

Evidência sorológica da infecção aguda pelo *Toxoplasma gondii* em gestantes de Cascavel, Paraná

Serological evidence of acute *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in Cascavel, Paraná

Sônia de Lucena Mioranza^{1,2}, Luciana Regina Meireles¹, Eduardo Luís Mioranza³ e Heitor Franco de Andrade Júnior¹

RESUMO

Para verificar a ocorrência da toxoplasmose em Cascavel, Paraná, cidade próxima a região onde ocorreu o maior surto epidêmico descrito mundialmente, 334 amostras de soros de gestantes foram triadas pelo ensaio imunoenzimático comercial IgG no Laboratório Municipal de Cascavel, e confirmadas no Instituto de Medicina Tropical de São Paulo por imunofluorescência IgG, ensaio imunoenzimático e avides de IgG *in house*. A soropositividade pelo IgG comercial foi 54,2%, pela imunofluorescência 54,8% e pelo IgG *in house* 53,9%, com boa concordância entre imunofluorescência/IgG comercial ($Kappa=0,963781$; co-positividade=97,8%; co-negatividade=98,7%) e imunofluorescência/IgG *in house* ($Kappa=0,975857$; co-positividade=97,8%; co-negatividade=100%). A evidência de infecção aguda nas gestantes foi similar tanto pela avides de IgG (2,4% ao ano) como pela análise estatística de tendência (teste χ^2) por faixa etária (2% ao ano), sugerindo que a triagem sorológica pré-natal e a vigilância epidemiológica são imprescindíveis para redução do risco da toxoplasmose na região, embora sem evidência de surto epidêmico.

Palavras-chaves: *Toxoplasma gondii*. Imunodiagnóstico. Avides de IgG.

ABSTRACT

In order to investigate the incidence of toxoplasmosis in Cascavel, Paraná, a city near the region where the largest reported epidemic outbreak in the world occurred, 334 serum samples from pregnant women were screened using a commercial IgG immunoenzymatic assay at the Municipal Laboratory in Cascavel and were confirmed at the Institute of Tropical Medicine in São Paulo, by means of IgG immunofluorescence, immunoenzymatic assaying and the in-house IgG avidity test. The IgG seropositivity from the commercial test was 54.2%, from immunofluorescence 54.8% and from the in-house IgG 53.9%, with good agreement between immunofluorescence and the commercial IgG test ($kappa = 0.963781$; co-positivity = 97.8%; co-negativity = 98.7%) and between immunofluorescence and the in-house IgG ($kappa = 0.975857$; co-positivity = 97.8%; co-negativity = 100%). The evidence of acute infection among the pregnant women was similar, as estimated both by IgG avidity (2.4%/year) and by statistical trend analysis (χ^2 test) according to age group (2%/year). This suggests that prenatal serological screening and epidemiological surveillance are essential for reducing the risk of toxoplasmosis in the region, although without evidence of an epidemic outbreak.

Key-words: *Toxoplasma gondii*. Immunodiagnosis. IgG avidity.

A toxoplasmose, infecção causada pelo parasita *Toxoplasma gondii*^{11 15}, é especialmente importante na infecção congênita e reativação em imunodeprimidos²⁶, sendo geralmente assintomática ou associada a manifestações inespecíficas em indivíduos imunocompetentes³⁰.

A primo-infecção na gravidez pode afetar o feto, com severas complicações, como nascimento prematuro, dano neurológico permanente e comprometimento visual^{20 31}. A frequência e severidade da infecção congênita dependem do período gestacional¹² e do diagnóstico precoce para intervenção terapêutica específica³⁴ e redução do risco de infecção fetal.

Para o diagnóstico da infecção pelo *Toxoplasma gondii*, os testes sorológicos de imunofluorescência indireta, aglutinação e imunoenzimáticos são os métodos mais freqüentemente utilizados para pesquisa de anticorpos específicos como IgM e/ou IgA e/ou aumento significativo do nível de anticorpos IgG^{2 41}.

Contudo, o diagnóstico sorológico da toxoplasmose é muito complexo e tem sido discutido extensivamente na literatura, especialmente em gestantes³¹. Os resultados devem ser interpretados com cautela⁴⁶, porque tanto a IgA¹⁸ quanto a IgM podem persistir por anos, levando a erro na determinação da época da infecção materna²⁴ e falha no diagnóstico da infecção aguda na gestante²².

1. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, São Paulo, SP. 2. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel, PR. 3. Laboratório Municipal de Cascavel, Cascavel, PR.

Endereço para correspondência: Dra. Sônia de Lucena Mioranza. Rua Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 470/1º andar, Cerqueira César, 05403-000 São Paulo-SP.

Tel: 55 11 3061-7010/8591-2594

e-mail: smioranza@usp.br

Recebido para publicação em 29/05/2008

Aceito em 29/10/2008

Por estas razões tem sido sugerido por diversos autores^{20 33 36 40} a utilização de um painel de testes como o procedimento mais adequado para o diagnóstico da infecção aguda pelo *Toxoplasma gondii*. Estes testes são utilizados especialmente em países que apresentam alta prevalência da infecção como Brasil³, Kuwait²³, República Democrática de São Tomé e Príncipe¹³, Trinidad e Tobago¹.

