

TOXOPLASMOSE: OCORRÊNCIA DE ANTICORPOS ANTITOXOPLASMA GONDII E DIAGNÓSTICO

G. A. CANTOS, *M. D. PRANDO, M. V. SIQUEIRA, R. M. TEIXEIRA

Departamento de Análises Clínicas e Farmacêutica-Bioquímica - Centro de Ciências da Saúde
Universidade Federal de Santa Catarina, Trindade, Florianópolis, SC.

RESUMO - A toxoplasmose é uma zoonose de ampla distribuição geográfica, sendo uma infecção oportunista, principalmente em pacientes com AIDS. A incidência dos anticorpos séricos, anti *Toxoplasma gondii*, é variável, sendo crescente com os diferentes grupos etários. Os métodos laboratoriais para o diagnóstico desta doença incluem o exame da espécie patogênica e os testes imunológicos. Embora os testes sorológicos tenham suas limitações, são ainda os mais utilizados nos laboratórios de análises clínicas. Na melhoria do diagnóstico da toxoplasmose congênita e em pacientes com AIDS, tem-se empregado, alternativamente, a reação em cadeia de polimerase (PCR) e Nested-PCR.

OBJETIVOS. Enfocar a ocorrência de toxoplasmose, considerando-se as diferentes técnicas e formas de interpretação nos exames sorológicos.

MÉTODOS. No presente trabalho, avaliamos os anticorpos (Ac) anti *Toxoplasma gondii* de 2.994 pacientes atendidos no Laboratório

do Hospital Universitário (LAC-HU), da Universidade Federal de Santa Catarina, no período de 28 de fevereiro de 1996 a 28 de julho de 1998. Essa avaliação foi realizada através da utilização da reação de Imunofluorescência Indireta (IFI) e confirmada pelo método do ensaio imunoenzimático (ELISA).

RESULTADOS. Os resultados mostraram que 41,91% desses pacientes possuíam Ac anti *Toxoplasma gondii*, sendo que 0,87% possuíam IgM, em diferentes títulos, estando ou não desenvolvendo a fase aguda da doença. Este estudo vem demonstrar que a prevalência de toxoplasmose em nosso meio é relativamente alta e que para a identificação do processo agudo da doença, a rotina sorológica pode ser enriquecida de técnicas mais sensíveis e específicas, que permitam a evidência do microrganismo, contribuindo para o melhor diagnóstico.

UNITERMOS: Toxoplasmose. Anticorpos anti *toxoplasma gondii*. Melhor diagnóstico.

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose altamente disseminada, com taxas de prevalências variáveis nas diversas partes do globo (Dubey & Beattie¹). As diferenças em função dos fatores geográficos, clima e formas de transmissão, têm sido relatadas (Jackson & Hutchison²; Remington³; Lelong et al.⁴; Sun et al.⁵), sendo que a soropositividade para toxoplasmose aumenta com a idade Camargo⁶. Na Espanha, a taxa de

prevalência observada de anticorpos IgG em gestantes foi de 38,8%, sendo que em 1,2% foi detectada a imunoglobulina IgM (Jaqueti et al.⁷); nos Estados Unidos a prevalência de IgG foi cerca de 40% (Server et al.⁸); na Suécia, Jacquier, et al.⁹ encontraram uma soroprevalência para IgG de 46,1% e de IgM 1,7%; na Finlândia foi 20,3% (Laplainen¹⁰); e na França, a soroprevalência de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* foi de 87,7% (Rodier et al.¹¹).

Estudos sorológicos indicam que mais de 80% das infecções primárias por toxoplasmose são assintomáticas, em decorrência da efetividade do sistema imunológico. (Luft & Remington¹²), embora graus variá-

veis da doença podem ocorrer em pessoas imunossuprimidas. Em se tratando de pacientes aidéticos, pode haver reativação da infecção, manifestando-se de forma fulminante (Perez & Englund¹³; Shapiro & Englund¹⁴; Goldsmith¹⁵) e com frequência letal, levando a encefalite, retinite, miocardite e a toxoplasmose disseminada (McCabe & Remington¹⁶; Renold et al.¹⁷; Katlama - 18; Mayes et al.¹⁹). Conforme Ravel²⁰, o *T.gondii* nos indivíduos com AIDS, infecta o sistema nervoso central (SNC) em 12-31%, sendo responsável por 25-80% das infecções do SNC na AIDS.

