determination with crude *T. gondii* tachizoites as antigens .Sensitivity of 65,9%(IC=60,3-81,5) and specificity of 71,6%(IC=59,8-81,2) was obtained when compared other etiologies and golden standard groups. Positive predictive probability(PPP) was 72% and negative predictive probability (NPP)65,4%. It was collected tears from both eyes, with uveitis and the healthy one, a- *T gondii* sIgA was also detected in healthy eye tears(p=0,874) It was concluded that this test for sIgA is useful for diagnosis of ocular toxoplasmosis, although some modifications must be done in order to improve sensitivity and specificity .

Keywords:

Uveítis, toxoplasmosis, IgA secretory lacrimal.

RESUMO

LYNCH, Maria Isabel. *Validação do teste de IgA secretora específica da lágrima em portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii. 2007. 140 f. Tese de Doutorado – Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.**

Toxoplasmose é a principal causa de uveíte posterior em nosso meio. A determinação de anticorpos no soro contribui para o esclarecimento etiológico da doença. Dentre as imunoglobulinas na toxoplasmose a mais relevante é a IgG, considerada marcador de contato prévio, seguido pela IgM, cuja presença denota atividade da doença e pela IgA e IgE. Determinações também podem ser realizadas no humor aquoso. A IgA secretora específica da lágrima tem sido observada com níveis de reatividade maior, em indivíduos com toxoplasmose ocular, quando comparados com pacientes normais. O presente estudo objetivou validar o teste de IgA secretora anti *T. gondii* na lágrima. Foram analisados 197 indivíduos portadores de uveíte posterior ativa, sendo 82 deles caracterizados como provavelmente toxoplásmica (padrão ouro), 74 pacientes portadores de uveítes posteriores de outras etiologias e 41 pacientes de possível toxoplasmose, porém sem padrão ouro. Considerou-se como padrão de seleção (padrão ouro), lesões de uveíte posterior ativa, satélite de lesão cicatrizada. Foi determinada a IgG e IgM sérica em 125 pacientes, por método de imunofluorescência. Para pesquisa de IgA secretora anti *T. gondii* na lágrima foi utilizado antígeno bruto do mesmo e técnica de imunoenensaio (ELISA). A determinação de dosagens de anticorpos IgG e IgM, mostrou que 106 pacientes (84,8%) foram positivos para IgG específica. Um paciente teve IgM positiva. A pesquisa de IgA secretora específica na lágrima mostrou sensibilidade de 65,9% (IC = 54,5-75,4) e especificidade de 71,6% (IC= 59,8 - 81,2) quando trabalhados o grupo de uveítes posterior ativa padrão ouro e o grupo de uveítes posteriores de outras etiologias. Valor preditivo (+): 72%, (IC= 60,3-81,5) e negativo: 65,4% (IC=54,0-75,4). Razão de verossimilhança (+)=2,33. Probabilidades de doença pré-teste: 52,5% e pós-teste 72,0% Probabilidades de não doença pré-teste: 52,5% e pós-teste: 34,6%. Esses valores diminuíram quando feitas simulações com o grupo não padrão ouro. Os índices de reatividade da IgA secretora específica da lágrima foram maiores no grupo de uveítes posteriores padrão ouro que no grupo de uveítes de outras etiologias (p=0,004), o que não aconteceu com o grupo de pacientes não padrões ouro. Houve reatividade também do olho sadio (p=0,874). Conclui-se que o teste para determinação de IgA secretora anti-*Toxoplasma gondii* é um teste válido para diferenciar pacientes portadores de uveíte posterior ativa por toxoplasmose ocular de pacientes portadores de uveítes causadas por outras etiologias. Acreditamos que aprimoramentos precisam ser realizados á nível laboratorial que venham a melhorar o desempenho do teste.

Palavras –chave:

Uveíte, toxoplasmose, IgA secretora da lágrima.

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Distribuição dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 –dezembro de 2006 **p.61.**

TABELA 2. Distribuição por sexo e faixa etária dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 - dezembro de 2006 **p.62.**

TABELA 3 - Distribuição dos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) segundo procedência, atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 - dezembro de 2006. **p. 63.**

TABELA 4 - Distribuição de resultados de IgG e IgM no soro, por grupo, nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 –dezembro de 2006. **p.64.**

TABELA 5 - Distribuição da frequência do olho afetado nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 - dezembro de 2006. **p.65.**

TABELA 6 - Avaliação de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, probabilidades de doença, e intervalo de confiança do teste IgA secretora anti-*T. gondii* nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 –dezembro de 2006. **p.67.**

TABELA 7 - Avaliação de sensibilidade e intervalo de confiança do teste IgA secretora anti-*T. gondii* nos pacientes portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 –dezembro de 2006. **p.69.**

TABELA 8 – Avaliação de sensibilidade, especificidade, valores preditivos probabilidades da doença e intervalo de confiança do teste IgA secretora anti-*T. gondii* nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) associado uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 – dezembro de 2006. **p.70.**

TABELA 9 – Avaliação de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, probabilidade da doença e intervalo de confiança do teste IgA secretora anti-*T. gondii* nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) + uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 –dezembro de 2006. **p.72.**

TABELA 10 - Distribuição etiológica e resultados do teste IgAs específica da lágrima anti *T-gondii* nos pacientes portadores de uveíte posterior de outra etiologia (UPOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 – dezembro de 2006. **p.75.**

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- Nomograma de probabilidade pré e pós-teste. **p.54**

FIGURA 2: Análises das médias dos índices de reatividade da IgA secretora específica da lágrima nos olhos doentes e não doentes de portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO). Atendidos no HC e UFMG da UFPE, abril de 2003 a dezembro de 2006. **p.66**

FIGURA 3. Nomograma da probabilidade pré e pós-teste da IgA secretora específica, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC e UFMG da UFPE, abril de 2003 a dezembro de 2006. **p.68.**

FIGURA 4. Nomograma da probabilidade pré e pós-teste da IgA secretora específica, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) associado uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC e UFMG da UFPE, abril de 2003 a dezembro de 2006. **p.71.**

FIGURA 5. Nomograma da probabilidade pré e pós-teste da IgA secretora específica, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) + uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC e UFMG da UFPE, abril de 2003 a dezembro de 2006. **p.73.**

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1: Guia de interpretação dos valores Likelihood ratios (LR), por Jaeschke et al (1994). **p.53.**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ac	anticorpos
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CD	complemento D
DNA	ácido desoxirribonucléico
EFG	fator de crescimento epidermal
ELISA	Enzime-Linked Imunosorbent Assay
<i>et al</i>	e outros
GALT	tecido linfático associado do intestino
HC	Hospital das Clinicas
HIV	virus HIV
IC	intervalo de confiança
IFA	Imunofluorescencia indireta
IgA	imunoglobulina A
IgA _s	imunoglobulina A secretora
IgE	imunoglobulina E
IgG	imunoglobulina G
IgM	imunoglobulina M
INF	interferón
If γ	interferón gama
IL12	interleucina 12
ISAGA	Imununosorbent Agglutination Assay
kDa	kilo Dalton

LIKA	Laboratório de imunologia Keizo-Asami
nm	nanômetros
NO	óxido nítrico
p.	página
PCR	Polymerase Chain Reaction
PE	Pernambuco
Rx	raio X
SC	componente secretor
SIDA	Síndrome de imunodeficiência adquirida
<i>T. gondii</i>	<i>toxoplasma gondii</i>
TGF	fator transformador de crescimento
UPAOE	Uveíte posterior ativa por outra etiologia (não toxoplásmica)
UPANO	Uveíte posterior ativa “sem padrão ouro”.
UPAPT	Uveíte posterior ativa presumivelmente por <i>T. gondii</i>
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
Vp+	Valor preditivo positivo
Vp-	Valor preditivo negativo
χ^2	Qui quadrado
μL	microlitros

SUMÁRIO

1. DEFINIÇÃO DO OBJETO DA PESQUISA.....	01
1.1. DELIMITAÇÃO DO TEMA.....	01
1.2. REVISÃO DA LITERATURA	05
1.2.1. GENERALIDADES.....	05
1.2.2. EPIDEMIOLOGIA.....	08
1.2.3. ASPECTOS CLÍNICOS DA TOXOPLASMOSE.....	10
1.2.4. CARACTERÍSTICAS FUNDOSCÓPICAS.....	18
1.2.5. ASPECTOS IMUNOLÓGICOS.....	19
1.2.6. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	26
1.2.6.1. PESQUISA DO PARASITA OU SEUS COMPONENTES.....	27
1.2.6.2. TESTES SOROLÓGICOS	28
1.2.6.3. OUTROS EXAMES.....	31
1.2.6.4. EXAMES EM TOXOPLASMOSE OCULAR.....	32
2. QUESTÃO DA PESQUISA.....	36
2.1. DEFINIÇÃO DOS OBJETIVOS.....	36
2.2. GERAL.....	36
2.3. ESPECÍFICOS.....	36
3. DESENHO DO ESTUDO.....	37
4. OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	38
4.1. POPULAÇÃO DA PESQUISA.....	38
4.1.1. POPULAÇÃO ALVO.....	38

4.1.2. TIPO DE AMOSTRAGEM.....	38
4.1.3. DEFINIÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA.....	39
4.2. DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS.....	40
4.2.1. DEFINIÇÃO DE UVEÍTE POSTERIOR ATIVA.....	40
4.2.2. DEFINIÇÃO DO PADRÃO OURO.....	42
4.2.3. DEFINIÇÃO DO TESTE DE IgA SECRETORA ANTI <i>Toxoplasma gondii</i>	43
4.2.4. DEFINIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO.....	43
4.3. INTEGRANTES DA AMOSTRA.....	43
4.3.1. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	43
4.3.2. CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	44
4.4. MÉTODOS DE COLETA DOS DADOS E DA CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS.....	44
4.4.1. COLETA DE DADOS E AMOSTRAS.....	44
4.4.1.1. DIAGNÓSTICO CLÍNICO.....	45
4.4.1.1. COLETA DE AMOSTRAS.....	46
4.4.2. VARIÁVEIS BIOLÓGICAS E SOCIAIS.....	47
4.4.2.1. IDADE.....	47
4.4.2.2. SEXO.....	48
4.4.2.3. PROCEDÊNCIA.....	48
4.4.3. ANÁLISE LABORATORIAL.....	48
4.4.3.1. DETERMINAÇÃO DA IgA SECRETORA ANTI- <i>T.</i> <i>gondii</i>	49
4.4.3.2. DETERMINAÇÃO DE IgG E IgM ANTI- <i>T. gondii</i> NO SORO.	50
5. PLANO DE TABULAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS.....	51

6. LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS DO ESTUDO.....	55
6.1. ERRO ALEATÓRIO.....	55
6.2. ERRO SISTEMÁTICO: QUESTÃO VIÉS.....	55
6.2.1. VIÉS DE SELEÇÃO.....	56
6.2.2. VIÉS DE AFERIÇÃO.....	56
6.2.2.1. ERRO DE CLASSIFICAÇÃO.....	56
6.2.2.2. INSTRUMENTOS DE MEDIDA E COLETA DE DADOS	58
6.2.2.3. VIÉS DE MENSURAÇÃO.....	58
7. CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	60
8. RESULTADOS.....	61
8.1. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.....	61
9. DISCUSSÃO.....	76
10. CONCLUSÃO.....	93
11. RECOMENDAÇÕES.....	94
12. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
13. ANEXOS.....	123

1 - DEFINIÇÃO DO OBJETO DA PESQUISA.

1.1 - DELIMITAÇÃO DO TEMA.

A toxoplasmose é provocada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário de distribuição geográfica mundial, constituindo-se em uma das zoonoses de maior difusão no mundo em que vivemos (TONELLI *et al.*, 2000).

A prevalência, avaliada através da frequência de anticorpos anti-toxoplasma, é elevada em quase todos os países, já que de 20 a 90% da população adulta entrou em contato com o parasita (FRENKEL, 1985; BAHIA, 1992; JAIN *et al.*, 1998). No Brasil entre 50 a 80% da população adulta apresenta sorologia positiva para toxoplasmose, variando segundo as diversas regiões, assim, o Rio Grande do Sul alcança 82%, 42% em São Paulo e 50% na Bahia (ABREU *et al.*, 1998). Segundo SILVEIRA *et al.* (1998), no sul do país a soro-prevalência entre crianças de 10 a 15 anos pode ser tão alta quanto 98%, já em Pernambuco, 79.1% das crianças entre 9 e 15 anos de idade, residentes em Jaboatão dos Guararapes, apresentaram sorologia positiva em estudo realizado no ano 2000 (KOBAYASHI *et al.*, 2000).

Na maioria dos casos a infecção pode ser clinicamente inaparente, porém, o parasita pode causar morbidade substancial. Segundo MEAD *et al.*, (1999) nos Estados Unidos é a terceira causa mais comum de morte relacionada a problemas alimentares.

A primeira forma de transmissão conhecida, causadora de lesões em humanos foi a transmissão transplacentária, sendo aceita em 1939 como causa de comprometimento ocular (WOLF, COWEN e PAIGE, 1939) embora, já fosse descrita em 1923 por JANKU. A toxoplasmose ocular em adultos não

foi reconhecida até 1952 com os trabalhos de WILDER. Em 1973 PERKINS destacou a importância da toxoplasmose congênita, ressaltando que 70% delas poderiam ter cicatrizes coriorretinianas.

A retinocoroidite toxoplásmica é considerada a infecção mais comum da retina e a principal causa de uveíte posterior em diversas partes do mundo (JAIN, 1998; GEHLEN *et al.*, 1999; HOLLAND *et al.*, 2002). No Brasil ela é responsável por 50% a 80% do total das uveítes (BELFORT, 1978).

A lesão clássica da toxoplasmose ocular é uma retinocoroidite granulomatosa, focal e necrosante (HOGAN, 1958), porém, pode apresentar consideráveis variações nas formas clínicas, descritas na literatura como atípicas (SMITH & CUNNINGHAM, 2002; FARDEAU *et al.*, 2002; LIEB *et al.*, 2004).

O diagnóstico definitivo depende da identificação do parasita ao ser encontrado o taquizoíto nos líquidos orgânicos (KAWAZOE, 1988) ou através da identificação do DNA (ácido desoxirribonucléico) do parasita em fluidos oculares ou secções da retina (KASUMI *et al.*, 1996; JONES *et al.*, 2000). Entretanto, são os testes sorológicos as ferramentas mais utilizadas para o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose (GÓMEZ - MARÍN, 2000; RONDAY *et al.*, 1999). Através deles é possível demonstrar a presença de anticorpos específicos antitoxoplasma no soro e em outros líquidos orgânicos, como o humor aquoso ou vítreo (KLAREN, 1998; GARWEG, 2000; CAMARGO *et al.*, 1978). A quantificação desses anticorpos e a caracterização das classes de imunoglobulinas predominantes, associadas às observações clínicas, geralmente permitem que sejam estabelecidas as fases da doença.

O escasso conhecimento da fisiopatologia da toxoplasmose ocular se reflete nas dificuldades na realização do diagnóstico, o qual é baseado fundamentalmente nas características do quadro oftalmológico. Assim sendo, a determinação de imunoglobulinas no soro, das quais as mais utilizadas são a IgG e IgM, podem contribuir para definir o quadro. Nos casos em que o diagnóstico diferencial da toxoplasmose ocular se impõe, a quantificação de títulos de anticorpos no humor aquoso pode ser esclarecedora (GARGEW, 2006; 2005).

Estudos mostram que a medida de IgA específica para *T. gondi*, no soro, contribui substancialmente para o diagnóstico da toxoplasmose ocular (KATINA *et al*, 1992; RONDAY *et al.*, 1999; GARGWEG *et al.* 2000).

Outra linha de investigação tem procurado verificar a resposta imune das mucosas contra o *Toxoplasma gondii* detectando na lágrima IgA secretora (IgAs) específica. MACK & MCLEOD (1992) demonstraram que IgAs está presente no colostro de mulheres com infecção crônica e aguda, indicando que a infecção aguda efetivamente coincide com uma resposta imunitária das mucosas. MEEK *et al.*, (2000) investigaram essa imunoglobulina secretora em 62 indivíduos normais. Concluíram que lágrimas de indivíduos cronicamente expostos apresentam anticorpos específicos IgAs anti-*Toxoplasma gondii*. Experiências em animais têm apontado a importância do sistema secretor imunológico e que a resposta das mucosas pode ser induzida durante a infecção com os cistos de *T. gondii* (CHARDÈS *et al.*, 1990).

Anatômica e fisiologicamente, o bulbo ocular encontra-se coberto por uma membrana mucosa, a conjuntiva, e uma camada fluídica denominada filme lacrimal, sendo este uma solução eletroliticamente isotônica.

As glândulas lacrimais secretam os diversos componentes do filme lacrimal além de proteínas, nutrientes, hormônios, fatores de crescimento e imunoglobulinas, constituindo assim, a primeira e uma importante barreira defensiva e protetora ocular (WALCOTT, 1998; HOLLY, 1977).

Nas lágrimas podem ser encontradas IgG, IgM, IgE e IgA secretora. (DE LA TORRE & NÚÑES, 2002; BALLOW *et al.*, 1983). A imunoglobulina A é sintetizada nos folículos linfáticos, localizados nas glândulas lacrimais, sendo transportada por endocitose para a superfície conjuntival, acoplada ao componente secretor produzido nas células glandulares. (SAITOH-INAGAWA *et al.*, 2000).

A aplicação de antígenos na conjuntiva resulta em produção local de células com memória específica que respondem a posteriores aplicações tópicas do mesmo antígeno. Experimentos mostram que animais imunizados por via sistêmica a um antígeno específico produzem anticorpos circulantes contra o antígeno, os quais podem ser recuperados no filme lacrimal (SASPE, 1967). A imunização no intestino não resulta em imunização conjuntival, porém parece estimular a conjuntiva por meio de células específicas com memória que migram aos folículos linfáticos conjuntivais (PU *et al.*, 1983, CHARDES *et al.*, 1994).

LYNCH *et al.* (2004) verificaram a existência de intensa associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* e IgA secretora específica na lágrima, onde a análise da média aritmética das absorvâncias de IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima mostrou intensidades maiores nas reações dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*, quando comparados com os controles. No mesmo

estudo foi apontada sensibilidade de 84% e especificidade de 78% para o teste de IgAs na lágrima dos portadores de uveíte por *T. gondii*.

O presente trabalho objetiva verificar o quanto a determinação da IgAs antitoxoplasma é útil para diagnosticar uveíte ativa presumivelmente pelo microorganismo, descrevendo sua acurácia.

1.2 - REVISÃO DA LITERATURA.

1.2.1 - GENERALIDADES.

A toxoplasmose é provocada pelo *Toxoplasma gondii*, doença que provoca no ser humano, com maior frequência, infecções subclínicas (PERQUINS, 1973). A doença pode se apresentar completamente assintomática ou com sintomas similares a um resfriado comum (SILVEIRA, 1988). Entretanto, pode gerar quadros graves, especialmente em hospedeiros imunossuprimidos (GIRARD *et al.*, 1997; LANJEWAR *et al.*, 1998). Pode levar ao aborto espontâneo e causar infecção congênita se a contaminação da mãe ocorrer durante a gestação (METS *et al.*, 1997; MALM *et al.*, 1999). A gravidade das conseqüências da transmissão congênita para o feto, assim como as conseqüências visuais capazes de desenvolver seqüelas ao longo da vida constituem os principais fatores responsáveis pelo interesse atual em relação à doença. (VEITZMAN & CASTRO, 1996; GILBERT, 2000.),

O *Toxoplasma gondii* foi descrito pela primeira vez por ALPHONSO SPLENDORE em São Paulo, em Julho de 1908, em coelhos de laboratório. No mesmo ano, na Tunísia, CHARLES NICOLLE & LOUIS MANCEAUX

observaram o parasita e em 1909 o denominaram de *Toxoplasma gondii*, em atenção ao roedor africano chamado "*Ctenodactylus gondii*", no qual fora identificado. Toxoplasma é derivado do grego, em que "*toxon*" significa arco, alusão ao formato da forma taquizoíta.

Em 1923 em Praga, JANKU encontrou o parasita em uma criança de 11 meses de idade que apresentava também hidrocefalia, microftalmia e coloboma na região macular.

No Brasil, o primeiro caso de toxoplasmose foi descrito por MARGARINO TORRES em 1926, em um recém-nascido.

O *Toxoplasma gondii* pertence à classe Sporozoa. É parasita intracelular obrigatório, mede e 2 a 5µm. Apresenta três formas evolutivas: taquizoíta, bradizoíta e esporozoíta (KAWAZOE, 1988).

A forma taquizoíta é o organismo da infecção aguda, de rápida multiplicação, a qual ocorre dentro dos vacúolos citoplasmáticos da célula hospedeira, podendo infectar todo tipo de células. A multiplicação ativa leva a ruptura da célula e liberação dos organismos, que invadem células contíguas e também podem ser fagocitados ou transportados pelo sangue ou linfa a outras áreas do organismo. Não sobrevivem à dessecação, congelamento ou exposição ao suco gástrico. São vistos na infecção primária e nas reativações. Essa forma é lábil à medicação e mecanismos imunológicos (RADKE *et al.*, 2001).

O *Toxoplasma gondii* atinge o olho através do sangue, como parasitas livres, ou dentro de leucócitos circulantes. Os taquizoítos podem invadir todas as células do organismo através de um processo ativo de penetração.

O bradizoíto é uma forma estrutural e fenotipicamente diferente do taquizoíto. Interferon γ (INF- γ), óxido nítrico (NO), choque térmico e pH podem servir de gatilho para a conversão de taquizoítos em bradizoítos in vitro e, provavelmente, in vivo (DUBEY, *et al.*, 1998). É o organismo de repouso, de multiplicação lenta. Desenvolve-se durante a infecção crônica nos tecidos, formando cistos. Nessa forma, os mecanismos imunológicos não os atingem, podendo permanecer no cérebro, retina ou músculo estriado durante toda a vida do hospedeiro.

A forma esporozoíta se desenvolve no esporocisto, dentro do oocisto, que é eliminado nas fezes dos gatos, únicos hospedeiros definitivos da doença. Cada oocisto contém dois esporocistos, altamente infectantes para aves, mamíferos e o homem. Oocistos são formados somente no intestino dos felídeos sendo excretados pelas fezes por um período de 15 a 20 dias. A esporulação, necessária para se tornar infectante, ocorre no meio ambiente dentro de um a cinco dias, dependendo das condições de temperatura e oxigênio. É mais rápida em temperaturas cálidas. O oocisto pode permanecer viável até 18 meses no solo, por isto, o meio ambiente constitui um reservatório natural do microorganismo (DUBEY, *et al.*, 1998).

O *Toxoplasma gondii* tem predileção por tecidos embrionários ou fetais. O tecido nervoso é particularmente sensível assim também como o miocárdio, linfonodos periféricos e musculatura estriada. No adulto não há tropismo seletivo por qualquer tipo de célula. Com a entrada dos taquizoítos na corrente sangüínea e linfática, há invasão e proliferação das células levando-as à necrose. A destruição tissular acarreta fibrose e no sistema nervoso

central, seu equivalente, a gliose. Após algum tempo, ocorre resolução da forma aguda e surgimento das formas císticas (FRENKEL, 1997).

Na atualidade, é aceito que o *Toxoplasma gondii* é o agente mais comum causador de lesões na retina e a principal causa de uveítes posterior (HOLLAND, *et al.*, 2002).