Durante a resposta imune, a afinidade com que os anticorpos IgG ligam-se a seus antígenos pode ser avaliada pela menor ou maior facilidade de quebra dessa ligação¹⁴, onde as populações de IgG apresentam diferentes afinidades, resultando numa baixa ou alta avidéz pelo antígeno²³ que pode ser avaliada pelo ensaio imunoenzimático de avidéz.

O teste de avidéz de IgG vem sendo utilizado, especialmente no diagnóstico da toxoplasmose aguda da gestante²⁶, identificando o mais provável período de infecção, discriminando as infecções agudas das crônicas com apenas uma amostra de soro⁴³. Apesar de auxiliar o diagnóstico da infecção recente e pregressa pelo *Toxoplasma*, a baixa avidéz pode persistir por até um ano em alguns casos³⁵, e não deve ser avaliada isoladamente⁸, já que pode ser erroneamente interpretada no diagnóstico individual³², ressaltando a importância da utilização de um painel de testes sorológicos para uma maior probabilidade de acerto no diagnóstico da infecção.

A determinação da prevalência da toxoplasmose em Cascavel, município da região Oeste do Paraná é de extrema importância já que neste estado foi registrado em 2001 o maior surto mundial da doença atribuído à contaminação do reservatório de água com oocistos de *Toxoplasma gondii*¹⁰.

Este estudo teve como objetivo verificar a ocorrência da toxoplasmose em gestantes de Cascavel, avaliando a *performance* de diferentes testes no estabelecimento do perfil sorológico da infecção.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras coletadas. O estudo transversal desenvolveu-se com amostras de soro únicas de 334 gestantes com idade gestacional desconhecida e faixa etária entre 14 e 43 anos atendidas no Laboratório Municipal de Cascavel-PR, provenientes do Sistema Único de Saúde-SUS, no período de dezembro de 2005 a fevereiro de 2006. A pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* foi previamente estabelecida no laboratório citado e, posteriormente, as amostras foram testadas em ensaios complementares (ensaio imunoenzimático-ELISA e imunofluorescência indireta-IFI) controlados no Laboratório de Protozoologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas (ICB) da Universidade de São Paulo (USP), da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE) e do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (IMTSP).

Pesquisa de anticorpos. Ensaio imunoenzimático IgG Comercial-PR: anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* foram

determinados no Laboratório Municipal de Cascavel pelo ensaio comercial imunoenzimático (BTI-Bio Tecnologia Industrial[®], Belo Horizonte-MG) de acordo com as instruções do fabricante. Os resultados foram expressos em Unidades Internacionais por mililitros, sendo considerados positivos aqueles com títulos superiores a 10UI/ml.

Imunofluorescência indireta IgG e IgM: a pesquisa dos anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* pela IFI, considerado como teste de referência, foi realizada segundo Camargo & Leser⁶. Lâminas sensibilizadas com taquizoítos da cepa RH, produzidas no laboratório de protozoologia do IMTSP, receberam diluições seriadas de soro, sendo incubadas a 37°C, em câmara úmida, por 30 minutos. Após lavagens com PBS (NaCl 0,15M tampão NaPO₄ 0,01M pH 7.2), foram recobertas com o conjugado marcado com fluoresceína anti-IgG humano (1/400, Sigma[®]) em Azul de Evans e incubadas por mais 30 minutos. Após lavagens com PBS, as lâminas foram analisadas em microscópio de epifluorescência (Zeiss Axioskop[®]). A reação foi considerada positiva quando os taquizoítos apresentaram uma clara fluorescência verde na membrana celular e como negativa pela ausência de fluorescência ou apenas na extremidade dos parasitas (fluorescência polar). Para realização da IgM nas amostras de gestantes com baixa avidéz foi usada a metodologia citada e conjugado marcado com fluoresceína anti-IgM humano (1/800, Sigma[®]).

Ensaio imunoenzimático IgG e IgM in house: anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* foram determinados pela metodologia de Venkatesan & Wakelin⁴⁵. Placas de poliestireno para microtitulação (Costar[®]) foram sensibilizadas com extrato antigênico solúvel de *Toxoplasma gondii* em tampão carbonato bicarbonato 0,1M pH 9.5 na concentração de 1µg/ml de antígeno. Após 24 horas a 4°C em câmara úmida, as placas lavadas 5 vezes com PBS, contendo 0,05% de Tween 20 (PBST) foram bloqueadas com 0,3% de solução de leite desnatado (Molico[®]) em PBST a 37°C por 1 hora e estocadas a -20°C. Duplicatas de diluição 1/100 de cada amostra de soro em PBST, contendo 0,3% de leite desnatado foram adicionadas nas placas e incubadas a 37°C por 1 hora. Após lavagens, foi adicionado o conjugado peroxidase anti-IgG humano diluído (1/20.000, Sigma[®]) e incubado por 1 hora a 37°C. A reação foi revelada pela adição de OPD 0,4mg/ml e H₂O₂ 0,03% em citrato de sódio 0,05M pH 5.8 por 30 minutos e bloqueada pela adição de HCl 4N. A densidade óptica a 492nm foi determinada por leitor automático de microplacas (Labsystems Multiskan MS). Para a IgM foi usada a mesma metodologia com conjugado anti-IgM imunoenzimático marcado com peroxidase (1/5000, Sigma[®]).

