

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
MEDICINA TROPICAL

**ASSOCIAÇÃO ENTRE UVEÍTE POSTERIOR ATIVA
PRESUMIVELMENTE POR *Toxoplasma gondii* E IgA SECRETORA
ESPECÍFICA NA LÁGRIMA**

Maria Isabel Lynch Gaete

RECIFE

2003

Maria Isabel Lynch Gaete

**ASSOCIAÇÃO ENTRE UVEÍTE POSTERIOR ATIVA PRESUMIVELMENTE
POR *Toxoplasma gondii* E IgA SECRETORA ESPECÍFICA NA LÁGRIMA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Medicina Tropical do Centro de Ciências da
Saúde da Universidade Federal de Pernambuco para
obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical.

Orientadora: Dra. Elizabeth Malagueño

Co-orientador: Dr. Francisco Cordeiro

RECIFE

2003

A minha mãe, Adriana, quem me ensinou o valor da perseverança. A meu esposo Luiz, meus filhos: Maria Antonieta e Luiz Felipe, pela inestimável compreensão e apoio irrestrito.

AGRADECIMENTOS

A professora, Dra. Elizabeth Malagueño, pelo profissionalismo, competência, ética profissional, dedicação e respeito para com seus colegas e alunos. Minha gratidão pela orientação deste trabalho e por ter possibilitado as condições, sem as quais ele não se teria materializado.

Ao professor Dr. Ricardo Arraes de Alencar Ximenes, pela oportunidade de complementar minha formação acadêmica, pelo apoio para realizar este estudo, expresse meu respeito e admiração.

Agradeço ao professor Dr. Francisco de Assis Cordeiro, co-orientador desta pesquisa, pelo inestimável apoio e estímulo no desenvolvimento das atividades realizadas.

Agradeço ao Professor Dr. Fernando Oréfice, Professor Titular de Oftalmologia da Faculdade de Medicina da Universidade de Minas Gerais, pelo seu espírito científico, pelo apoio brindado desde o primeiro contato e pela colaboração irrestrita.

Agradeço aos colegas do Serviço Oftalmológico de Pernambuco (SEOPE), e de forma especial ao amigo oftalmologista, Luiz Armando Gondim, pela viabilização do material fotográfico desta pesquisa.

Agradeço a Professora Silvana Ferreira pela colaboração na determinação da IgG e IgM, bem como o permanente apoio não somente na bancada do laboratório, como no desenvolvimento das diversas etapas da pesquisa.

Agradeço ao Professor Dr. Valfrido Santana, pelas incontáveis consultas que esclareceu.

Agradeço a Valdir Martins e Fabrício A. Martins Esteves, pela análise da IgA secretora da lágrima.

Agradeço a Conceição Gomes pela análise da IgA sérica.

Agradeço a Etiene Silva de Sousa Lima, bibliotecária chefe da Biblioteca setorial do Centro de Ciências Básicas da UFPE, pela revisão da bibliografia.

Agradeço a Yupira Pinho e Walter Leite, funcionários da Secretaria do Departamento do Mestrado-Doutorado de Medicina Tropical, pela presença amiga, nestes anos de trabalho.

A todos os colegas oftalmologistas, que, enviando seus pacientes, permitiram o desenvolvimento deste trabalho. Obrigada pela confiança depositada.

RESUMO

Toxoplasmose é a principal causa de uveíte posterior focal. A sorologia é importante para o esclarecimento diagnóstico. A mais relevante das imunoglobulinas contra o *T. gondii*, é a IgG, considerada marcador de contato prévio, seguida de IgA, IgE e IgM no soro, podendo ser determinadas também no humor aquoso. A IgA pela sua localização intravascular e ao nível de mucosas tem sido objeto de estudos para evidenciar seu papel no controle de parasitoses assim como indicadora diagnóstica de infecção recente. A IgA sérica tem sido observada nos primeiros meses após infecção por *T. gondii* e foi detectada IgA secretora específica (IgAs) na lágrima de indivíduos sadios porém IgG positivos para *T. gondii*. O presente estudo, objetivou estudar a associação de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii* e a presença de IgA secretora específica na lágrima, assim como IgM, IgG e IgA sérica específicas para *T. gondii*. Participaram 75 indivíduos, 25 portadores da doença ocular e 50 controles sem a mesma, com IgG positiva para *T. gondii*. Considerou-se padrão de seleção (padrão ouro) lesões de uveíte posterior ativa, satélite de lesão cicatrizada. Foram determinadas a IgG, IgM, IgA sérica e IgAs, através de ELISA, utilizando antígeno bruto de *T. gondii*. A diferença de intensidade da reação da IgG não foi estatisticamente significativa ($p= 0,082$). A pesquisa de IgM foi negativa nos dois grupos participantes. A IgA sérica apresentou média de absorvância significativamente maior nos casos

($p=0,040$). Todos os portadores de doença ocular foram IgA positivos no soro. A IgA secretora foi verificada em 84,0% dos casos e 22,0 % dos controles. A média da absorbância da IgA secretora mostrou-se maior nos casos ($p=0,007$). A associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica mostrou 18 vezes mais probabilidades de apresentar IgA secretora nos casos que nos controles (“odds-ratio” = 18,61; $p=0,0001$). A sensibilidade do teste foi 84,0% e a especificidade 78,0%. Conclui-se que a IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima pode constituir-se em um indicador promissor para diagnóstico de toxoplasmose ocular ativa. Acreditamos que uma posterior purificação do antígeno utilizado para esta reação possa aumentar a especificidade do teste imunoenzimático para IgAs.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is the main cause of focal posterior uveitis. Serology is important instrument for establishing the diagnosis. The most relevant Immunoglobulin anti *Toxoplasma gondii* in human sera is IgG, being considered an of previous contact marker. Also can be detected IgA, IgE and IgM. They are determined also at aqueous humour. IgA due to its intravascular localization and in the mucosal environment has attracted studies to evaluate its role in parasitosis control as far as marker for recent infection. Sera IgA has been detected in the first months after *T. gondii* infection, and specific secretory IgA was detected in tears of healthy *T. gondii* IgG positives individuals. The objective of the present study is to establish the association among posterior uveitis presumptively due to toxoplasmosis and lachrymal secretory IgA (sIgA). Sera specific IgM, IgG and IgA were also determined. Seventy-five individuals were selected, 25 with the ocular illness and 50 healthy individuals with a-T *gondii* IgG. Rigorous protocol of patients selection was followed, considering just lesions of active posterior uveitis with satellite scarred lesion. Sera IgG, IgM, IgA and lachrymal secretory IgA were determined by ELISA using *Toxoplasma* crude extract. IgM antibodies were absent in both groups and there was no difference in IgG reactive intensity among them ($p=0,082$). IgA was present in every patient with ocular illness sera and 86% of them, had lachrymal specific sIgA. Some controls (22%) also had reactive sIgA, although the absorbances obtained with sIgA determination, were significantly

higher in the uveitis group ($p=0,040$). The association analysis showed that the probability of the uveitis group to produce sIgA is 18 times higher than in controls (“odds-ratio” = 18,61; $p=0,000$) Test sensibility was 84% and the specificity was 78%. It is concluded that determination of a-T gondii sIgA in tears, may constitute a possible marker for ocular active toxoplasmosis. It is suggested that future purification of the antigenic extract would improve the specificity of the immunoenzymatic sIgA test.

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1** Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles por sexo, atendidos no HC da UFPE, em 2002. “Odds- ratio” (OD) e intervalo de confiança (IC) de 95%, p. 36
- TABELA 2** Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles segundo faixa etária, atendidos no HC da UFPE, em 2002. “Odds - ratio” (OD), intervalo de confiança (IC) de 95% e valor de “p”, p.37
- TABELA 3** Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles de acordo com a cor da pele, atendidos no HC da UFPE, em 2002. “Odds-ratio” (OD) e intervalo de confiança (IC) de 95%, p.38
- TABELA 4** Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles, atendidos no HC da UFPE, em 2002, segundo a procedência. “Odds - ratio” (OD) e intervalo de confiança (IC) de 95%, p. 39

- TABELA 5** “Odds – ratio” (OD) bruto, intervalo de confiança (IC) de 95% para associação uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e IgAs anti - *T. gondii* da lágrima, dos pacientes atendidos no HC da UFPE, em 2002, p.39
- TABELA 6** Avaliação de sensibilidade e especificidade do teste de IgAs anti - *T. gondii* na lágrima, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica e controles, atendidos no HC da UFPE, em 2002, p. 40
- TABELA 7** Média das absorbâncias de IgG, IgA no soro e IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por toxoplasma e controles, atendidos no HC da UFPE, em 2002. Desvio padrão e valor de “p”, p. 41
- TABELA 8** Frequência percentual e numérica de reatividade (positiva/negativa) de IgA e IgAs anti-*T. gondii* no soro e lágrima dos indivíduos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica, atendidos no HC da UFPE, em 2002, p. 43
- TABELA 9** Frequência percentual e numérica de reatividade (positiva/negativa) de IgA e IgAs anti-*T. gondii* no soro e lágrima nos indivíduos controles (sem doença ocular), atendidos no HC da UFPE, em 2002, p. 44

TABELA 10 Distribuição percentual e numérica dos casos e controles positivos e negativos de IgA no soro e IgAs anti-*T. gondii* na lágrima, atendidos no HC da UFPE, ano 2002, para cálculo de “kappa”, p. 45

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** Retinografias de pacientes participantes do estudo com lesões padrão ouro de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii*, atendidos no HC da UFPE em 2002, p. 23
- FIGURA 2** Distribuição percentual por sexo dos 25 casos e 50 controles atendidos no HC da UFPE, em 2002, p. 36.
- FIGURA 3** Média das absorbâncias de IgG, IgA no soro e IgAs anti- *T. gondii* da lágrima nos casos de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii*, atendidos no HC da UFPE, em 2002, p. 42

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A Resultados da análise das características clínicas dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica, p. 57

ANEXO B Protocolo de atendimento clínico, p. 68

ANEXO C Protocolo de consentimento livre e esclarecido.
Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, p. 71

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS E TERMOS

nm - nanômetros

χ^2 - Qui quadrado

μg - microgramas

μL - microlitros

Ac - anticorpo

AV - acuidade visual

CCS - Centro de Ciências da Saúde

cel - células

CEP - Comitê de Ética em Pesquisa

DNA - ácido desoxirribonucléico

ELISA - Enzyme Linked Immunosorbent Assay

et al - “e outros”

fem - feminino

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IC - intervalo de confiança

IgA - Imunoglobulina A

IgAs - Imunoglobulina A secretora

IgE - Imunoglobulina E

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

kDa - kilo dalton

LIKA - Laboratório de Imunopatologia Keizo - Asami

M - Molar

masc - masculino

ml - mililitros

mmHg - milímetros de mercúrio

mov - movimento

n° - número

°C - graus centígrados (Celcius)

OD - odds ratio

p - página

PCR - polymerase chain reaction

PE - Pernambuco

pp - para perto

Rx - Raio X

sc - sem correção

SIDA - Síndrome de Imunodeficiência Adquirida

T. gondii - *Toxoplasma gondii*

Th1 - linfócito T auxiliar

UFPE - Universidade Federal de Pernambuco

UPAPT - Uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Generalidades	1
1.2	Epidemiologia	4
1.3	Aspectos Clínicos da Toxoplasmose	5
1.4	Características Fundoscópicas	9
1.5	Diagnóstico Laboratorial	10
2	HIPÓTESE	19
3	OBJETIVOS	20
3.1	Geral	20
3.2	Específicos	20
4	CASUÍSTICA E MÉTODO	21
4.1	Desenho do Estudo	21
4.2	Definição de Termos	21
4.2.1	<i>Definição de Casos</i>	21
4.2.2	<i>Definição de Controles</i>	23
4.2.3	<i>Crítérios de Exclusão</i>	24
4.2.4	<i>Variáveis Biológicas e Procedência</i>	24
4.3	Amostra	26
4.3.1	<i>Tipo de Amostragem</i>	26
4.3.2	<i>Definição do Tamanho da Amostra</i>	26
4.4	Padronização de técnicas	27
4.4.1	<i>Diagnóstico Clínico</i>	27
4.4.2	<i>Coleta das Amostras</i>	28
4.4.3	<i>Método Imunoenzimático</i>	29
4.4	Processamento e análise de dados	30
4.5	Questão “viés”	32
4.6	Considerações éticas	33
5	RESULTADOS	35
6	DISCUSSÃO	46
7	CONCLUSÕES	56
8	ANEXOS	57
8.1	Anexo A: Resultados da análise das características clínicas dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica	57
8.2	Anexo B: Protocolo de atendimento clínico	68
8.3	Anexo C: Aspectos éticos	71
8.3.1	<i>Protocolo de consentimento livre e esclarecido</i>	71
8.3.2	<i>Carta do comitê de ética</i>	73

9-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
--	-----------

1 INTRODUÇÃO

1.1 Generalidades

A toxoplasmose é provocada pelo *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) um protozoário de distribuição geográfica mundial, constituindo-se numa das zoonoses de maior difusão no mundo (Tonelli *et al.*, 1987). Provoca no ser humano, com maior frequência, infecções subclínicas (Perkins, 1973). Pode apresentar-se completamente assintomática ou com sintomas similares a um resfriado comum (Silveira *et al.*, 1988). Entretanto, pode provocar quadros graves, especialmente em hospedeiros imunocomprometidos (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 (Veitzman & Castro, 1996; Gilbert & Stanford, 2000), constituem os principais fatores responsáveis pelo interesse atual da doença.