1.2.2 – EPIDEMIOLOGIA.

Do ponto de vista epidemiológico trata-se de uma zoonose distribuída mundialmente. Sabe-se que a família dos felídeos, sendo epidemiologicamente mais relevantes os gatos, são hospedeiros completos, já que apresentam o ciclo sexuado e assexuado do toxoplasma, enquanto que outros hospedeiros como os homens e outros animais (incluindo onívoros, carnívoros, herbívoros e pássaros) são intermediários ou incompletos, ocorrendo apenas o ciclo tecidual extra-intestinal assexuado.

A infecção em humanos ocorre pela ingestão de alimentos, verduras mal lavadas ou água contaminada com oocistos, carnes mal cozidas que contém cistos, ou congenitamente através da mãe que adquiriu a doença durante a gestação. Menos comum é a transmissão por transplante de órgãos contaminados ou transfusão sanguínea (NEU, 1967).

No que diz respeito à água contaminada, BAHIA-OLIVEIRA (2003) em estudo epidemiológico realizado no Rio de Janeiro, Brasil, destacou que beber água não filtrada estava associado com um aumento de risco de soropositividade entre grupos socioeconômicos de médio e baixo poder aquisitivo. PALANISAMI, (2006), relata que em Coimbatore, província da Índia, durante

surto de toxoplasmose adquirida em setembro de 2004, o reservatório de água municipal foi apontado como fonte da contaminação, provavelmente provocada pelas fortes chuvas acontecidas na época.

A ingestão de carne contaminada parece ser fonte importante de transmissão humana. ASPINALL, (2002), realizou na Inglaterra, análise em amostras de carne para consumo humano encontrando que 33% de suínos e 67% de ovelhas foram positivas para DNA do parasita usando PCR.

A frequência de anticorpos antitoxoplasma é elevada em quase todos os países, já que de 20 a 90% da população adulta entrou em contato com o parasita. A incidência da infecção no homem varia de acordo com a área geográfica considerada, com os hábitos alimentares e proximidade com gatos ou outros animais domésticos. Esse último aspecto foi avaliado em estudo realizado por ASSIS JR. *et al.* (1997), Belo Horizonte, Brasil, em 52 pacientes com lesões ativas supostamente toxoplásmicas nos quais, o contato com animais domésticos foi relatado em 44,2% dos casos.

Em recente estudo de JONES *et al* (2006), foram analisados os fatores de risco para infecção ocular aguda por toxoplasmose, em Erechim, Brasil, por meio de questionário aplicado a 131 pessoas recentemente infectadas (IgG e IgM positivas) e 110 controles soronegativos. Foi constatado por análise multivariada odds ratio 2.35 (IC 95%=1,27-4,23) para pessoas que trabalhavam em jardim, e 2,26 (IC 95% = 1,15-3,67) para ingestão de cordeiro congelado.

A prevalência aumenta com a idade, não parecendo haver diferença entre sexo e raça. Nos Estados Unidos, estudo baseado em 17.658 pessoas apontou 22,5% de prevalência, sendo 15,0% para mulheres entre 15 e 44 anos

(JONES, 2001). No Alaska, a prevalência entre os esquimós é 0% (ORÉFICE, 2005). No Brasil, entre 50 a 80% da população adulta tem sorologia positiva para toxoplasmose. A prevalência da doença no Brasil varia segundo as diversas regiões, assim no Rio Grande do Sul alcança 82%, 42% em São Paulo e 50% na Bahia (SEBBEN, *et al.*, 1995; ABREU *et al.*, 1998).

Entre imunodeficientes, portadores do vírus HIV, a soro-positividade para toxoplasma varia entre 10 a 45% nos Estados Unidos (LUFT & REMINGTON, 1992), porém em áreas de Europa ocidental e África pode chegar a 78%. (CLUMECK, 1991).

Em Campos dos Goytacazes (ORÉFICE, 2005), foram avaliados 1.050 indivíduos para análise da associação entre as condições socioeconômicas, a sorologia positiva para toxoplasmose e presença de lesões oculares pelo *T. gondii*. Foi concluído que a prevalência de infecção por *T. gondii* é maior nas populações de baixo poder aquisitivo. A análise acima também sugere que hábitos higiênicos possam explicar os diferentes percentuais da soroprevalência observada. Neste mesmo trabalho a prevalência de lesões oculares foi de 10%, não havendo, portanto, diferença entre os grupos estudados.

1.2.3 - ASPECTOS CLÍNICOS DA TOXOPLASMOSE.

Do ponto de vista clínico, é conveniente separar as alterações relacionadas às formas congênitas e adquiridas da toxoplasmose.

Toxoplasmose congênita é a infecção fetal durante a gestação, por via transplacentária. As formas de apresentação da toxoplasmose congênita representam diversas fases na evolução de um mesmo processo patológico

(BELFORT *et al.*, 1975). Os quadros clínicos são: infecção subclínica, doença neonatal e doença pós-natal.

A forma subclínica da toxoplasmose congênita é a mais freqüente e as crianças podem apresentar, ao nascimento, cicatrizes retinocoroideanas e calcificações intracranianas (MELAMED *et al.*, 1998). Com o passar dos anos podem desenvolver doenças oculares de acordo com a localização das cicatrizes, estrabismo ou mesmo cegueira, sendo por isto considerada hoje, uma causa importante de cegueira (FERNANDES & ORÉFICE, 1996).

Na doença neonatal, o recém nascido apresenta ao nascimento o quadro neurológico ou a infecção generalizada, sendo mais comum o primeiro. A retinocoroidite é a manifestação ocular mais comum, sendo bilateral em 54% dos casos (PEIXOTO DOS SANTOS, 1999). Esta forma é grave, apresentando alta incidência de seqüelas oculares. O diagnóstico precoce seguido de tratamento adequado segundo METS *et al.* (1997), contribui, em alguns casos, para conseguir uma boa acuidade visual.

Na forma pós-natal a criança nasce aparentemente normal e após semanas ou meses desenvolve sinais clínicos da doença. O'NEIL em 1998 estudou as conseqüências oculares de infecções por toxoplasma durante a gestação, acompanhando 21 casos confirmados durante 24 anos e verificou que os danos fetais podem resultar de infecções intra-uterinas e seus efeitos podem continuar ocorrendo após 20 anos da infecção.

WALLON *et al.* (2004) estudaram 327 crianças infectadas congenitamente monitorando-as durante 14 anos no Hospital Croix Rousse, Lyon, França. Concluíram que lesões na retina e reativações de lesões prévias podem ocorrer muitos anos após o nascimento, porém o prognóstico ocular é

satisfatório quando a infecção é identificada precocemente e tratada corretamente. Conclusão semelhante foi apontada por KODJIKIAN *et al.* (2006), em coorte que acompanhou 430 crianças com infecção congênita diagnosticada, durante seguimento com 12 anos de média (0,6 a 26 anos), notando que o comprometimento ocular existiu em 30% das crianças tratadas.

Toxoplasmose adquirida: a principal forma de apresentação da toxoplasmose adquirida em imunocompetentes é a subclínica, responsável por aproximadamente 70% dos casos. Os casos sintomáticos ocorrem em 30% dos pacientes, apresentando formas clínicas variadas, sendo mais freqüentes as formas ganglionar, pulmonar, neurológica e ocular.

Toxoplasmose ocular: o *Toxoplasma gondii* apresenta neurotropismo, por essa razão, a localização ocular inicial é a retina, alcançando a mesma pela circulação retiniana ou mais raramente, pela circulação coroidea (TABBARA, 1990). A proliferação de taquizoítos provoca necrose celular resultando em retinite necrosante. Secundariamente compromete as estruturas subjacentes levando a falar de retinocoroidite toxoplásmica.

Os taquizoítos podem transformar-se em cistos tissulares, que podem permanecer quiescentes na retina sadia ou nas cicatrizes da mesma durante anos, constituindo o estágio crônico ou latente da doença. A reativação dos mesmos, nas margens das lesões cicatrizadas, em áreas retinianas longe do foco primário ou no olho contra-lateral, provoca as recorrências que podem acontecer em cerca de 60% dos pacientes.

No que diz respeito às formas oculares adquiridas da toxoplasmose, a literatura é controversa. ROBINSON (1947) descreveu um caso de toxoplasmose ocular em uma criança de 9 anos, na qual a análise

retrospectiva apontava que a infecção provavelmente havia sido adquirida após o nascimento. HOGAN, em 1958, descreveu casos de infecção adquirida congênita e pós-natal, relatando novamente em 1961, casos específicos de toxoplasmose ocular em adultos, adquiridos no transcurso da vida. Mas, em 1964, o mesmo autor conclui que o comprometimento ocular em adultos com infecção pós-natal adquirida era pouco comum, considerando o grande número de indivíduos com infecção assintomática. Em 1973, PERQUINS publicou um influente artigo no qual estabelecia que “quase todos os casos de retinocoroidite vistos no Reino Unido eram decorrentes de infecção congênita” e tal ponto de vista chegou a ser amplamente aceito.

Trabalhos recentes demonstram que a toxoplasmose adquirida no transcurso da vida também pode vir a provocar lesões oculares. BENIZ (1993) e STEHLING & ORÉFICE (1996) relataram que indivíduos com toxoplasmose adquirida após o nascimento apresentam risco de desenvolver lesões oculares que comprometem severamente a visão.

BURNETT *et al.*, (1998), observaram uma série de casos de toxoplasmose adquirida pós-natal com doença ocular, durante uma epidemia no Canadá. No sul do Brasil, SILVEIRA *et al.* (2001) realizaram estudo epidemiológico encontrando que 8,3% de pacientes com toxoplasmose adquirida após o nascimento sem cicatrizes retinocoroideanas, desenvolveram lesões na retina após 7 anos de seguimento.

GILBERT & STANFORD (2000) analisaram estudos populacionais na procura de uma estimativa do número de casos que seriam provocados por doença congênita ou doença adquirida após o nascimento. Concluíram que, com os dados disponíveis no estudo, pelo menos 2/3 dos pacientes que

apresentaram toxoplasmose ocular adquiriram a infecção após o nascimento e não por transmissão materno fetal.

Pode ser observado que na última década, o papel patogênico da infecção adquirida pós-natal na doença ocular, recebeu atenção renovada, aceitando-se hoje que uma proporção substancial de pacientes portadores de retinocoroidite teve tal origem (HOLLAND, 2003).

A lesão clássica da toxoplasmose ocular é uma retinocoroidite granulomatosa, focal e necrosante, porém, recentemente, novas características clínicas aparecem associadas à toxoplasmose ocular. Já na toxoplasmose adquirida após o nascimento, outras estruturas oculares podem ser afetadas sem apresentar retinite (REHDER *et al.*, 1988; JOHNSON, 1997; PARRAT, 1999; MORAES, 1999). Estas são as chamadas formas atípicas. (ORÉFICE & TONELLI, 1995; ADAM *et al.*, 2000), sendo mais freqüentes as seguintes:

- Forma punctata externa: é caracterizada pela aparição de pequenas lesões branco-acinzentadas, multifocais, que aparecem a um nível profundo da retina e do epitélio pigmentário.

- Neuro-retinite: são lesões ativas justadiscais, que levam ao comprometimento retiniano e do nervo óptico de maneira agressiva. É uma forma grave da doença.

- Neurite: a papilite com relativa freqüência acompanha uma lesão de retinocoroidite. Alguns autores consideram que não se trata de uma papilite propriamente e sim, de um edema reacional do nervo óptico.

- Forma pseudomúltipla: caracterizada pela presença de múltiplas lesões da retina, aparentemente ativas, mas, na realidade, trata-se de focos de edema de retina que acompanham um foco em atividade.

- Uveíte anterior: ORÉFICE & TONELLI (1995) descreveram o primeiro caso de toxoplasmose adquirida ganglionar associada à iridociclite granulomatosa sem retinocoroidite, em paciente imunocompetente. REHDER *et al.* (1988), relataram um caso de um paciente com SIDA que apresentava uveíte anterior granulomatosa sem alterações fundoscópicas.

HOLLAND (2004) em artigo de revisão conclui que o espectro de manifestações clínicas da doença ocular, provavelmente é mais diversificado que o tradicionalmente aceito, destacando que as formas atípicas parecem ser parte de um mesmo processo básico de infecção retiniana.

Recidivas da doença na retina ocorrem tanto na doença congênita quanto na doença adquirida pós-natal. Tipicamente aparecem como lesões satélites nas bordas de uma cicatriz retinocoroideana pré-existente, embora em alguns pacientes ocorra longe de cicatrizes, em áreas de retina com aspecto prévio clinicamente normal.

Têm sido aceito que as recorrências geralmente são causadas pela liberação de parasitas de cistos na retina. Estudos experimentais têm mostrado fortes evidências que a necrose retiniana associada a lesões primárias e recorrentes de retinocoroidites é atribuível à proliferação de parasitas na forma de taquizoítos, enquanto que a reação inflamatória e suas complicações associadas seriam resposta de hipersensibilidade aos antígenos do toxoplasma (O'CONNOR, 1970).

Sabe-se que a transição de taquizoíto em bradizoíto com formação de cistos acontece rapidamente nos primeiros dias depois de instalada a lesão ativa (SAHM *et al.*, 1997), porém, as lesões oculares permanecem

cl clinicamente ativas devido à inflamação associada, que demora várias semanas para desaparecer.

Episódios transitórios de inflamação intra-ocular acontecem em pacientes com cicatrizes na retina, sem sinais de foco retiniano ativo (FRIEDMAN & KNOCK, 1969). A fisiopatologia básica desses episódios é desconhecida. Acredita-se que poderia haver episódios de reativação abortivos, onde a proliferação de organismos liberados dos cistos é controlada pelas defesas do hospedeiro antes do aparecimento de destruição clinicamente evidente da retina, ou poderia ser reação contra antígenos parasitários sem a presença de proliferação de organismos.

Tem sido sugerido que reações auto-imunes podem também participar na resposta inflamatória associada com retinocoroidite toxoplásmica, tendo reação ao antígeno S ou a outros antígenos retinianos (NUSSENBLATT, 1989, WHITTLE, 1998).

Os fatores específicos responsáveis pelas recorrências da retinocoroidite toxoplásmica permanecem desconhecidos. Têm sido propostos diversos fatores que poderiam contribuir para reativação da doença, dentre os quais podem ser incluídos; mudanças senis no tecido dos cistos com liberação de parasitas ou antígenos; traumas; modificações hormonais ou imunológicas transitórias (O'CONNOR, 1983).

Em relação às cepas do toxoplasma são reconhecidas três tipos genotipicamente diferentes, identificadas como tipos I, II e III. Os três tipos têm potenciais diferentes de agressividade em modelos animais. A cepa I é altamente virulenta no camundongo, enquanto os tipos II e III não apresentam essa característica (SIBLEY & BOOTHROYD, 1992).

A cepa tipo II predomina nas infecções congênitas na França e América do Norte, enquanto o tipo I é mais comumente encontrado nas infecções congênitas na Espanha (HOWE *et al.*, 1997; FUENTES *et al.*, 2001).

VALLOCHI *et al.*, (2005), estudaram 92 olhos do banco de olhos de São Paulo e dois olhos enviados da cidade de Erechim, esses últimos enucleados por toxoplasmose ocular. Nove olhos do banco de olhos tinham cicatrizes de toxoplasma. Foi identificada por PCR a cepa I nos 11 globos oculares.

ARAÚJO *et al.* (1997), demonstraram que utilizando cepas diferentes de *Toxoplasma gondii* em camundongos cronicamente infectados, a imunidade da infecção primária poderia não ser suficiente para prevenir doença e mortalidade após reinfeção. Os camundongos desenvolveram a doença e morreram de toxoplasmose aguda quando reinfectados por uma cepa diferente daquela que causou a infecção primária.

A imunossupressão aumenta a frequência de recidivas, uma vez a redução dos linfócitos T helper 1 e interleucinas permitem que os parasitas que emergem dos cistos se desenvolvam (NA HE *et al.*, 1997). Os pacientes com AIDS desenvolvem lesões mais extensas e reativações mais frequentes, especialmente se o tratamento é descontinuado, quando comparados com imunocompetentes. Situação semelhante pode ser observada em pacientes que recebem drogas imunossupressoras (HOLLAND, 1988; NICHOLSON & WOLCHOK, 1976).

1.2.4 - CARACTERÍSTICAS FUNDOSCÓPICAS.

No estudo do segmento posterior do globo ocular, observam-se dois tipos de lesões: ativas e cicatriciais.

A lesão ativa é aquela que compreende qualquer uma das fases evolutivas, desde a lesão inicial até a fase de regressão, passando pelas fases de máxima atividade.

A lesão inicial surge como uma retinite, que parece estender-se desde a camada plexiforme interna até a plexiforme externa da retina, não atingindo as camadas mais periféricas. Secundariamente, há o comprometimento da coróide, sendo a lesão ocular típica uma retinocoroidite granulomatosa focal necrosante. O primeiro sinal é um exsudato branco-amarelado, às vezes cinza, com limites mal definidos, devido ao edema retiniano circunjacente. A coróide subjacente sempre está comprometida, sendo mais raro o comprometimento escleral. A lesão pode ser única ou satélite a outra pré-existente, porém é sempre focal. O formato é oval ou circular, de tamanho variável, desde 1/10 de diâmetro discal até 2 quadrantes da retina.

A vitreíte pode ser importante, apresentando condensação de fibras colágenas, formação de cilindros vítreos e, com freqüência, descolamento do corpo vítreo posterior. Próximo à área da lesão pode haver hemorragias resultantes da vasculite, que é predominantemente venular. Pode haver inflamação da câmara anterior, com células e “flare”, sendo esse último sinal, exsudato de proteínas no humor aquoso da câmara anterior.

O processo evolutivo segue um curso benigno e autolimitado. Após um período variável de tempo ocorre pigmentação, sobretudo nas margens da

lesão. O tempo de cicatrização depende da cepa do parasita, do estado imunológico do hospedeiro, do tamanho da lesão e do tratamento aplicado.

As lesões cicatrizadas apresentam margens bem delimitadas, graus variáveis de hipertrofia do epitélio pigmentário e atrofia retinocoroideana. Na área central, atrófica, os vasos da coróide e a esclera podem ser visíveis. Em alguns casos aparecem áreas de gliose retiniana, vitreoretinopatia proliferativa, membrana neovascular sub-retiniana e anastomoses vasculares (ORÉFICE, 2005).

A lesão em rosácea macular, segundo alguns autores, patognomônica de toxoplasmose ocular congênita, consiste em uma coroa radiada de pigmento dirigindo-se a uma área central de necrose, o que dá o aspecto de “roda de carroça”. As traves fibróticas são freqüentes e geralmente são originadas na lesão estendendo-se a outras áreas da retina, podem se espalhar até o disco óptico ou comunicar duas lesões vizinhas.

As lesões podem ser únicas ou múltiplas.

1.2.5 - ASPECTOS IMUNOLÓGICOS.

O *Toxoplasma gondii* se multiplica dentro das células no local da invasão, sendo o trato gastro-intestinal a principal via de entrada na natureza. Bradizoítos liberados de cistos teciduais ou esporozoítos liberados de oocistos penetram e se multiplicam dentro das células intestinais. Os microorganismos atingem os nódulos linfáticos mesentéricos e se distribuem aos órgãos distantes. O *Toxoplasma gondii* infecta todo tipo de células por meio de um processo ativo. A sobrevivência do taquizoíto é devida à formação de

um vacúolo parasitóforo que o protege contra a fusão lisossomal, em consequência, não acontece acidificação. A invasão ativa do macrófago pelo taquizoíto não desencadeia mecanismos oxidativos destrutivos. Com o aparecimento da imunidade celular e humoral, somente os parasitas protegidos pelo habitat intracelular ou dentro dos cistos sobrevivem. Uma efetiva resposta imunitária reduz significativamente o número de taquizoítos em todos os tecidos, sendo eliminados por respostas mediadas por oxigênio, acidificação, nitrogênio, flutuações osmóticas, depleção intracelular de triptófano e reações antígeno-anticorpo mediadas pelo complemento. (MONTROYA *et al.*, 2004).

A formação de cistos começa nos diferentes órgãos e tecidos durante a primeira semana de infecção, persistindo primariamente no cérebro, olho, músculo esquelético e músculo cardíaco, sendo eles os responsáveis pela infecção crônica ou latente. A ruptura de formas císticas seguida pela incontrolável proliferação de taquizoítos e destruição tecidual leva ao aumento progressivo de lesões necróticas (HOFFLIN, CONLEY & REMINGTON, 1985).

A infecção pelo *Toxoplasma gondii* induz resposta celular e humoral. Uma efetiva e bem organizada resposta imune leva ao rápido desaparecimento dos parasitas do sangue periférico durante a infecção aguda e limita a carga parasitária nos diversos órgãos. A imunidade no hospedeiro imunocompetente é mantida durante toda a vida.

As células T, macrófagos e citocinas tipo I (Interferon gama e interleucina 12) são importantes para o controle da infecção pelo *T. gondii*. Tem sido visto que as células CD8+ e CD4+ representam importante papel

protetor (GAZINELLI, 1993). Uma rápida e marcada produção de células T α e β nos estágios precoces da infecção, conjuntamente com a secreção de citocinas e fator de necrose tumoral α levam a lise do toxoplasma na célula infectada.

As citocinas têm um papel importante na defesa contra a infecção pelo *T. gondii*. A sobrevivência de células T é aumentada pela IL-12, possivelmente através do aumento da produção de IFN γ por células natural killer. Têm-se observado que o IFN γ tem um importante papel na prevenção e desenvolvimento de encefalite toxoplásmica em camundongos (SUZUKY, 1989). A administração de anticorpos monoclonais contra IFN γ em camundongos cronicamente infectados leva a um agravamento severo do grau de encefalite, enquanto o tratamento com a citocina reduz significativamente a resposta inflamatória e o número de taquizoítos.

Fator de necrose tumoral α é outra citocina essencial para o controle da infecção. Funciona como gatilho para ativação do IFN γ e do óxido nítrico (inibidor da replicação de *T. gondii*), produzido pelos macrófagos.

In vitro, têm sido visto que a IL10 inativa macrófagos e leva a redução dos parasitas. As interleucinas 4, 6 e 7 também tem papel protetor contra *T. gondii* em camundongos. (KASPER, 1995). Durante os estágios precoces da infecção, IL-12, IL-1 e o fator de necrose tumoral α atuam em conjunto com a IL-15 para estimular as células natural killer a produzir IFN γ (HUNTER, 1995).

Anticorpos IgG e IgM são produzidos em resposta a infecção, os quais têm a capacidade de lisar os taquizoítos extracelulares quando combinados com o complemento. O aparecimento desses anticorpos traduz a resposta

humoral à infecção recém adquirida, assinalando a soroconversão. As curvas de ascensão e queda de títulos dos diferentes anticorpos obedecem a ritmos diferentes. O que caracteriza três perfis sorológicos na evolução da toxoplasmose (CAMARGO, 1977).

Nas primeiras semanas da primoinfecção, ainda na vigência de parasitemia, surgem anticorpos específicos representados pelos isotipos IgM, IgA, IgE e principalmente IgG, caracterizando o perfil da toxoplasmose recente. Nesse estágio, pode ser constatado que a IgA apresenta baixa avidéz.