Avidéz de IgG: foi utilizado o mesmo procedimento para pesquisa de IgG pelo ELISA *in house*, sendo baseado na metodologia de Hedman e cols²¹. Na adsorção da placa, 100µl de antígeno protéico de *Toxoplasma gondii*, 1µg/ml, em solução caotrópica neutra de Uréia 8M contendo tampão fosfato 0,02M pH 7,2 (PBS) foi colocado em cada poço por 24 horas a 4°C. Após bloqueio de eventuais sítios livres como descrito no ELISA IgG, foram colocados em poços quadruplicados 100µl de diluições das amostras de soro em PBST (1/100, 1/200, 1/400, 1/800), e as placas foram incubadas por 1 hora a 37°C e lavadas 5 vezes

com PBST. Para cada diluição, dois poços receberam incubação adicional de 10 minutos a 37°C com solução caotrópica neutra de uréia 6M contendo PBS 0,02M pH 7.2, sendo os outros dois poços controles mantidos em PBST. A seguir, foi feita a revelação do anticorpo ligado por conjugado peroxidase anti-IgG humano como acima descrito. A estimativa do título efetivo de cada soro foi feita através da associação dos valores das diluições isoladas de cada amostra num modelo log-log de regressão linear²⁵. Os títulos de anticorpos totais ou com alta avides, resistentes ao caotrópico, foram obtidos através de regressão log-log, utilizando-se os valores capazes de gerar absorbância 1.0 no ELISA (Log=0). A avides foi determinada pela porcentagem de título resistente ao caotrópico (AVT) e amostras cujos valores de AVT eram maiores que 30% foram considerados de alta avides.

Análise estatística. A análise estatística dos dados foi feita mediante a comparação das frequências e títulos dos ensaios pelo Teste de Kappa, índices de sensibilidade e especificidade. O teste de tendência do qui-quadrado (χ^2) foi utilizado para avaliação da incidência por proporção de amostras positivas em faixas etárias determinadas, assumindo a prevalência mínima ao nascimento. Os testes foram feitos utilizando-se o conjunto estatístico *GraphPad Prism 3.0* e *Epiinfo 6.0*.

RESULTADOS

Para pesquisa de anticorpos *anti-Toxoplasma gondii* amostras de soros de 334 gestantes foram submetidas à triagem prévia no Paraná (ELISA IgG comercial) e análises complementares em São Paulo. A correlação dos resultados obtidos nos ensaios imunoenzimáticos no Paraná e em São Paulo pode ser verificada na Figura 1, onde se observa 3 resultados discordantes, 2 positivos pelo ELISA IgG comercial e negativos pelo ELISA IgG *in house* e 1 resultado negativo pelo ELISA IgG comercial e positivo pelo ELISA IgG *in house*. Comparando-se os ensaios enzimáticos IgG comercial e *in house* entre si observou-se uma boa concordância (Kappa=0,981918), sensibilidade de 99,4% (IC 95%:96,5-100) e especificidade de 98,7% (IC 95%:94,9-99,8), sendo os valores preditivo positivo 98,9% (IC 95%:95,6-99,8) e negativo 99,3% (IC 95%:95,9-100).

De acordo com a IFI, teste de referência, a prevalência foi 54,8%, similar a encontrada nos dois ensaios imunoenzimáticos. No ELISA IgG comercial, observou-se 181 amostras positivas correspondente a uma prevalência de 54,2% e no ELISA IgG *in house*, 180 amostras positivas com 53,9% de prevalência (dados não mostrados).

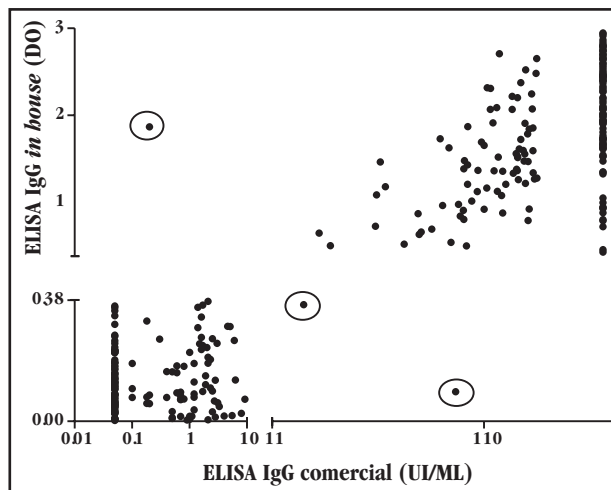


Figura 1 - Comparação da reatividade quantitativa para IgG anti *Toxoplasma gondii* em 334 amostras de soro de gestantes de Cascavel-PR, utilizando-se os ensaios ELISA IgG *in house* e ELISA IgG comercial. As interrupções dos eixos apresentam os limiares de positividade dos ensaios e os círculos representam as amostras discordantes entre os testes.