O *Toxoplasma gondii* foi descrito pela primeira vez por Splendore em São Paulo, em Julho de 1908, em coelhos de laboratório. No mesmo ano, na Tunísia, foi observado o parasita e denominado *Toxoplasma gondii*, em atenção ao roedor africano de laboratório chamado "*Ctenodactylus gondii*". (Nicolle & Manceaux, 1909). *Toxoplasma* é derivado do grego, em que "*toxon*" significa arco.

Em 1923 em Praga, foi encontrado o parasita em uma criança de 11 meses de idade que apresentava também hidrocefalia, microftalmia e coloboma na região macular (Janku, 1923).

No Brasil, o primeiro caso de toxoplasmose foi descrito por Torres em 1926, num recém-nascido.

O *Toxoplasma gondii* pertence à classe Sporozoa. É parasita intracelular obrigatório e mede de 4 a 8 μm de comprimento por 2 a 4 μm de largura. Apresenta-se em 3 formas: taquizoíta, bradizoíta e esporozoíta.

A forma taquizoíta é o organismo da infecção aguda, de rápida multiplicação, que se dá dentro dos vacúolos citoplasmáticos dos macrófagos do hospedeiro. Esta forma é lábil a medicação e mecanismos imunológicos.

Bradizoíta é o organismo de repouso, de multiplicação lenta, dentro dos cistos do toxoplasma. Desenvolve-se durante a infecção crônica nos tecidos, nesta forma os mecanismos imunológicos não atingem os cistos, podendo permanecer no cérebro, retina ou musculatura estriada durante toda a vida do hospedeiro.

A forma esporozoíta desenvolve-se 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.

O *Toxoplasma gondii* tem predileção por tecidos embrionários ou fetais. O tecido nervoso é particularmente sensível assim também como o miocárdio, linfonodos periféricos e músculo estriado. 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 à necrose. A destruição tissular acarreta fibrose e o seu equivalente no sistema nervoso central, a gliose.

Depois de algum tempo, há resolução da forma aguda e surgimento das formas císticas (Frenkel, 1997).

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. Dentro da célula, são circundados por um vacúolo formado pela própria membrana celular e inicia-se sua multiplicação (Oréfice, 2000).

A primeira forma de transmissão conhecida, causadora de lesões em humanos foi a transmissão transplacentária. A partir dos trabalhos de Wilder em 1952 e Perkins em 1973 passou a ser reconhecida a importância da toxoplasmose congênita destacando que 70% destas virão a ter cicatrizes coriorretinianas.

Tradicionalmente pensava-se que as uveítes posteriores presumivelmente por *Toxoplasma gondii* eram decorrentes da lesão congênita reativada. Trabalhos recentes mostram que indivíduos com toxoplasmose adquirida apresentam o risco de desenvolver lesões oculares que comprometem gravemente a visão (Stehling & Orefice, 1996; Burnett *et al.*, 1998; Gilbert & Stanford, 2000.).

A lesão clássica da toxoplasmose ocular é uma retinocoroidite focal, necrosante (Zimmerman, 1961), associada a graus variáveis de comprometimento vítreo, porém recentemente novas características clínicas aparecem associadas a toxoplasmose ocular (Burnett *et al.*, 1998; Silveira *et al.*, 1991) .

1.2 Epidemiologia

Do ponto de vista epidemiológico, sabe-se que o gato é o hospedeiro completo, já que apresenta o ciclo sexuado e assexuado do toxoplasma, enquanto que outros hospedeiros como os homens são intermediários ou incompletos, ocorrendo apenas o ciclo tecidual extraintestinal assexuado.

A transmissão ocorre através dos oocistos presentes no solo, verduras mal lavadas, ou carnes mal passadas, contaminadas, especialmente as suínas. Este aspecto foi avaliado em estudo realizado por Assis *et al.* (1997), em 52 pacientes com lesões ativas supostamente toxoplásmicas nos quais o contato com animais domésticos foi relatado em 44,2% dos casos. Recente publicação faz referência a que um importante meio de transmissão estaria representado pela contaminação da água (Bahia-Oliveira *et al.*, 2003).

A transmissão transplacentária acontece quando a infecção é adquirida durante a gestação e transmitida ao feto (Perkins, 1973).

A frequência de anticorpos antitoxoplasma é elevada em quase todos os países, já que 20 a 90 % da população adulta teve contato com o parasita. A incidência da infecção no homem varia de acordo com área geográfica considerada, com os hábitos alimentares, proximidade com gatos e seus dejetos. A incidência também aumenta com a idade, não parecendo haver diferença entre sexo e raça (Frenkel, 1985; Bahia *et al.*, 1992). Nos Estados Unidos a incidência varia entre 10 a 67% da população maior de 50 anos, e no Alaska chega a 1%. No Brasil entre 50 a 80% da população adulta tem sorologia positiva para toxoplasmose. (Oréfice & Bomfioli, 2000).

A prevalência da doença no território nacional varia segundo as diversas regiões, assim no Rio Grande do Sul alcança 82%, 42% em São Paulo e 50% na Bahia (Abreu *et al.*, 1998). Em recente estudo realizado em Pernambuco, no município de Jaboatão dos Guararapes, em 196 crianças de dois a 16 anos de idade, foi observada uma prevalência de 79,1%, sendo 49,0% títulos altos de IgG anti- *T. gondii*. Ainda, das 41 (20.9%) crianças IgG negativas, quatro apresentaram IgM positiva (Malagueño *et al.*, 2002).

A toxoplasmose é uma causa importante de uveíte em diversas partes do mundo. No Brasil é responsável por aproximadamente 50% a 80% do total das uveítes (Belfort *et al.*, 1978; Jain *et al.*, 1998; Gehlen *et al.*, 1999).

Em Campos dos Goytacazes (Oréfice *et al.*, 2000), foram avaliados 1.050 indivíduos para análise da associação entre as condições socioeconômicas, a sorologia positiva 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 soro-prevalência observada. Neste mesmo trabalho a prevalência de lesões oculares foi de 10%, não havendo, portanto, diferença entre os grupos estudados.

1.3 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 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 (Fernandez *et al*, 1996).

Na doença neonatal o recém-nato 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, verificou que os danos fetais podem resultar de infecções intra-uterinas e seus efeitos podem continuar ocorrendo após 20 anos da infecção.

Toxoplasmose adquirida: A principal forma de apresentação da toxoplasmose adquirida é a subclínica, responsável por aproximadamente 70% dos casos. Os casos sintomáticos ocorrem em 30% dos pacientes, apresentando formas clínicas variadas.

As mais freqüentes são: forma ganglionar, pulmonar, neurológica e ocular.

Toxoplasmose ocular: o *Toxoplasma gondii* apresenta neurotropismo, por esta 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 retinites 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.

Cerca de 60% dos pacientes apresentam recorrências, que podem ocorrer nas margens das lesões anteriores, em áreas retinianas longe do foco primário ou no olho contralateral.

Diversas teorias têm sido invocadas para compreender as recidivas, surgindo recentemente o fator cepa e agressividade da mesma, sugerido pelos trabalhos de Araújo *et al.* (1997) que utilizando cepas diferentes de *Toxoplasma gondii* e ratos cronicamente infectados, demonstraram que a imunidade da infecção primária poderia não ser suficiente para prevenir doença e mortalidade após reinfecção. Os ratos desenvolveram a doença e morreram de toxoplasmose aguda quando reinfecados por uma cepa diferente daquela que causou a infecção primária.

A imunossupressão aumenta a frequência de recidivas, pois a redução dos linfócitos Th1 e interleucinas permite que os parasitas que emergem dos cistos se desenvolvam (Na He *et al.*, 1997).

Trabalhos recentes demonstram que a toxoplasmose adquirida, também pode vir a provocar lesões oculares (Beniz J, 1993; Gilbert & Stanford, 2000).

Burnett *et al.* (1998), observaram a primeira série de casos de toxoplasmose adquirida, com doença ocular, durante uma epidemia no Canadá.

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. A conclusão foi de que com os dados disponíveis no estudo, a estimativa que podia ser feita foi que pelo menos 2/3 dos pacientes que apresentam toxoplasmose ocular adquiriram a infecção após o nascimento e não por transmissão materno fetal.

Já na toxoplasmose adquirida, outras estruturas oculares podem ser afetadas sem apresentar retinites (Rehder *et al.*, 1988; Johnson *et al.*, 1997; Parrat *et al.*, 1999; Moraes, 1999). Estas são as chamadas formas atípicas (Oréfice & Tonelli, 1995; Adam *et al.*, 2000), sendo mais frequentes as seguintes:

- Forma punctata externa: é caracterizada pela aparição de pequenas lesões branco-cinza, multifocais.

- Neuro-retinite: são lesões ativas justadiscais, que levam ao comprometimento retiniano e do nervo óptico de maneira agressiva.

- Neurite: a papilite com relativa frequência acompanha a uma lesão de retinocoroidite. Alguns autores consideram que não se trata de uma papilite propriamente tal 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 a um foco em atividade.

- Uveíte anterior: Oréface & Tonelli (1995) descreveram o primeiro caso de toxoplasmose adquirida ganglionar associada a 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.

1.4 Características Fundoscópicas

No estudo do segmento posterior observam-se dois tipos de lesões: ativas e cicatrizais.

A lesão ativa típica é a 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 preexistente, porém, é sempre focal. O formato é oval ou circular, de tamanho variável, desde 1/10 de diâmetro discal ou “papilar” até 2 quadrantes da retina. A vitreíte pode ser importante, às vezes acompanhada de descolamento do corpo vítreo posterior. Próximo à área da lesão pode haver hemorragias, resultante da vasculite, que é predominantemente venular. Pode haver

inflamação da câmara anterior, com células e “flare”, sendo este 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, 2000).

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.

As lesões podem ser únicas, múltiplas ou satélites.

1.5 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico definitivo depende da identificação do parasita, que é feita mais facilmente durante o curso agudo da infecção, em que o taquizoíto pode ser encontrado nos líquidos orgânicos. O parasita pode ser identificado em exame

microscópico após coloração pelo método de Giemsa. Na fase crônica o parasita é encontrado de forma esporádica em cortes histológicos corados pela hematoxilina.

Outro método de laboratório é a identificação do parasita mediante a inoculação de fluidos corporais suspeitos na cavidade peritoneal de camundongos. Os parasitas se multiplicam por uma semana e são detectados mais facilmente no líquido peritoneal dos animais (Frenkel, 1997).

Sabin & Feldman (1948), deram início a era da sorologia em toxoplasmose, ao introduzir a reação do corante que leva seu nome, passando a doença a ser avaliada através de reações sorológicas.

Os testes sorológicos constituem a principal ferramenta para o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose. Através deles é possível demonstrar a presença de anticorpos específicos antitoxoplasma no soro e em outros líquidos orgânicos, como o humor aquoso. (Desmonts, 1960). A quantificação destes anticorpos e a caracterização das classes de imunoglobulinas predominantes, associadas às observações clínicas, geralmente permitem que sejam estabelecidas as fases da doença (Ongkosuwito *et al.*, 1999).

Dos diversos métodos sorológicos os mais estudados são os seguintes: as reações de Sabin e Feldman, Fixação de Complemento, Hemaglutinação Indireta, Imunofluorescência Indireta e Imunoenzimáticas (ELISA).

Uma variação da técnica de imunoensaio, é constituída pelo Western blotting ou Immunoblotting, apontada como uma contribuição importante para o diagnóstico da toxoplasmose congênita (Chumpitazi *et al.*, 1995).

O diagnóstico da toxoplasmose aguda ou ativa não está bem definido uma vez que a prevalência da infecção é alta e podem ser encontrados níveis de anticorpos elevados em populações expostas ao parasita.

