Diagnóstico

Regina Mitsuka-Breganó
Fabiana Maria Ruiz Lopes-Mori
Italmar Teodorico Navarro
(orgs.)

SciELO Books / SciELO Livros / SciELO Libros

MITSUKA-BREGANÓ, R., LOPES-MORI, FMR., and NAVARRO, IT., orgs. *Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas* [online]. Londrina: EDUEL, 2010. Diagnóstico. pp. 15-24. ISBN 978-85-7216-676-8. Available from SciELO Books <<http://books.scielo.org>>.

All the contents of this work, except where otherwise noted, is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 Unported.

Todo o conteúdo deste trabalho, exceto quando houver ressalva, é publicado sob a licença Creative Commons Atribuição - Uso Não Comercial - Partilha nos Mesmos Termos 3.0 Não adaptada.

Todo el contenido de esta obra, excepto donde se indique lo contrario, está bajo licencia de la licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 3.0 Unported.

Diagnóstico

Diagnóstico materno

Assim como em adultos imunocompetentes, mulheres grávidas são frequentemente assintomáticas ou apresentam sintomas leves, tornando o diagnóstico clínico difícil, fazendo com que os exames laboratoriais sejam importantes para o diagnóstico definitivo da infecção materna. Dunn *et al.* (1999) analisaram 603 gestantes com infecção aguda e observaram que apenas 5% apresentaram sintomas clínicos.

A determinação do período em que a infecção ocorreu na gestante é importante pois a infecção antes da concepção apresenta baixo risco de transmissão para o feto, ao contrário do que ocorre quando a primoinfecção ocorre durante a gravidez.

Diagnóstico clínico: é pouco fidedigno, pois os sintomas, quando referidos, são inespecíficos e semelhantes a um quadro gripal. A linfadenomegalia e a febre são as queixas mais frequentes e podem estar acompanhadas de cefaleia, coriza, mialgia e astenia. Cerca de 80 a 90% dos casos são assintomáticos (SANTANA; ANDRADE; MORON, 2003), o que torna o diagnóstico basicamente sorológico.

Diagnóstico laboratorial: os métodos indiretos, baseados na pesquisa de anticorpos específicos anti-*T. gondii*, são os mais utilizados para o diagnóstico da toxoplasmose. As curvas de ascensão e queda de títulos dos anticorpos específicos de diferentes isotipos (IgM, IgA, IgE e, principalmente, IgG) obedecem ritmos diversos e refletem a evolução da infecção. (CAMARGO, 2001). Assim, para a correta interpretação dos resultados obtidos nos exames sorológicos, é necessário conhecer a cinética das diferentes classes ou isotipos de anticorpos.

Cinética de anticorpos: anticorpos específicos da classe IgM positivam-se em 5 a 14 dias após a infecção, ainda na vigência da parasitemia observada nas primeiras semanas da primoinfecção, atingem níveis elevados em um mês e podem permanecer positivos por 18 meses ou mais. Anticorpos específicos da classe IgA, detectáveis em cerca de 80% dos casos, positivam-se após 14 dias da infecção e permanecem por três a seis meses, prazo

que pode variar até de um a 18 meses. Anticorpos específicos IgE podem permanecer por cerca de quatro meses, mas podem estender-se até por oito meses. Anticorpos específicos da classe IgG aparecem dentro de uma a duas semanas, atingem o pico máximo cerca de dois meses após a infecção, declinam cinco a seis meses depois e podem ser detectados pelo resto da vida. (CAMARGO, 2001; CURITIBA, 2004).

A presença de anticorpos IgG específicos indica que a infecção ocorreu, mas não distingue infecção recente de uma infecção adquirida há mais tempo ou infecção latente. A obtenção de IgG reagente e IgM não reagente indica uma infecção há pelo menos seis meses. (JONES; LOPES; WILSON, 2003).

A detecção de anticorpos IgM específicos para *T. gondii* era usada para determinar a infecção aguda; entretanto, devido ao aumento da sensibilidade dos métodos de diagnóstico atualmente disponíveis, a interpretação de resultados com IgM reagente tornou-se complicada, pois esses anticorpos podem ser detectados por um período maior que 18 meses após a infecção, sendo denominados anticorpos IgM residuais. (WILSON; MCAULEY, 1999).