A seguir se configura o perfil de transição, com níveis ainda elevados de anticorpos IgG, de avidéz crescente. Estão diminuindo os anticorpos IgA e IgE e IgM, geralmente presentes em títulos baixos. Progressivamente, esse quadro dá lugar ao perfil de infecção latente ou crônica, que se mantém por toda a vida com anticorpos IgG de baixos títulos e de alta avidéz e ausência dos outros isotipos. A transição dos perfis de infecção recente para o estado de latência é mais ou menos lento, em semanas ou meses, dependendo do estado imunitário do paciente.

De acordo com PAIVA (1986), em camundongos, a imunidade humoral proporciona proteção para cepas pouco virulentas, sendo menos eficiente contra cepas de maior virulência.

Trabalhos experimentais em animais têm apontado que as membranas mucosas do organismo são induzidas a produzir IgA secretora (IgAs) durante a infecção com os cistos de *T. gondii* (CHARDÈS *et al.*, 1990).

MACK & MCLEOD (1992) demonstraram que a IgA secretora está presente no colostro de mulheres com infecção crônica e aguda, indicando que

a infecção aguda verdadeiramente coincide com uma resposta imunitária das mucosas.

O globo ocular encontra-se coberto por uma membrana mucosa denominada conjuntiva e uma camada aquosa denominada filme lacrimal, sendo esse filme produto do sistema secretor lacrimal. Esse sistema está formado pela glândula lacrimal principal e pelas glândulas acessórias, as últimas distribuídas na substância própria da conjuntiva. Ainda participam na produção do filme lacrimal, glândulas produtoras de lipídeos localizadas nas pálpebras e células que produzem mucina, dispostas na superfície conjuntival (BRONG & KARA-JOSÉ, 1997).

O filme lacrimal é uma complexa solução de íons e proteínas produzidas por dois tipos de células secretoras: os plasmócitos do sistema imune e as células secretoras ductais e acinares do epitélio secretor da glândula lacrimal. Os plasmócitos são encontrados nos espaços intersticiais da glândula lacrimal e têm intercâmbio com órgãos linfáticos de outras estruturas, tais como o tecido linfático associado do intestino (GALT). Sua função é secretar IgA. As células acinares do epitélio secretor têm três funções principais: sintetizar e secretar proteínas específicas, secretar água e transportar a IgA secretada pelos plasmócitos do compartimento intersticial ao lúmen da glândula (WALCOTT, 1998).

As proteínas específicas encontradas em alta concentração na lágrima são: lipocalina, lactoferrina e lisosima. Em menores concentrações podem ser encontradas amilase, peroxidase, ativador de plasminogênio, prolactina, fator de crescimento epidérmico (EGF), fator β transformador de crescimento (TGF- β), endotelina-1 e retinol (BALLOW *et al.*, 1983).

A osmolaridade do fluido lacrimal é de 300mM e contém Na⁺ (128,7mM), K⁺ (17mM), Cl⁻ (141,3mM) e bicarbonato (12,4mM). Portanto, tem a mesma osmolaridade do plasma, porém menos Na⁺ (140mM no plasma), mais K⁺ (4mM no plasma) e mais Cl⁻ (100mM no plasma).

A IgA produzida nos plasmócitos é secretada como um dímero, diferentemente da IgA sérica, que é monomérica. Esse dímero está ligado por uma proteína chamada “J chain”, que também é sintetizada pelo plasmócitos. Esse complexo constitui a IgA secretora ou solúvel. Para esse complexo alcançar o lúmen glandular, a célula acinar produz uma glicoproteína conhecida como “componente secretor” (SC) que possui alta afinidade com o complexo secretor (LIU, 1981). A SC-sIgA (complexo secretor) é transportada por endocitose até a superfície apical. Uma vez na superfície, o componente secretor protege a imunoglobulina da ação das enzimas presentes no filme lacrimal e não fixa complemento. Existem dois estimuladores do recrutamento da IgAs que permitem sua saída da glândula lagrimal: o fator transformador de crescimento alfa (TGP α), produzido pelas células T e macrófagos, e a interleucina 5 produzida pelos linfócitos T CD4⁺ ativados (DE LA TORRE & NUÑEZ, 2002).

A imunoglobulina A é responsável por 5 a 10% de todas as proteínas plasmáticas nos adultos normais. Apresenta vida média de sete dias e é sintetizada em média de 8 a 10mg/dia. A vida média curta e os baixos níveis de síntese são responsáveis pelos baixos níveis plasmáticos.

Nos mamíferos, a IgAs é a imunoglobulina dominante nas lágrimas, porém pequenas quantidades de IgG e IgM também são produzidas pelos

plasmócitos na glândula. A IgG não é transportada como a IgA porém pequenas quantidades se difundem através das células epiteliais.

Inibição da aderência de patógenos, neutralização de vírus, enzimas e toxinas, bem como inibição da absorção de antígenos são algumas das funções das IgAs.

A aplicação de antígenos na conjuntiva resulta em produção local de células com memória específicas que respondem a posteriores aplicações tópicas do mesmo antígeno. Experimentos mostram que animais imunizados por via sistêmica a um antígeno específico produzem anticorpos circulantes contra o antígeno, os quais podem ser recuperados no filme lacrimal (SASPE, 1967). A imunização intestinal não resulta em imunização conjuntival, porém parece estimular a conjuntiva por meio de células específicas com memória que migram aos folículos linfáticos conjuntivais (PU et al., 1983).

Anticorpos secretores IgA, específicos antivírus Herpes Simples, têm sido demonstrados no filme lacrimal de indivíduos portadores de ceratite herpética recorrente (PEDERSEN *et al.*, 1982, FOX *et al.*, 1986). Estudos também relatam as ações da IgA secretora da lágrima contra antígenos de *Pseudomona aeruginosa* em lentes de contato, mostrando que diminui a adesão do microorganismo nas mesmas, tendo assim um importante papel protetor da córnea (LAN, *et al.*, 1999).

MEEK *et al.* (2000) investigaram a IgAs anti-*T. gondii* na lágrima de 62 indivíduos normais, funcionários do próprio laboratório que participaram voluntariamente da pesquisa. Concluíram que as lágrimas de muitos indivíduos cronicamente expostos apresentam, como resultado de respostas imunes passadas, anticorpos IgA anti-*T. gondii*.

LYNCH *et al.*, (2004) estudaram associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* e IgA secretora específica na lágrima, constatando que os pacientes com a doença tinham 18 vezes mais chances de apresentar IgA secretora da lágrima positiva quando comparado com os controles (odds ratio = 18,61. p=0,0001). A análise da média aritmética das absorbâncias de IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima mostrou intensidades maiores nas reações dos portadores da doença quando comparados com os controles. A sensibilidade e especificidade foram determinadas encontrando valores de 84% para a sensibilidade e 78% para especificidade do teste. Todos os pacientes com a doença ocular tiveram a IgA no soro positiva.

Esse mecanismo imunológico, combinado com um ativo sistema fagocitário e de lisozimas no filme lacrimal, forma a primeira linha de defesa do bulbo ocular contra a invasão microbiana e estabelecimento de processos infecciosos dos quais, a IgA secretora parece ser o anticorpo mais importante. (SETTIPANE *et al.*, 1965, JAN *et al.*, 2002).

1.2.6 - DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.

Desde que as manifestações clínicas da toxoplasmose são variadas e inespecíficas, o diagnóstico laboratorial tem marcada importância e, classicamente, tem se baseado na pesquisa de anticorpos contra o parasita.

1.2.6.1 – PESQUISA DO PARASITA OU DE SEUS COMPONENTES.

A infecção aguda pode ser diagnosticada pelo isolamento do parasita ou amplificação do seu DNA no sangue ou outros líquidos orgânicos.

A inoculação de fluidos corporais suspeitos (sangue, líquido, líquido amniótico, vítreo) na cavidade peritoneal de camundongos constitui um método de alta sensibilidade. Os parasitas se multiplicam por 30 dias e são detectados no líquido peritoneal dos animais (FRENKEL, 1997).

Na fase aguda da doença é possível detectar material antigênico do parasita ou complexos imunes de antígenos parasitários no soro do paciente. Porém, pela transitoriedade e inconstância da antigenemia, é um método de pouco valor diagnóstico. Tem sido referida boa sensibilidade na pesquisa de antígenos na urina de pacientes com neurotoxoplasmose (FACHADO *et al.*, 1994).

Na fase crônica, o parasita pode ser encontrado de forma esporádica em cortes histológicos corados pela hematoxilina (CAMARGO, 2001) ou evidenciar antígenos por imuno-histoquímica, utilizando anticorpos específicos e coloração imunofluorescente ou imunoenzimática.

A utilização da PCR (“Polymerase Chain Reaction”) permite a identificação de segmentos característicos de ácidos nucleicos do parasita após ampliados pela reação em cadeia da polimerase. A pesquisa pode ser realizada em diversos líquidos orgânicos, incluindo humor aquoso e humor vítreo, sendo de utilidade para diagnóstico de toxoplasmose ocular (KASUMI *et al.*, 1996; BORNAND & GOTTRAU, 1997; JONES *et al.*, 2000). A sensibilidade em líquido cérebro-espinhal de pacientes com encefalite toxoplásmica, varia de 11 a 77%, enquanto a especificidade é 100%

(DUPOUY-CAMET *et al*, 1993). Em amostras de humor aquoso em pacientes imunocompetentes, GROOT-MIJNES J. (2006) relatou 36% de positividade.

1.2.6.2 – TESTES SOROLÓGICOS.

SABIN & FELDMAN (1948), deram início à era da sorologia em toxoplasmose, ao introduzir a reação do corante que leva seu nome, conhecido também como “dye test”. Possui boa sensibilidade e especificidade. Mede principalmente anticorpos IgG, que geralmente aparecem uma a duas semanas após o início da infecção, apresentam pico entre a sexta e oitava semana, para diminuir gradualmente em um a dois anos (ANDERSON & REMINGTON, 1975). Os títulos, geralmente baixos, podem persistir por toda a vida. O teste é pouco usado por utilizar microorganismos vivos na reação.

O teste de imunofluorescência indireta (IFA) mede Ac IgG e IgM e demais imunoglobulinas.

Os anticorpos IgM aparecem e declinam mais rapidamente que os Ac IgG e têm sido amplamente usados para diagnóstico de infecção aguda.

Resultados falsos positivos aparecem em presença de Ac anti-nucleares e fator reumatóide. Falsos negativos podem acontecer para IgG quando os títulos da imunoglobulina são muito baixos. É recomendável a padronização da IF-IgG com o soro de referência da OMS, para corrigir diferenças entre os resultados do teste no diversos laboratórios. Para anticorpos IgM e IgA não se dispõe de soro de referência e os resultados são expressos em títulos correspondentes a diluição dos soros.

Teste de hemaglutinação: utiliza hemácias de aves recobertas por antígenos completos do parasita, aglutináveis por anticorpos tanto IgG quanto IgM. Apresenta alta sensibilidade. Os títulos são expressos pela maior diluição dos soros reagentes.

O teste de aglutinação direta detecta anticorpos IgG anti-toxoplasma utilizando suspensões de toxoplasma fixadas pelo formol ou por acetona. Trata-se de um método fácil de realizar e de baixo custo, razão pela qual tem sido considerado útil para propósitos de triagem (DESMONT & REMINGTON, 1980). Para o teste de aglutinação do látex, são utilizadas partículas recobertas por antígenos do parasita, porém este método é pouco utilizado.

Nos testes imunoenzimáticos (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay - ELISA), estratos ou frações antigênicas do toxoplasma fixados em placas inertes são incubados com diluições dos soros a testar e conjugado enzimático antiglobulina (G, M, A ou E). Sob a ação de uma enzima o produto poderá desenvolver cor, cuja intensidade, lida no espectrofotômetro, é proporcional à quantidade de anticorpos no soro. Foi introduzido o teste de avidéz da IgG para diferenciar infecção recente de infecção crônica. Esse método se apóia no fato de que durante a infecção aguda, os anticorpos fixam debilmente o antígeno (baixa avidéz), enquanto na fase crônica da doença a fixação é forte (avidéz alta). Têm sido visto que a avidéz é alta se a infecção aconteceu entre três a cinco meses antes (HEDMAN *et al.*, 1989).

PAUL (1999), analisou o soro de 23 pacientes com infecção por *T. gondii* recentemente adquirida comparando avidéz da IgG com 19 pacientes portadores de toxoplasmoses com até seis meses de duração, concluindo que

baixa avidéz da IgG nem sempre identifica um caso de infecção recente, mas IgG com avidéz alta, pode excluir infecção primária com menos de cinco meses de evolução.

A reatividade de anticorpos para diferentes componentes antigênicos do toxoplasma pode ser evidenciada pelos testes de immunoblot. Tiras de nitrocelulose com esses componentes, distribuídos como bandas de pesos moleculares crescentes, são incubadas com soros ou outros líquidos orgânicos (líquor, humor aquoso) e a reação revelada por um conjugado imunoenzimático (anti-IgG, anti-IgM, anti-IgA) que origina perfis de reatividade, que têm sido utilizados com fins diagnósticos, inclusive pela elevada sensibilidade, que permite evidenciar reações contra bandas específicas, por vezes insuficientes para originar um sinal detectável em testes como ELISA. CHUMPITAZI *et al.* (1995,) apontaram à técnica como uma contribuição importante para o diagnóstico da toxoplasmose congênita.

Testes de Captura: tem como objetivo eliminar os falsos positivos por interferência do fator reumatóide. Em cavidades de placas recobertas por anticorpo anti-IgM, são incubados os soros. Uma amostra de suas IgM é capturada na cavidade. Segue-se nova incubação com antígeno de toxoplasma marcado por enzima, na qual irá se fixar, na eventualidade de existir, em meio às IgM, aquelas específicas para o toxoplasma,. Nos testes positivos se obtém desenvolvimento de cor. È preciso assinalar, entretanto, que estes testes, de alta sensibilidade, podem detectar níveis diminutos de anticorpos IgM, eventualmente presentes por longos períodos após a fase aguda da doença.

O teste ISAGA (Imununosorbent Agglutination Assay) captura os anticorpos IgM antitoxoplasma, evidenciando a aglutinação de suspensão de

toxoplasmas, incubadas após o soro nas cavidades da placa, revestida por anticorpos anti IgM. Permite avaliação quantitativa dos graus de aglutinação resultantes. Também pode ser utilizado para identificação de anticorpos IgA e IgE. STEPICK-BICK *et al.*, (1990) relataram que pode ser considerado útil como um indicador de infecção recente, bem como para diagnóstico de infecção congênita.

IgA pode ser detectada no soro de adultos infectados e de crianças infectadas congenitamente por método de ELISA ou ISAGA. De acordo com FRANCIS *et al.* (1993), a IgA específica no soro aparece geralmente duas a quatro semanas após a primoinfecção, com pico em redor do segundo o terceiro mês, desaparecendo após sete a nove meses. Pode ser encontrada elevada até um ano após a infecção se os métodos utilizados forem sensíveis.

A presença de anticorpos IgE, detectáveis por método de ELISA, também tem sido considerada como marcador de atividade da doença tanto em adultos, como em infecção congênita. A duração é menor que os anticorpos IgA e IgM (PINON, 1990). Para diagnóstico de toxoplasmose neonatal a IgE é menos sensível que a IgA e IgM, porém a medida simultânea dos três anticorpos aumenta a probabilidade do diagnóstico para 81% (FUODRINIER *et al*, 2003).

1.2.6.3 - OUTROS EXAMES.

Estudos radiológicos podem ser particularmente úteis em pacientes com toxoplasmose no sistema nervoso central. A presença de calcificações em um

recém nascido, detectadas por radiografia, ultra-sonografia ou tomografia computadorizada levanta forte suspeita de toxoplasma como causa da enfermidade. Em crianças gravemente afetadas por toxoplasmose congênita é freqüente encontrar dilatação uni ou bilateral dos ventrículos cerebrais.

Em imunodeficientes com encefalite toxoplásmica a tomografia mostra lesões cerebrais múltiplas, embora lesões únicas não afastem o diagnóstico da doença.

Ressonância nuclear magnética, tomografia com emissão de pósitrons e ressonância magnética espectroscópica, são técnicas radiológicas que têm sido utilizadas para diferenciar pacientes portadores de AIDS e encefalite toxoplásmica de linfomas primários do sistema nervoso central (RANSEY & GEAN, 1997).

Exame do líquido pode ser útil em determinadas oportunidades. Um exemplo é a demonstração de IgM específica em recém nascidos com infecção congênita.

1.2.6.4 - EXAMES EM TOXOPLASMOSE OCULAR.

Na toxoplasmose ocular, geralmente não há correlação entre os níveis de anticorpos séricos e a sintomatologia ocular do paciente, sendo comum a ocorrência de títulos baixos de IgG. A pesquisa de IgM, na maioria das vezes é negativa (ORÉFICE, 2005). Sendo assim, pode-se concluir que os testes sorológicos ajudam pouco no diagnóstico da doença ocular.

Nos casos de lesões atípicas, a sorologia negativa pode excluir a toxoplasmose, mas a IgG positiva faz apenas o diagnóstico presuntivo da doença, devido à alta prevalência de anticorpos na população.

Nos casos em que o diagnóstico diferencial se impõe, a determinação dos títulos de IgG específica no humor aquoso pode fornecer esclarecimento. São comparados os níveis de anticorpos no soro com os encontrados no humor aquoso, sendo possível definir se há produção intra-ocular de anticorpos, o que indicaria toxoplasmose ocular ativa. Isto constitui o Coeficiente de Desmonts (DESMONTS, 1960; 1966; 1973). A equação para o cálculo e resultados sugeridos pelo autor pode ser observada a seguir.

COEFICIENTE DE DESMONTS

$$\frac{\text{(Título de anticorpos no humor aquoso)} \quad \mathbf{X} \quad \text{(IgG total no soro.)}}{\text{(Títulos de anticorpos no soro)} \quad \mathbf{X} \quad \text{(IgG total no humor aquoso)}}$$

Resultados: 0.5 a 2 – normal

2 a 7 – sugere produção intra-ocular de anticorpos

>/= 8 – produção intra-ocular significativa

Para a realização desse exame é necessária a punção da câmara anterior para coleta de humor aquoso. Embora seja um procedimento que apresente baixo risco de complicações, tratasse de um método invasivo.

BORNARD & GOTTRAU (1997), analisaram soro e humor aquoso de 90 pacientes, medindo o coeficiente de Desmonts para avaliar a produção local de anticorpos e confirmar o diagnóstico clínico de toxoplasmose ocular. O resultado foi positivo em 41.1% dos casos, incerto em 13.3% e negativo em 54.6% dos casos.

QUENTIN & REIBER (1997), analisaram 46 olhos de pacientes portadores de uveítes graves com a técnica de ELISA no soro e no humor aquoso. Nessa análise, o humor aquoso se mostrou mais eficiente do que a análise de anticorpos no soro para diagnóstico de toxoplasmose ocular.

GARGEW *et al.* (1998), analisaram o humor aquoso e soro de 27 pacientes. Foram encaminhados para dois laboratórios de referência para realização de IgG, IgM e IgA e calcular o Coeficiente de Desmonts. A avidéz também foi testada, bem como a detecção de DNA do toxoplasma por PCR. Encontraram sensibilidade de 41% para o índice de Desmont-Witmer, 28% para PCR, 22% para a determinação de IgA e 15% para avidéz de IgG. Concluíram que nenhum dos métodos foi o suficientemente sensível para estabelecer o diagnóstico, mas a combinação dos quatro métodos, atinge uma sensibilidade alta como para justificar a análise do humor aquoso como método rotineiro.

RONDAY *et al.* (1999), estudaram soro e humor aquoso de 155 pacientes que foram testados para IgG, IgA e IgM. Concluíram que a IgG intra-ocular está presente com maior freqüência na resposta humoral contra o toxoplasma, seguido por IgA. A determinação de IgA no humor aquoso mostrou ser útil como teste adicional para diagnóstico de toxoplasmose ocular.

Outros estudos corroboram que a medida da IgA específica para *Toxoplasma gondii* no humor aquoso contribui substancialmente para o diagnóstico da doença ocular (KATINA *et al.*, 1992; GARWEG *et al.*, 1998; 2000).

Para a interpretação dos resultados sorológicos há que considerar as características de cada entidade clínica em particular (toxoplasmose congênita, adquirida), diferenciando os pacientes imunocompetentes dos imunodeprimidos.

Em casos específicos de toxoplasmose ocular, outros exames podem ser de utilidade como acontece com a angiofluoresceinografia retiniana e angiografia retiniana com indocianina verde, que podem orientar no diagnóstico precoce de uma reativação ainda não visível à fundoscopia ou para esclarecimento de complicações como membrana epiretiniana, descolamento seroso do estrato pigmentoso da retina ou neovascularização subretiniana (AMARO & MUCIOLY, 2005; ATMACA, *et al.*, 2006).

O exame de tomografia de coerência óptica (OCT) é um moderno recurso para propedêutica ocular que realiza cortes transversais da retina, gerando imagens de alta resolução. Processos inflamatórios aparecem como áreas altamente refletivas (ORÉFICE, J. L *et al.*, 2006).

Ainda, a ecografia ocular pode ser utilizada nos casos de intensa turvação vítrea ou de sinéquias posteriores, situações que inviabilizam a realização da fundoscopia.

2 – QUESTÃO DA PESQUISA.

A determinação de IgA secretora específica na lágrima é um teste válido para diagnóstico da uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*?

2.1 - DEFINIÇÃO DOS OBJETIVOS.

2.2 – GERAL.

- Verificar a validade da determinação da IgA secretora específica nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*.

2.3 – ESPECÍFICOS.

- Determinar presença e níveis de IgA secretora específica na lágrima nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* com padrão ouro.

- Determinar presença e níveis de IgA secretora específica na lágrima nos portadores de uveíte posterior ativa provocada por outras etiologias.

- Determinar presença e níveis de IgA secretora específica na lágrima nos portadores de uveíte posterior ativa por possível toxoplasmose, sem padrão ouro.

3 - DESENHO DO ESTUDO.

Considerando que o objetivo foi realizar um estudo do teste de IgA secretora anti-toxoplasma na lágrima dos indivíduos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii*, no ensejo de proporcionar um instrumento que atendesse a máxima validade e utilidade diagnóstica no exercício clínico, optou-se por um modelo de validação. Através dele procurou-se verificar se o resultado do teste é capaz de diferenciar uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii* de uveíte provocada por outras etiologias, permitindo assim, certificar seu nível de validade, ou seja, quanto, em termos quantitativos, o teste é útil para diagnosticar a doença provocada pelo *T. gondii*, analisando também os valores preditivos.

De acordo com as orientações de SACKETT DL. (2002), corresponde a fase III da metodologia no estudo de investigação de testes diagnósticos, no qual foram observadas rigorosamente as orientações metodológicas preconizadas, a saber: utilização de padrão ouro, mascaramento, independência, ponto de corte e reprodutibilidade.

Para tal foram comparados os resultados do teste realizado nos portadores de uveíte posterior ativa com os de um padrão, que poderia ter sido o estado do paciente (padrão clínico), um exame, ou conjunto de exames julgados mais adequados, que seriam utilizados como referência.

No presente estudo, foi utilizado como “padrão ouro” as características clínicas da lesão ocular e/ou parâmetros de laboratório, aceitos pela comunidade científica, em relação á etiologia toxoplásmica. (GARWEG, 2005).

4 - OPERACIONALIZAÇÃO DA PESQUISA.

4.1 - POPULAÇÃO DA PESQUISA.

4.1.1 - POPULAÇÃO ALVO.