Na toxoplasmose adquirida recente, os anticorpos IgG estão em clara ascensão ou mostram títulos elevados, porém, de avidéz baixa, e os anticorpos IgM, IgA e IgE, estão em geral com títulos altos. Na toxoplasmose crônica, observam-se apenas anticorpos IgG com títulos baixos, mas de alta avidéz.

Têm sido analisada a avidéz da IgG no soro, com o objetivo de diferenciar infecção recente de crônica. 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.

Existe uma fase intermediária da toxoplasmose que apresenta anticorpos IgM com títulos baixos e pode haver anticorpos IgA. Títulos de IgG baixos podem representar fase crônica da doença, ou uma infecção muito recente. A elevação do título sugere a presença de infecção aguda, em cujo caso geralmente aparece aumento de IgM. A permanência de títulos baixos indica processo crônico (Oréfice, 2000).

A detecção de IgM específica no plasma tem sido utilizada para demonstrar toxoplasmose adquirida recente ou congênita. Geralmente aparece na primeira semana após a infecção, alcançando o pico com um mês para desaparecer ao redor dos nove meses. De acordo com Francis *et al.* (1993), pode ser encontrada elevada

até um ano após a infecção se os métodos utilizados forem sensíveis. O mesmo autor destaca que a IgA específica no soro aparece geralmente duas a quatro semanas após a primoinfecção, com pico em redor do segundo a terceiro mês, desaparecendo após sete a nove meses.

Após o tratamento, os níveis de anticorpos tendem a uma redução. Mas em alguns casos, persistem títulos elevados mesmo com o desaparecimento da sintomatologia clínica.

Na toxoplasmose ocular, geralmente não há correlação entre os níveis de anticorpos sericos 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, 2000). 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, 1966; 1973). A equação para o cálculo e resultados sugeridos pelo autor pode ser observada a seguir.

COEFICIENTE DE DESMONTS

(Título de anticorpos no humor aquoso) **X** (IgG total no soro.)

÷

(Títulos de anticorpos no soro) **X** (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 deste exame é necessária a punção da câmara anterior para coleta de humor aquoso, procedimento que tem risco de complicações como infecção intra-ocular ou lesão de estruturas oculares.

Bornard & Gottrau (1997), analisaram soro e humor aquoso de 90 pacientes, medindo o coeficiente de Desmouts 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. A análise do humor aquoso se mostrou mais eficiente do que a análise de anticorpos no soro para diagnóstico de toxoplasmose ocular.

Atualmente tem-se proposto à utilização da PCR (“Polymerase Chain Reaction”) que permite a identificação do DNA específico do parasita em amostras

de humor aquoso e corpo vítreo, sendo de utilidade para diagnóstico de toxoplasmose ocular (Kasumi *et al.*, 1996; Bornand & Gottrau, 1997; Jones *et al.*, 2000).

Gargew *et al.* (1998), analisaram o humor aquoso e soro de 27 pacientes. Foram encaminhados para 2 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. 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. A presença de DNA de *T. gondii* foi determinada por PCR. Em 88 dos 155 pacientes foi diagnosticado o toxoplasma. Entre estes 88 pacientes, 65% apresentaram produção de IgG intraocular, 52 % produção de IgA intraocular, 37,5% apresentaram produção de IgG e IgA, 27% tiveram só produção de IgG e 15% só produção de IgA. Apenas um dos 13 pacientes testados apresentou produção de IgM. Concluíram que a IgG está presente com maior frequência na resposta humoral contra o toxoplasma, seguido por IgA. A determinação de IgA mostrou ser útil como teste adicional para diagnóstico de toxoplasmose ocular.

Estudos mostram que a medida da IgA específica para *Toxoplasma gondii* no humor aquoso contribui substancialmente para o diagnóstico da doença ocular (Katina *et al.*, 1992; Ronday *et al.*, 1999; Garweg *et al.*, 1998; 2000). Considera-se a presença simultânea de anticorpos IgA e IgM antitoxoplasma como um indicador

de infecção recente. Um método de imunocaptura que permite a detecção simultânea destes anticorpos é o ISAGA (IgA /IgM).

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

Diversos estudos supracitados mostram que a mensuração da IgA anti-*T. gondii* no soro e no humor aquoso, contribui substancialmente para o esclarecimento diagnóstico da doença ocular.

Em humanos, uma outra linha de investigação tem procurado verificar a relação entre a resposta imune das mucosas com a infecção por *T. gondii*.

Mack & McLeod (1992), demonstraram que 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.

É do conhecimento das ciências básicas da oftalmologia que o bulbo ocular encontra-se coberto por uma membrana mucosa denominada conjuntiva e uma camada aquosa denominada filme lacrimal, sendo este filme produto do sistema secretor lacrimal. Dito sistema está formado pela glândula lacrimal principal e pelas glândulas acessórias, essas últimas distribuídas na substância própria da conjuntiva. Ainda participam na produção do filme lacrimal, glândulas produtoras de lipídeos (*Meibomius, Moll e Zeis*) localizadas nas pálpebras e células que produzem mucina, dispostas na superfície conjuntival (Brong & Kara-José, 1997).

As glândulas lacrimais secretam proteínas, nutrientes, hormônios, fatores de crescimento e imunoglobulinas, em forma de uma solução eletrolítica

aproximadamente isotônica, constituindo assim a primeira e importante barreira defensiva e protetora ocular (Holly, 1977).

As imunoglobulinas são moléculas protéicas sintetizadas pelos plasmócitos, responsáveis pela imunidade humoral. Nas lágrimas podem ser encontradas IgG, IgD, IgE e IgA (Ballow *et al.*, 1983). A imunoglobulina A é sintetizada nos folículos linfáticos, localizados tanto na conjuntiva quanto na glândula lacrimal.

A imunoglobulina A é responsável por cinco a 10% de todas as proteínas plasmáticas nos adultos normais. Apresenta vida média de sete dias e é sintetizada em média de oito a dez mg/dia. A vida média curta e os baixos níveis de síntese são responsáveis pelos baixos níveis plasmáticos. A concentração de IgA em secreções externas é maior que a encontrada no plasma. Cada molécula de IgA secretora está formada por duas moléculas de IgA unidas por uma proteína conhecida como “componente secretor”, produzido pelo epitélio conjuntival (Liu, 1981). A IgA sintetizada nos folículos linfáticos e plasmócitos da conjuntiva, atravessa as células epiteliais em direção à superfície onde é acoplado o componente secretor. Uma vez na superfície o componente secretor protege a imunoglobulina da ação das enzimas presentes no filme lacrimal. A IgAs não fixa complemento e parece agir principalmente na superfície da conjuntiva. 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).

Este mecanismo imunológico, combinado com um ativo sistema fagocitário e de lisozimas no filme lacrimal, forma a primeira linha de defesa do bulbo ocular contra invasão microbiana e estabelecimento de processos infecciosos (Settipane *et al.*, 1965).

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*.

Pelo exposto nesta introdução fica claro que os testes sorológicos constituem uma importante ferramenta para o esclarecimento diagnóstico da uveíte posterior presumivelmente toxoplásmica. A determinação de imunoglobulinas IgG, IgM, IgE e IgA no plasma ou no humor aquoso foram, até a presente data, bastante estudadas. Por outro lado é patente também a participação das membranas mucosas, inclusive a ocular, à exposição pelo *T. gondii*, pois a IgAs na lágrima tem sido detectada em indivíduos expostos.

Neste contexto justifica-se o estudo da associação entre uveíte posterior presumivelmente toxoplásmica e IgAs específica na lágrima, bem como a variação na reatividade da mesma, contribuindo assim, com um novo indicador laboratorial para o esclarecimento da toxoplasmose ocular.

2 HIPÓTESE

Existe associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* e a presença de IgA secretora antitoxoplasma na lágrima, com variação da intensidade na reação da mesma?

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Verificar associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* (UPAPT), e presença de IgA secretora anti - *T. gondii* na lágrima, bem como a variação da intensidade na reação da mesma.

3.2 Específicos

- Determinar a presença de IgAs antitoxoplasma na lágrima dos portadores de uveíte posterior ativa, presumivelmente por *Toxoplasma gondii*.

- Determinar a variação da intensidade de reação da IgAs antitoxoplasma na lágrima dos portadores de uveíte posterior ativa, presumivelmente por *Toxoplasma gondii*.

4 CASUÍSTICA E MÉTODO

4.1 Desenho do Estudo

Considerando que o objetivo do presente trabalho foi verificar a presença de IgAs específica na lágrima, estudando a variação da intensidade na reação da mesma, nos indivíduos portadores de UPAPT, bem como em indivíduos expostos sem doença ocular, além da descrição de um indicador laboratorial para esclarecimento diagnóstico, optou-se por um estudo do tipo caso – controle.

4.2 Definição de Termos

4.2.1 Definição de Casos

Foram considerados como “Casos” os indivíduos portadores de UPAPT, pela oftalmoscopia binocular indireta, maiores de dez anos, independente de sexo ou domicílio, referidos ao ambulatório de oftalmologia do Hospital das Clínicas da UFPE, estabelecimento onde foi realizada a pesquisa.

Constituiu-se em padrão ouro o fundo de olho daqueles indivíduos portadores de lesões retinocoroideanas cicatrizadas, com margens bem definidas, sinais sugestivos de hipertrofia e de atrofia do epitélio pigmentário, acompanhada de lesão satélite com atividade inflamatória, graus variáveis de vasculite retiniana e compromisso vítreo, associada ou não a comprometimento das estruturas do pólo anterior.

Na figura 1 apresenta-se um exemplo do padrão ouro utilizado no estudo, As retinografias mostradas são de pacientes que participaram do mesmo.

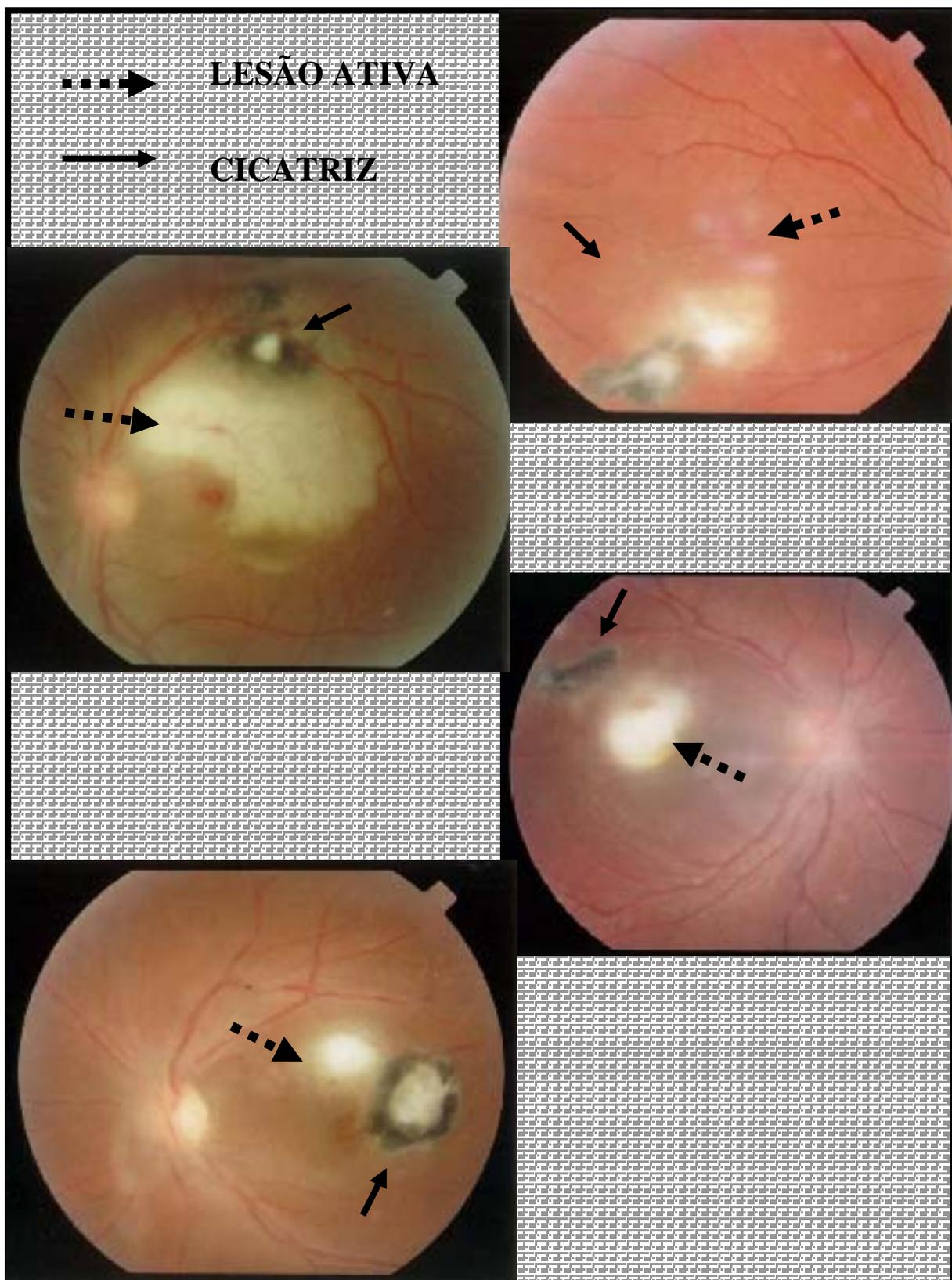


FIGURA 1- Retinografias de pacientes participantes do estudo com lesões padrão ouro de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii*, atendidos no HC da UFPE em 2002.