Outro fator importante do diagnóstico sorológico é a metodologia empregada para a pesquisa de anticorpos, especialmente de IgM, em que nos testes convencionais de imunofluorescência indireta (IFI) ou enzimaímunoensaio (ELISA) indireto ocorre uma competição, com os anticorpos IgG, pelos sítios de ligação do antígeno, resultando em falso-negativos. (REMLINGTON *et al.*, 2006). Resultados falso-positivos também podem ocorrer pela presença de anticorpos antinucleares ou de fator reumatoide. (CAMARGO, 2001; REIS; TESSARO; D'AZEVEDO, 2006). Para minimizar esses resultados falsos, são indicados os métodos que usam o princípio de captura de IgM.

A interpretação de um teste IgM reagente tornou-se extremamente complexa e limitou a sua utilização. Assim sendo, este anticorpo não deve ser utilizado como único marcador de infecção aguda, a fim de não expor a mãe e o feto a um risco desnecessário para o procedimento de diagnóstico fetal e tratamento.

Resultados de IgM reagentes devem ser interpretados cuidadosamente e confirmados, por meio de testes sorológicos com amostras pareadas, coletadas com intervalo de 15 dias,

para determinação da curva de ascensão dos títulos de anticorpos, principalmente de IgG, ou por meio de testes específicos como o de avidéz de anticorpos IgG e a pesquisa de anticorpos IgA.

O teste de avidéz de anticorpos IgG baseia-se na maior força das ligações iônicas entre antígeno e anticorpo nas infecções antigas, quando comparadas com infecções recentes. (BARINI *et al.*, 2000). Em qualquer resposta imunológica primária, os anticorpos desencadeados por um estímulo antigênico, inicialmente, apresentam baixa avidéz. À medida que a resposta imunológica ocorre, os anticorpos da classe IgG apresentam avidéz cada vez maior. (LESER, 2003). Este teste é de grande valor na diferenciação de infecção crônica (ocorrida há mais de quatro meses), na qual se apresenta elevada, da infecção recente (ocorrida há menos de quatro meses), cuja avidéz apresenta-se baixa. (MONTROYA, 2002).

No entanto, sabe-se que valores baixos de avidéz de IgG podem permanecer por mais de um ano, quando o tratamento antiparasitário é instituído precocemente, não indicando necessariamente infecção recente (REMYINGTON; THULLIEZ; MONTROYA, 2004), o que diminui o seu valor como único marcador diferencial das fases aguda e crônica da infecção por *T. gondii*. Para o diagnóstico em gestantes, o método de avidéz de anticorpos IgG é muito útil quando usado no início da gestação (até 16 semanas de gestação), pois um resultado de alta avidéz no segundo ou terceiro trimestre não descarta infecção adquirida no primeiro trimestre. Valores intermediários devem ser analisados com cautela e, em casos duvidosos, deve-se tratar a gestante. Assim, o teste de avidéz de IgG é recomendado para mulheres que realizam a primeira sorologia antes de 16 semanas de gestação e apresentam IgM reagente. (LIESENFELD *et al.*, 2001). Ver o Algoritmo 1 na página 33.

A presença de anticorpos específicos da classe IgA auxilia na identificação da fase aguda da infecção, pois estes anticorpos possuem cinética mais rápida e sugerem que a infecção ocorreu num período inferior a cinco meses. (MARTÍN, 2004). Da mesma forma que o teste de avidéz de anticorpos IgG, a ausência de IgA em gestantes que realizaram a primeira sorologia no segundo ou terceiro trimestre não descarta a possibilidade de infecção no início da gestação. Assim sendo, estas gestantes devem ser tratadas e os seus bebês acompanhados até descartar a infecção congênita. No Brasil, há grande dificuldade de se

utilizar esses testes confirmatórios pelo fato de que muitas gestantes iniciam o atendimento pré-natal tardiamente. (CARELLOS; ANDRADE; AGUIAR, 2008; SPALDING *et al.*, 2003). Ver Algoritmo 2 na página 34.

Como as gestantes soronegativas são suscetíveis à primoinfecção pelo *T. gondii*, é necessário o acompanhamento sorológico periódico até o momento do parto a fim de detectar a soroconversão materna. Com esta estratégia, pode-se detectar a mudança para o estado de sororeatividade que proporciona uma informação segura da infecção e do período de aquisição e, portanto, confirma se o neonato pode ser considerado de risco.