A confirmação e comparação dos resultados dos testes sorológicos para IgG obtidos pelos métodos IFI IgG, ELISA IgG *in house* e ELISA IgG comercial estão apresentados na Tabela 1, observando-se uma boa concordância entre os 3 métodos. Quando a IFI IgG foi comparada com o ELISA IgG *in house* houve uma maior concordância (Kappa=0,975857) com alta sensibilidade de 97,8% (IC 95%:94,2-99,3), especificidade de 100% (IC 95%:96,9-100), valor preditivo positivo de 100% (IC 95%:97,4-100) e valor preditivo negativo de 97,4% (IC 95%:93,1-99,2). Quando comparados a IFI IgG e o ELISA IgG comercial os resultados mostraram uma boa concordância (Kappa=0,963781), sensibilidade de 97,8% (IC 95%:94,1-99,3), especificidade de 98,7% (IC 95%: 94,8-99,8), 98,9% de valor preditivo positivo (IC 95%:95,6-98,8) e 97,4% de valor preditivo negativo (IC 95%: 93,0-99,2).

As amostras de soros de gestantes com sorologia positiva no ELISA IgG *in house* (n=180) foram submetidas ao teste de avides de IgG. Destas gestantes, 6 (3,3%) apresentaram baixa avides de IgG, indicativo de infecção adquirida recentemente e 174 (96,7%) gestantes com alta avides, indicativo de infecção adquirida há mais tempo. Os dados evidenciam uma distribuição bimodal dos soros, observando-se que a grande maioria das infecções não é recente, pois neste estudo valores de AVT maiores que 30% foram considerados de alta avides (Figura 2).

Tabela 1 - Distribuição da soropositividade dos anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* pela IFI IgG (teste de referência), ELISA IgG comercial e ELISA IgG *in house*, em 334 amostras de soro de gestantes de Cascavel-PR, com índices sorológicos de cada ensaio.

Teste	Resultado	IFI IgG		Sensibilidade (IC 95%) co-negatividade	Especificidade (IC 95%) co-positividade	Valo preditivo positivo (IC 95%)	Valo preditivo negativo (IC 95%)
		positivo	negativo				
ELISA IgG comercial	positivo	179	2	97,8%	98,7%	98,9%	97,4%
	negativo	4	149	(94,1-99,3)	(94,8-99,8)	(95,6-98,8)	(93-99,2)
(k=0,963781)							
ELISA IgG <i>in house</i>	positivo	180	0	97,8%	100,0%	100,0%	97,4%
	negativo	4	150	(94,2-99,3)	(96,9-100)	(97,4-100)	(93,1-99,2)
(k=0,975857)							

IgG: imunoglobulina G, ELISA: ensaio imunoenzimático, IFI: imunofluorescência indireta, IC: intervalo de confiança, k: kappa.

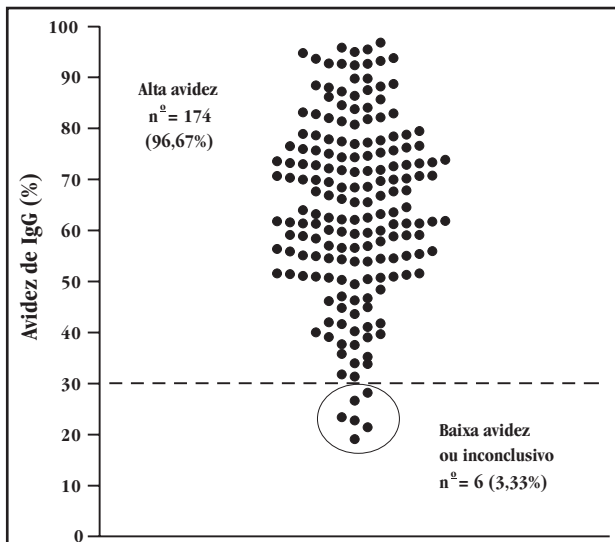


Figura 2 - Avidez de IgG em 180 amostras de soro de gestantes de Cascavel-PR, com sorologia positiva para *Toxoplasma gondii*, expressa em porcentagem de avidez de anticorpos IgG. A linha tracejada mostra o limiar utilizado para definição de baixa avidez ou infecção recente.

A Tabela 2 mostra a determinação do perfil sorológico individual de 6 gestantes que apresentaram baixa avidez no ELISA IgG *in house* e os resultados pelos diferentes testes utilizados.

Tabela 2 - Perfis sorológicos de 6 gestantes de Cascavel-PR que apresentaram baixa avidez de IgG de acordo com diferentes testes empregados.