4.2.2 *Definição de Controles*

Foram considerados como controles indivíduos saudáveis, sem doença ocular, portadores de reação sérica para IgG anti - *T. gondii*, que foram referenciados pelos pacientes considerados como “casos”. Deu-se preferência a parentes ou moradores da mesma localidade, independente do sexo, e que aceitaram voluntariamente comparecer ao Hospital das Clínicas da UFPE para participar do estudo.

4.2.3 *Critérios de Exclusão*

Foram excluídos do estudo aqueles casos cujo exame clínico oftalmológico apresentava características semiológicas diferentes das descritas como padrão ouro, bem como indivíduos que vinham fazendo uso de corticóides por via oral, ou fossem portadores de doença caracterizada por imunodeficiência de qualquer tipo.

Foram excluídos dos controles todos os indivíduos IgG anti - *T. gondii* negativos e aqueles portadores de doença ocular.

4.2.4 *Variáveis Biológicas e Procedência*

Foram consideradas as variáveis biológicas (sexo, idade e cor da pele) e procedência dos indivíduos participantes do estudo.

Sexo:

- feminino;
- masculino.

Idade: A categorização dos grupos etários foi feita de acordo com a orientação da OMS (Colli, 2002) em Infantes, Adolescentes e Adultos. Como deste trabalho não participaram menores de 10 anos, foi eliminado o grupo dos infantes. Os indivíduos de 10 a 20 anos foram categorizados como adolescentes, e acima de 20 anos como adultos. Os participantes foram distribuídos em três grupos particulares:

- 10– 20 anos.
- 21 – 30 anos.
- 31 anos ou mais.

Cor da pele:

- branca.
- não branca.

Procedência: corresponde ao lugar onde o caso/controlado tem seu domicílio. Foi utilizada a classificação do IBGE (IBGE, 2003) 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 do Estado de Pernambuco.

Categorização:

- área metropolitana.
- interior.

Sendo a UPTAP um agravo a saúde reconhecida pela sua importância do ponto de vista visual e social, pretendeu-se no presente estudo avaliar características que

viessem a aportar elementos para o conhecimento desta doença na região estudada (Anexo A).

4.3 Amostra

4.3.1 Tipo de Amostragem

Foi utilizada amostragem não probabilística, do tipo “conveniência”, selecionando os indivíduos a partir da presença ou ausência da UPAPT (Pereira, 2000).

4.3.2 Definição do Tamanho da Amostra

O cálculo do tamanho da amostra para este estudo de caso-controle foi definido a partir dos seguintes parâmetros;

-1. A prevalência de imunoglobulina A secretora na lágrima foi estimada com base nos 15 primeiros controles do presente estudo e calculada em 20% (200 casos por mil), em face a inexistência de dados confiáveis na literatura revisada.

-2. Magnitude de associação entre o fator de risco (UPAPT) e presença de IgAs anti-*T.gondii* na lágrima, estimada por meio do “odds ratio”. A partir do modelo estabelecido hipotetizou-se uma diferença marcante entre os dois grupos, sendo assim arbitrou-se um odds-ratio = 5.

-3. Erro do tipo I ou erro Alfa: representa a probabilidade de, não havendo associação entre UPAPT e IgAs anti-*T. gondii* na lágrima, esta seja “falsamente” demonstrada. Com o valor de alfa = 0.05, essa probabilidade é de 5%. Aceitável, para a maioria dos trabalhos científicos onde essa metodologia foi usada.

-4. Erro tipo II ou erro Beta, que representa a probabilidade de que havendo associação entre UPAPT e IgAs anti-*T. gondii* na lágrima, esta não seja detectada. Foi estabelecido um valor de beta= 20%, que corresponde a um “power” de 80%. Representando o “power” a probabilidade de detectar um resultado significativo, se a associação de fato existe.

Os cálculos foram feitos com ajuda do programa estatístico Epi Info versão 6.04 Janeiro 1997. O tamanho da amostra estimado foi de 26 casos e de 52 para os controles, distribuídos na proporção de 1:2 mostrando um total de 78 indivíduos.

4.4 - Padronização de técnicas

4.4.1 Diagnóstico Clínico

Tanto os casos como os controles foram atendidos no ambulatório do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco.

Foi elaborado previamente um formulário específico para a coleta de dados, nesta pesquisa de acordo com os objetivos estabelecidos (Anexo B). Neste protocolo foram anotadas as informações obtidas por meio da anamnese e exame

clínico, assim como os resultados dos exames de laboratório e evolução do paciente.

O diagnóstico dos pacientes portadores da doença ocular foi realizado por um retinólogo e confirmado independentemente por outro especialista em retina e uveítes, por meio de oftalmoscopia binocular indireta. Para isto utilizou-se oftalmoscópio binocular indireto marca Keller e lente de vinte dioptrias, da marca Nikon estando os pacientes sob midriasis medicamentosa com colírios de fenilefrina a 10% e tropicamida a 1%, tendo –se os cuidados de prevenção dos efeitos colaterais destas drogas.

Todos os indivíduos portadores de UPAPT foram submetidos a documentação fotográfica colorida da lesão como preconizado para prática clínica. Todos os exames retinográficos foram realizados com uma retino-câmara marca Topcon, de fabricação japonesa.

4.4.2 *Coleta das Amostras*

Coleta da amostra do sangue: foi coletada uma amostra de 10 ml de sangue venoso de todos os participantes no estudo para obtenção do soro que foi congelado a -20°.

Coleta da amostra da lágrima: para análise da IgAs na lágrima foi coletada lágrima utilizando fita de papel filtro nº 4 A marca Toyo, de 5.0 cm de comprimento x 0.5 cm de largura. O papel foi dobrado 0,5 cm antes da ponta terminal, para ser inserido no terço externo da pálpebra inferior, sendo retirada

após cinco minutos. As amostras foram congeladas após coleta, para posterior análise, e padronizadas de acordo ao peso, sendo este de 0,06 mg.

4.4.3 Método Imunoenzimático

Preparação do antígeno: foram infectados camundongos Balb/c, por injeção intraperitoneal, com a cepa RH do *Toxoplasma gondii*. Após uma semana foi retirado 500 µL de líquido ascítico dos camundongos. Os animais foram sacrificados, e o líquido obtido foi submetido centrifugação. Os parasitas foram lavados com tampão PBS 0,01 M, pH 7,2 e posteriormente submetidos a rupturas por congelamentos sucessivos, para obter extrato bruto de *Toxoplasma gondii* o que foi coletado e armazenado a - 4°C. A seguir foi determinada a concentração protéica utilizando o método de Sedmack (1977).

Ensaio imunoenzimático (ELISA): a pesquisa dos anticorpos IgM, IgG, IgA e IgAs na lágrima, foi realizada por meio do ensaio imunoenzimático ELISA, descrito por Engvall & Perlmann (1971), modificado. As placas utilizadas foram do tipo NUNC polysorbent contendo 96 poços. As placas foram sensibilizadas com 50 µL (8µg/mL) de antígeno do extrato bruto de *Toxoplasma gondii* diluído em tampão carbonato bicarbonato 0.05 M, pH 9. 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 interensaios. O valor do ponto de corte foi determinado pela média aritmética mais

dois desvios padrões, das densidades ópticas das amostras dos soros dos controles negativos.

Como controle da qualidade do ensaio e do antígeno utilizado foi realizado paralelamente ELISA com o Kit comercial *Captia Toxoplasma gondii IgG* da Trinity Biotech, seguindo rigorosamente as instruções fornecidas pelo fabricante.

No caso específico da IgM, as amostras foram submetidas também a confirmação do resultado obtido pelo método de ELISA, utilizando o método de Imunofluorescência de acordo com a técnica descrita por Camargo em 1964, considerando positivo a partir da diluição 1/16.

A medida da exposição ao *Toxoplasma gondii*, foi avaliada por meio da análise das absorbâncias de IgG no soro, dos casos e dos controles. Procedimento semelhante foi utilizado para as outras imunoglobulinas.

A determinação e mensuração de níveis séricos de IgG, IgM e IgA anti-*T. gondii* dos casos e dos controles, foram realizados no laboratório do setor de Imunologia do LIKA-UFPE.

4.4 Processamento e análise de dados

As variáveis foram categorizadas e agrupadas para efeito de análise, em relação a variável dependente, neste caso a UPAPT.

Para análise foi utilizado o programa Epi Info versão 6.04, 1997.

Foi analisada a associação da variável independente (presença de IgAs secretora anti-*T. gondii*) com UPAPT, por meio da tabela 2x2. A magnitude da

associação foi expressa através da “razão dos produtos cruzados” ou “odds ratio”, sendo realizado também análise estratificada. Para avaliar a significância estatística dos resultados encontrados, foi utilizado o intervalo de confiança dos “odds ratios” estimados e o teste do “Qui quadrado” (χ^2), sendo considerado significativo o valor de $p = 0.05$.

O índice Kappa foi aplicado para analisar concordância entre os valores obtidos de IgA sérica específica e IgA secretora específica na lágrima.

Escala de concordância Kappa (Pereira,2000)

KAPPA	CONCORDÂNCIA
< 0,00	RUIM
0,00 – 0,20	FRACA
0,21 – 0,40	SOFRÍVEL
0,41 – 0,60	REGULAR
0,61 – 0,80	BOA
0,81 – 0,99	ÓTIMA
1,00	PERFEITA

Ainda para verificar a validade da determinação da IgAs anti-*T. gondii* nos portadores de UPAPT, foi determinada a sensibilidade e especificidade do teste por meio da tabela 2x2, específica para este fim (Pereira, 2000), a que pode ser observada a seguir.

Avaliação da validade de um teste diagnóstico

	Doença presente	Doença ausente	Total
Teste positivo	Verdadeiro positivo a	Falso positivo b	a + b
Teste negativo	Falso negativo c	Verdadeiro negativo d	c + d
Total	a + c	b + d	N

$$N = n^{\circ} \text{ total de examinados} = a + b + c + d$$

$$\text{Sensibilidade} = a/a+c$$

$$\text{Especificidade} = d/b+d.$$

4.5 Questão “viés”

O maior problema em potencial de um estudo tipo caso-controle é o fato de que, no momento em que os indivíduos são admitidos no estudo, tanto a exposição como a doença já teve início e por isso o desenho é susceptível a viés (distorção sistemática que pode ocorrer na seleção dos pacientes, na obtenção de informações ou por fatores de confundimento). O viés de seleção traz falhas na categorização e podem ocorrer com relação ao efeito ou à exposição. A UPATP foi o efeito estudado neste trabalho. Este viés foi minimizado, porque o diagnóstico dos pacientes portadores de UPATP foi realizado por um profissional e confirmado de forma independente por outro especialista em doenças da retina e úvea.

Da mesma maneira, para contornar o viés de seleção dos controles, cada paciente foi convidado a trazer dois indivíduos, preferencialmente do grupo familiar, para participar em forma voluntária do estudo.

Para controlar o viés exposição, que provocaria erros de classificação, foi realizada a determinação sorológica de IgG anti-*T. gondii*, sendo incluídos no estudo todos aqueles que apresentavam reação IgG anti-*T. gondii* positiva, o que representa contato com o parasita. As avaliações dos testes imunológicos foram independentes e cegos, todos realizados no mesmo laboratório.

Viés de mensuração: Sempre que possível o investigador deve desconhecer quais indivíduos têm a doença e quais não têm, para evitar indução na interpretação dos resultados. Desde que se trata de um padrão ouro definido pela clínica, a seleção dos casos foi inicial. Para contornar este viés, os testes de laboratório de todos os indivíduos participantes da pesquisa foram cegos..