A toxoplasmose pode ser transmitida ao feto. Nos relatos de Ravel (idem), quando a

*Correspondência:

R. Visconde de Cairú, 411 - Estrião - Cep: 88075-020
Florianópolis/SC - Tel.: (48) 244-9392
E-mail: geny@ccs.ufsc.br

infecção aguda foi manifestada no primeiro trimestre de gravidez, 14% dos fetos apresentaram-se infectados, no segundo 29% e no terceiro 59%. Para esse autor, 90% das mães que apresentaram infecção aguda durante a gravidez eram assintomáticas. A incidência de toxoplasmose aguda na gravidez varia de 0,06 a 1,4% (Remington³), onde aproximadamente 15% das infecções fetais resultam em morte intra-uterina, e dos 85% que nascem, 80% desenvolvem lesões oculares ou desordens cerebrais tardias na vida (Koppe *et al.*²¹). Tem sido estimado que mais de 9% de retardamento mental está associado à infecção toxoplásmica congênita (Caiaffa²²).

Na fase aguda da toxoplasmose, primeiro ocorre a produção de imunoglobulina M (IgM), seguida da produção de imunoglobulina G (IgG). A infecção pode também produzir imunoglobulina A (IgA), no caso da transmissão ter sido por via oral. Pela técnica de imunofluorescência, os anticorpos IgM podem ser dosados 1 a 2 semanas depois do início da infecção, alcançando um pico em 6 a 8 semanas, quando então declinam. Títulos baixos podem persistir por mais de 12 meses. O anticorpo IgG persiste por toda a vida na maioria dos pacientes (Goldsmith¹⁵).

Classicamente, o diagnóstico da toxoplasmose é baseado na pesquisa de anticorpos contra o parasita. Muitas pesquisas têm utilizado a imunofluorescência indireta (IFI) para o diagnóstico da toxoplasmose. (Lunde & Jacobs²³; Luft¹²; Porter & Sander²⁴; Renold *et al.*¹⁷). Logar *et al.*²⁵ utilizaram esta técnica nas 10^a-12^a semanas da gravidez, sendo que as amostras de mulheres com título de IgG igual ou maior que 1.024 foram suspeitas de terem uma infecção recente durante a gravidez. A infecção também foi avaliada por meio de anticorpos específicos IgM (Konishi²⁶). Ensaio de aglutinação para detecção de IgG foram desenvolvidos por Ashbur *et al.*²⁷, os quais descreveram-no

como um ensaio sensível, específico e fácil de realizar. Sugeriram, também, que a dosagem da IgE teria um importante papel no diagnóstico de toxoplasmose, quando somado a outros testes. Outros testes sorológicos têm sido propostos como a determinação de IgA específicos por ELISA, imunoblotting e reações de aglutinação (Partanen *et al.*²⁸; Suzuki *et al.*²⁹; Walpole *et al.*³⁰; Gross *et al.*³¹).

A proteína de superfície, p30, pode ser detectada apenas nos taquizoítas de vários hospedeiros humanos e animais (Kasper³²). A alta prevalência de anti-p30 no soro de humanos infectados torna-a provável candidata para o desenvolvimento de métodos sorológicos para o diagnóstico de *T.gondii* (Huskinson *et al.*³³). Anticorpos monoclonais têm-se mostrado úteis para identificação, purificação e caracterização de antígenos de *T.gondii* (Brégano³⁴). Outro diagnóstico possível é a determinação de gama interferon, cujo feto passa a produzir após a 21^a semana de gravidez, sendo uma técnica útil no diagnóstico da toxoplasmose congênita e na fase aguda da doença (Raimond *et al.*³⁵).

A evidenciação do parasita pela demonstração de seus componentes como antígenos ou segmentos de DNA é de alto valor diagnóstico e vem assumindo posição de destaque especialmente em imunodeficientes (Camargo⁶). Pela reação em cadeia de polimerase (PCR) é possível detectar DNA de microorganismos, sendo uma reação de grande sensibilidade e especificidade, a qual tem sido usada no diagnóstico pré-natal e na prevenção da infecção toxoplásmica (Li *et al.*³⁶). Além disso, esta reação tem também aplicabilidade na detecção de *T.gondii* em nível ocular, no sangue de imunodeficientes (Filice *et al.*³⁷; Dupouy-Camet *et al.*³⁸; Dupon *et al.*³⁹), no lavado bronco-pulmonar (Bretagne *et al.*⁴⁰), no líquido amniótico (Grover *et al.*⁴¹) e na urina. (Fachado *et al.*⁴²). A técnica de PCR

tem sido preferível aos testes sorológicos no diagnóstico de coriorretinite toxoplásmica, pois detecta o microorganismo.