Para efeitos desse estudo, foi definida como população alvo os indivíduos portadores de uveíte posteriores ativas provenientes do Estado de Pernambuco bem como indivíduos portadores da mesma doença do Estado de Minas Gerais.

4.1.2 - TIPO DE AMOSTRAGEM.

Foi utilizada amostragem não probabilística, do tipo “conveniência”, selecionando os indivíduos a partir de um julgamento de valor, nesse estudo, a partir da presença de uveíte posterior ativa.

Esse tipo de amostra constitui, geralmente, um conjunto não representativo de todos os pacientes, portanto a generalização, em termos rígidos, não pode ser feita, não podendo expressar o que ocorre na comunidade como um todo embora, seja uma aproximação de grande utilidade para o que acontece em situações semelhantes (PEREIRA, 2000).

4.1.3 - DEFINIÇÃO DO TAMANHO DA AMOSTRA.

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado tomando como referência os dados obtidos por LYNCH *et al.*, (2004) que apontaram sensibilidade de 84% e especificidade de 78% para o teste de IgAs na lágrima dos portadores de uveíte por *T. gondii*. Para realizar esse cálculo utilizaram-se os parâmetros a seguir:

1 - Estimativa da proporção esperada da variável de interesse na população, ou seja, qual percentual de pacientes com a doença espera-se que tenham o teste positivo. Nesse caso a estimativa da presença de IgA secretora anti-toxoplasma na população estudada no trabalho descrito alcançou 84%.

2 - Intervalo de Confiança definido em 95%.

3 - Erro máximo aceitável de 5.0%.

Fórmula:

$$N = Z^2 [P (1-P)] / D^2$$

Onde: P = proporção esperada

D = semi-amplitude do IC

Z = 1,96 (para $\alpha = 0,05$ e IC 95%)

De acordo com esse cálculo e aplicando a fórmula para sensibilidade:

N = 88 indivíduos com uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*.

A mesma fórmula aplicada à especificidade e na expectativa que 78.0% dos indivíduos portadores de uveíte posterior ativa de outras etiologias tenham teste negativo, mostrou que 121 indivíduos deveriam ser incluídos no estudo.

4.2 - DEFINIÇÃO DAS VARIÁVEIS.

4.2.1 - DEFINIÇÃO DE UVEÍTE POSTERIOR ATIVA.

Uveíte é um termo utilizado para designar inflamação da úvea (TOLEDO DE A. M. & RITCHER L. C, 2002). A úvea é a camada média vascular do olho, composto pela íris, corpo ciliar e coróide, protegida externamente pela córnea e esclera (VAUGHAN & ASBURY, 1982). As uveítes podem ser classificadas de diversas maneiras, sendo as mais utilizadas as que dizem referência a localização anatômica das estruturas acometidas, ao comprometimento de um ou ambos os olhos (uni ou bilaterais) e agente etiopatogênico.

Segundo a localização anatômica do processo inflamatório podem ser divididas em uveítes anteriores, posteriores, intermediárias ou difusas.

Uveítes anteriores são aquelas que acometem predominantemente o segmento anterior do olho: irite, ciclite anterior, iridociclite ou cerato-uveítes. As uveítes posteriores acometem retina e coróide, podendo ser focais ou multifocais. Intermediárias são aquelas que acometem primariamente o vítreo e retina periférica. As uveítes difusas afetam todos os segmentos do olho, causando freqüentemente baixa de visão importante.

Embora o paciente possa não apresentar acometimento simultâneo de ambos os olhos, a maioria das causas acomete os dois olhos após meses ou anos.

Em geral, segundo o agente etiológico, pode ser dito que há agentes infecciosos (bactérias, vírus, fungos, protozoários e helmintos), e não infecciosos, onde se incluem fenômenos imunológicos, traumáticos, tóxicos e síndromes mascaradas (MEIRA, ROCHA & ORÉFICE, 2005).

No presente estudo desenvolvido foi utilizada a classificação anatômica, sendo considerada como uveíte posterior ativa aquele quadro clínico que apresentou comprometimento inflamatório predominantemente do segmento posterior do bulbo ocular, podendo ser focal ou multifocal, de acordo com a presença de uma ou mais lesões exsudativas (ORÉFICE F, 2005).

Foram considerados sinais de atividade inflamatória do segmento posterior do bulbo ocular os seguintes parâmetros:

- 1 - Presença de vitreíte, em qualquer grau de gravidade.
- 2 - Lesões inflamatórias ativas da retina e/ou coróide, associada ou não à vasculite, bem como alterações provocadas pela inflamação que venham a comprometer o nervo óptico.
- 3 - Sinais inflamatórios do segmento anterior do bulbo ocular, quando secundários ao processo do segmento posterior (FIGUEROA, SOARES & ORÉFICE, 2005).

Quanto à lateralidade, considerou-se bilateral a uveíte que apresentava lesões em atividade inflamatória em ambos os olhos e unilateral, quando somente um dos olhos era acometido.

Em relação à etiologia das uveítes que não fossem por toxoplasmose, foram classificadas em infecciosas e não infecciosas. Nos casos onde não foi possível determinar etiologia foram catalogadas de inespecíficas ou indeterminadas.

4.2.2 – DEFINIÇÃO DO PADRÃO OURO.

Foram catalogadas de uveítes posteriores ativas presumivelmente por *T. gondii* indivíduos que apresentaram o parâmetro clínico considerado para tal ou parâmetros de laboratório, podendo existir associações.

1 - Parâmetros clínicos: os pacientes portadores de uveítes posteriores ativas, cujas características fossem apresentar lesões cicatrizadas, de margens bem definidas, graus variáveis de hipertrofia do epitélio pigmentar da retina e atrofia retinocoróideia, acompanhada de lesão satélite em atividade inflamatória e vitreíte, presença ou não de vasculite dos vasos retinianos, com ou sem comprometimento das estruturas do pólo anterior (STANFORD *et al.*, 2002; GARWEG, 2005; ORÉFICE, 2005).

2 - Parâmetros laboratoriais:

2.1 – Presença, no exame sorológico, de IgM anti-*T. gondii*, positiva, (título de 1/16 ou maior), pelo método de imunofluorescência (CAMARGO, 1964; ORÉFICE F., 2005), independente da presença de quadro característico de padrão ouro.

4.2.3 - DEFINIÇÃO DO TESTE DE IgA SECRETORA ANTI *Toxoplasma gondii*.

A presença na lágrima de IgA secretora anti *T. gondii*, analisada por método imunoenzimático (ELISA), utilizando antígeno purificado da cepa RH de *Toxoplasma gondii*, em níveis superiores aos definidos pelo ponto de corte, foi considerado como positivo ou indicativo de atividade da doença.

4.2.4 – DEFINIÇÃO DOS GRUPOS DE ESTUDO

Definiram-se os grupos de acordo com a etiologia, no que diz respeito à relevância para a validação do teste proposto, assim permaneceram três grupos:

1 - Uveítes posteriores ativas presumivelmente por *T. gondii*, aplicados os critérios de definição do padrão ouro (UPAPT).

2 - Uveíte posterior ativa por outra etiologia (UPAOE)

3 - Uveíte posterior ativa, cujas características clínicas sugeriam fortemente etiologia toxoplásmica, porém não apresentando cicatriz pigmentada, ou seja, “sem padrão ouro” (UPANO).

4.3. - INTEGRANTES DA AMOSTRA.

4.3.1 - CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.

Foram incluídos no estudo os indivíduos portadores de uveítes posteriores ativas, maiores de 10 anos, imunocompetentes, referidos ao

ambulatório de oftalmologia do Hospital das Clínicas da UFPE, estabelecimento onde foi realizada a pesquisa. Os pacientes deveriam cumprir às exigências pré-determinadas em relação aos parâmetros que definiram a doença. O diagnóstico da doença foi estabelecido através de exame oftalmológico completo, avaliação de no mínimo, dois oftalmologistas do serviço de uveítes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco e exames sorológicos.

4.3.2 - CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.

Foram excluídos do estudo aqueles indivíduos cujo exame clínico oftalmológico apresentava características semiológicas diferentes das descritas no item definições de termos, como também indivíduos que vinham fazendo uso de corticóide por via oral nos dois meses antes da consulta. Pacientes usuários de imunossupressores não participaram do estudo, bem como os portadores de SIDA diagnosticada.

4.4 - MÉTODOS DE COLETA DOS DADOS E CATEGORIZAÇÃO DAS VARIÁVEIS.

4.4.1 - COLETA DE DADOS E AMOSTRAS.

Todos os pacientes foram atendidos no ambulatório de oftalmologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

4.4.1.1 - DIAGNÓSTICO CLÍNICO.

Após anamnese e aferição da acuidade visual, foi realizado exame biomicroscópico, com lâmpada de fenda marca Zeiss®, das estruturas do pólo anterior, bem como porção anterior do vítreo. A biomicroscopia do vítreo e pólo posterior do bulbo ocular foi realizada com lente de não contato, de 78 dioptrias. Foi realizada também oftalmoscopia binocular indireta com lente esférica de 20 dioptrias. Com os exames descritos foi definido o diagnóstico de uveíte posterior ativa, sendo esta categorizada em:

1 - Uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii*, aplicados os critérios de definição do padrão ouro (UPAPT).

2 - Uveíte posterior ativa por outra etiologia (UPAOE)

2.1 - Uveíte posterior ativa infecciosa

2.2 - Uveíte posterior ativa não infecciosa

2.3 - Uveíte posterior ativa inespecífica ou indeterminada.

3 - Uveíte posterior ativa, cujas características clínicas sugeriam fortemente etiologia toxoplásmica, porém não apresentando cicatriz pigmentada, foram classificadas como possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO).

Os pacientes foram examinados, no mínimo, por dois oftalmologistas do setor de uveítes.

4.4.1.2 COLETA DAS AMOSTRAS.

Após o exame clínico foi realizada a coleta da amostra da lágrima. Para análise da IgAs na lágrima foi coletada lágrima utilizando fita de papel filtro nº. 4A, marca Toyo®, de 5.0cm de comprimento e 0.5cm de largura, previamente esterilizado. O papel foi dobrado 0.5cm antes da porção proximal, para ser inserido no terço externo da pálpebra inferior, sem qualquer estimulação, sinalizando o extremo terminal, correspondente ao dedo do examinador. Tal precaução teve por objetivo facilitar a extração posterior da lágrima no laboratório. Quando a coluna de lágrima molhava no mínimo 3.0cm da fita de papel, a mesma era retirada e colocada em tubo de ensaio sendo imediatamente congelada em reservatório apropriado para transporte. Todos os pacientes tiveram lágrimas coletadas de ambos os olhos separadamente, especificando o olho comprometido no formulário de cada paciente.

As amostras de lágrima enviadas ao laboratório para análise de IgAs específica foram devidamente codificadas, caracterizando mascaramento do estudo.

Coleta da amostra de sangue: foi coletada uma amostra de 10ml de sangue venoso de todos os participantes no estudo, no laboratório do Hospital das Clínicas, para obtenção do soro, que foi congelado a -20° para posterior análise no laboratório do LIKA.

As amostras de sangue para determinação de IgG e IgM anti-toxoplasma não foram codificadas, visto que eram necessárias para o acompanhamento e tratamento dos pacientes.

Foi elaborado um formulário específico para a coleta de dados, em consonância com os objetivos estabelecidos, o qual se aplicou a todos os participantes do projeto que aceitaram participar voluntariamente no mesmo (Anexo 1). Nesse protocolo foram anotadas as informações obtidas por meio da anamnese e exame clínico, bem como os resultados dos exames laboratoriais e evolução do paciente.

4.4.2 - VARIÁVEIS BIOLÓGICAS E SOCIAIS.

Foram consideradas as variáveis biológicas sexo e idade, bem como procedência, utilizadas para caracterização da amostra.

4.4.2.1 – IDADE.

A categorização dos grupos etários foi realizada de acordo com a orientação da OMS (COLI, 2002) em crianças, adolescentes e adultos. Como no presente estudo não houve participação de menores de 10 anos, foi abolido o grupo das crianças. Os indivíduos de 10 a 19 anos foram categorizados como adolescentes e acima de 20 anos como adultos. Os participantes foram distribuídos em cinco grupos particulares:

- 1 - de 10 a 19
- 2 - de 20 a 30
- 3 - de 31 a 40
- 4 - de 41 a 50
- 5 - 51 ou mais

4.4.2.2 – SEXO.

- 1- feminino
- 2- masculino

4.4.2.3 - PROCEDÊNCIA.

Corresponde ao lugar onde o paciente registrou seu domicílio: foi utilizada a classificação do IBGE (IBGE, 2006) que determina como área metropolitana a capital, Recife e 15 municípios adjacentes. Foram considerados os 169 municípios restantes da Zona da Mata, Agreste e Sertão como interior de Pernambuco. Os pacientes atendidos no Hospital São Geraldo da Universidade Federal de Minas Gerais foram considerados como de Minas Gerais.

Categorização:

- 1 - área metropolitana
- 2 - interior.
- 3 - Minas Gerais

4.4.3 - ANÁLISE LABORATÓRIAL.

As análises das amostras de lágrimas e soro foram efetuadas no setor de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami da Universidade Federal de Pernambuco (LIKA-UFPE). Realizaram-se dosagens de

imunoglobulinas séricas específicas (IgG, IgM) e IgA secretora específica na lágrima.

4.4.3.1 - DETERMINAÇÃO DA IgA SECRETORA ANTI-*T. gondii*:

Preparação do antígeno: foram infectados camundongos Balb/c, por injeção intraperitoneal, com a cepa RH do *Toxoplasma gondii*. Após 72 horas foi retirado 500µL de líquido ascítico dos camundongos. Após o sacrifício dos animais, o líquido obtido foi submetido à centrifugação e posterior ruptura do parasita por congelamentos sucessivos, para obter extrato bruto de *T. gondii*, o que foi coletado e armazenado a -4°C. A seguir, realizou-se a purificação do antígeno, para posteriormente determinar a concentração protéica utilizando o método de SEDMACK (1977).

Ensaio imunoenzimático (ELISA): para pesquisa dos anticorpos IgAs anti-*T. gondii* na lágrima, utilizou-se ensaio imunoenzimático (ELISA), descrito por ENGVALL & PERLMANN (1971), modificado. Para leitura da densidade óptica foi utilizado leitor de ELISA BIORAD, com filtro de 492nm.

Em todos os ensaios foram incluídas amostras de referência de três soros controles negativos e três soros controles positivos, para controle da variação inter-ensaios. O valor do ponto de corte, para cada ensaio realizado, foi determinado pela média aritmética mais dois desvios padrões das densidades ópticas das amostras dos soros dos controles negativos.

4.4.3.2 - DETERMINAÇÃO DE IgG E IgM ANTI-*T. gondii* NO SORO.

Para a determinação do nível de imunoglobulinas no soro, foi utilizado o método de imunofluorescência, segundo técnica descrita por CAMARGO em 1964. Por motivos técnicos operacionais, foram examinadas 125 mostras dos soros (63,45%) para avaliação do nível de anticorpos, sendo 52 de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), 50 de uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE) e 23 de uveítes possivelmente por toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO).

5 - PLANO DE TABULAÇÃO E ANÁLISE DOS DADOS.

Os dados foram categorizados e agrupados para efeito de análise, em relação à variável dependente, no caso a uveíte posterior ativa. Considerando que o princípio precípua do estudo objetiva a validação do teste de IgAs, analisaram-se os dados em termos de: sensibilidade; especificidade; valores preditivos com intervalos de confiança de 95%; razão de verossimilhança e probabilidades da doença.

TABELA PADRÃO

	UPAPT	UPAOE	TOTAL
Positivos	IgAs + a	IgAs + b	a + b
Negativos	IgAs - c	IgA - d	c + d
TOTAL	a + c	b + d	a + b + c + d = n

UPAPT: uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica

UPAOE: uveíte posterior de outra etiologia

UPANO: uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro”

Sensibilidade = $a / a + c$: proporção de pacientes de uveítes presumivelmente toxoplásmica, padrão ouro, que mostraram resultado positivo.

Especificidade = $d / b + d$: proporção de pacientes sem uveíte presumivelmente toxoplásmica em que o resultado foi negativo.

Valor preditivo positivo (VP+) = $a / a + b$: proporção de pacientes com uveíte presumivelmente toxoplásmica que apresentam o teste de IgA secretora específica da lágrima positivo e que apresentam a uveíte presumivelmente toxoplásmica segundo o diagnóstico de certeza. Indica a probabilidade do indivíduo possuir a doença, estando o teste positivo.

Valor preditivo negativo (VP-) = $d / c + d$: proporção de pacientes sem a doença, que apresentam o teste da IgA secretora específica negativo e que possuem uveíte de outra etiologia. Indica a probabilidade do indivíduo de não ter uveíte presumivelmente por toxoplasmose, estando o teste negativo.

O valor preditivo positivo e negativo são probabilidades pós-teste, resultado da informação proporcionada pelos valores positivos e negativos do teste. Antes de realizar o teste existem as probabilidades pré-teste de presença ou ausência da doença. A magnitude de modificação entre as probabilidades pré-teste e pós-teste reflete a capacidade de informação diagnóstica dos resultados do teste.

Os resultados do teste da IgA secretora específica da lágrima, obtidos nos pacientes do estudo foram analisados aplicando razão de verossimilhança (razão de probabilidade diagnóstica ou Likelihood ratio), sendo assim, foram aproveitadas todas as informações disponíveis do teste. A razão de verossimilhança é o quociente entre a probabilidade de se encontrar o resultado em alguém com a doença e a probabilidade de encontrá-lo em alguém sem a doença.

Razão de verossimilhança

Positiva (+) \rightarrow sensibilidade/1 – especificidade

Negativa (-) \rightarrow 1 – sensibilidade/especificidade

A Razão de Verossimilhança permite avaliar em quanto aumenta a probabilidade de ocorrência do resultado em um indivíduo com a doença em relação a um indivíduo sem a doença. Quanto maior a razão, melhor o resultado do teste para aprovar o diagnóstico e, quanto menor a razão, maior a probabilidade de eliminar a doença (NEWMAN, *et al.*, 2003).

Os valores das razões de verossimilhanças foram interpretados segundo o quadro abaixo:

QUADRO 1: Guia de interpretação dos valores Likelihood ratios (LR), por Jaeschke *et al* (1994):

LR POSITIVO	LR NEGATIVO	INTERPRETAÇÃO
> 10	> 0.1	Altera conclusivamente a probabilidade
5 – 10	0.1 – 0.2	Altera moderadamente a probabilidade
2 – 5	0.2 – 0.5	Altera pouco a probabilidade, mas algumas vezes é importante
1 – 2	0.5 – 1	Altera muito pouco, raramente é importante

A relação entre probabilidade pré e pós-teste e razão de verossimilhança pode ser determinada utilizando o nomograma de probabilidades da Figura 1.

Figura 1- Nomograma de probabilidade pré e pós-teste

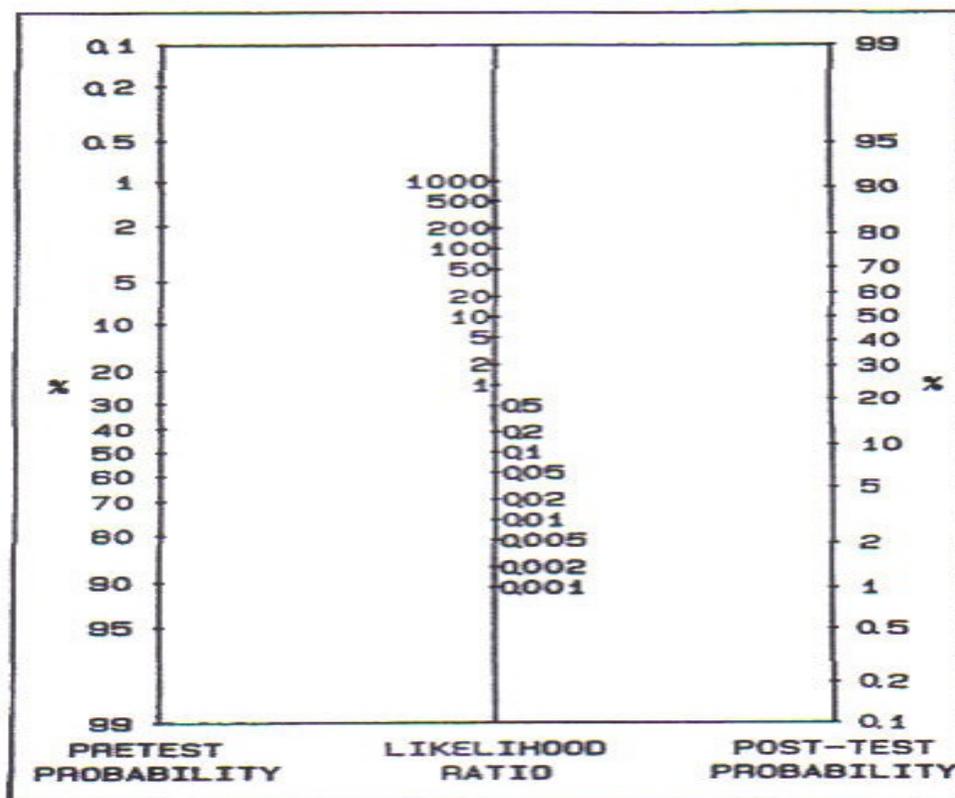


Fig. 4. Normogram[®] for use with likelihood ratio to determine pretest probability of disease if pretest probability and likelihood ratio for test are known.

Os dados coletados foram processados e analisados no programa estatístico epi-info, versão 6.4 e no software SPSS 13 for Windows, no Evidence Based Medicine calculator (EBMcal), versão 1.2, do BMJ E e no GraphPad Instat, versão 3.05 for Windows.

6 - LIMITAÇÕES METODOLÓGICAS DO ESTUDO.

6.1 - ERRO ALEATÓRIO: os estudos de validação estão sujeitos a erros ao “acaso”.

O fato de selecionar indivíduos portadores de uveíte posterior ativa que respondem a características determinadas, pode limitar a representatividade da amostra e, portanto, comprometer a validade externa. Sendo assim extrapolar os resultados da população selecionada para a população hipotética, pode vir a envolver uma margem de incerteza.

Para minimizar o erro aleatório na fase de delineamento, foi calculado o tamanho da amostra estabelecendo nível de confiabilidade de 95% (equivalente ao erro α de 5%) e erro máximo aceitável de 5.0% em relação às proporções esperadas de testes positivos e negativos, sendo calculada as amostras para sensibilidade e especificidade em forma separada, utilizando os parâmetros obtidos na literatura.

Na fase de análise foi realizado o cálculo dos intervalos de confiança e valor de “p” e razão de verossimilhança, para interpretação dos resultados.

6.2 - ERRO SISTEMÁTICO: QUESTÃO VIÉS.

Viés significa um desvio sistemático da verdade que resulta em distorção dos resultados da pesquisa, comprometendo sua validade interna.

O conhecimento de sua possível presença faz necessária, cuidadosa atenção, autorizando a elaboração de estratégias para minimizá-los na fase de desenho e reconhecê-los na fase de análise, permitindo adequada reflexão em relação aos resultados obtidos (FLETCHER, 1991).

6.2.1 - VIÉS DE SELEÇÃO: as pessoas estudadas podem ser diferentes, em algumas características importantes, do resto da população que elas supostamente representam, traduzindo falha no método de seleção da amostra.

Poderia ter acontecido que os pacientes não chegaram ao estabelecimento para atendimento ou que aqueles que chegaram fossem os mais comprometidos, ou ainda que alguns pacientes se recusassem a participar.