Viés de confusão: chama-se assim a uma distorção no resultado numérico da análise, causada por uma outra variável, presente simultaneamente nas variáveis que medem a associação entre exposição e doença. Neste estudo sexo e faixa etária poderiam criar distorção entre UPAPT e IgAs anti-*T. gondii* da lágrima. Para controlar este viés foi realizada análise estratificada.

4.6 Considerações éticas

O projeto de pesquisa que deu origem a este estudo foi submetido à avaliação e análise pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da

Universidade Federal de Pernambuco, em dezembro de 2001, sob o protocolo nº 202/2001-CEP/CCS.(Anexo C) Os participantes da pesquisa assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo C).

5 RESULTADOS

Foram estudados 75 pacientes, distribuídos em 25 casos e 50 controles, no Hospital das Clínicas (HC) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), no período de janeiro a dezembro do ano 2002.

Em relação ao sexo foi observado que dos 75 pacientes estudados, 26 eram do sexo masculino, representando 34,7% da casuística, sendo 49 do sexo feminino (65,3%). Nos casos o sexo masculino esteve presente em 52,0% e o sexo feminino em 48,0%. Nos controles o sexo masculino foi observado na proporção de 26,0% e o feminino 74,0%. Em relação ao sexo o risco UPAPT mostrou-se três vezes maior nos homens quando comparados com as mulheres, sendo à associação estatisticamente significativa ($p= 0,025$).

Os dados descritos podem ser observados na tabela 1 e figura 2.

TABELA 1 – Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles por sexo, atendidos no HC da UFPE, em 2002. “Odds- ratio” (OD) e intervalo de confiança (IC) de 95%.

Sexo	UPAPT				OD	IC de 95%
	Casos		Controles			
	n	%	n	%		
Masculino	13	52,0	13	26,0	3,08	1,01- 9,59
Feminino	12	48,0	37	74,0	1*	

$\chi^2 = 4,97$ $p = 0,025$ Total de pacientes = 75

* Nível de referência do OD.

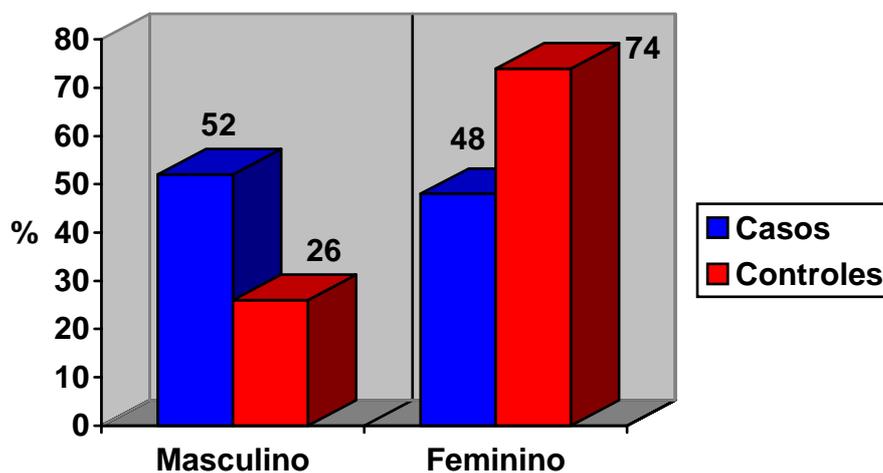


FIGURA 2- Distribuição percentual por sexo dos 25 casos e 50 controles atendidos no HC da UFPE, em 2002.

Em relação á faixa etária, os dados mostraram um predomínio de indivíduos jovens, evidenciando que 80,0% dos casos e 44,0% dos controles encontram-se na faixa de 10 a 30 anos. Na faixa de 31 anos ou mais houve 20,0% de casos e 56,0% dos controles. A associação UPAPT e distribuição por idade mostraram que os indivíduos entre 21 a 30 anos apresentam risco 1,94 vezes maior que as outras faixas de idade de apresentar a doença ocular em estudo, porem este valor não foi estatisticamente significativo.

Estes dados podem ser observados na tabela 2.

TABELA 2– Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles segundo faixa etária, atendidos no HC da UFPE, em 2002. “Odds - ratio” (OD), intervalo de confiança (IC) de 95% e valor de “p”.

Faixa etária	UPAPT				OD	IC de 95%	“p”
	Casos		Controles				
	n	%	n	%			
10 a 20	6	24.0	10	20.0	1*		
21 a 30	14	56.0	12	24.0	1,94	0,46- 8,47	0,302
31 ou mais	5	20,0	28	56,0	0,30	0,06-1,44	0,078
Total de pacientes = 75		$\chi^2 = 9,96$	gl=2	* Nível de referência do OD.			

Em relação à cor da pele foi verificado que 72,0% dos portadores de UPAPT foram de cor branca e 28,0% não brancos. Nos controles verificou-se que 62,0% eram de cor branca e 38,0 cor não branca. A associação cor de pele e UPAPT não mostrou valores estatisticamente significantes.

TABELA 3 – Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles de acordo com a cor da pele, atendidos no HC da UFPE, em 2002. “Odds-ratio” (OD) e intervalo de confiança (IC) de 95%.

Uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica						
Cor da pele	Casos		Controles		OD	IC de 95%
	n	%	n	%		
Branca	18	72,0	31	62,0	1.58	0,5-5,11
Não branca	07	28.0	19	38.0	1*	

$\chi^2 = 0.36$ $p = 0.548$ Total de pacientes = 75

*Nível de referência do OD.

Quando analisada a procedência foi observado que a área metropolitana registrou domicilio para 80,0% dos portadores de UPAPT e 82,0% dos controles, enquanto que no interior do Estado de Pernambuco apareceram registrados 20,0% dos casos e 18,0% dos controles. Não houve associação significativa entre procedência e presença de UPAPT.

Os dados descritos podem ser observados na tabela 4.

TABELA 4 – Distribuição percentual e numérica dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e controles, atendidos no HC da UFPE, em 2002, segundo a procedência. “Odds - ratio” (OD) e intervalo de confiança (IC) de 95%.

Procedência	UPAPT				OD	IC de 95%
	Casos		Controles			
	n	%	n	%		
Área Metropolitana	20	80,0	41	82,0	0,88	0,23-3,51
Interior	05	20,0	09	18,0	1*	

$\chi^2 = 0,04$ $p = 0,83$ Total de pacientes = 75 *Nível de referência do OD.

- Foi analisado o “odds-ratio” bruto entre os portadores de UPAPT e os controles clinicamente sadios em relação a IgAs na lágrima, observando-se um “odds-ratio” = 18,61 (IC: 4,59 - 82,8 de 95.0%) sendo $p=0.0001$. Estes dados podem ser observados na tabela 5.

TABELA 5 – “Odds – ratio” (OD) bruto, intervalo de confiança (IC) de 95% para associação uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica (UPAPT) e IgAs anti - *T. gondii* da lágrima, dos pacientes atendidos no HC da UFPE, em 2002.

IgAs na lágrima anti - <i>T. gondii</i>	UPAPT				OD	IC de 95%
	Casos		Controles			
	n	%	n	%		
Positivo	21	84,0	11	22,0	18,61	4,59-82,8
Negativo	04	16,0	39	78,0	1*	

$\chi^2 = 26,19$ $p = 0,0001$ Total de pacientes = 75 * Nível de referência do OD.

Estratificando-se por sexo o “odds-ratio” ajustado foi de 16,73 (IC = 4,66 – 60,09 de 95%). Para estratificação por faixa etária foram agrupados os indivíduos de 10 a 30 anos de idade e 31 anos ou mais. Foi visto na análise estratificada que o “odds-ratio” ajustado por idade foi de 20,60 (IC = 5,02 – 84,56), sendo, portanto semelhante ao “odds-ratio” bruto.

- Foi avaliada sensibilidade e especificidade do teste de mensuração da IgAs anti - *T. gondii* na lágrima, constatando sensibilidade de 84.0% e especificidade de 78.0%, segundo pode ser observado na tabela 6.

TABELA 6- Avaliação de sensibilidade e especificidade do teste de IgAs anti - *T. gondii* na lágrima, nos pacientes portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica e controles, atendidos no HC da UFPE, em 2002.

IgAs na lágrima anti - <i>T. gondii</i>	Uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica		Total
	Presente	Ausente	
Positivo	21	11	32
Negativo	04	39	43
Total	25	50	75

Sensibilidade= 84.0 %

Especificidade = 78.0%.

- Foi avaliada a média aritmética das absorbâncias de IgG no soro dos participantes no estudo. Os dados mostraram que a média aritmética foi maior nos casos que nos controles, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. (p = 0.082).

- Em relação à média aritmética das absorvâncias de IgA no soro, foi verificada reação mais intensa nos casos quando comparados com os controles, sendo estes estatisticamente significantes ($p=0.040$), situação análoga a encontrada na IgAs anti-*T. gondii* da lágrima ($p=0.007$).

Os dados descritos podem ser observados na tabela 7 e figura 3.

TABELA 7 – Média das absorvâncias de IgG, IgA no soro e IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por toxoplasma e controles, atendidos no HC da UFPE, em 2002. Desvio padrão e valor de “p”.

Imunoglobulina	Casos	Desvio padrão	Controles	Desvio padrão	“p”
IgG específica	1,308	0,373	1,119	0,435	0,082
IgA sérica específica	0,663	0,175	0,574	0,217	0,040
IgA secretora específica	0,370	0,390	0,188	0,244	0,007

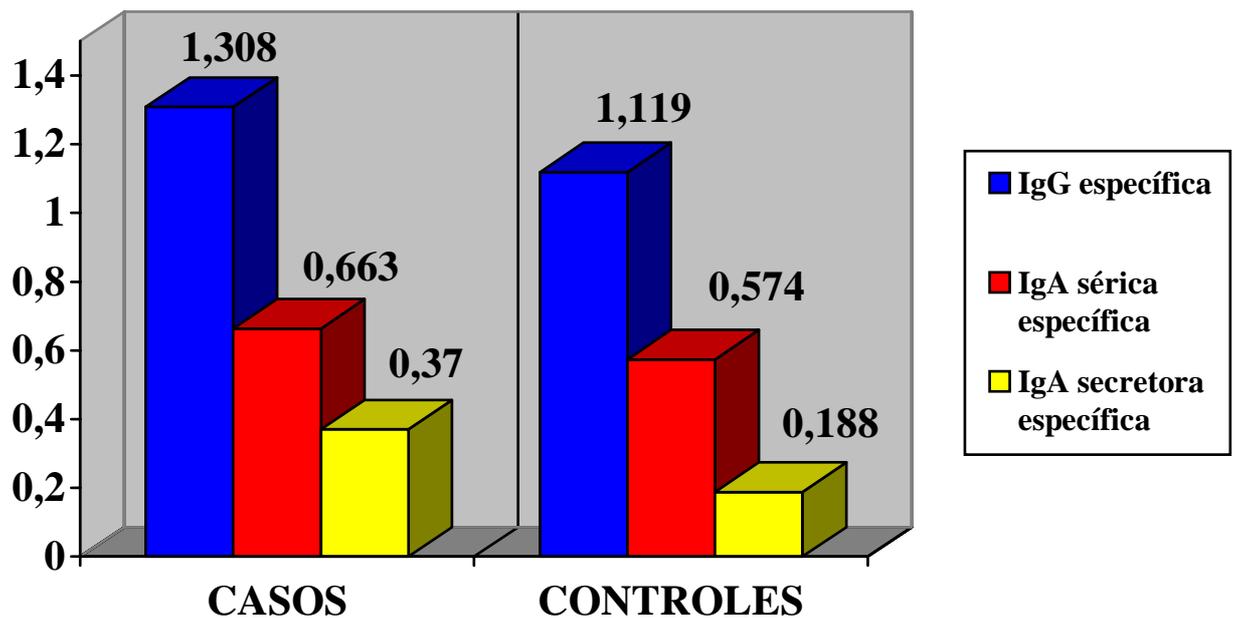


FIGURA 3 - Média das absorvâncias de IgG, IgA no soro e IgAs anti-*T. gondii* da lágrima nos casos de uveíte posterior ativa, presumivelmente por *T. gondii*, e controles, atendidos no HC da UFPE, ano 2002.

- Em relação a IgM os 75 indivíduos participantes do estudo, não foram reagentes, tanto no teste de ELISA quanto na imunofluorescência.

- Os resultados estatísticos das respostas imunológicas dos casos e dos controles em relação aos níveis de IgA no soro e IgAs anti-*T. gondii* na lágrima, classificando as respostas em positivas e negativas segundo a presença ou ausência de reação no imunoensaio (ELISA), mostraram que 21 dos casos (84.0%) apresentaram IgAs anti-*T. gondii* na lágrima positiva, sendo negativa esta imunoglobulina em quatro casos (16.0%). Todos os casos foram IgA sérica anti *T. gondii* reagentes.