Idade anos	IgG ^a ELISA comercial (UI/ml)	IgG ^b ELISA (UA/ml)	IgM ^c ELISA (DO)	IFI		AVT (%)	Interpretação ^d	Perfil sorológico ^e
				IgG	IgM			
28	130,0	546	0,122	positivo	positivo	23,4	baixa avidez	fase aguda
38	> 200,0	2.701	0,168	positivo	positivo	21,4	baixa avidez	fase aguda
32	117,6	4	0,078	positivo	positivo	26,6	baixa avidez	fase aguda
32	33,8	28	0,059	positivo	negativo	19,1	baixa avidez	inconclusivo
22	102,2	90	0,167	positivo	positivo	22,8	baixa avidez	fase aguda
27	187,1	105	0,082	positivo	negativo	28,2	baixa avidez	inconclusivo

^aPositivo: > 10 UI/ml, ^bcut off= 2 UA, ^ccut off= 0,114, ^dbaixa avidez de IgG : < 30%, ^eperfil I: fase aguda.

IgG: imunoglobulina G, IgM: imunoglobulina M, ELISA: ensaio imunoenzimático, UI/ml: unidades internacionais por mililitros, UA/ml: unidades arbitrárias por mililitros, DO: densidade óptica, IFI: imunofluorescência indireta, AVT: avidez por título.

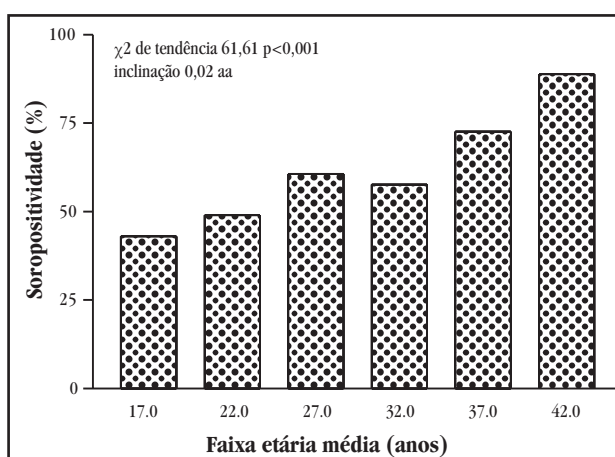


Figura 3 - Evolução da prevalência sorológica da toxoplasmose por faixa etária, em percentual, determinada pela IFI IgG, em 334 amostras de soro de gestantes de Cascavel-PR. Através da análise do teste de tendência χ^2 (qui-quadrado) estimou-se uma incidência de 2% ao ano.

Duas amostras foram negativas para IgM tanto pela IFI como pelo ELISA, mostrando discordância com os resultados da avidez, e, portanto, com perfil sorológico inconclusivo. As demais amostras apresentaram baixa avidez e positividade para IgM pela IFI, sugerindo infecção aguda. Destas, apenas uma amostra apresentou-se positiva para IgM pela IFI e negativa pelo ELISA.

Neste estudo a incidência da toxoplasmose foi estimada diretamente a partir da avidez de IgG, onde observa-se que das 334 gestantes, 4 apresentaram resultados sugestivos de infecção aguda, com uma incidência de 1,2% (IC 95%:0,4-3,2%), que resulta numa incidência anual de 2,4% de infecção na população, avaliando-se o período de medida do pré-natal, em geral de 6 meses.

A incidência da toxoplasmose também foi determinada indiretamente pela análise de soropositividade a partir das faixas etárias de 334 gestantes, estimando-se uma incidência de 2% ao ano, pelo teste estatístico de tendência (χ^2). De acordo com os dados verificou-se um aumento crescente e organizado do título de anticorpos em relação à idade, ou seja, tempo de exposição ao agente, sem alterações discrepantes em grupos etários, características de surtos epidêmicos (Figura 3).

DISCUSSÃO

A pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, utilizando amostra única de soro pelo ELISA IgG comercial, mostrou uma prevalência de 54,2% da doença nas gestantes. No Brasil, estudos realizados com grávidas evidenciaram 67% de positividade em Londrina-PR³⁷, e outras regiões de mesmo padrão social, também mostraram prevalência equivalente, como 59,8% em Porto Alegre-RS⁴⁴, 51,6% em Uberlândia-MG¹⁶ e 71,4% em São Bernardo do Campo-SP¹⁶.

O encontro de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em amostra única de soro, indica apenas que houve exposição ao agente, sem definição do período que a infecção foi adquirida³⁶. Além disso, a presença de IgM ou IgG durante a gestação não pode ser usada para definir se a infecção é aguda ou crônica³⁹.

Os dados de prevalência no Paraná foram confirmados em São Paulo pelo teste de referência IFI IgG com 54,8% de amostras

positivas e pelo ELISA IgG *in house* com 53,9%, havendo grande concordância entre os testes, um fato nem sempre observado entre ensaios com diferentes antígenos como a IFI e a hemaglutinação¹⁴. Contudo, os diferentes ensaios confirmam a infecção e a alta prevalência na fase reprodutiva, achados condizentes com outros estudos, onde nesta fase é alto o título de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*^{26 38}.