Para minimizar esse tipo de erro foi solicitado aos oftalmologistas do Estado de Pernambuco o encaminhamento de todos os indivíduos portadores de uveítes posteriores ativas, para avaliação e exames no Hospital das Clínicas da UFPE, tornando assim a amostra o mais representativa possível da população alvo. Para tal, foram criadas condições de atendimento rápidas e eficientes.

6.2.2 - VIÉS DE AFERIÇÃO:

6.2.2.1 - ERRO DE CLASSIFICAÇÃO: definição inadequada das variáveis pode conduzir a este tipo de viés.

Como foi apontado, o diagnóstico de certeza de uveíte posterior ativa por toxoplasmose com frequência apresenta dificuldades, inclusive para clínicos experientes, visto que formas atípicas de toxoplasmose ocular têm sido descritas, especialmente formas não associadas a lesões prévias e também quadros adquiridos onde a apresentação clínica pode ser variável (LUM *et al.*, 2005). Esse fato diminui a verdadeira sensibilidade do teste em estudo. Para minimizar esse viés, cientes que não existe padrão ouro perfeito e sendo neste caso baseado na clínica, foi considerado também como padrão ouro, a presença de IgM positiva, independente do aspecto clínico da uveíte.

No que diz respeito aos quadros sugestivos de uveíte por toxoplasmose, mas que não apresentavam padrão ouro, para minimizar viés, foi realizada classificação em grupo independente. Assim, aqueles indivíduos cujas características clínicas sugeriam fortemente serem provocadas por *Toxoplasma gondii*, porém não apresentavam cicatrizes retinianas, foram classificados no grupo Uveíte Posterior Ativa Não Ouro (UPANO).

A avaliação independente de, no mínimo, dois oftalmologistas, do setor de uveítes do Serviço de Oftalmologia do HC da UFPE, para definir a classificação clínica do paciente também teve como objetivo minimizar este viés.

É possível que pacientes com a doença em questão apresentassem diferenças em gravidade, estágio ou duração da doença, e a sensibilidade do teste em estudo pode ser maior em aqueles mais comprometidos.

6.2.2.2 - INSTRUMENTOS DE MEDIDA E COLETA DE DADOS: o uso inadequado deles pode ser fonte de erros de classificação.

Esse aspecto teve especial atenção, tanto no diagnóstico clínico quanto laboratorial. As diversas etapas do estudo foram realizadas pelos pesquisadores envolvidos no mesmo. Quando foi necessária a participação de pacientes do Estado de Minas Gerais, pesquisadores se deslocaram ao Estado para realizar o trabalho e proporcionar treinamento adequado aos participantes envolvidos. Para esse efeito, os pacientes portadores da doença que foram atendidos no Hospital São Geraldo, de Belo Horizonte, utilizaram os mesmos critérios de classificação definidos no projeto e igual formulário para preenchimento de dados, porém as amostras de soro e lágrima codificadas foram enviadas para serem analisadas no laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA).

6.2.2.3 - VIÉS DE MENSURAÇÃO: sempre que possível o investigador deve desconhecer quais indivíduos têm e quais não têm a doença, evitando assim vícios de interpretação dos resultados. No presente estudo, o conhecimento da provável causa da uveíte posterior ativa era necessária para orientar o tratamento do indivíduo. Em relação á coleta da lágrima para determinação de IgA secretora foi realizada em todos os indivíduos participantes, por ocasião da primeira consulta, sendo a amostra codificada e enviada ao laboratório. De forma tal que o oftalmologista, no momento do exame, desconhecia o resultado do teste

em questão e o analista do laboratório ignorava os diagnósticos clínicos do paciente, caracterizando o mascaramento do estudo.

Ainda o ponto de corte foi definido segundo critérios estabelecidos para a técnica desenvolvida.

7 - CONSIDERAÇÕES ÉTICAS.

A Comissão de Ética e Pesquisa em seres humanos, da Universidade Federal de Pernambuco outorgou a licença para o desenvolvimento do estudo sob o protocolo N 044/2004-CEP/CCS.

Foi elaborado um protocolo individual para cada paciente, no qual constava seu conhecimento e adesão de livre e espontânea vontade na participação do projeto (Anexo 2).

Não houve qualquer forma de divulgação que pudesse vir a comprometer os pacientes.

Os dados foram registrados nos prontuários clínicos dos pacientes, pertencentes ao Hospital das Clínicas da UFPE, bem como no formulário específico desenvolvido para efeitos da pesquisa.

Todos os participantes do estudo foram acompanhados e tratados até o momento da alta médica.

8 – RESULTADOS.

8.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA.

Foram estudados 197 indivíduos, distribuídos em 82 pacientes portadores de uveíte posterior ativa provavelmente toxoplásmica (UPAPT) e 74 pacientes portadores de uveíte posterior ativa de outras etiologias (UPOE) e 41 portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), no Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), e Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), no período compreendido entre abril de 2003 a dezembro de 2006. Esses dados podem ser observados na tabela 1.

TABELA 1. Distribuição dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

UVEÍTES	N	%
UPAPT	82	41,6
UPAOE	74	37,6
UPANO	41	20,8
Total	197	100

Analisada a distribuição por sexo nos grupos, foi visto que 95 pacientes

(48,2%) foram do sexo masculino e 102 (51,8%) corresponderam ao sexo feminino. Em relação à idade foi constatado que 32 (16,2%) tinham entre 10 e 19 anos, 64 (32,5%) entre 20 e 30 anos, 50 (25,4%) entre 31 a 40 anos, 28 (14,2%) 41 a 50 anos e 23 pacientes (11,7%) mostraram idades superiores a 51 anos Estes resultados podem ser vistos na tabela 2.

TABELA 2. Distribuição por sexo e faixa etária dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

VARIÁVEIS BIOLÓGICAS	N	%
Sexo		
Masculino	95	48,2
Feminino	102	51,8
Grupo etário		
De 10 a 19	32	16,2
De 20 a 30	64	32,5
De 31 a 40	50	25,4
De 41 a 50	28	14,2
51 ou mais	23	11,7
Total	197	100,0

Quando analisada à procedência, foi visto que 105 (53,3%) pacientes registraram seu domicílio na área metropolitana de Recife, 28 (14,2%) foram provenientes do interior do Estado de Pernambuco e 64 (32,5%) participantes do estudo foram de Belo Horizonte. Resultados na tabela 3.

TABELA 3 - Distribuição dos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) segundo procedência, atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

PROCEDÊNCIA	N	%
Região metropolitana	105	53,3
Interior	28	14,2
Belo Horizonte	64	32,5
Total	197	100,0

Em relação à determinação de dosagens de anticorpos IgG e IgM, das 125 amostras analisadas, foi visto que 106 pacientes (84,8%) apresentaram resultados positivos de IgG, sendo negativos em 19 (15,2%) casos. Apenas um paciente apresentou resultado positivo para IgM (0,8%).

A análise do comportamento de dosagens de anticorpos por grupos mostrou que 50 (96,6%) portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por toxoplasma (UPAPT) tiveram IgG positiva, enquanto que as amostras foram positivas em 34 (68,0%) pacientes com uveítes posteriores de outra etiologia (UPAOE) e 22 (95,7%) pacientes com possível toxoplasmose sem padrão ouro (UPANO).

A IgM apresentou um caso com resultado positivo no grupo de pacientes portadores de UPAPT. Resultados na tabela 4.

TABELA 4 - Distribuição de resultados de IgG e IgM no soro, por grupo, nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

EXAMES	GRUPOS DE UVEÍTES					
	UPAPT		UPAOE		UPANO	
	n	%	n	%	n	%
Resultado da IGG						
Positivo	50	96,6	34	68,0	22	95,7
Negativo	02	3,4	16	32,0	01	4,3
Resultado da IGM						
Positivo	01	1,9	00	0,0	00	0,0
Negativo	51	98,1	50	100	23	100
Total	52	100	50	100	23	100

Quando analisada a frequência do olho afetado por uveíte, foi visto que 83 (42,1%) pacientes tiveram o olho direito doente, sendo que 106 (53,8%) apresentaram comprometimento do olho esquerdo e 8 (4,1%) casos mostraram a doença em ambos olhos. Para análise foi considerado o olho mais afetado. Este resultado pode ser visto na tabela 5.

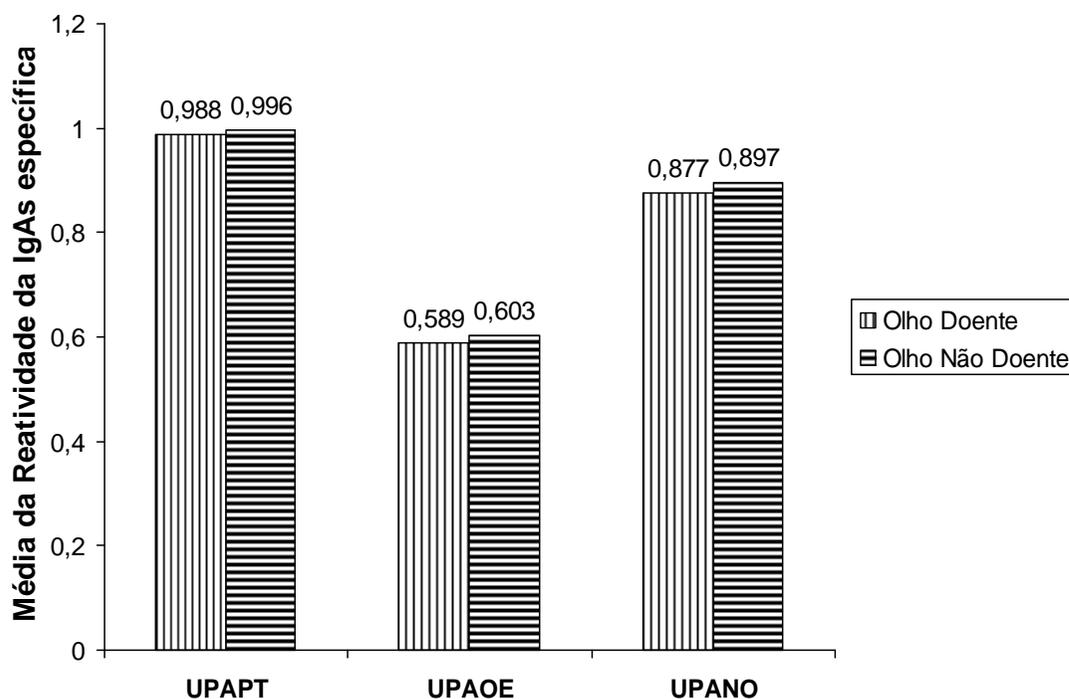
TABELA 5 - Distribuição da frequência do olho afetado nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

OLHO AFETADO	N	%
Olho direito	83	42,1
Olho esquerdo	106	53,8
Ambos	08	4,1
Total	197	100,0

Foi analisada a média aritmética dos índices de reatividade de IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima nos grupos, por olho. Encontrou-se que a média dos índices de reatividade do grupo de portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) (0,988 no afetado e 0,996 no olho não doente) foi maior que a do grupo de portadores de outra etiologia (UPAOE) (0,589 no olho afetado e 0,603 no olho não doente) sendo estatisticamente significativo ($p=0,004$ e $p=0,005$ respectivamente), o que não aconteceu com os pacientes portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), no qual foi visto média de 0,877 para o olho comprometido e 0,897 para o olho sadio ($p=0,667$; $p=0,773$).

A análise da média aritmética da reatividade de IgA secretora específica mostrou que houve reatividade do olho sadio, porém as diferenças não foram estatisticamente significativas (UPAPT: $p=0,874$; UPAOE: $p=0,445$; UPANO: $p=0,436$). Resultados na figura 2.

FIGURA 2: Análises das médias dos índices de reatividade da IgA secretora específica da lágrima nos olhos doentes e não doentes de portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT), uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO). Atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.



UPAPT:p=0,874 UPAOE:p= 0,445 UPANO:p=0,436

UPAPT / UPAOE: p=0,004 → doente → UPAPT /UPANO: p= 0,667

UPAPT / UPAOE P=0,005 → sadio → UPAPT /UPANO: p = 0,773

Foi analisada a validade do teste de IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima comparando os grupos de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica UPAPT e uveíte posterior de outra etiologia UPAOE.

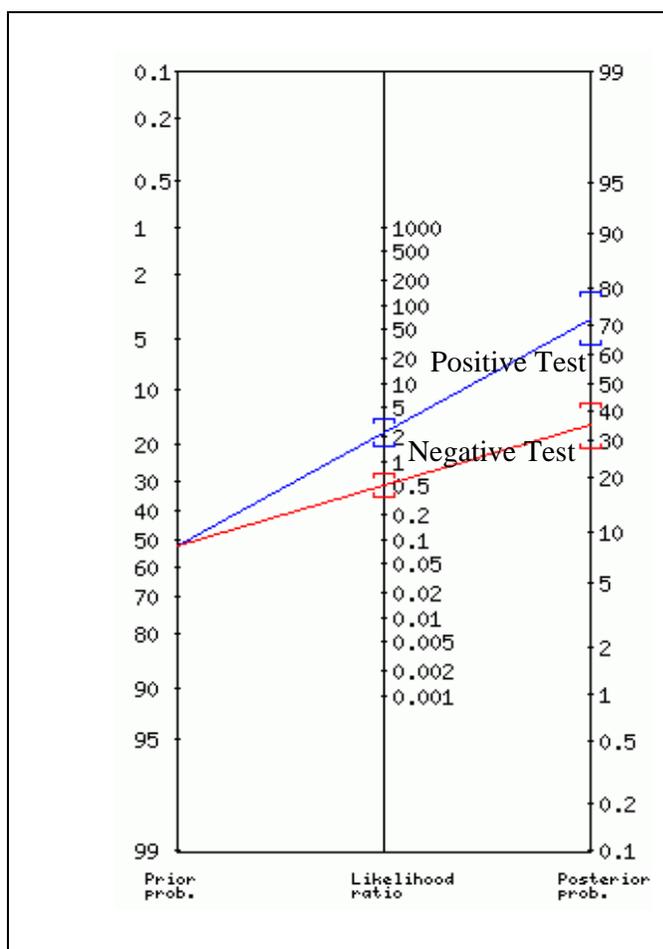
Esse resultado pode ser visto na tabela 6.

TABELA 6 - Avaliação de sensibilidade, especificidade, valores preditivos, probabilidades de doença, e intervalo de confiança do teste IgA secretora anti-*T. gondii* nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

RESULTADO DA IgA SECRETORA NA LÁGRIMA	GRUPOS DE UVEÍTES	
	UPAPT	UPAOE
Positivo	54	21
Negativo	28	53
Total	82	74

Sensibilidade: 65,9 %	IC (95%) = 54,5 – 75,4
Especificidade : 71,6 %	IC (95%) = 59,8 – 81,2
Valor preditivo (+) : 72,0 %	IC (95%) = 60,3 – 81,5
Valor preditivo (-) : 65,4 %	IC (95%) = 54,0 – 75,4
Razão de verossimilhança (+): 2,33	
Razão de verossimilhança (-): 0,49	
Probabilidades (Figura 3)	
Pré-teste da doença: 52,5 %	Pós-teste da doença: 72,0 %
Pré-teste de não doença: 47,4%	Pós-teste de não doença: 34,6%

FIGURA 3. Nomograma da probabilidade pré e pós-teste da IgA secretora específica, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.



POSITIVE TEST:

Positive Likelihood ratio: 2.32

95% confidence interval: [1.56,3.44]

Posterior probability (odds): 72% (2.6)

95% confidence interval: [63%,79%]

NEGATIVE TEST:

Negative Likelihood ratio: 0.48

95% confidence interval: [0.34,0.67]

Posterior probability (odds): 35% (0.5)

95% confidence interval: [27%,43%]

A probabilidade da doença mostrou variação de 20% entre pré-teste e pós-teste, enquanto de não ter a doença variou em 12%.

Foi analisada a sensibilidade do teste no grupo de pacientes portadores de uveíte por possível toxoplasma, sem padrão ouro, que mostrou ser 53,7% (IC de 95% = 37,6 - 69,0). Resultados na tabela 7.

TABELA 7 - Avaliação de sensibilidade e intervalo de confiança do teste IgA secretora anti-*T. gondii* nos pacientes portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

UPANO	N	Sensibilidade (IC de 95%)
Positivo	22	53,7 (37,6 – 69,0)
Negativo	19	
Total	41	100,0

Foi realizada simulação considerando para cálculo de sensibilidade o grupo de uveítes posterior ativa presumivelmente por toxoplasmose (UPAPT) juntamente com o grupo de uveítes de possível etiologia toxoplásmica, porém sem padrão ouro (UPANO), com grupo de uveítes de outras etiologias (UPAOE).

Resultado na tabela 8.

TABELA 8 – Avaliação de sensibilidade, especificidade, valores preditivos probabilidades da doença e intervalo de confiança do teste IgA secretora anti-*T. gondii* nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) associado uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

RESULTADO DA IgA SECRETORA NA LÁGRIMA	GRUPOS DE UVEÍTES	
	UPAPT + UPANO	UPAOE
Positivo	76	21
Negativo	47	53
Total	123	74

Sensibilidade: 61,8%

IC (95%) = 52,6 – 70,3

Especificidade: 71,6%

IC (95%) = 59,8 – 81,2

Valor preditivo (+): 78,4%

IC (95%) = 68,6 – 85,8

Valor preditivo (-): 53%

IC (95%) = 42,8 – 63,0

Razão de verossimilhança (+) = 2,18

Razão de verossimilhança (-) = 0.53

Probabilidades: (figura 4)

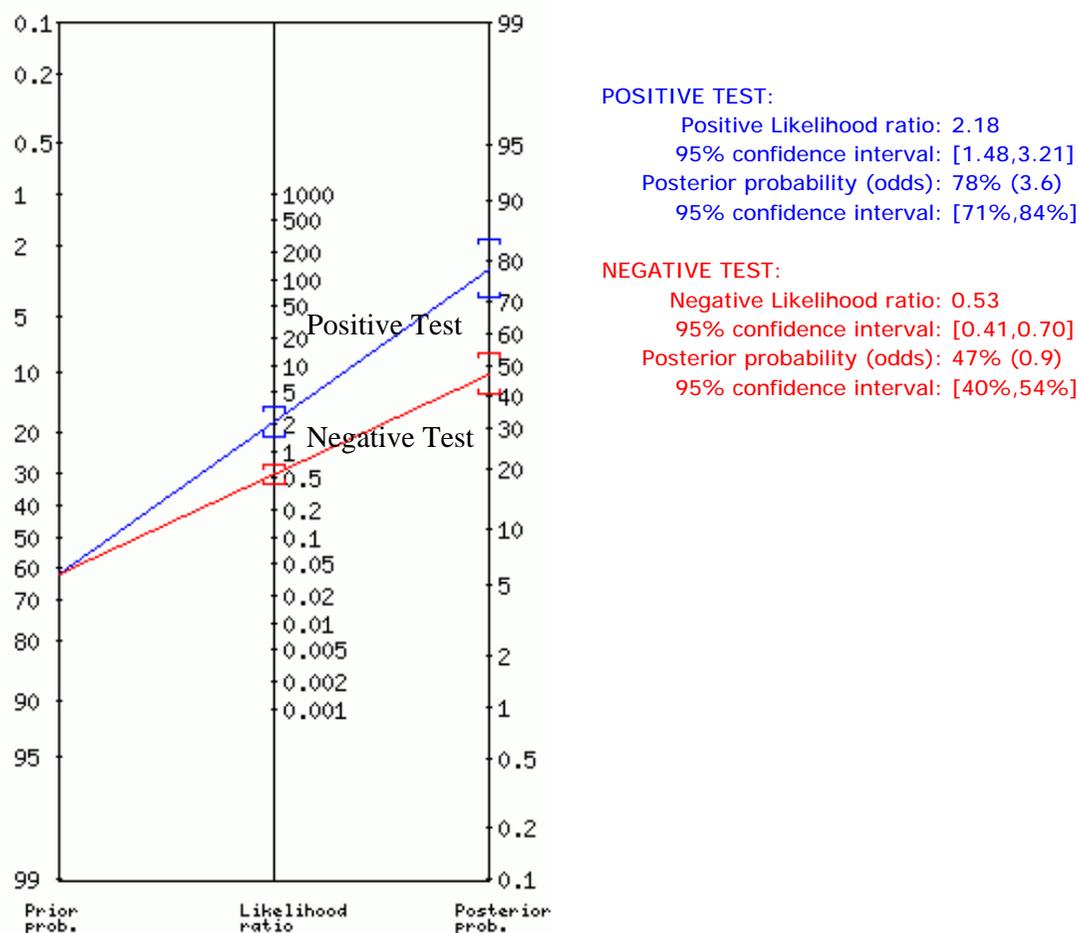
Pré-teste da doença: 62,4%

Pós-teste da doença: 78%

Pré-teste de não doença: 37,6%

Pós-teste de não doença: 47%

FIGURA 4. Nomograma da probabilidade pré e pós-teste da IgA secretora específica, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) associado uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) e uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.



A probabilidade da doença mostrou variação de 16 % entre pré-teste e pós-teste, enquanto a de não ter a doença variou em 10%.

Para cálculo de especificidade foi realizada simulação considerando o grupo de uveíte posterior ativa presumivelmente por toxoplasmose (UPAPT) e

Probabilidades: (Figura 5)

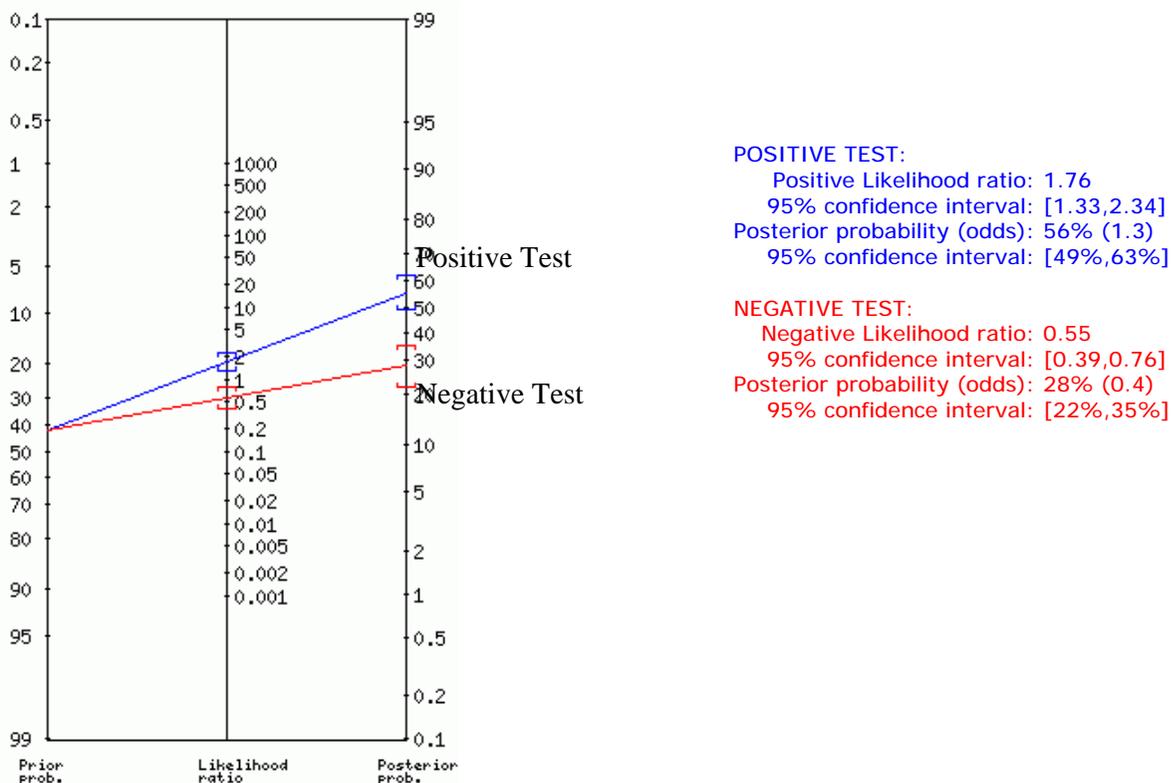
Pré-teste da doença: 41,62%

Pós-teste da doença: 56,0%

Pré-teste de não doença: 58,37%

Pós-teste de não doença: 28,0%

FIGURA 5. Nomograma da probabilidade pré e pós-teste da IgA secretora específica, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e portadores de uveíte por possível toxoplasmose “sem padrão ouro” (UPANO) + uveíte posterior de outra etiologia (UPAOE), atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.