Em relação aos controles pode-se verificar que 22.0% apresentaram IgAs anti-*T. gondii* na lágrima e destes, 6 casos (12.0%) mostraram também IgA anti-*T. gondii*.

gondii no soro, no entanto 5 (10%) deles não reagiram. Ainda foi constatado que dos 39 (78.0%) controles que não apresentaram IgAs anti *T. gondii* na lágrima, 20 (40.0%) também foram IgA anti- *T. gondii* negativas e 19 (38.0%) apresentaram esta imunoglobulina.

Estes dados podem ser observados nas tabela 8 e 9.

TABELA 8- Frequência percentual e numérica de reatividade (positiva/negativa) de IgA e IgAs anti-*T. gondii* no soro e lágrima dos indivíduos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica, atendidos no HC da UFPE, em 2002.

Casos

IgA no soro	IgAs na lágrima				Total n
	Positiva		Negativa		
	n	%	n	%	
Positiva	21	84,0	04	16,0	25
Negativa	00	00	00	0,0	00
Total	21	84,0	04	16,0	25

-  IgAs na lágrima
-  IgA no soro
-  Intersecção de ambas

TABELA 9- Freqüência percentual e numérica de reatividade (positiva/negativa) de IgA e IgAs anti-*T. gondii* no soro e lágrima nos indivíduos controles (sem doença ocular), atendidos no HC da UFPE, em 2002.

Controles

IgA no soro	IgAs na lágrima				Total n
	Positiva		Negativa		
	n	%	n	%	
Positiva	06	24,0	19	76,0	25
Negativa	05	20,0	20	80,0	25
Total	11	22,0	39	78,0	50

-  IgAs na lágrima
-  IgA no soro
-  Intersecção de ambas

- Foi analisado o índice de concordância “kappa” entre a IgA no soro e a IgAs anti-*T. gondii* na lágrima, a partir da presença (positiva) ou ausência (negativa) da reação imunológica nos 75 indivíduos. Estes dados podem ser vistos na tabela 10. O “kappa” obtido foi não significativo = 0.238. (0.21 – 0.40 →sofrível).

TABELA 10 – Distribuição percentual e numérica dos casos e controles positivos e negativos de IgA no soro e IgAs anti-*T. gondii* na lágrima, atendidos no HC da UFPE, ano 2002, para cálculo de “kappa”.

IgA no soro	IgAs na lágrima				Total n
	Positiva		Negativa		
	n	%	n	%	
Positiva	27	36,0	23	30,6	50
Negativa	5	6,60	20	26,6	25
Total	32	42,6	43	57,23	75

“Kappa” = 0.238 (0.21 – 0.40 →sofrível)

 IgAs na lágrima

 IgA no soro

 Intersecção de ambas

6 DISCUSSÃO

A toxoplasmose ocular representa entre 30 a 50 % de todas as uveítes posteriores (Belfort *et al.*, 1978; Jain *et al.*, 1998; Gehlen. *et al.*, 1999), e apesar das descobertas de novas etiologias para as uveítes, a proporção de toxoplasmose ocular continua importante. Quando os sinais típicos estão presentes o diagnóstico é fácil e de predomínio clínico. A presença de uma lesão branco-amarelada com uma cicatriz adjacente pigmentada e perivasculitis orienta fortemente o diagnóstico de toxoplasmose ocular. Porém, existem outros aspectos clínicos possíveis e o diagnóstico diferencial inclui várias helmintíases, viroses, bacterioses (sífilis, tuberculose) e micoses. Nestes casos a identificação do agente infeccioso se impõe para tratar o paciente corretamente. Os exames sorológicos proporcionam valiosa informação, mais na grande maioria dos casos o diagnóstico etiológico da doença não pode ser efetivado, por impossibilidades clínicas, cirúrgicas ou laboratoriais. Predominam assim os aspectos fundoscópicos, que são os que mais correlações histopatológicas possuem com a doença. Foi criado então, o termo “toxoplasmose presumível”, o que vêm a mostrar a incerteza.

Os exames sorológicos apresentam boa sensibilidade, porém baixa especificidade, já que inquéritos epidemiológicos mostram alta freqüência de sorologia positiva na população geral, alcançando níveis de 20 a 90% (Frenkel,

1985; Bahia *et al.*, 1992), razão pela qual aconselha-se utilizar combinações de exames para obter maior grau de segurança. Foi assim que Desmonts introduziu em 1960 um método para analisar a relação de anticorpos anti-*T. gondii*, produzidos nos líquidos intraoculares e os anticorpos produzidos no soro, porém os falsos positivos e falsos negativos com freqüência constituem um problema diagnóstico. (Desmonts, 1966). Atualmente trabalhos orientam (Bornard & Gouttrau, 1997; Jones *et al.*, 2000), que a amplificação genômica de agentes infecciosos no humor aquoso ou corpo vítreo, através do PCR proporciona uma alta especificidade, complementando o método proposto por Desmonts.

Os métodos descritos são invasivos, na medida que precisam de punção ocular para obtenção de fluidos ou tecidos oculares.

Dos 25 pacientes com UPAPT não houve diferença percentual destacável em relação ao sexo, sendo 52% pacientes do sexo masculino e 48% do sexo feminino, já à associação sexo e UPAPT mostrou ser 3 vezes maior no sexo masculino quando comparado com o sexo feminino, porém é importante destacar a influência do tamanho da amostra, nesta associação. Estes resultados diferem de autores como Sebben *et al.* (1995), que estudaram 153 pacientes portadores de toxoplasmose ocular num período de 10 anos, em Guaraporé, encontrando 54% de mulheres e 46% homens. Assis Júnior *et al.* (1997), estudaram 52 casos com lesões ativas supostamente toxoplásmicas em Belo Horizonte num período de 19 meses encontrando predomínio do sexo feminino com 61.5%.

Diante os resultados comentados, parece ser que a toxoplasmose ocular não mostra clara preferência por comprometer a um sexo determinado, desde que a discreta predominância de alguns estudos pelo sexo feminino poderia estar

influenciada pela população geral, composta por 50,8% de mulheres, em tanto que os homens participam com 49,2%, segundo dados do censo 2000, realizado pelo IBGE.

Considerando o predomínio feminino (74%) nos controles, este poderia ser explicado porque a mulher atende mais facilmente a chamado para atendimento médico, já seja pela facilidade de acesso proporcionada nesta circunstância, ou por temor de vir a contrair a doença do familiar comprometido. Outro aspecto a ser considerado é que os homens apresentam maiores dificuldades para ausentar-se do local de trabalho.

Em relação à idade, os trabalhos destacam que a toxoplasmose é uma doença de jovens. Neste estudo foi possível comprovar este fato, desde que 80.0% dos casos apresentaram idade entre dez a 30 anos, sendo que nos controles 44,4 % estiveram distribuídos na mesma faixa etária. Dos trabalhos citados, Sebben & Melamed (1995), encontraram lesões ativas na faixa de 20 e 29 anos em 43% dos indivíduos, já Assis Júnior *et al.* (1997), destaca que 77% dos pacientes tinham idade igual ou inferior a 30 anos. Hogan *et al.* (1964), encontraram 70% dos casos entre dez e 39 anos de idade. Melamed (1991), relatou 74% dos casos entre dez e 39 anos. Schellini *et al.* (1993), mostraram que a faixa etária mais acometida foi a de 20 a 30 anos, sendo que 78% apresentavam idade entre dez e 40 anos.

Este aspecto é destacável, desde que, se trata de uma doença de evolução prolongada e que apresenta grave diminuição da acuidade visual durante o período agudo. Podem acontecer seqüelas visuais definitivas quando as lesões estão localizadas no pólo posterior. Os fatos descritos refletem no mercado de trabalho,

contribuindo com prolongadas ausências ao mesmo com prejuízo do orçamento familiar, desde que com frequência são chefes (as) da família.

Quanto à cor, foi encontrado 72% dos portadores de uveíte posterior de cor branca, e 28,0% não branca. Em relação aos controles a diferença percentual foi semelhante porém estatisticamente não significativa ($p=0,548$). No estudo realizado por Assis Júnior (1997), em Belo Horizonte, encontrou-se 25% de leucodérmicos, seguido de faiodérmicos com 38% e melanodérmicos 8,2%.

Existe certa dificuldade em definir adequadamente as características raciais, devido à alta miscigenação da população nordestina. Segundo dados do censo 2000 realizado pelo IBGE, no Estado de Pernambuco a população é composta preferencialmente por indivíduos de cor não branca, contribuindo com 59,16% (4.630.181 habitantes). Este grupo está formado por 90,5% de pardos, 8,44 % de cor preta, 0,74% de indígenas e 0,20% de cor amarela. Os indivíduos de cor branca totalizam 3.238.329 com 40,8% da população do estado. Sendo assim, o dado obtido no presente trabalho, que aponta 72,0% dos portadores de UPAPT de cor branca, passa a ser relevante.

Em relação à procedência 80,0% tinham domicílio na área metropolitana, com 20% em outros municípios do Estado de Pernambuco. Situação semelhante ao descrito no estudo de Assis Júnior (1997), em que 67,3% tinham procedência da região metropolitana de Belo Horizonte.

Uma provável explicação para este fato é a dificuldade de acesso aos centros de atenção terciária, já seja por falta de orientação adequada, ou por falta de recursos econômicos. Isto sugere a necessidade de discutir e criar os mecanismos

que viabilizem o rápido encaminhamento dos pacientes para centros de atenção especializada, o que, sem dúvida contribuirá no prognóstico visual final.

Em relação à análise das médias das absorvâncias de IgG destaca-se que no presente estudo a intensidade de reação dos casos foi maior que nos controles, porém, não foi significativa ($p= 0.082$). Estes resultados concordam com os apresentados pela literatura. Oréfice *et al.* (2000), ressaltam que não há uma correlação entre os níveis de anticorpos e a sintomatologia do paciente, sendo comum a ocorrência de títulos baixos de IgG, e a pesquisa de IgM muitas vezes negativa, situação que neste estudo apresentou-se em 100% dos casos, sendo por esta razão que as análises desta última imunoglobulina foram todas confirmados por imunofluorescência.

Cabe destacar a alta prevalência de títulos IgG positivos na população geral. Garcia (1999), encontrou 66% de prevalência de anticorpos antitoxoplasma em 345 moradores do Município de Jaguapitã, no Paraná. Foi estudada a prevalência de toxoplasmose ocular em Campos dos Goytacazes (Oréfice, 2000), encontrando percentuais elevados de prevalência na população de baixo poder aquisitivo, alcançando níveis de 90%.

Os resultados do presente estudo mostram-se de acordo com os dados da literatura em relação a IgG e IgM, desde que a casuística apresentada está representada por prováveis reativações de lesões antigas.

Ao comparar as médias da absorvância da IgA sérica específica dos casos e dos controles pode-se observar que existe uma diferença estatisticamente significativa, ($p= 0.040$) sendo nos casos maior que nos controles.

É destacável que 100% dos casos apresentaram títulos de IgA sérica positiva, o que vai de encontro com diversos trabalhos que relatam a ausência deste anticorpo na toxoplasmose crônica (Le Fichoux *et al.*, 1987, Pujol *et al.*, 1989; Stepick- Biek *et al.*, 1990). Katina *et al.* (1992), compararam amostras de soro e humor aquoso de 24 pacientes portadores de uveíte posterior de provável etiologia toxoplásmica e 12 pacientes com catarata com o objetivo de verificar a resposta imune sérica e intraocular relativa aos anticorpos IgA específicos, por meio de reação imunoenzimática (ELISA). Encontraram no soro de pacientes portadores de uveíte posterior de provável etiologia toxoplásmica 3.2 % de amostras positivas para IgA (um paciente), e duas amostras no grupo controle. Em relação às amostras de humor aquoso observaram 60% de positividade nos portadores da doença ocular, enquanto, no grupo controle, nenhuma amostra foi considerada positiva.

Gomes – Marin *et al.* (1999), estudaram 28 pacientes divididos em 3 grupos, sendo um grupo de 10 pacientes com um primeiro episódio de toxoplasmose ocular adquirida, segundo grupo composto por sete pacientes com recorrência e um terceiro grupo com sete pacientes portadores de lesões oculares crônicas, sem uveíte. Concluiu que 10% dos pacientes com um primeiro episódio de toxoplasmose ocular apresentaram resposta sorológica de infecção adquirida recente (presença de IgM, IgA e IgE) e durante as recorrências apresentaram anticorpos IgM/IgA ou IgM/IgE, estando presente a IgA sérica em um dos pacientes com quadro crônico da doença.