A reação de Nested-PCR tem sido considerada uma técnica mais sensível em relação a outros ensaios sorológicos (Sava *et al.*⁴³). Esta reação tem sido muito útil, quando os títulos de anticorpos anti *Toxoplasma gondii*, em pacientes imunocomprometidos, forem baixos ou ausentes ou em pacientes com gamaglobulinopatias, cujos títulos de anticorpos para *T.gondii* forem muito altos, mas que podem não estar causando tal condição clínica (Garcia & Bruckner⁴⁴). Alguns trabalhos têm tentado caracterizar cepas de *T.gondii*, utilizando métodos bioquímicos tais como estudo de isoenzimas, parâmetros imunológicos e a técnica de polimorfismo de DNA (Silva⁴⁵; Tibayrenc⁴⁶).

OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo, enfatizar a ocorrência de toxoplasmose, considerando as diferentes técnicas e as diferentes formas de interpretação nos exames sorológicos. Pretendeu ainda comparar os dados obtidos dos exames sorológicos para toxoplasmose de pacientes atendidos no Laboratório do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina, com os dados encontrados na literatura.

MATERIAIS E MÉTODOS

A ocorrência de anticorpos anti-toxoplasma foi determinada pela reação de Imunofluorescência Indireta (Fudenberg *et al.*⁴⁷) e confirmada pelo método do ensaio imunoenzimático (ELISA) (Camargo⁶), realizada com soros de 2.994 pacientes atendidos no LAC-Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), na cidade de Florianópolis, Santa Catarina, no período de 28 de fevereiro de 1996 a 28 de julho de 1998.

Os reagentes utilizados para a reação de

imunofluorescência foram: Antígeno (Cecon - Brasil), Conjugado (Biolab - Merieux - França) e (Sanofi - Diagnostics Pasteur - França). A leitura foi realizada utilizando o microscópio de imunofluorescência (Zeiss) Modelo HBO 50. Preparou-se as lâminas com o antígeno comercial (suspensão liofilizada). As lâminas não utilizadas foram congeladas a 4°C (por três a quatro semanas) ou a -20°C (por meses), em recipiente fechado. Para cada soro desconhecido foram preparadas cinco diluições em duplicadas, uma para IgG e outra para IgM :1/16, 1/64, 1/256, 1/1024, 1/4096, juntamente com controles positivo e negativo. A seguir, os soros teste foram incubados com a suspensão liofilizada de toxoplasmas, fixadas em lâmina de fluorescência realizando-se a técnica preconizada por Lima⁴⁸. As amostras foram consideradas positivas, quando a fluorescência verde-maça foi intensa e se estendeu por toda a periferia do parasito. O título do soro foi determinado pela última diluição, onde 50% dos parasitos ainda possuíam fluorescência, sendo que as amostras positivas para a IgM foram retestadas pela IFI e ELISA (Organon - Holanda).

No teste de ELISA por captura, as cavidades das placas foram recobertas por Ac anti-IgM e incubadas com os soros; na presença de imunoglobulina M (IgM) esta se fixará a cavidade das placas; nova incubação é realizada com Ag do toxoplasma, de maneira a fixar as possíveis IgM específicas para o toxoplasma. Utilizando-se o Ag marcado com enzima, nos testes positivos pode-se obter o desenvolvimento de cor (Camargo⁶).

RESULTADOS

No presente trabalho, foi realizado um levantamento dos resultados obtidos para anticorpos antitoxoplasma através da reação de Imunofluorescência Indireta (IFI). A reação de ELISA foi utilizada para confirmar os resultados. As análises foram realizadas no setor de Imunologia do

Tabela 1 - Presença de Ac antitoxoplasma em pacientes do LAC-HU, no período de 28 de fevereiro de 1996 a 28 de julho de 1998. Florianópolis, SC.

Imunoglobulinas e Títulos	Pacientes (n°)	Percentual (%)
IgM (qualquer título)	26	0,87
IgG 1/16	277	9,25
IgG 1/64	301	10,05
IgG 1/256	377	12,59
IgG 1/1024	146	4,88
IgG 1/4096	154	5,14
Total	1281	42,78

Tabela 2 - Ausência de Ac antitoxoplasma em pacientes do LAC-HU, no período de 28 de fevereiro de 1996 a 28 de julho de 1998. Florianópolis, SC.

IgG e IgM	Pacientes (n°)	Percentual (%)
Total	1713	57,21

Laboratório do Hospital Universitário da Universidade Federal de Santa Catarina (LAC-HU), no período de 28 de fevereiro de 1996 a 28 de julho de 1998. Na obtenção dos dados não foram levados em consideração: sexo, raça ou mesmo idade dos pacientes.