A probabilidade da doença mostrou variação de 14% entre pré-teste e pós-teste, enquanto a de não ter a doença variou em 30%.

Foi visto através das simulações que o limite mínimo de sensibilidade foi de 62% (IC de 95% = 52,6 – 70,3), quando considerado o grupo de uveíte portadores de padrão ouro juntamente com o grupo sem padrão ouro e o limite máximo quando foram considerados somente os pacientes portadores do quadro clínico com padrão ouro, quando se atingiu 65,9% (IC de 95%= 54,5-75,4), com razão de verossimilhança de 2,33. Para especificidade, foi visto 62,6% (IC de 95% = 54,5 - 75,4%) como limite mínimo, quando somados os grupos de uveítes de outras etiologias (UPAOE) e os pacientes portadores de uveíte possivelmente toxoplásmica, sem padrão ouro (UPANO), com razão de verossimilhança de 1,65, aumentado para 71,6% (IC de 95% = 59,8 - 81,2) quando avaliados somente os pacientes portadores de uveítes por outras etiologias (UPAOE).

Foram analisadas as causas de uveíte de outra etiologia em relação ao resultado negativo ou positivo da determinação de IgA secretora específica anti-*T. gondii* na lágrima, classificando em infecciosas (bacterianas, virais, helmínticas), não infecciosas (coriodites, uveíte intermediária, espondiloartropatias, vasculites não infecciosas, traumática, pós-operatória, ciclite heterocrômica de Fuchs, síndrome de Behçet, síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada) e indefinidas ou não determinadas. Os resultados podem ser vistos na tabela 10.

TABELA 10 - Distribuição etiológica e resultados do teste IgAs específica da lágrima anti *T-gondii* nos pacientes portadores de uveíte posterior de outra etiologia (UPOE) atendidos no HC da UFPE e UFMG, abril de 2003 a dezembro de 2006.

ETIOLOGIA		N	IgAs +	%	IgAs -	%
Infecciosas	Hanseníase	1			1	1,4
	Sífilis	3	2	2,6	1	1,4
	Tuberculose	2	1	1,4	1	1,4
	Herpes Zoster	4			4	5,4
	Herpes simples	2	1	1,4	1	1,4
	Toxocaríase	2	2	2,6		
Não infecciosas	Coroidopatias	7	2	2,6	5	6,8
	Uveíte intermediária	7	1	1,4	6	8,5
	Espondilite anquilosante	4	2	2,6	2	2,6
	Artrite reumatóide	5	3	4,0	2	2,6
	Vasculite	4			4	5,4
	Traumática	3			3	4,0
	Pós-operatória	2			2	2,6
	Ciclite heterocrômica de Fuchs	2			2	2,6
	Síndrome de Behçet	1	1	1,4		
	Vogt-Koyanagi-Harada	2			2	2,6
	Inespecíficas	23	6	8,2	17	22,9
	TOTAL		74	21	28,2	53

9 - DISCUSSÃO.

Estima-se que a uveíte é uma causa importante de cegueira no mundo. Em Sofia, Bulgária, foi citada prevalência de 28 por 100.000 habitantes (VASSILEVA *et al.*, 1992) e na Suíça, TAO TAN (1995) refere incidência de 20 por 100.000 habitantes/ano.

No Brasil, em estudo retrospectivo, realizado no Hospital São Geraldo do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais, em 435 pacientes atendidos no serviço de visão subnormal, encontrou-se uveíte em 31,2% (134) dos casos sendo 28,6% (123) secundárias a toxoplasmose, dado que destaca a importância da doença como causa de baixa visão (REIS *et al.* 1998).

A prevalência da toxoplasmose ocular varia consideravelmente segundo as áreas estudadas. HOLLAND (2003) relata que embora não existam dados precisos nos EUA, pode ser estimada uma prevalência de indivíduos infectados de 2%. Em contraste, 17,7% de indivíduos em Erechim, cidade do sul de Brasil tem achados retinianos consistentes com infecção por *T.gondii* (GLASSNER *et al.*, 1992).

De todas as uveítes posteriores, é considerado que 30 a 50% são atribuíveis ao *Toxoplasma gondii*. (BELFORT *et al.*, 1978; JAIN *et al.*, 1998; GEHLEN *et al.*, 1999), estando bem estabelecido que a retinocoroidite toxoplásmica é a causa mais comum identificável em diversas partes do mundo (HOLLAND, 2003).

No presente estudo, foram analisados 197 indivíduos portadores de uveíte, sendo 82 pacientes caracterizados como uveíte posterior ativa

provavelmente toxoplásmica (UPAPT), cujos quadros clínicos foram compatíveis com as exigidas na definição de padrão ouro, 74 pacientes portadores de uveíte posterior ativa de outra etiologia (UPAOE) e 41 portadores de uveíte que apresentaram fortes características de toxoplasmose, porém não tendo cicatriz retinocoroidea, constituindo o grupo “sem padrão ouro” (UPANO).

Os pacientes foram atendidos no Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no período compreendido entre abril de 2003 a dezembro de 2006.

Da amostra apresentada, 95 pacientes (48,2%) foram do sexo masculino e 102 (51,8%) corresponderam ao sexo feminino. Em relação à idade foi constatado que 32 pacientes (16,2%) tinham entre 10 e 19 anos, 64 (32,5%) entre 20 a 30 anos, 50 (25,4%) 31 a 40 anos, 28 (14,2%) 41 a 50 anos, e 23 (11,7%) pacientes mostraram idades superiores a 51 anos.

Em relação à procedência, 105 (53,3%) pacientes tinham domicílio na área metropolitana de Recife, 28 (14,2%) foram provenientes do interior do Estado de Pernambuco e 64 (32,5%) participantes moravam em Belo Horizonte. LYNCH *et al.*, (2003) em estudo realizado com 25 portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica em Pernambuco, relatou percentuais semelhante (80% provenientes da região metropolitana e 20% do interior).

ASSIS JUNIOR (1997) em estudo realizado em Belo Horizonte mostrou que 67,3% dos pacientes procediam da região metropolitana da cidade. Esse fato permite levantar a possibilidade que exista dificuldade de acesso a centros de atenção especializada, devido à falta de recursos econômicos ou de

orientação adequada. A situação citada sugere a necessidade de criar mecanismos destinados a orientar os pacientes e facilitar rápido encaminhamento a centros de atenção terciária, o que sem dúvida terá implicações no prognóstico visual final.

Os testes sorológicos para determinação de anticorpos específicos constituem o método mais utilizado para o diagnóstico da toxoplasmose, porém enfrenta-se o problema que os anticorpos anti-*T. gondii* estão presentes em grande número de indivíduos das diversas populações do mundo. Os títulos podem permanecer em níveis altos durante muitos anos em indivíduos saudáveis. Na toxoplasmose ocular não há correlação entre os níveis de anticorpos e a sintomatologia do paciente sendo assim, os testes sorológicos ajudam pouco na determinação da doença (ORÉFICE, 2005).

Os resultados vistos no presente estudo, em relação à sorologia, estão de acordo com os dados mostrados pela literatura já que, na determinação de dosagens de anticorpos IgG e IgM, das 125 amostras de soro analisadas, foi visto que 106 pacientes (84,8%) apresentaram resultados positivos para IgG específica, sendo negativos em 19 (15,2%) casos. A análise do comportamento de dosagens de anticorpos por grupos mostrou que 50 (96,6%) portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por toxoplasma (UPAPT), tiveram IgG específica positiva e que as amostras foram positivas em 34 pacientes (68,0%) com uveítes posterior de outra etiologia (UPAOE). Os pacientes com uveíte posterior ativa possivelmente toxoplásmica sem padrão ouro (UPANO) mostraram a IgG positiva em 22 (95,7%) dos casos. A determinação de IgM apresentou apenas um caso positivo no grupo de pacientes portadores de UPAPT, fato destacável porque essa imunoglobulina é

aceita classicamente como indicador de atividade sistêmica da doença, embora na forma ocular na grande maioria das vezes é negativa. Nos casos estudados, os pacientes do grupo padrão ouro apresentaram a doença reativada, já fosse adquirida após o nascimento ou congenitamente, desde que todos tinham cicatrizes retinocoroideas e lesão satélite em atividade. Os pacientes do grupo de uveítes de outras etiologias apresentaram 68% de IgG positiva em baixos títulos, o que representa contato com o parasita, sendo, portanto uma situação previsível.

Têm sido relatadas dificuldades para interpretar dados de laboratório em toxoplasmose ocular. Em conseqüência, o diagnóstico é baseado fundamentalmente em critérios clínicos sendo, em geral, as características conhecidas pelos oftalmologistas. Esse fato levanta o questionamento da sensibilidade e especificidade do diagnóstico clínico, o qual, em ausência de um teste de laboratório suficientemente sensível para a enfermidade, é aceito como padrão ouro (GARWEG, 2005).

Nos pacientes portadores do UPAPT, dois apresentaram títulos negativos de IgG, resultado que merece reflexão uma vez que, sendo reativações, era esperado que a IgG estivesse presente. Duas alternativas podem ser levantadas: o quadro clínico, embora respondendo as características solicitadas não era de etiologia toxoplásmica e o exame laboratorial esteve correto, ou o exame mostrou um falso negativo sendo o paciente corretamente diagnosticado como portador da doença.

Foram vistos os prontuários dos pacientes cuja sorologia foi negativa. Mulher, 18 anos, morena, procedente de Belo Horizonte, queixa de embaçamento visual de uma semana, no exame foi constatado ausência de

sinais inflamatórios no pólo anterior, opacidades esparsas no vítreo e a presença de um foco exsudativo, satélite de cicatriz retinocoróideia, perimacular, menor de um diâmetro discal. A determinação da IgA secretora da lágrima nessa paciente foi negativa. O segundo caso foi paciente masculino, 34 anos, moreno. Consultou-se por diminuição da acuidade visual de uma semana de evolução. Foram verificados precipitados corneanos brancos e finos, reação inflamatória moderada de câmara anterior e vítreo, foco exsudativo satélite a cicatriz de retinocoroidite periférica. IgA secretora da lágrima positiva, em níveis elevados no olho comprometido. A terceira paciente, do grupo UPANO, de 12 anos de idade, relatou baixa da visão de um mês de evolução. Quadro febril 2 semanas antes, com linfadenopatias, que foi interpretado como viroses pelo pediatra. No olho foi verificado hiperemia moderada da conjuntiva, precipitados em gordura de carneiro na córnea, células no humor aquoso ++/4+, vítreo com células e opacidades moderadas, foco retiniano exsudativo periférico, inferonasal. Não foi identificada qualquer cicatriz retinocoriodea. IgA secretora foi positiva em ambos os olhos com níveis elevados.

No primeiro caso, é possível que fossem resultados falsos negativos. Nos outros dois casos descritos, nos quais a clínica e a IgA secretora mostram convergência, é provável que realmente a IgG no soro fosse um falso negativo.

Em relação ao caso que apresentou IgM positiva, as características do quadro ocular sugeriam forte etiologia toxoplásmica, porém devido a ausência de cicatriz foi inicialmente catalogado como UPANO. A IgA secretora da lágrima foi positiva, bem como a IgG do soro, ambas em níveis altos. A

situação descrita caracteriza um claro caso de toxoplasmose ocular adquirida, mostrando correlação entre a sorologia (IgG e IgM positivas) e o teste de IgA secretora específica da lágrima.

Em relação ao teste de referência ou padrão ouro, definido pelas características clínicas, usado para avaliar o teste de IgA secretora da lágrima, é desejável que seja “perfeito”, ou seja, que apresente 100% de sensibilidade e especificidade, o que exclui os resultados falsos positivos. (STAQUET *et al.*, 1981) Isto na prática, não é possível, passando a ser utilizado aquele que, sabidamente é considerado o melhor disponível, que na doença em questão vem sendo aceito pela comunidade científica, embora, não tenha sido encontrado na literatura disponível estudos de validação do mesmo.

A falta de correlação entre os sintomas clínicos e os dados de laboratório da toxoplasmose ocular, tem se acentuado pelo reconhecimento que muitos pacientes apresentam a forma adquirida da doença (MONTROYA & REMINGTON, 1996). Essa forma parece diferenciar-se da forma congênita por apresentar um quadro clínico mais agressivo, lesões maiores, marcada inflamação do segmento anterior e vítreo, maiores complicações secundárias e, fundamentalmente, ausência de cicatrizes (HOLLAND, 2004). Entretanto, não têm sido descritos critérios definidos na literatura para diferenciar ambas as apresentações, sendo a presença ou não de cicatrizes o divisor mais importante. Essa diferenciação clínica está respaldada pela sorologia, já que uma maior freqüência de casos de toxoplasmose ocular adquirida apresentam IgM positiva no soro (ONGKOSUWITO *et al.*, 1999; JONES *et al.*, 2006), como foi visto na situação relatada. Porém, não deve ser necessariamente entendido que todos os casos de toxoplasmose ocular primária são adquiridos,

ou que todos os pacientes com cicatrizes tenham a forma congênita da enfermidade. A virulência da cepa envolvida, bem como os fatores do hospedeiro também tem que ser considerados (GARWEG, 2005). A resposta imune celular, incluindo a produção de citocinas, tem contribuído para a compreensão da fisiopatologia da enfermidade (FATOOHI *et al.*, 2006; GOMEZ – MARÍN *et al.*, 1997), mas não para seu manejo clínico. Entretanto, a análise da resposta humoral constitui uma importante arma diagnóstica, assim a detecção de produção de anticorpos locais (humor aquoso e vítreo) é considerada um fator importante para a confirmação da doença, porém são escassos os conhecimentos em relação a aspectos importantes deste tipo de imunidade como, por exemplo, o tempo transcorrido entre o início dos sintomas e o início da resposta imune local, a persistência de anticorpos específicos e a possível ativação de plasmócitos específicos em uma condição inflamatória determinada.

A produção local de anticorpos é expressa em termos de índice de anticorpos, descrita por GOLDMANN & WITMER em 1964 e compara a produção de anticorpos no soro com os produzidos intra-ocularmente, utilizando material obtido por meio de punção do bulbo ocular. Dependendo dos estudos apresentados, a sensibilidade do índice como elemento diagnóstico varia entre 41 a 80% (FARDEAU, 2002, GARWEG, 2000; BORNARD & GOTTRAU (1997), DESMONT, 1966), com especificidade em redor de 90%.

O teste de IgA secretora específica estudada pelos autores do presente trabalho mostrou sensibilidade de 65,9% (IC= 54,5 – 75,4) e especificidade de 71,6% (IC= 59,8 – 81,2) quando trabalhados o grupo de uveíte posterior

ativa presumivelmente toxoplásmica (padrão ouro) e o grupo de uveíte posterior ativa de outra etiologia. Quando foi agregado o grupo de uveítes possivelmente toxoplásmica, sem padrão ouro, foi visto que a sensibilidade e especificidade diminuíram para níveis de 53,9 (IC 95% = 37,6 – 69,0) e 62,6 (IC 95% = 53,1-71,3) respectivamente.

Falhas na produção local de anticorpos podem ser atribuíveis a causas tais como que o período de atividade infecciosa não foi o suficientemente duradouro para ativar uma resposta imune ou a indenidade da barreira hemato-aquosa constituiu impedimento para a formação dos mesmos.

Experiências em animais mostraram que a imunização por via sistêmica com um antígeno específico, produz anticorpos circulantes contra o antígeno, os quais podem ser recuperados no filme lacrimal (SASPE, 1967). A aplicação de antígenos intestinais parece estimular a conjuntiva por meio de células específicas com memória que migram para os folículos conjuntivais (PU *et al.*, 1983). Imunização oral em humanos demonstrou que a IgA secretora específica contra o antígeno utilizado podia ser detectado na lágrima, indicando que células β ativadas no intestino extravasavam para a glândula lacrimal, sendo este órgão um efector da resposta imunitária comum (GREGORY & FILLER (1987).

WALCOTT (1988) ressalta que a maioria das células β circulantes, que virão a ser plasmócitos, são específicas para IgG, com uma minoria que serão específicas para IgA, o que leva a crer na existência de uma retenção seletiva dentro da glândula lagrimal, embora o mecanismo preciso não seja conhecido.

De acordo com os conceitos expostos caberia pensar que os indivíduos que apresentaram contato com o *Toxoplasma gondii* por via oral

manifestariam algum nível de resposta na lágrima. MEEK (2000) relata que indivíduos normais, cronicamente infectados ou não, apresentam anticorpos anti-*T. gondii* na lágrima. Entretanto, não foram encontrados, na literatura disponível, relatos que mostrem a frequência do anticorpo secretor em indivíduos sadios, bem como a curva de comportamento nos doentes. Já a IgA no soro aparece duas a quatro semanas após a primo infecção, com pico entre o segundo e o terceiro mês, desaparecendo após sete a nove meses (FRANCIS *et al.*, 1993).

Do anteriormente exposto, pode ser levantado que o momento da captação da amostra da lágrima seja importante para considerar a resposta imunológica, bem como o nível basal de indivíduos sadios. No presente estudo todas as amostras foram captadas no momento da primeira consulta, independente do tempo de evolução da enfermidade. Esses aspectos levantam questionamentos que poderão ser estudados no futuro próximo.

Determinações qualitativas da resposta imune humoral têm mostrado bandas de respostas específicas do humor aquoso, utilizando immunoblotting em 2/3 dos pacientes estudados, porém não no soro. (GARWEG *et al.*, 2004; VILLARD *et al.*, 2003; KLAREN *et al.*, 1998). Entretanto, nem a técnica de preparação de antígenos, nem a forma de apresentação dos dados, têm sido estandardizadas, o que dificulta a comparação dos diferentes estudos apresentados na literatura. Em média, o immunoblotting detecta 50% de anticorpos IgG no humor aquoso e 25% de IgA. A determinação de ambas as imunoglobulinas aumenta as probabilidades de diagnóstico.

A amplificação do DNA parasitário por PCR é um método altamente específico por definição, porém, em amostras de humor aquoso de pacientes

imunocompetentes, a sensibilidade é baixa, sendo menor de 25%. Quando são utilizadas amostras de humor vítreo se corrobora o diagnóstico clínico em redor de 50%, entretanto, é sugerido que amostras do vítreo sejam retiradas em casos extremamente justificados. (VILLARD, 2003; FARDEAU, 2002).

GROOT-MIJNES *et al.*, (2006) estudaram a produção de anticorpos no humor aquoso e no soro de 230 pacientes suspeitos de uveíte infecciosa. Foi analisada a produção de anticorpos contra Herpes Simples, Herpes Zoster e *Toxoplasma gondii*, por cálculo de coeficiente de Desmont e análise do DNA por PCR. Obtiveram resultados positivos em 54 pacientes. Concluíram que somente com PCR o diagnóstico estaria correto em 56% dos casos de herpes vírus simples e 36% dos casos de toxoplasmose. O índice de Desmont foi positivo em 48% dos casos que tiveram o PCR negativo para toxoplasmose. Foi verificado que no caso do Herpes Simples vírus o DNA era facilmente detectado no início da infecção, em contraste, o ácido nucléico do *T. gondii* só foi possível determinar três semanas após o início da doença.

Outro aspecto a considerar é que a técnica do PCR para detecção do DNA do toxoplasma não está definitivamente padronizada quanto aos procedimentos de extração de ácidos nucléicos ou aos segmentos a serem ampliados (HOLLIMAN, 1994). Um resultado positivo do teste não permite distinguir entre formas císticas e taquizoítos, ou seja entre infecção ativa e crônica.

Pouco se sabe em relação ao tempo transcorrido entre o início dos sintomas clínicos e a indução para produção de anticorpos locais. Em 66% de pacientes sem sinais de produção específica de anticorpos no início da doença, os anticorpos são detectados posteriormente (GARWEG, 2000). Esse

achado está de acordo com resultados obtidos em experiências em coelhos nos quais, após a infecção ocular com taquizoítos de *Toxoplasma gondii*, a produção de anticorpos começou no décimo dia após a inoculação no humor aquoso e 15 dias após, no soro dos animais (GARWEG, 1998).

PEDERSEN *et al.*, (1982) estudaram quantitativamente por radio-imunoensaio a produção de IgA secretora específica da lágrima em pacientes portadores de ceratite por herpes simples recorrente. A presença do anticorpo específico foi demonstrada nos dez primeiros dias da infecção com o máximo de concentração alcançado três a cinco dias após o início dos sintomas.

No estudo supracitado de GROOT-MIJNES *et al.*, (2006), foi visto que o DNA do Herpes simples vírus era facilmente detectado no início da infecção, em contraste, o DNA do *T. gondii* só foi possível determiná-lo três semanas após o início da doença.

Não foram encontrados estudos na literatura que determinem a cinética de produção da IgA secretora antitoxoplasma, porém por analogia com os estudos realizados com vírus Herpes Simples, é possível que a resposta seja mais tardia, ressaltando que existem diferenças comportamentais entre ambos os microorganismos. Trabalhos já em andamento virão a esclarecer esses questionamentos.

Sabe-se que o bulbo ocular é um sistema imunologicamente privilegiado, ou seja, a resposta à presença de um antígeno é modulada, protegendo as estruturas oculares de respostas inflamatórias destrutivas. Outros tecidos que possuem essa característica são os testículos e o cérebro. São características desse privilégio imunológico; não possuir gânglios linfáticos intra-oculares,

presença de barreiras oculares (hamato-aquosa e hamato-retiniana) e imunomoduladores.

Dentre os imunomoduladores destaca-se o fator transformador de crescimento α (TGF α), interleucina 10 (IL10) e inibidores do complemento. O fator de crescimento β (TGF β) é uma citocina produzida pelos macrófagos e células T e serve como gatilho para estimular a produção de IgA. Uma das características mais destacadas do privilégio imunológico ocular é a presença de molécula FASL (“FAS ligante”), a qual é expressa na maioria das membranas do olho. Na superfície dos linfócitos T, é expressa a molécula FAS que quando se une com a molécula FASL da célula provoca a apoptose do linfócito, limitando a expansão do mesmo, desviando a resposta imune.

A presença de antígenos oculares pode trazer como resultado a quebra das barreiras oculares com conseqüente desencadeamento da resposta imunológica sistêmica global.