Esses resultados da IgA específica no soro são discordantes da literatura e merecem ser discutidos. Levanta-se a questão relacionada com qualidade e

padronização do antígeno utilizado, ponto que diz respeito à cepa prevalente nas diferentes regiões estudadas e suas particularidades antigênicas.

No que diz respeito às qualidades antigênicas, existe a possibilidade que ocorram reações cruzadas com outros parasitas, uma vez que o antígeno do *T. gondii* é bruto.

Analisando sob outro ângulo é coerente pensar que a técnica e o antígeno utilizado foram o suficientemente sensíveis como para detectar IgA no soro, desde que se parte do pressuposto que todos os casos apresentaram uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii*. Esta linha de raciocínio é respaldada pelo fato de que nos controles houve 50% de positividade para esta imunoglobulina.

A presença da IgA secretora específica na lágrima foi verificada em 84,0% dos casos e 22,0 % dos controles.

A análise da IgAs anti-*T. gondii* na lágrima mostrou uma maior frequência de reatividade elevada nos casos quando comparados com os controles ($p= 0.007$), sendo esta diferença estatisticamente significativa. A associação entre UPAPT e presença de IgAs na lágrima mostrou-se intensa, evidenciando que os portadores da doença ocular em questão apresentam 18 vezes mais probabilidades de ter reações positivas de IgAs na lágrima (“odds-ratio”= 18,61; $p = 0,0001$).

Quando analisada a relação das respostas entre a IgA secretora específica na lágrima e IgA sérica foi notado que todos os casos tiveram IgA sérica positiva, significativamente maior que os controles, porém 16% não apresentaram IgA secretora na lágrima.

Garweg *et al.* (2000), analisaram amostras de humor aquoso e soro em 49 pacientes com toxoplasmose ocular com menos de três semanas de evolução,

avaliando diversos parâmetros. Os autores consideraram que a detecção de IgA específica no humor aquoso em 11 de 43 pacientes (26%), contribuiu substancialmente para incrementar a sensibilidade dos testes do laboratório na toxoplasmose ocular.

Ao considerar os estudos de Garweg (1998, 2000,), assim como os de Ronday *et al.* (1999), entre outros autores, os quais apontam a IgA específica no humor aquoso como um teste adicional útil no diagnóstico de toxoplasmose ocular, parece ser que a IgAs específica na lágrima mostra-se promissora neste sentido, desde que atinge níveis de presença mais freqüentes e elevados nos casos quando comparados com os controles, mostrando sensibilidade de 84,0% e especificidade de 78,0%.

Em relação aos controles foi verificado um grupo de 12% (seis de 50) que apresentaram IgAs na lágrima e IgA sérica positiva. Esta situação levanta a possibilidade de infecção subclínica assintomática, situação não descrita na literatura consultada.

Ainda no grupo controle, 10% (cinco de 50) apresentou IgAs na lágrima positiva e IgA sérica negativa. Também foi visto que dos 39 (78%) controles cujos resultados de IgAs na lágrima foram negativos, 20 (40%) tiveram IgA sérica negativa, porém, em 19 indivíduos (38%) esta imunoglobulina foi positiva. A presença de IgAs na lágrima dos controles clinicamente sadios poderia ser explicada a partir do conhecimento que a conjuntiva parece desenvolver células específicas com memória, por meio de informações adquiridas da mucosa intestinal por ocasião do contato intestinal com o parasita (Pu *et al.*, 1983).

O teste de concordância Kappa aplicado para os resultados dos 75 indivíduos da amostra mostrou-se não significativo = 0.238 (0.21 – 0.40 = sofrível),

indicando que não existe uma relação definida entre os resultados obtidos de IgA no soro e de IgAs anti-*T. gondii* na lágrima.

Em relação aos resultados expostos cabe destacar que neste estudo foi utilizado antígeno bruto de *Toxoplasma gondii*, o que poderia provocar reações cruzadas com outros parasitas, cujas frações protéicas interferissem nos resultados. A este respeito pode-se ressaltar os resultados obtidos por Klaren *et al.* (1998), que estudou 13 pacientes com toxoplasmose ocular ativa analisando amostras de soro e de humor aquoso concluindo que a maioria das amostras oculares continham anticorpos que reagiam mais intensamente com a proteína de 28 kDa, a qual é expressada pelo taquizoíta e bradizoíta..

Meek *et al.* (2000), encontraram nas lágrimas de indivíduos sadios que a IgAs reconhecia os antígenos das bandas 49 e 46 kDa, Mack & McLeod (1992), reportaram que a infecção aguda coincidia com anticorpos IgA secretores específicos no colostro contra SAG1/P30, a principal membrana protéica do taquizoíta, em contraste com o colostro das mães infectadas cronicamente que reconheçam as bandas de 49 e 46 kDa.

Os dados apresentados levantam a possibilidade de purificação do antígeno utilizado na tentativa de eliminar o fator natural polireativo presente na resposta imunológica das secreções das mucosas.

Diante do exposto e visto que o diagnóstico da toxoplasmose ocular torna-se difícil frente as variadas formas de apresentação da doença, considera-se que a participação da lágrima, elemento que constitui a primeira barreira defensiva do globo ocular, poderá vir a ter um importante papel no auxílio da prática clínica.

O estudo da imunoglobulina A secretora anti-*T. gondii* na lágrima vem a constituir uma nova linha de pesquisa, no sentido de proporcionar elementos que permitam ao clínico definir uma conduta frente ao paciente. Por tratar-se de um exame rápido, de fácil realização e custo acessível, é possível que possa vir a ser desenvolvido em alta escala. Em se tratando do primeiro estudo deste tipo, no qual foram avaliados portadores de UPAPT, não se pode considerar que esta imunoglobulina em forma isolada venha a preencher um espaço largamente procurado, no entanto foi demonstrado que a mesma está presente e com reatividade maior que nos pacientes clinicamente sadios constituindo, por tanto, uma expectativa promissora. Futuros estudos em relação a purificação do antígeno, padronização e uniformização da técnica, virão a esclarecer esta interrogativa.

7 CONCLUSÕES

- Os resultados mostraram que há intensa associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* e IgA secretora específica na lágrima, sugerindo que a IgA secretora anti- *Toxoplasma gondii* da lágrima apresenta-se como um indicativo promissor para auxílio no diagnóstico de toxoplasmose ocular ativa.

8 ANEXOS

8.1 Anexo A: Resultados da análise das características clínicas dos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente toxoplásmica.

1 – Período transcorrido entre a aparição dos sintomas e a primeira consulta oftalmológica: A avaliação deste período de tempo foi considerado em semanas, já que o menor período foi de sete dias.

- 1 semana.
- 1 a 2 semanas.
- 3 a 4 semanas.
- 4 semanas ou mais.

2 - Episódio prévio de uveíte posterior: corresponde a história de ter havido ou não um quadro de uveíte posterior em épocas pregressas. A história passada de uveíte e o número de episódios foram assim categorizados:

- não;
- sim: 1 episódio; 2 episódios; 3 episódios.

3 - **Acuidade visual para longe:** corresponde a medida da acuidade visual, estática, subjetiva com a melhor correção óptica utilizando-se os optotipos de Snellen, a seis metros de distância.(Herzog & Yamame, 1990). Quanto à acuidade visual os grupos foram assim categorizados:

- menor que 20/200.
- entre 20/200 e 20/40.
- entre 20/30 a 20/20.

Os resultados obtidos podem ser visualizados na tabela 1.

TABELA 1.-. Tempo de aparição dos sintomas, episódio de uveíte previa e medida da acuidade visual nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii* (UPAPT), atendidos no HC da UFPE, em 2002. Distribuição numérica e percentual.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PORTADORES DE UPAPT.	n	%
Tempo de aparição dos sintomas (em semanas)		
Até 1 semana	08	32,0
Entre 1 e 2 semanas	10	40,0
Entre 3 e 4 semanas	02	8,0
Mais de 4 semanas	05	20,0
Episódio de uveíte prévia		
Sim	09	36,0
Não	16	64,0
Acuidade visual		
Menor de 20/200	11	44,0
Entre 20/200 e 20/40	12	48,0
20/30 a 20/20	02	8,0

4 - **Pressão intraocular:** Foi utilizado Tonômetro de aplanção de Goldman, acoplado na lâmpada de fenda e os pacientes estudados foram distribuídos nas seguintes categorias:

- 10 a 17 mm de Hg = normal;
- 18 a 20 mm de Hg = suspeito de hipertensão ocular;
- maior que 20 mm de Hg.= hipertensão ocular.

5 - **Sinais Conjuntivais:** O estudo das características semiológicas da conjuntiva (assim como da córnea, câmara anterior, íris, cristalino e vítreo anterior) foi feito utilizando-se uma lâmpada de fenda, marca Zeiss, segundo preconizado por Busacca e difundido no Brasil por Oréfice em diversas publicações entre 1990 e 2002 (Oréfice & Borato, 1990, 1997).

Categorias (Assis J, 1997):

- 0 = ausência de hiperemia.
- + = hiperemia ligeira a moderada; ++ = intensa.
- +++ = intensa hiperemia, com congestão conjuntival difusa.
- ++++ = intensa hiperemia, com congestão conjuntival difusa e quemose.

6 - **Sinais da córnea:** A categorização dos achados clínicos da córnea obedeceu também a Assis J, 1997.

- Precipitados ceráticos, brancos e finos.
- Precipitados ceráticos em gordura de carneiro.
- outros: edema, fibrina.

Os resultados destas observações aparecem na tabela 2.

TABELA 2 – Medida da pressão intra-ocular; sinais conjuntivais e sinais da córnea nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii* (UPAPT), atendidos no HC da UFPE, em 2002. Distribuição numérica e percentual.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	n	%
DOS PORTADORES DE UPAPT		
PRESSÃO INTRAOCULAR (EM MM HG).		
10 a 17	21	84,0
18 a 20	00	0,0
Maior de 20	04	16,0
SINAIS CONJUNTIVAIS.		
Ausência de hiperemia	16	64,0
Ligeira a moderada	07	28,0
Intensa	02	8,0
Sinais da córnea		
Precipitados finos	09	36,0
Precipitados em gordura de carneiro	04	16,0

7 - Sinais da câmara anterior - humor aquoso: diz respeito à presença ou não de elementos celulares e proteínas (flare) individualizados no humor aquoso, movimentando-se segundo as correntes de convecção do humor aquoso.

Para quantificação foi utilizada intensidade máxima da iluminação da lâmpada, e fenda de 1 x 1 mm, direcionando o raio de luz em ângulo oblíquo ao plano iriano (Meira, 2000).

Categorias:

-7.1 - Células no humor aquoso:

O = ausente.

+ = 5 a 10 por campo.

++ = 10 a 20 por campo.

+++ = 20 a 50 por campo.

++++ = mais de 50 por campo.

-7.2- “Flare” (proteínas) no humor aquoso:

0 = ausência.

+ = muito discreto.

++ = detalhes da íris e cristalino nítidos.

++++ = aquoso fixo e coagulado, com fibrina.

8 - Sinais iridianos: correspondem as características semiológicas da íris.

Categorias (Assis J, 1997):

- nódulos.

- sinéquias posteriores.

- outros: atrofia; neovascularização; heterocromia.

9 - Sinais do cristalino: foram definidas as seguintes categorias:

- transparente.

- precipitados na cápsula anterior.

- catarata.

Os resultados destas observações podem ser vistos na tabela 3.

TABELA 3- Quantificação de células e proteínas no humor aquoso; sinais iridianos e sinais do cristalino nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii*, atendidos no HC da UFPE, em 2002. Distribuição numérica e percentual.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	n	%
DOS PORTADORES DE UPAPT		
Humor aquoso : células		
Negativo	03	12,0
5 a 10 por campo	06	24,0
10 a 20 por campo	14	48,0
20 a 50 por campo	02	8,0
Humor aquoso: proteínas (flare)		
Ausência	03	12,0
Muito discreto	06	54,0
Detalhes da íris e cristalino nítidos	15	60,0
Detalhes da íris e cristalino imprecisos	01	4,0
Sinais iridianos.		
Sinequias posteriores	02	8,0
Sinais no cristalino		
Transparente	23	92,0
Precipitados na cápsula anterior	02	8,0

10 - **Presença de células vítreas:** foi medido estimando a densidade de células presentes no mesmo. Quando possível foi comparado com as células da câmara anterior, usando lâmpada de fenda com abertura de fenda de 1 x1mm e iluminação máxima.(Meira, 2000).

Categorização segundo escala descrita por Nussemblat (1985).

- 0 a 1 célula (sem opacidades).