Os resultados encontrados estão expressos nas tabelas 1, 2 e 3. A tabela 1 mostra a presença de Ac antitoxoplasma em 1255 pacientes (41,91 %) de um total de 2994 pacientes atendidos no Serviço de Imunologia do Laboratório do HU (LAC-HU). Na tabela 2 verifica-se a ausência de Ac antitoxoplasma em 1713 pacientes (57,21 %). Na tabela 3 estão correlacionados os títulos dos Ac antitoxoplasma da classe IgM com os da classe IgG em 26 pacientes (0,87 %).

Discussão

A ocorrência de anticorpos antitoxoplasma tem sido determinada por diversas reações sorológicas, utilizando-se diferen-

tes marcadores sorológicos, de forma a distinguir infecção recente de toxoplasma-doença. A reação de imunofluorescência indireta é essencialmente uma técnica histoquímica ou citoquímica para detecção e localização de antígenos (Ag). O teste de ELISA é um método quantitativo, em que a reação Ag-Ac é monitorada por medida da atividade enzimática. Utiliza-se o teste de ELISA, por captura, em casos da detecção da IgM, evitando-se, desta forma, resultados falsos positivos (devido a interferência de fatores reumatóides presentes com frequência no soro) e falsos resultados negativos (pela competição de Ac IgG) (idem)

Embora tem-se observado uma correlação direta entre os títulos encontrados entre os testes de IFI e ELISA, tanto na fase aguda como na fase crônica da doença, o teste de ELISA por captura de IgM tem-se mostrado mais sensível. Usando a técnica ELISA, (Hafid *et al.*⁴⁹) relatam que em pacientes imunocomprometidos a detecção de antígenos circulantes de *T. gondii* capturados por ELISA ou imunoblotting, melho-

ra o diagnóstico de infecção toxoplásmica. Utilizando as técnicas de IFI e ELISA, para o diagnóstico de encefalite toxoplásmica em pacientes com AIDS (Katlama¹⁸), verificou que cerca de 20% dos pacientes na fase aguda da doença apresentaram aumento de IgG. Considerando o acima exposto, nesta pesquisa, o método de ELISA foi utilizado para confirmar os resultados obtidos pela IFI.

Neste trabalho verificamos a presença de Ac antitoxoplasma em 41,91% dos pacientes atendidos no LAC- Hospital Universitário, no período de 28 de fevereiro de 1996 a 28 de julho de 1998, Florianópolis, SC. Essa prevalência está dentro da faixa mencionada pelos diferentes pesquisadores, nas diferentes regiões do mundo, com valores que oscilaram entre 20% a 90% (Server *et al.*⁸; Jaqueti *et al.*⁷; Lapplainen¹⁰, Lelong, *et al.*⁴; Rodier, *et al.*¹¹; Shapiro & Englund¹⁴). Jacquier *et al.*⁵⁰ encontraram na Suécia uma soroprevalência semelhante as observadas neste trabalho, onde a taxa de prevalência para a IgG foi de 46,1% e a taxa de prevalência para a IgM foi de 1,7%, não havendo diferenças significativas de acordo com a idade. No Brasil, vários levantamentos mostraram que em adultos, a taxa de prevalência variava de 50 a 80% (Camargo⁶).

De acordo com a interpretação de Bertschinger⁵¹, os resultados deste trabalho poderiam assim ser considerados: 303 dos pacientes (10,8%) poderiam ter tido alguma exposição passada, às vezes remota, ao *T.gondii*, podendo significar estágios recentes da doença, porém com títulos crescentes em exames posteriores; 377 pacientes (12,59%) teriam tido exposição relativamente recente ao *T.gondii* ou envolvimento presentes; 146 pacientes (4,88%) considerar-se-iam o quadro de toxoplasmose, necessitando de outros testes sorológicos para confirmar tal diagnóstico; 154

Tabela 3 -Correlação dos títulos dos anticorpos antitoxoplasma da classe IgM com os da classe IgG nos 26 pacientes (0,87 %) do LAC-HU, no período de 28 de fevereiro de 1996 a 28 de julho de 1998, Florianópolis, SC.