Lebech *et al.* (1996) propuseram um sistema de classificação e de definição de casos de infecção pelo *T. gondii* em gestantes imunocompetentes, no qual define como diagnóstico definitivo, provável, possível e improvável (Quadro 4). Este sistema de classificação pode ser adaptado e utilizado no Brasil associado ao teste de avidéz de IgG.

A sorologia para toxoplasmose apresenta-se como uma das mais complexas, em contínua evolução, exigindo uma variedade de testes e grande experiência para a interpretação de seus resultados.

Bessièrès *et al.* (2006) relataram as dificuldades da interpretação da sorologia para toxoplasmose em vários casos clínicos como:

- IgM reagente até três anos após infecção;
- soroconversão com níveis de IgM muito baixos;
- presença de IgM inespecífico;
- resposta retardada de IgG (dois meses após detecção de IgM);
- reativação sorológica com aumento do título de IgG, aparecimento de IgA, ausência de IgM e forte avidéz de IgG.

Mesmo com estas dificuldades, os autores recomendam o diagnóstico laboratorial, lembrando que podem ocorrer resultados discordantes e que estes devem ser definidos por meio da repetição dos exames após algumas semanas ou o emprego de vários testes diferentes para a pesquisa de anticorpos.

Categoria da infecção	Definição do caso
Definitivo	<ul style="list-style-type: none"> ▪ soroconversão: ambas as amostras coletadas após a concepção ▪ cultura positiva do sangue materno ▪ infecção congênita confirmada na criança
Provável	<ul style="list-style-type: none"> ▪ soroconversão: primeira amostra colhida dentro de 2 meses antes da concepção ▪ *aumento significativo do título de IgG e presença de IgM e/ou IgA ▪ altos títulos de IgG, presença de IgM e/ou IgA e linfadenopatia durante a gestação ▪ altos títulos de IgG, presença de IgM e/ou IgA na segunda metade da gestação
Possível	<ul style="list-style-type: none"> ▪ *título de IgG alto e estável, sem IgM, na segunda metade da gestação ▪ *alto título de IgG e presença de IgM e/ou IgA na primeira metade da gestação
Improvável	<ul style="list-style-type: none"> ▪ *título de IgG estável e baixo, com ou sem IgM ▪ *título de IgG alto e estável, sem IgM, no início da gestação

* necessidade de realização de sorologia com amostras pareadas com intervalo de duas semanas

Quadro 4 - Sistema de classificação e definição de casos de infecção pelo *Toxoplasma gondii* em gestantes imunocompetentes, segundo Lebech *et al.* (1996).

Devido ao número significativo de recém-nascidos acometidos pela toxoplasmose congênita, torna-se necessário o conhecimento das manifestações clínico-laboratoriais da toxoplasmose na gestante e o momento da soroconversão materna, a fim de iniciar precocemente o tratamento antiparasitário e reduzir a possibilidade de alterações no feto.

Diagnóstico Fetal

Embora alguns questionamentos tenham sido levantados nos últimos anos, a respeito do tratamento profilático da toxoplasmose para a prevenção da transmissão para o feto com a utilização da espiramicina, parece não haver dúvidas de que o tratamento dos fetos infectados com a associação de sulfadiazina e pirimetamina é capaz de diminuir a incidência de sequelas nessas crianças. (FOULON *et al.*, 1999). No entanto, segundo alguns autores, devido aos efeitos nocivos do uso contínuo, tais drogas deveriam ser utilizadas somente em gestantes com diagnóstico fetal comprovado. (FRENKEL, 2002).

Os testes convencionais para o estabelecimento do diagnóstico fetal da toxoplasmose incluem a identificação direta do parasita ou a inoculação de líquido amniótico e/ou sangue do cordão umbilical em camundongos, assim como em cultura de células que, apesar de apresentarem 100% de especificidade, requerem maior tempo para a obtenção do resultado e demonstram baixa sensibilidade. (ABBOUD *et al.*, 1997; DORANGEON *et al.*, 1990; HOHLFELD *et al.*, 1989).

O isolamento do parasita por meio da inoculação intraperitoneal do sangue do paciente (de preferência, a camada leucocitária), ou sedimento do centrifugado de líquido cefalorraquidiano, líquido amniótico, lavado brônquico-alveolar, suspensões de triturados de biópsia ou de placenta em camundongos ou em cultivo celular (fibroblastos humanos ou outras linhagens celulares) não é realizado nos laboratórios de rotina, pois tem custo elevado e o resultado demora cerca de 30 a 40 dias. (CAMARGO, 2001).