A análise por faixa etária mostrou uma evolução, variando a prevalência conforme o tempo de exposição, com correlação direta entre eventos ($p < 0,001$). Neste caso, foi possível estimar uma incidência anual de soroconversão de 2%, usando-se a inclinação da curva de tendência do qui-quadrado. Investigações recentes corroboram com nossos dados, como na Slovakia, onde se verificou um aumento da taxa de soropositividade de acordo com a idade (35,4%), principalmente entre o grupo de 35-44 anos⁴² e na República Democrática de São Tomé e Príncipe, onde a tendência maior foi no grupo com idade entre 35-45 ou >45 anos, atribuída a uma longa exposição aos fatores de risco¹³.

Quando se empregou o teste de avides foram identificados casos sugestivos de infecção recente, dados condizentes com outros estudos^{38 43}, que permitiram estimar uma incidência real de 2,4% de soroconversão ao ano, semelhante aos valores detectados pela evolução sorológica por faixa etária. O teste de avides e o emprego de outros métodos se tornam especialmente importante quando se tem resultados de ELISA IgM residuais^{17 32}, contudo, em dois casos, o teste de avides e os demais ensaios sorológicos não permitiram a identificação precisa do período de infecção, havendo a necessidade do emprego de outros métodos diagnósticos como o isolamento ou detecção de ácidos nucleicos do agente em líquido amniótico¹⁵.

Embora o teste de avides venha contribuir no esclarecimento do diagnóstico da infecção aguda pelo *Toxoplasma gondii*, em alguns pacientes ocorre persistência de anticorpos de baixa avides por muitos meses contra o lisado de células antigênicas do toxoplasma^{31 35}. Da mesma forma, devido a maturação dos anticorpos IgG ocorrer em períodos diferentes, pode haver erros na interpretação dos resultados. Por isso, o teste de avides, não deve ser utilizado como parâmetro para conclusão do diagnóstico da infecção^{8 32 35}. Além disso, os dados de positividade por faixa etária mostraram que os fatores de risco para contrair a toxoplasmose nesta região não parecem ter sofrido alterações, com uma evolução regular da soroprevalência, sem inflexões abruptas sugestivas de surto epidêmico.

Os dados estimados tanto pelo teste de avides quanto pela soropositividade por faixa etária mostraram uma incidência expressiva da toxoplasmose nas gestantes de Cascavel, o que implica em aprimoramento dos procedimentos na avaliação pré-natal das gestantes atendidas no laboratório municipal. O protocolo existente prevê o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose através da realização de apenas um teste, sem acompanhamento sequencial das gestantes. Na prática, este protocolo deveria contemplar outros testes complementares em especial daquelas gestantes que não tiveram contacto com o agente (soronegativas) e que poderiam apresentar uma infecção por soroconversão.

Estudos comprovam que tanto na prevenção da infecção congênita^{28 32} como em surtos epidêmicos⁹ um teste sorológico

realizado isoladamente não é suficiente para excluir a infecção pelo *Toxoplasma gondii*. Ainda assim, os resultados dos exames feitos no laboratório municipal de Cascavel são bem aceitos pela classe médica devido à alta sensibilidade e especificidade do ELISA IgG comercial, comprovadas pelos testes complementares realizados no IMTSP.

Vários trabalhos publicados mostram uma discordância de resultados devido à diferença entre os métodos empregados, como por exemplo, no surto epidêmico da toxoplasmose ocorrido em Santa Isabel do Ivaí no Paraná, onde as variações no número de casos positivos para IgM foram discrepantes, inicialmente observando-se 426 casos¹⁰ e em análises posteriores 176 casos⁹. No presente estudo, os resultados entre os testes realizados no Paraná e em São Paulo mostraram uma boa concordância, sensibilidade e especificidade.

Uma medida simples e de fácil exequibilidade para controlar os casos de toxoplasmose congênita em Cascavel seria, como sugerem Liesenfeld e cols²⁷, a criação de um programa pré-natal com triagem sistemática mensal e o emprego de vários testes. A melhor opção com diagnóstico mais adequado da doença na gestante é o emprego de um painel de testes sorológicos, incluindo a avides de IgG. Esta abordagem serviria de triagem para emprego de outros exames parasitológicos fetais, que envolvem risco, mas que visam à detecção do *Toxoplasma gondii* em amostras de líquido amniótico e sangue periférico a partir do isolamento em cultivo celular ou inoculação em camundongos, ou então, métodos moleculares mais sofisticados¹⁵.

Muitos trabalhos evidenciam que a educação sanitária como medida preventiva para os riscos de aquisição da toxoplasmose congênita pode ser um componente importante na prática obstétrica. Para muitas gestantes os fatores de risco, bem como os sinais e sintomas da infecção não são reconhecidos, sendo essencial o papel do obstetra no diagnóstico e prevenção da infecção. Em alguns países essa abordagem é esporádica em gestantes, como é o caso dos Estados Unidos⁴, já na França, Áustria, Finlândia, e Noruega medidas educacionais são incorporadas à rotina médica, reduzindo em torno de 50% as taxas de infecção^{5 28 39 40}. No Brasil, há necessidade de sensibilização dos profissionais de saúde envolvidos com a gestante e o recém nato, e de confirmação dos resultados através um painel de testes sorológicos para prevenir os casos de toxoplasmose aguda com risco de infecção congênita.