IgM	IgG	Número de pacientes	%
Título 1/16	sem título	1	3,85
Título 1/16	título 1/64	2	7,69
* Título 1/16	título 1/1024	3	11,54
* Título 1/16	título 1/4096	1	3,85
Título 1/64	título 1/256	1	3,85
** Título 1/64	título 1/1024	2	7,69
** Título 1/64	título 1/4096	1	3,85
Título 1/256	título 1/256	1	3,85
** Título 1/256	título 1/1024	1	3,85
Título 1/1024	título 1/64	2	7,69
Título 1/1024	título 1/256	1	3,85
** Título 1/1024	título 1/4096	1	3,85
Título 1/4096	sem título	1	3,85
Título 1/4096	título 1/64	1	3,85
Título 1/4096	título 1/256	1	3,85
** Título 1/4096	título 1/1024	1	3,85
** Título 1/4096	título 1/4096	5	19,23
Total de pacientes		26	100

* Pacientes com infecção recente com mais de três meses. (Segundo Interpretação do CDC)

** Pacientes com infecção recente três meses atrás. (Segundo Interpretação do CDC)

pacientes (5,14 %) teriam o quadro de toxoplasmose aguda. Contudo, para este tipo de interpretação um só teste não é suficiente para firmar o diagnóstico. Um título dinâmico, quando há mudança de título, subida ou descida, numa amostra feita no mesmo serviço e na mesma rotina, seria pois uma informação mais precisa. Por isso, para uma melhor interpretação dos resultados é interessante que o indivíduo submetesse a um segundo teste, em torno de 3 semanas após o primeiro.

Para Bertschinger (idem), a presença de IgM, associada à IgG em títulos elevado, significa toxoplasmose ativa. Na tabela 3 verificamos que os Ac antitoxoplasma da classe IgM foram encontrados em e 26

pacientes, ou seja 0,87% dos pacientes estariam, por este tipo de interpretação, na fase aguda da doença.

Segundo Camargo⁶, qualquer título de Ac IgM traduz infecção recente independente da existência ou não de títulos de Ac IgG. É preciso, entretanto, ter em mente que a presença de Ac IgM não significa, necessariamente, uma infecção ativa, podendo significar apenas uma marca de contágio recente, mesmo porque os Ac IgM são encontrados com certa freqüência, no soro por longo tempo, às vezes por muitos meses

Na tabela 3, estão expressos os títulos sorológicos das IgM, com os títulos das respectivas IgG. Faremos, a seguir, uma

discussão dos dados dessa tabela, segundo a interpretação do Centro de Doenças Infecciosas (CDC) (Smith & Gutierrez⁵²). Assim, dos 26 pacientes teríamos: cinco pacientes com infecção recente mais de três meses atrás (< 1% da população pertence a esta categoria); 11 pacientes com infecção recente de três meses atrás (0,1% da população); e dez pacientes estariam em situação questionável. A conduta correta seria repetir os exames três semanas após a primeira coleta do soro, acompanhando portanto estes pacientes.

Com os nossos resultados não se pode precisar com exatidão o número de pacientes realmente acometidos pela toxoplasmose no sentido de toxoplasmose doença, pois não foi feito um acompanhamento desses pacientes para saber se houve ou não ascensão de título, ou mesmo se este título era de uma infecção passada. De outra maneira, mesmo fazendo a pesquisa dos Ac anti *T.gondii* pela técnica de IFI e confirmando esses resultados com a técnica de ELISA por captura, pode-se ter resultados falso-negativos e falso-positivos. (Ravel²⁰).

São muitos os relatos quanto à dificuldade de interpretação dos testes sorológicos. (Katlama¹⁸) considera que mesmo com sorologia evidente, os anticorpos medidos não têm papel fundamental na avaliação da doença. Demont & Remington⁵³ relatam que os testes sorológicos para toxoplasmose congênita são inadequados e incertos e parecem ser úteis somente após um curto tempo do nascimento. Jacquier *et al.*⁵⁰ comentam entre 1% e 5% dos testes sorológicos realizados na gravidez originam problemas de interpretação. Mesmo assim, sugerem que mulheres grávidas deveriam, sistematicamente, ser testadas para anti *T.gondii* IgG e IgM, de maneira a distinguir as mulheres sem esses anticorpos (mulheres com risco à infecção

primária), das mulheres imunes (com anticorpos) Brégano³⁴ comenta ainda que muitas vezes, o diagnóstico laboratorial deverá ser realizado pela evidência do parasita ou seus componentes, como antígenos ou segmentos de DNA, cujas técnicas são de alto valor diagnóstico e vem assumindo posição de destaque, especialmente em imunodeficientes. Camargo⁶ considera que, apesar da complexidade e variedade dos testes sorológicos, estes permitem a distinção entre uma infecção latente de uma infecção recente, ou mesmo da toxoplasmose doença. Permitem, ainda, assinalar a reagudização de uma toxoplasmose latente no indivíduo imunocomprometido.