Os pacientes com toxoplasmose ocular tendem a ter níveis mais altos de IgG específica que indivíduos com outras uveítes. Têm sido visto que existe produção local de anticorpos por vários meses após o término da atividade inflamatória (CHAPMAN *et al.*, 1999), como também a presença de anticorpos no olho não comprometido. Ambos os fenômenos também foram constatados em experimentos realizados em coelhos (GARWEG & BOEHNK, 2006).

No presente estudo foi analisada a média dos índices de reatividade do teste imunoenzimático para IgA secretora específica na lágrima nos três grupos, separadamente e por olho. A avaliação por grupo mostrou que as médias dos pacientes portadores de UPAPT foram maiores (0,988) que as

apresentadas pelo grupo de uveítes de outra etiologia (0,589), sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p=0,004$) entretanto, a média dos índices foi semelhante a do grupo de uveíte possivelmente toxoplásmica sem padrão ouro. Ressaltasse, com os valores obtidos, que o teste aplicado apresenta resultados também relevantes quando analisados valores quantitativos do índice de reatividade do mesmo, além dos valores qualitativos.

Em relação à análise por olho, foi constatado que o olho não doente também apresentou resultados positivos em relação a IgA secretora, sendo as médias mais elevadas, porém a diferença não foi estatisticamente significativa. Essa situação leva a pensar que a presença do anticorpo na lágrima responde realmente a um fenômeno sistêmico. É possível que a ruptura da barreira hemoretiniana e/ou hematoaquosa seja o gatilho desencadeante para a produção dessa imunoglobulina.

Foi visto que em alguns pacientes o índice de reatividade foi maior no olho sadio que no olho afetado. Pode ser levantado que essa situação esteja relacionada ao fato que com frequência os pacientes já tinham iniciado uso de corticóide local (colírio), indicado pelo oftalmologista como tratamento inicial juntamente com a orientação de visitar o Hospital das Clínicas, e outras vezes por iniciativa do próprio paciente. O corticóide é uma droga com conhecidos efeitos na resposta imunológica. Este questionamento sugere a necessidade de estudos planejados que permitam seu esclarecimento.

Na revisão das causas etiológicas das uveítes e a resposta ao teste da IgA anti-*Toxoplasma gondii* da lágrima, chamou a atenção que dois casos catalogados com provável toxocaríase apresentaram o resultado positivo. A

toxocaríase é provocada pelo *Toxocara canis*, nematódeo, cujo hospedeiro é o cão doméstico. No olho possui diversas formas de apresentação, sendo as mais freqüentes a forma de granulomas (ORÉFICE *et al.*, 1991). O quadro clínico ocular é considerado diagnóstico diferencial com toxoplasmose ocular. Entretanto, os dois pacientes referidos apresentaram teste imunológico, por ELISA, positivo para toxocara. Isto leva ao questionamento do papel do laboratório. Caso os pacientes realmente fossem portadores de toxocaríase, o teste da IgA teria mostrado resultados falsos positivos, destacando a necessidade de purificar o antígeno para diminuir a possibilidade de reações cruzadas, embora ambos os microrganismos sejam antigênicamente diferentes.

Outro aspecto destacável diz referência a pacientes portadores de espondilite anquilosante e artrite reumatóide, doenças de origem idiopática, nas quais existe um forte, porém pouco esclarecido, componente imunológico (ORÉFICE, 2005). Dos quatro pacientes com espondilite, dois tiveram IgAs específica positiva, assim como três dos cinco portadores de artrite reumatóide. Sem dúvida, por ser a amostra pequena, qualquer conclusão poderá parecer precipitada, porém parece factível que doenças com alterações do sistema imunológico possam interferir no comportamento da imunoglobulina.

O teste que está sendo apresentado identifica a presença do anticorpo, (IgAs) quando este reconhece antígenos apresentados do *Toxoplasma gondii*. MEEK *et al.* (2000) em estudo para avaliação da presença de IgA secretora nas lágrimas de indivíduos saudáveis, relata ter usado a cepa RH do *toxoplasma*, porém foram purificadas bandas de diversos pesos moleculares (74 kDa, 70 kDa, 49 kDa e 34 kDa), para análise por immunoblotting, destacando que

pelo menos um dos quatro antígenos foram reconhecidos. Por outro lado, KLAREN *et al.*, (1998) investigaram amostras de humor aquoso e soro de 13 pacientes com toxoplasmose ocular ativa. Utilizando método de immunoblotting analisaram as bandas entre pesos moleculares de 25 e 80 kDa para detecção de IgG intraocular. Houve um reconhecimento mais acentuado do antígeno 28 kDa, sendo menor nas bandas 43 e 58 kDa.

É considerado que o principal antígeno de superfície do toxoplasma é a proteína SAG-1, com peso molecular de 30 kDa. (SHARMA *et al.*, 1983). Os antígenos protéicos variam de acordo com a cepa do microorganismo.

VALLOCHI *et al.*, (2005) estudou 92 olhos do banco de olhos de São Paulo, Brasil, e dois olhos enucleados por toxoplasmose, da cidade de Erechim, sul de Brasil. Foi visto que 11 (nove de São Paulo e dois de Erechim) tinham cicatrizes de toxoplasmose. Foi identificado por PCR que a cepa mais freqüente foi do tipo I. KHAN *et al.*, (2006) relata que genótipos de cepas isoladas em Brasil foram altamente divergentes quando comparados a linhagens de clones da América do Norte e Europa, o que leva a crer que o mapeamento genético do parasita é mais complexo que o reconhecido previamente, sugerindo que genótipos únicos ou divergentes possam contribuir a quadros clínicos diferentes em diversas localidades.

Desde que o antígeno trabalhado pelos autores é um antígeno bruto da cepa RH, é possível que a purificação do mesmo, com isolamento dos antígenos mais freqüentemente encontrados, possa vir a melhorar a sensibilidade e especificidade do exame. Conhecer qual é a cepa predominante em Pernambuco reforçaria a chances de identificação antigênica e reconhecimento dos mesmos pela imunoglobulina.

Pode ser visto, pelos dados mostrados que a sensibilidade e especificidade do teste aqui apresentado são compatíveis com os encontrados na literatura para diagnóstico da toxoplasmose ocular, mostrando uma faixa de sensibilidade entre 62% a 65,9% e especificidade entre 62,6% e 71,6%. A razão de verossimilhança positiva, determinada pela frequência da ocorrência do resultado em pacientes com a enfermidade, comparado com aqueles sem a enfermidade, mostrou valor de 2,3 tendo variações de acordo com as simulações. Na prática, quer dizer que um paciente com resultado positivo do teste de IgAs anti-*Toxoplasma gondii* tem duas vezes mais probabilidades de que o resultado seja realmente verdadeiro. Esse valor altera pouco as probabilidades, porém, em determinadas situações pode ser importante.

O valor preditivo positivo, determinado pela proporção de doentes entre os positivos ao teste, mostrou um valor de 72%, o que significa que de cada dez indivíduos que apresentam resultado do teste positivo, sete, realmente têm a doença.

O valor preditivo negativo, corresponde à proporção de sadios entre os negativos ao teste. No presente estudo mostrou valor de 65,4%, o que significa que cada dez testes negativos, seis estão realmente negativos, ou não têm a doença.

Os valores preditivos são influenciados pela prevalência da enfermidade, neste caso, da toxoplasmose.

Na prática, quanto mais sensível for o teste maior será seu valor preditivo negativo, sendo assim, maior segurança terá o oftalmologista, para dizer ao paciente com resultados negativo, que ele não tem toxoplasmose ocular.

Em contraposição, quanto mais específico for o teste, melhor será seu valor preditivo positivo, que leva o oftalmologista a confirmar a doença. Os aspectos descritos foram evidenciados nas simulações desenvolvidas com os grupos do estudo.

Em relação à probabilidade da doença, a estimativa da prevalência da doença na amostra pré e pós-teste mostrou uma variação de 20%, que pode ser considerada como satisfatória.

MICHEL HOGAN, oftalmologista respeitado mundialmente pelas suas contribuições científicas, em 1957 comentou que: “A toxoplasmose humana é uma das mais interessantes enfermidades da medicina moderna”. Aproximadamente 50 anos mais tarde os investigadores continuam a ficar fascinados, intrigados e frustrados com a doença. Durante os últimos anos há um interesse renovado para compreender todos os aspectos da doença ocular, desde a forma de transmissão, apresentação e tratamento.

No estudo desenvolvido, se apresenta um novo instrumento para diagnóstico da toxoplasmose ocular, não invasivo, fácil de realizar, inócuo e de baixo custo. Aprimoramentos precisam ser realizados no âmbito laboratorial, porém, sem dúvida, dentro de algum tempo fará parte da propedêutica para estudo da doença.

10 – CONCLUSÃO.

Os resultados obtidos na determinação da presença de reatividade da IgA secretora anti-*Toxoplasma gondii* na lágrima, assim como a quantificação de seus níveis nos grupos de uveítes constituintes da amostra, permitem concluir que o teste em estudo é válido para diferenciar pacientes portadores de uveíte posterior ativa por toxoplasmose ocular de pacientes portadores de uveítes causadas por outras etiologias. Ressalte-se que se trata de um exame não invasivo, de fácil execução e de baixo custo.

11 – RECOMENDAÇÕES.

O autor recomenda a realização de novas pesquisas sobre a IgA secretora específica para toxoplasmose, estudos que possam elucidar questionamentos referentes à cinética da produção da IgAs específica anti-*T. gondii*, sua evolução natural, seu comportamento frente a tratamentos e doenças de caráter imunológico, assim como pesquisas de purificação do antígeno toxoplásmico com o intuito de melhorar a sensibilidade e especificidade do teste apresentado no presente estudo.

A junção das informações acima sugeridas poderá trazer ao médico oftalmologista um teste diagnóstico com capacidade de auxiliar no difícil diagnóstico diferencial das uveítes, trazendo benefícios para a população acometida por essa doença. Benefícios que o autor recomenda que sejam avaliados em estudos controlados.

12 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABREU, M. T. et al. Toxoplasmose ocular em Venda Nova do Imigrante, ES, Brasil. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 61, p. 540-545, 1998.

ADAM, N. A.A.; DALMORO, G.; SLAVO, N.J. Obstrução arterial de ramo causada por toxoplasmose. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 59, n. 11, p. 781-783, 2000.

AMARO. M.H.; MUCIOLY, C. Recurrent ocular toxoplasmosis evaluation: findings from fluorescein angiography and indocyanine green angiography. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.6, p. 272, 2005.

ANDERSON, S.E.; REMINGTON, J.S. The diagnosis of toxoplasmosis. **South Medical Journal**, v. 68, p. 1433-1443, 1975.

ARAUJO, F.; SLIFER, T.; KIM, S. Chronic Infection with *Toxoplasma gondii* does not prevent acute disease or colonization on the brain with tissue cysts following reinfection with different strains of the parasite. **Journal of Parasitology**, v.83, n.3, p. 521-522, 1997.

ASPINALL, T.V. et al. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in commercial meat products as monitored by polimerasa chain reaction – food for thought? **International Journal Parasitology**, v. 32, p. 1139-1199, 2002.

ASSIS, J. R. et al. Estudo de 52 casos com lesões ativas supostamente toxoplásmicas (biomicroscópico, morfológico, topográfico e terapêutico). **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 56, n. 8, p. 569-585, 1997.

ATMACA, L.S.; et al. Fluorescein and indocyanine green angiography in ocular toxoplasmosis. **Graefe's Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology**, Maio, n. 4, p. 345, 2006.

BAHIA, M. D.; ORÉFICE, F.; ANDRADE, G. M. K. Análise clínica das lesões de retinocoroidite em crianças portadoras de toxoplasmose congênita. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v.51, n.5, p. 266-271, 1992.

BAHIA - OLIVEIRA, L.M. et al. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, p. 55- 62, 2003.

BALLOW, M. et al. IgG specific antibodies to rye grass and ragweed pollen antigens in the tear secretion of patients with vernal conjunctivitis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 95, p. 161, 1983.

BENIZ, J. Toxoplasmose ocular adquirida. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 56, p. 134-136, 1993.

BELFORT JR, INAMURA, P. M.; BONOMO, P. P. O. Toxoplasmose ocular. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 38, p. 196-204, 1975.

BELFORT JR, R.; HIRATA, P S.; ABREU, M. T. Uveítes: Estudo de 250 casos consecutivos. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 41, p. 196-199, 1978.

BORNARD, J.E.; GOTTRAU, P. Uveítes: Is ocular toxoplasmosis only a clinical diagnosis? **Ophthalmologica**, v. 211, p. 87-89, 1997.

BRONG, M. D.; KARA-JOSÉ, N. Filme Lacrimal. In: BELFORT JR, R.; KARA-JOSÉ, N. **Córnea: clinica e cirúrgica**. São Paulo: Roca Ltda. 1997, cap. 4, p. 34-40.

BURNETT, A. J. et al. Multiples cases of acquired Toxoplasmosis retinitis presenting in an outbreak. **Ophthalmology**, v. 105, p. 1032-1037, 1998.

CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 66, p. 117-118, 1964.

_____, et al. Immunoglobulin G and immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays and defined toxoplasmosis serological patterns. **Infection and Immunity**, v. 21 (1), p. 55-58, 1978.

_____, LESER, P.G., LESER, W.S.P. Definição de perfis sorológicos na toxoplasmose. Importância diagnóstica e epidemiológica. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 13, p. 113-127, 1977.

_____, Toxoplasmose. In: FERREIRA, W.A. & ÁVILA L.M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**, 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

COLLI, A. S. Conceito de Adolescência. In: MARCONDES, E. et al. **Pediatria básica**, 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002, v.1, p. 655.

CHAPMAN, D.J. et al. The relationship between ocular toxoplasmosis and levels of specific toxoplasma antibodies. **Epidemiology Infectious**, v. 122, p. 299-303, 1999.

CHARDÈS, T. et al. Antibody responses to *Toxoplasma gondii* in sera, intestinal secretions, and milk from orally infected mice and characterization of target antigens. **Infection and Immunity**, v. 58, p. 1240-1246, 1990.

_____, et al. *Toxoplasma gondii* oral infection induces specific cytotoxic CD8 alpha/beta + Thy-1+ gut intraepithelial lymphocytes, lytic for parasite-infected enterocytes. **Journal Immunology**, v. 153, n. 10, p. 4596-4603, 1994.

CHUMPITAZI, B. et al. Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis by Immunoblotting and Relationships with Others Methods. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 6, p. 1479-1485, 1995.

CLUMECK N. Some aspects of the epidemiology of toxoplasmosis and pneumocystocis in AIDS in Europa. **European Journal Clinical Microbiology Infect Diseases**, v. 10, p. 177-178, 1991.

DESMONTS, G. et al. La productione locale d'anticorps au cours des toxoplasmoses oculaires. **Archives of Ophthalmology**, v. 20, p. 137-145, 1960.

_____, Definitive serological diagnosis of ocular toxoplasmosis. **Archives of Ophthalmology**, v. 76, p. 839-851, 1966.

_____, Toxoplasmose oculaire: Etude épidémiologique (bilan de 2030 examens d'humeur aqueuse). **Archives of Ophthalmology**, v. 33, p. 87-102, 1973.

_____, REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of Toxoplasma infection: Method for increasing sensitivity and specificity. **Journal Clinic Microbiology**, v. 11, p. 562-568, 1980.

DE LA TORRE, A.; NÚÑES, MX. Imunología Ocular: síndromes de ojo seco. **Colombia Médica**, v. 33, n. 3, p. 113-122, 2002.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.F.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradizoytes, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiological Revist**, v. 11, p. 267-299, 1998.

DUPOUY-CAMET et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in venous blood from AIDS patients by polymerase chain reaction. **Journal Clinic Microbiology**, v. 31, p. 1866-1869, 1993.

ENGEVALL; PEERLNANN, P. Enzime – linked Immunosorbent Assay (Elisa). Quantitative Assay of Immunoglobulin G. **Immunochemistry**, v. 8, p. 871-874, 1971.

FACHADO, A., FONTE, L., ALBERTI, E., et al. Usefulness of the detection of *Toxoplasma gondii* antigens in AIDS patients. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 36, p. 525-529, 1994.

FARDEAU, C.; ROMAND, S.; RAO, NA. et al. Diagnosis of toxoplasmic retinochoroiditis with atypical clinical features. **American Journal of Ophthalmology**, v. 134, p. 196-203, 2002.

FATOOHI, F., et al. Systemic T cell response to *toxoplasma gondii* antigen in patients with ocular toxoplasmosis. **Japan Journal Ophthalmology**, v. 50, p. 103-110, 2006.

FERNÁNDEZ, L.C.; ORÉFICE, F. Aspectos Clínicos e Epidemiológicos das Uveítes em Serviços de Referência em Belo Horizonte de 1970 a 1993. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 55, p. 569-578, 1996.

FIGUEROA, M.W.; SOARES, I.P.; ORÉFICE, F. Sinais e sintomas nas uveítes. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2005, v. 1, cap.4, p. 31-44, 2005.

FLETCHER R.H., FLETCHER W.S., WAGNER E.H. In: **Epidemiologia Clínica**, 2 ed, Porto Alegre: Artes Médicas, 1991. Cap. 1. p. 26-34.

FOX, PD., et al., Tear and serum antibody levels in ocular herpetic infection: diagnostic precision of secretory IgA. **British Journal of Ophthalmology**, v. 70, p. 584-588, 1986.

FRANCIS, J.M.; JOYNSON, D. H.M. Duration of specific immunoglobulin A antibody following acute toxoplasmosis as determined by enzyme immunoassay and immunosorbent agglutination assay. **European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases**, v. 12, p. 556-559, 1993.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESE, R.; FOCACIA, R.; FERRRETO, A. *et al.* **Tratado de Infectologia**, São Paulo: Atheneu, 1997. cap. 99, p. 1290-1304.

_____, Toxoplasmosis. **Pediatric Clinics of North America**, v. 32, n. 4, p. 917-932, 1985.

FUODRINIER et al. Clinical value of specific immunoglobulin E detection by enzyme-linked immunosorbent assay in cases of acquired and congenital toxoplasmosis. **Journal Clin Microbiology**, v. 41, p. 1681-1686, 2003.

FRIEDMAN, C.T.; KNOCK, D.L. Variations in recurrent active toxoplasmic retinocoroiditis. **Archives of Ophthalmology**. v. 81, p. 481-493, 1969.

FUENTES, I. et al. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. **Journal Clinical Microbiology**, v. 39, p. 1566-1570, 2001.

GARWEG, J.G., BOEHNKE, M. The antibody response in experimental ocular toxoplasmosis. **Graefe's Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 244, n.12. p. 1668-1679, 2006.

_____, Determinants of immunodiagnostic success in human ocular toxoplasmosis. **Parasite Immunology**, v.27, p. 61-68, 2005.

_____, et al. Aqueous humor and serum immunoblotting for immunoglobulin G antibodies in human ocular toxoplasmosis. **Journal Clin Microbiology**, v. 42, p. 4593-4598, 2004.

_____, JACQUIER, P.; BOEHNKE, M. Early aqueous humor analysis in patients with human ocular toxoplasmosis. **Journal of Microbiology**, v.38, p. 996-1001, 2000.

_____, JACQUIER, P.; FLUCKIGER, F. Current limits in diagnosis of ocular toxoplasmosis. **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**, v. 212, p. 330-333, 1998.

_____, KUENZLI, H.; BOEHNKE, M. Experimental ocular toxoplasmosis in naïve and primed rabbits. **Ophthalmologica**, v. 212, p. 136-141, 1998.

GAZZINELLI, R.T, DENKERS, E.Y.; SHER, A. Host resistance to *T. Gondii* : model for studying the selective induction of cell-mediated immunity by intracellular parasites. **Infectious Agents and Diseases**, v. 2, n. 3, p. 139-149, 1993.

GEHLEN, M. L. et al. Incidência e etiologia de uveítes em Curitiba. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 62, n. 5, p. 622-626, 1999.

GILBERT, R.E.; STANFORD, M.R. Is ocular toxoplasmosis caused by prenatal or postnatal infection? **British Journal of Ophthalmology**, v. 84, p. 224-226, 2000.

GIRARD, B. et al. Ophthalmologic manifestations observed in a pediatric HIV-seropositive population. **Journal Français d' Ophtalmologie**, v. 20, p. 49-60, 1997.

GLASSNER, P.D. et al. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. **American Journal Ophthalmology**, v. 114, p. 136-144, 1992.

GÓMEZ - MARÍN, J. E. et al. Frequency of Specific anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgA and IgE in Colombian Patients with Acute and Chronic Ocular Toxoplasmosis. **Memorial do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 95, n. 1, p. 89-94, 2000.

_____, Does human toxoplasmosis involve an imbalance in T1/T2 cytokines? **Medical Hypotheses**, v. 48, p. 161-169, 1997.

GREGORY, R.L., FILLER, S.J., Protective secretory immunoglobulin A antibodies in human following oral immunization with *Sterptococcus muntans*. **Infect Immunology**, v. 55, p. 2409-2415, 1987.

GROOT-MIJNES J. et al. Polymerase chain reaction and Goldman- Witmer coefficient analysis are complimentary for the diagnosis of infectious uveitis. **American Journal Ophthalmology**, v. 141, p. 313-316, 2006.

HEDMAN et al. Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. **Journal Infect Diseases**, v. 159, p. 736-739, 1989.

HOFFLIN, J. M., CONLEY, F, K., REMINGTON, J.S. Murine model of intracerebral toxoplasmosis. **Journal Infect Diseases**, v. 155, p. 550-557, 1985.

HOGAN, M.J.; KIMURA, S.J.; O'CONNOR, GR. Ocular Toxoplasmosis. **Archives of Ophthalmology**, v. 72, p. 592-600, 1964.

HOGAN, M.J.; Ocular toxoplasmosis: XIV Edward Jackson Memorial Lecture. **American Journal of Ophthalmology**, v. 46, p. 467-494, 1958.

HOLLAND, GN.; LEWIS, KG.; O'CONNOR, GR. Ocular toxoplasmosis: A 50th anniversary tribute to the contributions of Helenor Campbell Wilder Foerster. **Archives of Ophthalmology**, v. 120, p. 1081-1084, 2002.

_____, LX Edward Jackson Memorial Lecture. Ocular Toxoplasmosis: A global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. **American Journal of Ophthalmology**, v. 136, n. 6, p. 973-988, 2003.

_____, LX Edward Jackson Memorial Lecture. Ocular Toxoplasmosis: A global reassessment. Part II: Disease manifestation and management. **American Journal of Ophthalmology**, v. 137, n. 1, p. 1-17, 2004.

_____, et al. Ocular toxoplasmosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome **American Journal of Ophthalmology**, v. 106, p. 653-667, 1988.

HOLLIMAN, R.E. Receny developments in the diagnosis of toxoplasmosis. Serodiagnostic. Immuntherapy. Infect Diseases, v. 6, p. 5-16, 1994.

HOLLY, F.J., LEMP, M.A. Tear Physiology and dry eyes, **Survey of Ophthalmology**, v. 22, n. 69, 1977.

HOWE et al. Determination de genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. **Journal Clinic Microbiology**. v. 35, p. 1411-1414, 1997.

HUNTER et al. The role of CD28/B7 interaction in the regulation of NK cell responses during infection with *Toxoplasma gondii*. **Journal Immununology**, v. 158, p. 2285- 2293, 1997.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: dez. 2006.

JAIN, S.D.; UPPAL, B.; METHA, D. K. Seroepidemiology of ocular toxoplasmosis- profile of an urban population. **Indian Journal of Pathology & Microbiology**, v. 41, p. 387-390, 1998.