Avanços recentes no conhecimento do genoma do *T. gondii* tornaram possível a utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR) para amplificação do ácido nucleico do *T. gondii* e assim, possibilitar a detecção do parasita, mesmo quando presente em baixos níveis de parasitismo. (BASTIEN, 2002). Por ser rápida e simples, a técnica de PCR pode ser realizada no líquido amniótico. No entanto, pode apresentar resultados falso-negativos, devido a uma transmissão mais tardia do parasita ao feto posterior à realização da PCR (DAFFOS *et al.*, 1988); e resultados falso-positivos, principalmente por contaminação com produtos de amplificação obtidos em reações realizadas previamente. (COUTO *et al.*, 2003). Por outro lado, em alguns países, como o Brasil, o acompanhamento sorológico em gestantes,

quando realizado, é trimestral, tornando o diagnóstico de soroconversão materna tardia, portanto, no momento da amniocentese, pode não haver mais parasitas detectáveis, fator que poderia contribuir para a baixa sensibilidade do teste de PCR neste material biológico. Outro fator que pode interferir na sensibilidade da técnica de PCR é a diferença nos genótipos das cepas de *T. gondii* de cada região. (GROVER *et al.*, 1990).

Como a PCR ainda apresenta limitações na sensibilidade (variando de 42 a 97%) e especificidade (de 87 a 100%), de acordo com a metodologia e a sequência de oligonucleotídeos, utilizada como *primer* em cada laboratório (BESSIÈRES *et al.*, 2002; CASTRO *et al.*, 2001; FILISETTI *et al.*, 2003; HOHLFELD *et al.*, 1994; KAISER *et al.*, 2007), não se recomenda a sua utilização de rotina para o diagnóstico da infecção fetal. Somente após o aperfeiçoamento da técnica, com a diminuição de resultados discordantes, é que tal técnica poderá ser amplamente utilizada na rotina de exames laboratoriais. (MAUBON *et al.*, 2007).

A ultrassonografia mensal é recomendada para todas as gestantes com diagnóstico suspeito ou confirmado de toxoplasmose aguda. Os achados ultrassonográficos são sugestivos, mas não confirmam a toxoplasmose congênita, e incluem dilatação ventricular uni ou bilateral, ascite, calcificações intracranianas ou intra-hepáticas, hepatomegalia e esplenomegalia. (REMYINGTON *et al.*, 2006; FIGUEIRÓ-FILHO *et al.*, 2005; SANTANA; ANDRADE; MORON, 2003).

Assim, na impossibilidade de realização do diagnóstico fetal, deve-se fazer o tratamento com pirimetamina e sulfadiazina a partir da 18ª semana de gestação, pois a toxoplasmose congênita pode causar danos graves ao feto. (REMYINGTON *et al.*, 2006).

Diagnóstico pós-natal da infecção congênita

Todas as gestantes com diagnóstico confirmado ou suspeito de infecção aguda devem ter seus filhos avaliados ainda na maternidade para se proceder a confirmação da infecção congênita e instituir o tratamento. Devido ao pleomorfismo da toxoplasmose congênita, da infecção subclínica ser mais frequente e da infecção se assemelhar a outras infecções congênitas ou perinatais, o diagnóstico da toxoplasmose congênita é mais complicado que o diagnóstico da infecção adquirida. (REMYINGTON *et al.*, 2006).

Esta avaliação deve ser realizada por infectopediatras, neurologistas, oftalmologistas e fonoaudiólogos para determinar possíveis manifestações e sequelas da infecção. A confirmação da infecção congênita é feita com a realização de testes sorológicos em amostras de sangue do recém-nascido.

O diagnóstico sorológico no recém-nascido é particularmente difícil devido à alta concentração de anticorpos IgG maternos que atravessam a barreira transplacentária e atingem o sangue dos recém-nascidos. A presença de anticorpos IgM e/ou IgA no sangue do recém-nascido revela infecção congênita, pois estas duas classes de imunoglobulinas não atravessam a barreira transplacentária, embora a ausência de IgM e IgA não exclua a infecção na criança. (REMINGTON *et al.*, 2006). Nestes casos, deve-se continuar o monitoramento sorológico por até um ano de vida.