CONCLUSÃO

Concluimos que a ocorrência de anticorpos anti *Toxoplasma gondii* encontrados em nosso meio é relativamente alta e condiz com a prevalência média encontrada na literatura. Consideramos ainda que os testes sorológicos representam uma ferramenta importante no diagnóstico da toxoplasmose, embora muitas vezes, devido à dificuldade de interpretação e mesmo em pacientes aidéticos, devem ser acrescidos de outros testes que permitam a identificação do parasita, tal como a técnica Nested-PCR, que tem tomado posição de destaque.

SUMMARY

Toxoplasmosis is a zoonosis of broad geographic distribution, being an opportunistic infection mainly in AIDS patients. The incidence of serum antibodies of the type anti-*Toxoplasma gondii* is variable and growing according the different age groups. The laboratory tests for the diagnosis of this disease, include the exam of the pathologic species as well as immu-

nologic tests. Although the serum tests have limitations, they are still utilized in the Clinical Analysis laboratories. To improve the congenital toxoplasmosis diagnosis in AIDS patients, the polymerase chain reaction (PCR) and Nested-PCR have been utilized alternatively.

PURPOSES. To focus the occurrence of toxoplasmosis, considering the different techniques and shapes of point of views in the serological analysis.

METHODS. The antibodies (Ac) anti-*Toxoplasma gondii* of 2994 patients from the Santa Catarina Federal University Hospital, in the period from February 28, 1996 to July 28, 1998 were evaluated. This evaluation was accomplished by the Immunofluorescence Indirect reaction, which was confirmed by the ELISA method.

RESULTS. The results showed that 41.91% of the patients had the antibodies anti-*Toxoplasma gondii*. From this total we concluded that 0.87% of these patients had the IgM in different titles which can be or not classified in the acute phase of the disease. This study demonstrates that the incidence of toxoplasmosis in our environment is relatively high. It shows too that in the identification of the acute process of the disease, the serologic tests can be added to a more sensible and specific techniques that allows the identification of the microorganism thus contributing to a better diagnosis. [Rev Ass Med Bras; 46(4) 335-41]

KEY WORDS. Toxoplasmosis. Antibodies anti-*Toxoplasma gondii*. Better diagnosis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dubey, J.P & Beattie, C.P. Toxoplasmosis of animals and man. *Press* 1988; . 41-60.
2. Jackson, M.H.; Hutchison, W.M. The prevalence and source of *Toxoplasma* infection in the environment. *Adv.Parasit.* 1989; 28. 55-105.
3. Remington, D.G Toxoplasmosis. In: Remington, J.S & Klein, J. O Infectious diseases of fetus and newborn infant Philadelphia: W.B. Saunders 1990; 90-195.