A avaliação criteriosa de testes sorológicos pode gerar dados úteis para a prevenção e a instituição de protocolos para detecção da infecção em grupos de risco, incluindo o teste de avides de IgG. Estudos transversais simples como este podem facilitar a interpretação do diagnóstico, resultando em propostas de ações mais adequadas e monitoráveis.

AGRADECIMENTOS

A Roselaine Pereira Alvim Cardoso, Laboratório de Protozoologia do IMTSP (LIM 49), Nely Norder Tschurtschenthaler, Laboratório Municipal de Cascavel-PR, Secretaria de Saúde do Município de Cascavel-PR.

REFERÊNCIAS

- Adesiyun AA, Gooding R, Ganta K, Seepersadsingh N, Ramsewak S. Congenital toxoplasmosis in two health institutions in Trinidad. *West Indian Medical Journal* 56: 166-170, 2007.
- Ambroise-Thomas P, Schweiter M, Pinon JM, Thiebaugeorges O. La prévention de la toxoplasmose congénitale em France. Evaluation des risques. Résultats et perspectives du dépistage antenatal et du suivi du nouveau né. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine* 185: 665-683, 2001.
- Bóia MN, Carvalho-Costa FA, Sodré FC, Pinto GM, Amendoeira MR. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among Indian people living in laureté, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical. São Paulo* 50: 17-20, 2008.
- Boyer KM, Holfels E, Roizen N, Swisher C, Mack D, Remington J, Withers S, Meier P, McLeod R. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: implications for prenatal management and screening. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 192: 564-571, 2005.
- Boyer KM, McLeod R. *Toxoplasma gondii* (toxoplasmosis). In: Long SS, Pickering LK, Prober CG (eds) Principles and practice of pediatric infectious diseases. 2nd edition. Churchill Livingstone, New York, p. 1303-1322, 2003.
- Camargo ME, Leser PG. Diagnostic information from serological tests in human toxoplasmosis. II Evolutionary study of antibodies and serological patterns in acquired toxoplasmosis, as detected by hemagglutination, complement fixation, IgG and IgM-immunofluorescence tests. *Revista do Instituto de Medicina Tropical* 18: 227-238, 1976.
- Castilho-Pelosso MP, Falavigna DLM, Araújo SM, Falavigna-Guilherme AL. Monitoramento de gestantes com toxoplasmose em serviços públicos de saúde. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 38: 532-533, 2005.
- Coura JR. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Volume I. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 815-832, 2005.
- De Moura L, Bahia-Oliveira LM, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, Ramalho WM, Camargo NJ, Trevisan R, Graça RM, Silva AJ, Moura I, Dubey JP, Garrett DO. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerging Infectious Diseases* 12: 326-329, 2006.
- Dias RAF, Freire RL. Surtos de toxoplasmose em seres humanos e animais. *Semina: Ciências Agrárias* 26: 239-248, 2005.
- Dubey JP, Beattie, CP. Toxoplasmosis of animals and man. Boca Raton, CRC Press, Flórida, 1998.
- Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *The Lancet* 353: 1829-1833, 1999.
- Fan CK, Hung CC, Su KE, Chiou HY, Gil V, Ferreira MC, Tseng LF. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection among inhabitants in Democratic Republic of Sao Tome and Principe. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 101: 1157-1158, 2007.
- Ferreira AW, Ávila, SLM. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes. 2^a Edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 279, 2001.
- Ferreira IM, Vidal JE, Costa-Silva TA, Meira CS, Hiramoto RM, Oliveira ACP, Pereira-Chioccola VL. *Toxoplasma gondii*: genotyping of strains from Brazilian AIDS patients with cerebral toxoplasmosis by multilocus PCR-RFLP markers. *Experimental Parasitology* 118: 221-227, 2008.
- Ferreira M, Bicheri MCM, Nunes MB, Ferreira CCM. Diagnóstico laboratorial da infecção por *Toxoplasma gondii* na gestação. *Revista Brasileira de Análises Clínicas* 39: 37-38, 2007.
- Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, Souza Júnior VG, Botelho CA, Figueiredo MS, Duarte G. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria* 27: 442-449, 2005.
- Francis JM, Joyson DH. Duration of specific immunoglobulin A antibody following acute toxoplasmosis as determined by enzyme immunoassay and immunosorbent agglutination assay. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 12: 556-559, 1993.
- Fricker-Hidalgo H, Saddoux C, Suchel-Jambon AS, Romand S, Foussadier A, Pelloux H, Thulliez P. New Vidas assay for *Toxoplasma*-specific IgG avidity: evaluation on 603 sera. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 56: 167-172, 2006.
- Golkar M, Azadmanesh K, Khalili G, Khoshkholgh-Sima B, Babaie J, Mercier C, Brenier-Pinchart MP, Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Cesbron-Delauw MF. Serodiagnosis of recently acquired *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women using enzyme-linked immunosorbent assays with a recombinant dense granule GRA6 protein. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* 61: 31-39, 2008.
- Hedman K, Lappalainen M, Seppä I, Mäkelä O. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. *The Journal of Infectious Diseases* 159: 736-740, 1989.
- Hill D, Dubey JP. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clinical Microbiology and Infection* 8: 634-640, 2002.
- Iqbal J, Khalid N. Detection of acute *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by IgG avidity and PCR analysis. *Journal of Medical Microbiology* 56: 1495-1499, 2007.
- Junen PA, Stray-Pedersen B. Development of specific immunoglobulins G, M and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *Journal of Clinical Microbiology* 36: 2907-2913, 1998.
- Korhonen MH, Brunstein J, Haario H, Katnikov A, Rescaldani R, Hedman K. A new method with general diagnostic utility for the calculation of immunoglobulin G avidity. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology* 6: 725-728, 1999.
- Leser PG, Rocha LSA, Moura MEG, Ferreira AW. Comparison of semi-automatized assays for anti-*T. gondii* IgG detection in low-reactivity serum samples: importance of the results in patient counseling. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* 39: 107-110, 2003.
- Liesenfeld O, Montoya JG, Tathineni NJ, Davis M, Brown Jr BW, Cobb KL, Parsonnet J, Remington JS. Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma* immunoglobulin M antibody titers. *American Journal of Obstetrics & Gynecology* 184: 140-145, 2001.
- Lopes FMR, Gonçalves DD, Breganó RM, Freire RL, Navarro IT. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases* 11: 496-506, 2007.
- Mazzola A, Casuccio A, Romano A, Schimmenti MG, Titone L, Di Carlo P. Diagnostic problems and postnatal follow-up in congenital toxoplasmosis. *Minerva Pediátrica* 59: 207-213, 2007.
- Montoya JG, Huffman HB, Remington JS. Evaluation of the immunoglobulin G avidity test for diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy. *Journal of Clinical Microbiology* 42: 4627-4631, 2004.
- Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *The Lancet* 363: 1965-1976, 2004.
- Montoya JG, Liesenfeld O, Kinney S, Press C, Remington JS. VIDAS Test for avidity of *Toxoplasma* - specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. *Journal of Clinical Microbiology* 40: 2504-2508, 2002.
- Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. *Clinics in Perinatology* 32: 705-726, 2005.
- Petersen E, Borobio MV, Guy E, Liesenfeld O, Moroni V, Naessens A, Spranzi E, Thulliez P. European Multicenter for determination of *Toxoplasma gondii*-specific Immunoglobulin G (IgG) and IgM and IgG Avidity Index. *Journal of Clinical Microbiology* 43: 1570-1574, 2005.
- Piergili FD. Problems and limitations of conventional and innovative methods for diagnosis of toxoplasmosis in humans and animals. *Parassitologia* 46: 177-181, 2004.
- Press C, Montoya JG, Remington JS. Use of a single serum sample for diagnosis of acute toxoplasmosis in pregnant women and other adults. *Journal of Clinical Microbiology* 43: 3481-3483, 2005.
- Reiche EM, Morimoto HK, Faria GN, Hisatsugo KR, Geller L, Gomes ACLE, Inoue HY, Rodrigues G, Matsuo T. Prevalence of American trypanosomiasis, syphilis, toxoplasmosis, rubella, hepatitis B, hepatitis C, human immunodeficiency virus infection, assayed through serological tests among pregnant patients, from 1996 to 1998, at the Regional University Hospital Norte do Paraná. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 33: 519-527, 2000.