JAN, H., et al. Multiple function of Immunoglobulina A in vitro mucosal defense against viruses: an in vitro measles virus model. **Journal of Virology**, v. 26, n. 21, p. 10972-10979, 2002.

JANKÜ, J. Pathogenese a Pathologická Anatomie Tak Nazveného Vrozoného Kolobomu Zluté Skvrny v Oku Normálne Velikém a Microphthalmickém s Nálezem Parasitu v Sítnici. **Casopis Lekarů Ceských**, v. 62, p. 1021-1143, 1923.

JOHNSON, M.W. et al. Atypical, severe toxoplasmic retinochoroiditis in elderly patients. **Ophthalmology**, v. 104, p. 48-57, 1997.

JONES, C. D. et al. Comparison of PCR Detection Methods for B1, P30, and 18S rDNA Genes of *T. gondii* in Aqueous Humor. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 41, n. 3, p. 634-644, 2000.

JONES, J.L. et al. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: Seroprevalence and risk factors. **American Journal of Ophthalmology**, v. 154, p. 357-365, 2001.

_____, et al. Recently acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil, **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 4, p. 582-587, 2006.

KAN, A. et al. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. **Emergent Infectious Diseases**, v. 12, n. 6, p. 942-949, 2006.

KASUMI, N. et al. Quantitative Polymerase Chain Reaction in Diagnosing Ocular Toxoplasmosis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 121, p. 441 - 442, 1996.

KATINA, J.H.; ORÉFICE, F.; MINEO, J.R. Anticorpos IgA Específicos no Soro e Humor Aquoso de Pacientes com Uveíte de Provável Etiologia toxoplásmica. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 51, n. 4, p. 209-214, 1992.

KASPER, L.H.; MATSURA, T.; KHAN, J.A. IL7 stimulates protective immunity in mice against the intracellular pathogen *Toxoplasma gondii*. **Journal Immunology**, v. 155, p. 4798-4804, 1995.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, PD. **Parasitologia Humana**. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1988. Cap. 16, p. 143 – 155.

KLAREN, V. N. A. et al. Differences Between Intraocular and Serum Antibody Responses in Patients with Ocular Toxoplasmosis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 126, n. 5, p. 698-704, 1998.

KODJIKIAN, L. et al: Ocular Manifestation in congenital toxoplasmosis. **Graefe's Archives of Clinical and Experimental Ophthalmology**. v. 244, n. 1. p. 14-21, 2006.

KOBAYASHI M, MALAGUEÑO E, SANTANA V., PEREZ E. P, YANO A. Prevalence of toxoplasmosis in Northeastern Brazil. **Jpn J Trop Med Hig** 30:305-310, 2002.

LAN, J.; WILLCOX, P.; JAKSON, F. Effect of tear-specific immunoglobulin A on the adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* 1 to contact lenses. **Australian and New Zealand Journal of Ophthalmology**. v. 27, p. 218, 1999.

LANJEWAR, D. N. et al. Toxoplasmosis in the central nervous system in acquired immunodeficiency syndrome. **Indian Journal of Pathology & Microbiology**, v. 41, p. 147-151, 1998.

LIEB, D.F.; SCOTT, I.U.; FLYNN, H.W. JR.; DAVIS, J.L.; DEMMING, S.M. Acute Acquired Toxoplasma Retinitis May Present Similarly to Unilateral Acute Idiopathic Maculopathy. **American Journal of Ophthalmology**, v. 137, n. 5 p. 940-942, 2004.

LIU, S.H. Secretory component of IgA: A marker for differentiation of ocular epithelium. **Investigative Ophthalmology**, v. 20, p. 100, 1981.

LUFT, B.F.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmic encephalitis in AIDS (AIDS commentary) **Clinical Infectious Diseases**. v. 15, p. 211-222, 1992.

LUM, F. et al. Survey of ophthalmologists about ocular toxoplasmosis. **American Journal Ophthalmology**, v. 140, p. 724-727, 2005.

LYNCH, M. I. *et al.* Lacrimal secretory IgA in active posterior uveites induced by *Toxoplasma gondii*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 99 n. 8, p. 861-864. 2004.

_____, Associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* e IgA secretora específica na lágrima. 2003, **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Pernambuco.

MALM, G. et al. Three children with congenital toxoplasmosis: early report from a Swedish prospective screening study. [commented on *Acta Paediat*, v. 88, p. 586-588, 1999.] **Acta Paediatrica**, v. 88, p. 667-670, 1999.

MACK, D. G.; McLEOD, R. Human *Toxoplasma gondii*- specific secretory immunoglobulin A reduces *T. gondii* infection of enterocytes in vitro. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 90, p. 2585-2592, 1992.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V. et al. Food- related illness and death in the United States. **Emerging Infectious Diseases**, n. 5, p. 607-625, 1999.

MEEK, B. et al. IgA Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Human Tears. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v. 41, p. 2584-2590, 2000.

MEIRA, M. D.; ROCHA, M. L.; ORÉFICE, F. Conceito e Classificação das Uveítes. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2005. v. 1, cap.2, p. 17-20.

MELAMED, J.; KRUTER, D. W.; DORNELLES, F. Alterações cerebrais e oculares na toxoplasmose congênita: estudo preliminar [resumo 50]. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 61, p. 418, 1998.

METS, M. B. et al. Eye manifestations of toxoplasmosis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 123, p. 1-16, 1997.

MONTOYA, J. G. & REMINGTON, J. S. Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis. **Clinical Infect Diseases**, v. 23, p. 277-282, 1996.

_____, KOVACS, J. A.; REMINGTON, J. S. *Toxoplasma gondii*. In: MANDELL, DOUGLAS and BENNETT'S. **Principles and Practice of Infectious Diseases**. New York: Churuchill Livingstone, 2004, v. 2, cap. 276, p.3173.

MORAES, J. R. Punctate outer retinal toxoplasmosis in na HIV- positive child. **Ocular Immunology Inflammation**, v. 7, p. 93-95, 1999.

NA HE et al. Parasited load in pregnant mice infected by *Toxoplasma gondii* assayed by quantitative competitive- PCR. **Parasitology International**, v. 46, p. 143-147, 1997.

NICHOLSON, D. H.; WOLCHOK, E. B. Ocular toxoplasmosis in an adult receiving long- term corticosteroid therapy. **Archives of Ophthalmology**, v. 94, p. 248-254, 1976.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur un Protozoaire Nouveau du Gondii (toxoplasma n. g.) **Archives de l' Institut Pasteur**, v. 2, p. 97-103, 1909.

NEU, H. C. Toxoplasmosis transmitted at autopsy. **Jama**. v. 202, p. 284-285, 1997.

NEWMAN, T. B., BROWNER, W. S., & CUMMINGS, S. R., Delineando estudos de testes médicos. In: HULLEY, S. B. et al. **Delineando a pesquisa clinica. Uma abordagem epidemiológica**. 2. ed, Porto Alegre: Artmed, 2003, cap. 22, p.210-212.

NUSSENBLATT, R. B. et al. Lymphocyte proliferative responses of patients with toxiplasmosis to parasite and retinal antigens. **American Journal of Ophthalmology**, v. 107, p. 632-641, 1989.

O'CONNOR, G. R. The influence of hypersensitivity on the pathogenesis of ocular toxoplasmosis. **Trans American Ophthalmology Society**. v. 68, p. 501-547, 1970.

_____. XL Edward Jackson Memorial Lecture. **American Journal of Ophthalmology**, v. 96, p. 577-599, 1983.

O'NEIL, J. F. The ocular manifestations of congenital infection: a study of the early effect and long – term outcome of maternally transmitted rubella and toxoplasmosis. **Transaction of the American Ophthalmological Society**, v. 96, p. 813-879, 1998.

ONGKOSUWITO, J. V. et al. Serologic Evaluation of Patients with Primary and Recurrent Ocular Toxoplasmosis for Evidence of Recent Infection. **American Journal of Ophthalmology**, v. 128, p. 407-412, 1999.

ORÉFICE, F; TONELLI, E. Toxoplasmose adquirida ganglionar associada a uveíte granulomatosa sem retinocoroidite. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 54, p. 899-902, 1995.

_____; GARCIA, M. L. Toxoplasmose. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2005. v. 2, cap. 42, p.709.

..... Toxoplasmose. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. 2. ed, Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2005; v. 2, cap. 42, p.724 – 728.

ORÉFICE, J. L. et al. Third-generation optical coherence tomography findings in punctate retinal toxoplasmosis. **American Journal Ophthalmology**, v. 142, p. 503-505, 2006.

ORÉFICE, F., BORATTO, L. M., SILVA, H. F. Presumível toxocaríase ocular – Revisão de 30 casos (1978-1989) – Relato de dois casos atípicos. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v.50, p.92-101, 1991.

PAIVA, C. S. Protection against experimental toxoplasmosis by adoptive immunotherapy. **Journal Immunology**. v. 137, p. 2985-2990, 1997.

PALANISAMY, M. et al. Outbreak of ocular toxoplasmosis in Coimbatore, Índia. **Indian Journal of Ophthalmology**, v. 54, p.129-131, 2006.

PAUL, M. Immunoglobulin G avidity in diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy and ocular toxoplasmosis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 6, n. 4, p. 514-518, 1999.

PARRAT, E. et al. Fuch's uveitic syndrome in a patient with ocular toxoplasmosis. **Journal Français d' Ophthalmologie**, v. 22, p. 1067 – 1071, 1999.

PEDERSEN, B. et al., Secretory IgA specific for herpes simplex virus in lacrimal fluid from patients with herpes keratitis- a possible diagnostic parameter. **British Journal of Ophthalmology**, v. 66, n. 10, p. 648-653, 1982.

PEIXOTO DOS SANTOS, L.; SOUZA, A. L.; FERREIRA, M. A. Alterações oculares em crianças com toxoplasmose congênita precoce. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v. 62, n. 5, p. 590-593, 1999.

PEREIRA, M. G. Seleção dos Participantes para Estudo. In: _____. **Epidemiologia Teórica e Prática**, 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap. 16, p. 337-357.

PERKINS, E. S. Ocular toxoplasmosis. **British Journal Ophthalmology**, v. 57, p.1-17, 1973.

PINON, J. M. et al. Detection of specific immunoglobulin E in patients with toxoplasmosis. **Journal Clinic Microbiology**, v. 28, p. 1739-1743, 1990.

PU, Z. et al. Conjunctival immunity: Compared effects of ocular and intestinal immunization in rats. **Investigative Ophthalmology**, v. 24, p. 1411, 1983.

QUENTIN, C. D.; REIBER, H. Analysis of aqueous humor in intraocular toxoplasmosis]. [Comented on *Ophthalmologie*, v. 95, p. 120-1, 1998.]. **Der Ophthalmologe**, v. 94, p.728-731, 1997.

RADKE, J. R. et al. Defining the cell cycle for the tachyzoite stage of *Toxoplasma gondii*. **Molecular Biochemical Parasitology**, v. 115, p. 165-175, 2001.

RAMSEY, R. G.; GEAN, A. D. Central nervous system toxoplasmosis. **Neuroimagem Clinic North American**, v. 7, p. 171-186, 1997.

REHDER JR. et al. Acute unilateral toxoplasmic iridocyclitis in AIDS Patient. **American Journal of Ophthalmology**, v. 106, p. 740-741, 1988.

REIS, P. A. C; CAMPOS, C. M. C; FERNANDEZ, L. C. Características da população portadora de visão subnormal do hospital São Geraldo. Um estudo retrospectivo de 435 casos. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 57, p. 287-294, 1996.

ROBINSON, G. N. A case of toxoplasmosis with recovery. **Annales Paediatricis**, v. 168, p. 134-137, 1947.

RONDAY, M. J. et al. Intraocular anti-*Toxoplasma gondii* IgA production in patients with ocular toxoplasmosis. **American Journal of Ophthalmology**, v. 127, p. 294-300, 1999.

SABIN, A. B.; FELDMAN, H. A. Dyes as Microchemical Indicators of a New Immunity Phenomenon Affecting a Protozoon Parasite (*Toxoplasma*) **Science**, v. 108, p. 660-663, 1948.

SACKETT, D. L.; HAYNES, R. B. Education and Debate: Evidence base of clinical diagnosis. The architecture of diagnosis research. **British Medical Journal**, v. 324, p. 539-541, 2002.

SAITOH- INAGAWA, W. et al. Unique Characteristics of Lacrimal Glands as a Part of Mucosal Immune Network. High Frequency of IgA- Committed B-1 Cells and NK1.1 $\alpha\beta$ T Cells. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**. v. 41, p. 138-144, 2000.

SAMH, M. et al. Cyst formation by *Toxoplasma gondii* in vivo and in brain – cell culture: A comparative morphology and immunocytochemistry study. **Parasitology Res**, v. 83, p. 659-665, 1997.

SAPSE, A. T. et al. Tears as carriers of antibodies. **Archives of Ophthalmology**, v. 77, p. 526, 1967.

SETTIPANE, G. A.; CONNEL, J. T.; SHERMAN, W. B. Reagin in tears. **Journal of Immunology**, v. 36, p. 92, 1965.

SEBBEN, J. C. et al. Influência de fatores climáticos na Toxoplasmose Ocular em Guaraporé – Brasil. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 54, n. 4, p. 303-307, 1995.

SEDMACK, J. J; GROSSBERG, S. E. A rapid, sensitive, and versatile assay for protein using Coomassie Brilliant Blue G250. **Analytical Biochemistry**, v. 79, n.1, p. 544-552, 1977.

SHARMA, S. D., et al. Western blot analysis of the antigens of *Toxoplasma gondii* recognized by human IgM and IgG antibodies. **Journal Immunology**, v.131, p. 977-983, 1983.

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

SILVEIRA, C. et al. Acquired toxoplasmic infection as the cause of toxoplasmic retinochoroiditis in families. **American Journal of Ophthalmology**, v. 106, p. 362-364, 1988.

_____. et al. A follow up study of *Toxoplasma gondii* infection in southern Brazil. **American Journal of Ophthalmology**, v. 131, p. 351-354, 2001.

SMITH. JR; CUNNINGHAM, E. T. Atypical presentations of ocular toxoplasmosis. **Current Opinion Ophthalmology**, v. 13, p. 387-392, 2002.

SPLENDRE, A. Un Nouvo Protozoa Parassita dei Conigli, Incontrato Nelle Lesioni Anatimiche d'una Malattia Che Ricorda in Molti Punti il Kala-azar Dell'uomo. **Revista da Sociedade Científica de São Paulo**, v. 3, p. 339-406, 1908.

STAQUET, M., et al. Methodology for the assessment of new dichotomous tests. **Journal Cronical Diseases**, v. 34, p. 599-610, 1981.

STANFORD, M. R.; GRAS, L.; WADE, A. & GILBERT, R. E. Reliability of expert interpretation of retinal photographs for the diagnosis of toxoplasma retinochoroiditis. **British Journal Ophthalmology**, v. 86, p. 636-639, 2002.

STEHLING, A. R.; ORÉFICE, F. Toxoplasmose ocular adquirida (Relato de seis casos com aspectos clínicos diferentes). **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v. 55, n. 6, p. 455-465, 1996.

STEPICK-BIEK, P. et al. IgA antibodies for diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 162, n. 1, p.270-273, 1990.

SUZUKY, Y.; CONLEY, F. K.; REMINGTOS, J. S. Importance of endogenous IFN γ for prevention of toxoplasmic encephalitis in mice. **Journal Immunology**, v. 143, p. 2045-2050, 1989.

TABBARA, K. F. Disruption of the chorioretinal interface by toxoplasma. **Eye**, v. 4, p. 366-373, 1990.

TAO-TRAN, V. et al. Epidemiological characteristics of uveitis in Switzerland. **Ophthalmology**, v. 18, p. 293-298, 1995.

TOLEDO DE A. M. RITCHER L. C., Propedêutica e Classificação. In: **Inflamações Oculares, Uveítes e Aids**. 1 ed. Rio de Janeiro:Cultura Médica, 2002. p. 43-53.

TONELLI, E. et al. Toxoplasmose. In:_____. **Doenças Infecciosas na Infância**. Rio de Janeiro: Medsi, 1987; cap. 67, p. 769-776.

TORRES, C. M. Sur une Nouvelle Maladie de L'homme, Caracterisée par la Présence d'un Parasite Intracellulaire, Très Proche du Toxoplasma et el Encephalitozoon, Dans le Tissú Musculaire Cardiaque, les Muscules du Squellete le Tissue Cellulaire Sous-Cutané et al Tissú Nerveux. **Compt. Rend. Soc. Biol**, v. 97, p. 1778-1781, 1927.

VALLOCHI et al. The genotype of *Toxoplasma gondii* Strains causing ocular toxoplasmosis in humans in Brazil. **American Journal Ophthalmology**, v. 139, p. 350-351, 2005.

VASSILEVA, P. et al. Prevalence of uveitis in the Sofia district. In: Third International Symposium on Uveitis, 1992. Brussels – Belgium. **Proceeding. Amsterdam Kugler**, p. 145-148, 1993

VAUGHAN, D. ASBURY, T. Úvea. In: **Oftalmología General**. 6^a ed. Mexico: El manual Moderno, p. 109-113, 1982.

VEITZMAN, S.; CASTRO, M. J. B. Estudo da Acuidade visual em Crianças Portadoras de Toxoplasmose Ocular Congênita. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.59, n. 2, p. 195-198, 1996.

VILLARD, O. et al. Comparison of enzyme – linked immunosorbent assay, immunoblotting and PCR for diagnosis of toxoplasma chorioretinitis. **Journal Clinical Microbiology**, v. 41, p. 3537-4541, 2003.

WALCOTT, B. The Lacrimal Gland and its Veil of Tears. **News in Physiological Sciences**, v.13, n. 2, p. 97-103, 1998.

WALLON, M. et al. Long term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. **Pediatrics**, v. 113, n. 6, p. 1567-1572, 2004.

WILDER, H. C. Toxoplasma chorioretinitis in adults. **Archives of Ophthalmology**, v. 48, p. 127-136, 1952.

WHITTLE, R. et al. Human antiretinal antibodies in *Toxoplasma* retinochoroiditis. **British Journal Ophthalmology**, v.82, p.1017-1021, 1998.

WOLF, A.; COWEN, D.; PAIGE, B. H. Human toxoplasmosis: Occurrence in infants as an encephalomyelitis: Verification by transmission to animals. **Science**, v. 89, p. 226-227, 1939.

ANEXO Nº 1

Ficha Nº

Registro: _____ Data: _____

Nome: _____

Sexo: Masc Fem Idade (anos): 10-19 20-30 31-40 41-50 >= 51Cor: Branca preta morena.Estado civil: casada solteira viúva.Procedência: Área metropolitana Interior Minas Gerais

Profissão: _____

Domicílio: _____

Telefone _____ .Fax _____ E-mail _____

Queixa principal _____

História atual _____

Antecedentes Pessoais: _____

Teve episódios de uveíte posteriores? Sim NãoQuantos? 1 2-3 4-5 6 ou ↑

Antecedentes familiares _____

Quanto tempo demorou em consultar médico, desde que começaram os sintomas? (semanas).

 < 1 1 a 2 3 a 4 4 a 6 > 6

AV sc: OD= cc: OD= Perto: OD

sc OE= cc: OE= OE=

Baixa da AV/ olho comprometido cc:

- conta dedos entre 20/200 e 20/100 entre 20/80 e 20/60
 entre 20/40 e 20/30 entre 20/25 e 20/20

Refração: sob ciclo dinâmica

OD..... OD:.....

OE:..... OE:.....

Biomicroscopia:

Conjuntiva: normal injeção superficial injeção ciliar

Córnea: clara edema setorial edema difuso pp endoteliais finos

pp tipo “mutton-fat” Outros (descrever)_____

Humor Aquoso: transparente; células por campo: 0 raras = 1-2

ocasionais=3-7; 7-10 10-15 15-20 20-50 50+

“flare” 0 ; discreto 1+/4+ moderado 2+/4+ importante 3+/4+

intenso 4+/4+

hipópio linear hipópio meia câmara

Íris: edema estromal nódulos de Koeppe nódulos de Busacca

sinéquias anteriores sinéquias posteriores

Cristalino: transparente fibrina na pupila seclusão catarata

Tonometria: OD às horas

 OE às horas

Vítreo: 0-1 célula/ sem opacidades 2- 20 cel/ poucas opacidades

21-50 cel/opacidades esparsas 51- 100 cel/ opacidades moderadas

101- 250 cel/ muitas opacidades

Presença ou não de cicatrizes retinocoroideas e características da lesão.

- Um foco ativo/ exsudativo Múltiplos focos exsudativos
- Cicatriz retinocoroidea antiga Papilite

Vasculopatia:

- Ausente Embainhamento perivascular difuso
- Embainhamento perivascular segmentário Perivasculite em “rosário”

Obstruções de ramos arteriais neovascularização coroideana

Localização da lesão: macular perimacular máculo-discal

justa-discal periférica

Número das lesões:

Única satélite duas múltiplas

Tamanho das lesões:

Puntiforme 1 diâmetro discal 2 diâmetro > 2 diâmetros

Observações: _____

Hipótese Diagnóstica: _____

Exames:

ELISA: IgG IgM IgAs

Títulos: IgG =

IgM =

IgAs lágrima =

Hemograma

Retinografia

Angiografia fluoresceínica

Ultra-sonografia B

Outros:

Tratamento:

- Pirimetamida Sulfadiazina ácido folínico Prednisona
- Clindamicina Espiramicina Trimetroprim + sulfametoxazol
- outros

Evolução

ANEXO Nº2.

Validação do teste de IgA secretória antitoxoplasma da lágrima para diagnóstico de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Investigadora: Maria Isabel Lynch Gaete

Rua Antônio Gomes de Freitas, 191-Ilha do Leite- Recife –PE.

Tel: 34234166

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu, responsável pelo (a) menor concordo que ele (a) participe / em participar da pesquisa para Validação do teste de IgA secretora antitoxoplasma da lágrima para diagnóstico de uveíte posterior por *Toxoplasma gondii*., mediante o qual virá a ser possível o esclarecimento diagnóstico da doença em questão.

Sendo assim autorizo a realização do exame oftalmológico completo, (refração, biomicroscopia, tonometria, fundoscopia) no ambulatório de oftalmologia do Hospital das Clínicas da UFPE, assim também como a retirada de amostra de sangue venosa (10ml), e algumas lágrimas, para exames laboratoriais. Esses exames não significam qualquer risco para a saúde, podendo trazer benefícios na medida que permitam o esclarecimento da doença.

Declaro que fui esclarecido (a) que utilizando algumas lágrimas virão a ser feitos dosagens de anticorpos para saber se o olho tem ou não toxoplasmose, e que entendi todas as informações que me foram fornecidas. Por este motivo, dou o meu consentimento livre e voluntário para participar do mesmo, e para que os dados obtidos sejam utilizados, desde que minha identidade seja mantida em sigilo, não podendo ser divulgada em nenhuma hipótese, a não ser que assim eu decida e autorize. Assinando este termo de consentimento concordo em participar deste estudo, tendo a liberdade de me retirar em qualquer fase da pesquisa sem penalização alguma e sem prejuízo aos cuidados e acompanhamento da doença.

Recife, ... de de 200..

Nome do pesquisador responsável _____

Nome do pai ou responsável _____

Nome da criança _____

1ª Testemunha _____

2ª Testemunha _____

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.