4. Lelong, B.; Rahelimo, B.; Candolfi, E.; Ravelojaona, B. J.; Villard, O.; Rasamindrakotroka, A. J.; Kien, T. Prevalence of toxoplasmosis in population of pregnant women in Antananarivo (Madagascar). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 1995; 88. 1. 46-49.
5. Sun, R. G.; Liu, Z. L.; Wag, D. C. The prevalence of Toxoplasma infection among pregnant women and their newborn infants in Chengdu. *Chung. Hua. Liu Hsing Ping Hsueh. Tsa. Chih* 1995. 16. 2. 98-100.
6. Camargo, M. E. Toxoplasmosis. In: Ferreira, A.W & Avila S.L.M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro 1996: 165-74.
7. Jaqueti, J.; Hernández-García, R.; Nicolás, D.; Martínez H.D.; Navarro, G.F. Serologia frente a Toxoplasma gondii en mujeres gestantes. Evolución de tasas de prevalencia a lo largo de cuatro años. *Rev. Clin. Española* 1991; 188, 6., 278-9.
8. Server, J.L.; Ellenberg, J.H.; Ley A.C. Toxoplasmosis; Maternal and pediatric findings in 23,000 pregnancies. *Pediatrics* 1988; 82. 181.
9. Jacquier, P.; Zufferey, J.; Wunderli, W. Biological diagnosis of toxoplasmosis in the course of pregnancy: methods, interpretations and practical recommendations. *Schweiz. Med. Wochenschr. Suppl.* 1995; 65. 39-51.
10. Lappalainen, M.; Sintonen, H.; Koskiniemi, M.; Hedenan, K.; Ammal, P.; Terama, K.; Koskela, P. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Scand. J. Infect. Dis* 1995; 27. 3. 265-72.
11. Rodier, M.H.; Berthonneau, J.; Bourgoin A.; Geraudeau, G.; Bुरुcoa, C.; Hekpazo, A.; Jacquemin, J.L. Seroprevalences of toxoplasma, malaria, rubella, cytomegalovirus, HIV and treponemal infections among pregnant women Cotonou, Republic of Benin. *Acta Tropica* 1995; 59. 271-77 1995.
12. Luft, B.T & Remington, J.S Toxoplasmic encephalitis. *J.Infect.Dis* 1992; 157.1-6..
13. Perez, M.D. & Englund, P.T. The structure of replicating kinetoplastic DNA networks. *J. Cell. Biol.* 1993. 123. 1069.
14. Shapiro, T. & Englund, P.T. The structure and replication of kinetoplast DNA. *Annu. Rev. Microbiol* 1995; 49. 117.
15. Goldsmith, R.S. Infectious Diseases: Protozoal & Helminthic in: Current Medical Diagnosis & Treatment. 37th Edition Stamford, Connecticut. USA: Appleton & Lange. 1998.
16. McCabe, R. & Remington, J. S. Toxoplasmosis: The Time has Come. *N. Engl. J. Med.*, 318: 313-314, 1988.
17. Renold, C.; Sugar, A.; Chave, J.P. Toxoplasmic encephalitis *Medicine* 1992; 7. 224-38.
18. Katlama, C.; Diagnosis and Treatment of toxoplasmosis of the CNS in Patients with AIDS. *CNS Drugs* 1996, 5. 331-33.
19. Mayes, J. T.; O'connor, B.J.; Avery, R.; Castellan, W.; Carey W. Transmission of Toxoplasma gondii infection by liver transplantation. *Clin. Infect. Dis* 1995; 2. 511-515.
20. Ravel, R., Aplicações Clínicas de dados Laboratoriais. Rio de Janeiro, 6ªed, 1998.
21. Koppe, J.G; Loewer, S.D.H.; Roever, B.H. Results of 20 years follow-up congenital toxoplasmosis. *Lancet* 1986; 1, 254-256..
22. Caiiffa, W.T.; Chiari, C.A; Figueiredo, A R.; Orefice, S.; Antunes, C.M. Toxoplasmosis and mental retardation - report of a case control study. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1993; 88. 253-61.
23. Lunde, M.N. & Jacobs, L. Antigenic differences between endozoites and cystozoites defined by monoclonal antibodies. *Parasitology Research* 1989; 75. 189-3.
24. Lorter, S. & Sander M. A. Toxoplasmosis of the central nervous system in the acquired immunodeficiency syndrome. *N. Engl. J. Med* 1992; 327. 1693-8..
25. Logar, J; Novac-Antolic, Z; Zore, A. Serological Screening for Toxoplasmosis in Pregnancy in Slovenia. *Scand. J. Infect. Dis* 1995. 27. 163-4.
26. Konishi, E. Naturally occurring immunoglobulin M antibodies to Toxoplasma gondii in Japanese populations. *Parasitology* 1991; 102.. 157-62.
27. Ashbur, D.; Joss, A. W.; Pennington, Th; Ho Yen Do. Parasitology and human medical preventive importance of Toxoplasma gondii. *J. Clin. Pathol.* 1995; 48: 1. 64-69.
28. PARTANEN, P.; TURUNEN, H.J.; PAASIVUO, R. Immunoblot analysis of Toxoplasma gondii antigens by human immunoglobulins G, M, and A antibodies at different stages of infection. *J. Clin. Microbiol.*, v.20, n. 1, p. 133-135, 1984.
29. Suzuki, Y.; Thulliez, P.; Remington, J. S. Use of acute-stage specific antigens of Toxoplasma gondii for serodiagnosis of acute toxoplasmosis. *J. Clin. Microb.* 1990; 28. 1734-8.
30. Salpole, I. R.; Hodgen, N; Bower, C. Congenital toxoplasmosis: a large survey in Western Australia. *The Medical Journal of Australia* 1991; 154.. 720-4.