38. Reis MM, Tessaro MM, D'Azevedo PA. *Toxoplasma*-IgM and IgG Avidity in single samples from areas with a high infection rate can determine the risk of mother-to-child transmission. *Revista do Instituto de Medicina Tropical* 48: 93-98, 2006.
39. Remington JS, Mcleod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. *In: Remington JS, Klein JO (eds) Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 5th edition. WB Saunders, Philadelphia. p. 205-346. 2001.
40. Rorman E, Zamir CS, Rilkis I, Ben-David H. Congenital toxoplasmosis-prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. *Reproductive Toxicology* 21: 458-472, 2006.
41. Sensini A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. *Clinical Microbiology and Infection* 12: 504-512, 2006.
42. Studenicová C, Ondriska F, Holková R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in Slovakia. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Immunologie* 57: 8-13, 2008.
43. Tanyuksel M, Guney C, Araz E, Saracli MA, Doganci L. Performance of the immunoglobulin G avidity and enzyme immunoassay IgG/IgM screening tests for differentiation of the spectrum of toxoplasmosis. *Journal of Microbiological Methods* 42: 211-215, 2004.
44. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Muller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. *Jornal de Pediatria* 79: 69-74, 2003.
45. Venkatesan P, Wakelin D. ELISAs for parasitologists: or lies damned lies and ELISAs. *Parasitology Today* 9: 228-232, 1993.
46. Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in pregnancy. *Clinical Infectious Diseases* 18: 853-861, 1994.