A presença de anticorpos IgM e/ou IgA, a persistência de IgG por mais de 12 meses, o aumento do título de IgG específicos, a positividade na inoculação do material biológico suspeito em camundongos ou na PCR do líquido amniótico ou sinais clínicos da toxoplasmose, foram os critérios adotados por Binqet *et al.* (2003) para confirmação do diagnóstico de infecção congênita. A diminuição dos níveis de IgG específicos pode ser utilizada como critério de exclusão de infecção. (DUNN *et al.*, 1999). Ver algoritmo 3 na página 40.

Deteção de IgM e/ou IgA específicos anti-*T. gondii*: A presença dessas duas classes de anticorpos depende do período em que ocorre a soroconversão materna. Anticorpos IgM específicos são mais frequentemente detectados em sangue de recém-nascido quando a soroconversão materna ocorre no terceiro trimestre da gestação e a deteção dos anticorpos IgA quando a soroconversão ocorre no primeiro ou segundo trimestre. (BESSIÈRES *et al.*, 2001). A presença desses anticorpos confirma infecção congênita.

Deteção de IgG: anticorpos da classe IgG presentes no soro do recém-nascido podem ser próprios ou adquiridos da mãe por via transplacentária. Os níveis séricos de IgG materna adquirida passivamente diminuem gradativamente e desaparecem entre seis e 12 meses, enquanto que os níveis séricos de IgG endógeno, produzida pela criança infectada, persistem ou aumentam após o nascimento. No entanto, a diminuição dos níveis de IgG geralmente ocorre nos primeiros meses de vida, mesmo no lactente infectado (pela

diminuição dos anticorpos maternos antes da produção ativa pelo próprio lactente). Assim, no lactente que não está em tratamento, só se pode excluir a infecção congênita quando os anticorpos IgG negativarem completamente. O acompanhamento não deve ser interrompido antes da negativação dos anticorpos IgG. No lactente em tratamento, pode ocorrer negativação da IgG, que retornará quando o tratamento for suspenso (efeito rebote sorológico pós-tratamento).

Exames laboratoriais inespecíficos: também podem auxiliar no diagnóstico da toxoplasmose:

- Hematológico: com a realização do hemograma completo, contagem de plaquetas e reticulócitos, podem ser observadas alterações como anemia, plaquetopenia, reticulocitose, leucopenia, atipia linfocitária e eosinofilia. A eosinofilia é um achado laboratorial importante para o diagnóstico diferencial da toxoplasmose.
- Liquórico: é possível observar pleocitose com predominância de linfócitos e monócitos. A eosinoflorraquia e a hiperproteínorraquia são alterações características da doença.
- Bioquímico: podem ser encontradas alterações como hiperbilirrubinemia e o aumento das enzimas hepáticas.
- Tomografia computadorizada de crânio: atualmente é o exame complementar de escolha para o diagnóstico de acometimento cerebral. É bastante útil na observação de dilatações ventriculares e calcificações cerebrais.
- Ultrassonografia de crânio: podem-se observar as dilatações ventriculares e calcificações cerebrais.
- Na impossibilidade de tomografia computadorizada ou de ultrassonografia de crânio, realizar Raio X de crânio para verificar a presença de calcificações intracranianas.
- Oftalmológico: exame de fundo de olho para visualizar sinais de uveíte e retinocoroidite.

Testes recomendados para pesquisa de IgG e IgM anti-*T. gondii*

Testes recomendados para detecção de IgG: os métodos sorológicos mais utilizados são: imunofluorescência indireta (IFI), reação de aglutinação por imunoabsorção (ISAGA-IgG), enzimaímunoensaio por micropartículas (MEIA), enzimaímunoensaio por fluorescência (ELFA) e quimioluminescência.

Testes recomendados para detecção de IgM: os métodos sorológicos mais utilizados são: reação de aglutinação por imunoabsorção (ISAGA-IgM), enzimaímunoensaio de captura de IgM (ELISA-captura), enzimaímunoensaio por micropartículas (MEIA), enzimaímunoensaio por fluorescência (ELFA) e quimioluminescência.

Apesar do baixo custo, a pesquisa de IgM pelo método de ELISA indireta e IFI não são recomendados, pois a sensibilidade é muito baixa.

Testes recomendados para detecção de IgA: enzimaímunoensaio (ELISA) e reação de aglutinação por imunoabsorção (ISAGA-IgA).