31. Gross, U.; Roos, T.; Appoldt, E. Improved serological diagnoses of Toxoplasma gondii infections by detection of immunoglobulin A (IgG) and IgM antibodies against P30 by using the immunoblot. *J. Clin. Microbiol* 1992; 30. 1436-41.
32. Kasper, L.H. Identification of stage-specific antigens of Toxoplasma gondii. *Infect. Immun.* 1989; 57. 3. 668-72.
33. Huskinson, J.; Thulliez, P.; Remington, J. S. Toxoplasma antigens recognized by human immunoglobulin A antibodies. *J. Clin. Microbiol* 1990; 28. 12. 2632 -36.
34. Brégano, M. S. Caracterização antigênica de oito amostras de Toxoplasma gondii. Londrina, 1994. Tese, Universidade Estadual de Londrina.
35. Raimond, J.; Poissonier, M.H.; Thulliez, P.H.; Foriestier, F.; Daffos, F.; Lebon, P. Presence of gamma interferon in human acute and congenital toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 28. 1434-7..
36. Li, S.; Ding, Z.; Liang, Y. A preliminary study on the antenatal diagnosis and prevention of the fetus toxoplasmosis infection. *Chung. Hua. Fu. Chan. Ko. Tsa. Chih* 1995; 30.4. 200-2.
37. Filice, G.A; Hilt, J.A; Mitchell, C.D.; Blackstad, M.; Sorensen, S.W. Diagnosis of Toxoplasma parasitemia in patients with AIDS by gene detection after amplification with polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 31. 2327-31.
38. Dupouy-Camet, J.; De Souza, S. L.; Maslo, C.; Paugam, A; Saimot, A.G.; Benarous, C.; Tourte—Schaefer, C.; Deroiun F. Detection of Toxoplasma gondii in venous blood from AIDS patients by polymerase chain reaction. *J. Clin. Microbiol* 1993; 31. 1866-9.
39. Dupon, M.; Cazenave. J.; Pellegrin, J.M.; Ragnaud, A; Cheyrou, A.; Fischer, B.; Lenge, B.; Lacut, J.Y. Detection of Toxoplasma gondii by PCR and tissue culture in cerebrospinal fluid and blood of human immunodeficiency virus-seropositive patients. *J. Clin. Microbiol.* 1995; 33. 2421-6.
40. Bretagne, S. ; Costa, J.M.; Fleury-Fleith, J.; Poron, F.; Dubreuil-Lemaire, M.L.; Vidaud, M. Quantitative competitive PCR with bronchoalveolar lavage fluid for diagnosis of toxoplasmosis in AIDS patients. *J. Clin. Microbiol.* 1990; 33. 1451-7.
41. Grover, C. M.; Thulliez, P.; Remington, J.; Boothroyd, J.C. Rapid prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. *J. Clin. Microbiol* 1990; 28. 2297-307.
42. Fachado, A; Fonseca. L.; Fonte.L.; Alberti, R.C.; Bandera, F. Toxoplasma gondii Antigenuria in Patients with Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 1997; 92. 5. 589- 93.
43. Savva, D.; Morris, J.C; Johnson, J.D.; Holliman, R.E., Polymerase chain reaction for detection of Toxoplasma gondii. *J. Med. Microbiol* 1990; 32. 25-31.
44. Garcia, L. S. & Bruckner, D.A. Diagnostic Medical Parasitological, M. A. S. Press, 3ed, 1997.
45. Silva, A. C. B. Comportamento imunológico de várias amostras de Toxoplasma gondii. 1993. Tese - Universidade Estadual de Londrina.
46. Tibayrenc, M. Beyond Strain Typing and Molecular Epidemiology: Integrated Genetic Epidemiology of Infectious Diseases. *Parasitology Today* 1998; 14. 8. 323- 329.
47. Fudenberg, H.H., Stites, D.P., Caldwell, J.L., Wells, J.V. Imunologia Básica e Clínica. Segunda edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1978.
48. Lima, O.; Soares, B.; Greco, J.B.; Galizzi, J.; Cançado, J.R. Métodos de Laboratório Aplicados a Análises Clínicas, 7ªed., Guanabara, 1992.
49. Hafid, J.; Tran, M. R.; Raberin, H.; Akono, Z. Y.; Pozzetto, B.; Jana, M. Detection of circulating antigens of Toxoplasma gondii in human infection. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1995; 52. 336-9.
50. Jacquier, P.; Hohlfeld, P. Vorkauf, H.; Zuber, P. Epidemiology of toxoplasmosis in Switzerland: national study of seroprevalence monitored in pregnant women 1990-1991. *Schweiz. Med.*

TOXOPLASMOSE: OCORRÊNCIA E DIAGNÓSTICO

- Wochenschr. Supp*1995; 65. 29-38..
51. Bertschinger, B. Técnicas de Imunofluorescência e Análise interpretativa dos resultados. Apostila, Porto Alegre, 1980.
 52. Smith, J.W. And Gutierrez, Y. Medical Parasitology in: Henry, J.B. Clinical & Diagnosis Management by Laboratory Methods. Na HBJ International. Edition W.B. Saunders. 18th Edition. 1991.
 53. Demonts, G.; Remington, J.S. Direct agglutination test for diagnosis sensitivity and specificity., *J. Clin. Microbiol.* 1990; 11. 562-8.

Artigo recebido: 18/05/99
Aceito para publicação: 03/04/00