- traços = 2 a 20 células (poucas opacidades).
- + = 21 a 50 células (opacidades esparsas).
- ++ = 51 a 100 células (opacidades moderadas).
- +++ = 101 a 205 células (muitas opacidades).
- ++++ = mais de 250 células (opacidades densas).

11 - Presença de Vasculites: Entendendo como vasculite o comprometimento inflamatório dos vasos considerando como sinais da mesma embainhamento vascular, estreitamento e oclusão vascular. (Portella, 2002) A avaliação foi realizada por meio de oftalmoscopia binocular indireta, considerando o compromisso dos vasos peri-lesionais. Os achados foram categorizados em:

- negativa ou ausente;
- presente

12 - Localização topográfica da lesão: Trata-se da posição topográfica da lesão na retina. Foi considerado para tal efeito o sistema de divisão do fundo de olho em zonas, proposto por Holland *et al.* (1989).

- Zona um: lesões na área compreendida pelas arcadas vasculares temporais, numa extensão de cerca de 3000 *um* da fóvea, ou 1500 *um* das margens do disco óptico.

- Zona dois: lesões localizadas anteriormente a zona um, até o equador da retina, definido pelas bordas anteriores das ampolas das veias vorticosas.

- Zona três: lesões localizadas anteriormente a partir da zona dois até a ora serrata.

13 - **Tamanho das lesões:** Corresponde à avaliação do tamanho da (s) lesão (s) inflamatória (s) quando comparadas ao tamanho do disco óptico. Para este fim foram medidos em mm o diâmetro dos discos, e o diâmetro das lesões.

Categorização:

- menor de 1 diâmetro discal.
- 1 diâmetro discal.
- maior de 1 diâmetro discal.

A distribuição numérica e percentual destas observações aparece na tabela 4.

TABELA 4- Presença de células vítreas e de vasculites; localização topográfica da lesão ativa, e tamanho das lesões nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii* (UPAPT), atendidos no HC da UFPE, em 2002. Distribuição numérica e percentual.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PORTADORES DE UPAPT.	n	%
Presença de células vítreas		
2 a 20	03	12,0
21 a 50	06	24,0
51 a 100	13	52,0
101 a 250	03	12,0
Presença de vasculites		
Negativa ou ausente	15	60,0
Presente	10	40,0
Localização topográfica da lesão ativa		
Zona I	09	36,0
Zona II	16	64,0
Tamanho das lesões		
Menor de 1 diâmetro discal	02	8,0
1 diâmetro discal	03	12,0
Maior de 1 diâmetro discal	20	80,0

14 - **Nervo óptico:** Foi analisado o grau de comprometimento do disco óptico, por meio da oftalmoscopia binocular indireta, considerando os seguintes aspectos clínicos: cor, bordas, escavação e emergência dos vasos. Foi caracterizado como papilites quando houve a presença de edema do disco e células no vítreo. Atrofia no caso de embranquecimento da papila com nitidez das bordas (Dantas, 1999).

Categorização:

- normal.
- papilite.
- atrofia.

15 - **Olho comprometido:** Corresponde ao olho que apresentou o quadro inflamatório ativo.

- olho direito (OD)
- olho esquerdo (OE).

16 - **Correlação com a genitora:** foi solicitada, a participação da genitora do individuo portador da inflamação ocular.As mães foram categorizadas de acordo a presença ou não de lesões oculares em:

- sem lesões oculares;
- com lesões oculares.

Estes dados aparecem na tabela 5, bem como a distribuição numérica e percentual.

TABELA 5- Características do nervo óptico; olho comprometido e correlação sorológica com a genitora nos portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *T. gondii* (UPAPT), atendidos no HC da UFPE, em 2002. Distribuição numérica e percentual.

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DOS PORTADORES DE UPAPT	n	%
Nervo óptico		
Normal	15	60,0
Papilite	10	40,0
Olho comprometido		
Olho direito	14	56,0
Olho esquerdo	11	44,0
Correlação sorológica com a genitora		
IgG reativo, sem lesão ocular	14	56,0
Não foi examinada.	11	44,0

8.2 Anexo B: Protocolo de atendimento clínico

Ficha N°

Registro: _____ **-Data:** _____

Nome: _____

Sexo: Masc Fem Idade (anos): 12-20 21-30 31-40 41-50 50-60 61-70 71ou↑

Cor: Branca não branca

Estado civil: casado(a) solteiro (a) viúvo (a).

Procedência: :Área metropolitana Interior

Profissão: _____

Domicílio: _____

Telefone _____ .Fax _____ E-mail _____

Queixa principal _____

História atual _____

Antecedentes Pessoais: _____

Teve episódios de uveíte posterior?: Sim Não

Quantos?: 1 2 3 4 5 ou mais

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:

mov mão conta dedos entre 20/200 e 20/40

entre 20/30 e 20/20

Refração: sob ciclopejia dinâmica

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

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

Biomicroscopia:

Conjuntiva: normal hiperemia leve hiperemia intensa

congestão difusa quemose

Córnea: clara edema fibrina pp endoteliais finos

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

Humor Aquoso: transparente Tyndall celular: nº de cel..... Tyndall “flare”: nº de opacidades

..... íris e cristalino nítido íris e cristalino impreciso fibrina hipopio

Íris: edema estromal nódulos de Koeppe nódulos de Busacca

sinéquias anteriores sinéquias posteriores atrofia estromal.

Cristalino: transparente precipitados capsulares fibrina na pupila seclusão catarata

Outros.....

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 mais de 250 opacidades.

Presença ou não de cicatrizes retinocoroidea e características da lesão.

Um foco ativo · Múltiplos focos ativos

Cicatriz retinocoroidea antiga Papilite

Vasculopatia:

Ausente Embainhamento perivascular difuso

Embainhamento perivascular segmentario Perivasculites em “rosário”

Obstruções de ramos arteriais neovascularização coroideana

Localização da lesão: macular perimacular máculo-discal

justa-discal equador periférica

Número das lesões:

Única satélite duas múltiplas

Tamanho das lesões:

<1 diâmetro discal 1 diâmetro > 1 diâmetro

Observações: _____

Hipótese Diagnóstico: _____

Exames:

ELISA antitoxoplasma: IgG IgM IgA sIgA

Hemograma VSH Sumario de urina PPD VDRL

FTA-ABS Glicose Rx tórax Rx coluna

Retinografia Angiografia fluoresceínica Ultra-sonografia B

Outros:

Tratamento:

Pirimetamida Sulfadiazina ácido folínico Prednisona

Clindamicina Espiramicina Trimetoprim + sulfametoxazol

Evolução

8.3 Anexo C: Aspectos éticos

8.3.1 *Protocolo de consentimento livre e esclarecido*

ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO ENTRE UVEÍTE POSTERIOR POR *TOXOPLASMA GONDII* E IgA SECRETORA NA LÁGRIMA.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL
Pesquisadora: Maria Isabel Lynch Gaete.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu,.....responsável pelo (a) menor
..... concordo, que ele (a) participe /
em participar da pesquisa sobre associação entre uveíte posterior presumivelmente por *Toxoplasma gondii* e IgA secretora específica na lágrima.

Sendo assim autorizo a realização do exame oftalmológico completo, (refração, biomicroscopia, tonometria, e fundo de olho binocular indireto, sob midriasis medicamentosa), no ambulatório de oftalmologia do Hospital das Clínicas da UFPE, bem como a retirada de amostra de sangue venosa (10ml.) e algumas lágrimas para exames laboratoriais. Estes exames serão realizados tanto nos casos quanto nos controles, sem custos para os participantes.

Declaro que fui esclarecido e entendi todas as informações deste estudo. 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.

Responsável

Testemunhas:

Recife, ... de de 200..

8.3.2 Cartas do comitê de ética

156-DC


 Universidade Federal do Pernambuco
 Centro de Ciências da Saúde
 Comitê de Ética em Pesquisa

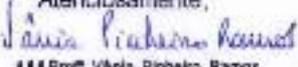
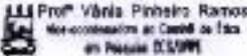
Ofício nº 056/2002 - CEP/CCS Recife, 06 de março de 2002.

Referência: Protocolo de Pesquisa nº 202/2001-CEP/CCS - Análise da associação entre uveíte posterior por toxoplasma gondii e IgA secretora na lágrima

Senhor(a) Pesquisador(a),

Solicitamos a V. Sa. atender as exigências formuladas por este Comitê para a devida apreciação do protocolo em epígrafe:

1. Preencher os campos 10 e 35, da folha de rosto;
2. Adequar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido à Resolução 196/96-CNS/MS, Código Civil e Estatuto da Criança e do Adolescente para voluntários menores de 21 anos;
3. Mencionar no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido; Considerará que o exame oftalmológico; que o voluntário poderá retirar o seu consentimento em qualquer fase da pesquisa sem ter o seu tratamento prejudicado; direito a perguntas e respostas em qualquer fase da pesquisa sobre a mesma; que não irá gastar dinheiro para participar da mesma;
4. Apresenta no orçamento financeiro a origem das verbas e quanto caberão aos investigadores.

Atenciosamente,


 Prof. Vânia Pinheiro Ramos
 Membro Titular do Comitê de Ética em Pesquisa CEP/CCS

A
 Profa. Maria Isabel Lynch Gaste
 Departamento de Cirurgia - CCS/UFPE

Av. Prof. Moraes Rego, s/n, Cid. Universitária, 50670-901, Recife-PE, Tel./Fax: 81 3271 8972, cep@ccs.ufpe.br

12/3/02
 Encaminhado

 Profa. Maria Isabel Lynch Gaste
 Depto. de Cirurgia de Otorrinolaringologia
 CCS - UFPE



CEI Nº 094/2003

Recife, 23 de abril de 2003.

Senhor (a) Pesquisador (a)

Reiteramos correspondência enviada, informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco CEPYCCS/UPE analisou, de acordo com a Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa nº202/2001-CEP/CCS, Intitulado "Análise da associação entre uvelite posterior por Toxoplasma Gondii e IgA secretora na lágrima", aprovando-o e liberando-o para início da coleta de dados.

Ressaltamos que a pesquisadora responsável deverá apresentar relatório em 23/07/03.

Atenciosamente

Prof. Maria Ribeiro Geste
Responsável do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP/CCS)

À
Dra. MARIA ISABEL LYNCH GABTE
Mestrado em Medicina Tropical - CCS/UPE

9-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

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.

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.

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.

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.

¹ Referências bibliográficas efetuadas segundo as normas adotadas pela Associação Brasileira de Normas e Técnicas – ABNT, 2000.

BAHIA-OLIVEIRA, L., M. et al. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v.9, n.1, p.1-14, 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. Uveites:Estudo de 250 casos consecutivos. **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, v.41, p.196-199, 1978.

BORNARD, J.E.; GOTTRAU, P. Uveitis: 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.; _____. **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

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

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.

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

DANTAS, A.; M.; ZANGALLI, A.L. Doenças Sistêmicas. In: _____.
Neuro-oftalmologia, Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1999; v. 2, p.400.

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

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

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

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

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.

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.

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

GARCIA, J.R. et al. Seroprevalence, epidemiology and ocular evaluation of human toxoplasmosis in the rural zone Jaguapita (Paraná) Brazil. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v.6, p.157-163, 1999.

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

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

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.

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.

HERZOG, G.; YAMAME, R. Sentido da forma, sentido cromático e sentido luminoso. In: _____. **Semiologia Ocular**, Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1990. p.1-12.

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

HOLLAND, G.N. et al. A controlled retrospective study of ganciclovir treatment for cytomegalovirus retinopathy. Use of standardized system for the assessment of disease outcome. **Archives of Ophthalmology**, v.107, p.1759-1766, 1989.

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

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: fev.2003.

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.

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

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.

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

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.

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.

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.

LE FICHOUX, Y.; MARTY, P. & CHAN, H. Les IgA sériques spécifiques dans le diagnostic de la toxoplasmose. **Paediatric Annals** v. 34, p. 375-379, 1987.

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

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.

MALAGUEÑO, E.; KOBAYASHI, M.; SANTANA, V. Prevalence of toxoplasmosis in Northeastern Brazil. **Japanese Journal Tropical Medicine**, v.30, n.3, p. 305-310, 2002.

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

MEIRA, D.M.; ORÉFICE, F. Sinais e Sintomas nas Uveítes. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro:Cultura Médica, 2000. v.1, p.11-26.

MELAMED, J. **Retinocoroidite Toxoplásmica**. 1991.Tese (Doutorado em oftalmologia). Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte,

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.

MORAES, J.R. Punctate outer retinal toxoplasmosis in a 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.

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

NUSSEMBLATT, R. B. et al. Standardization of vitreal inflammatory activity in intermediate and posterior uveitis. **Ophthalmology**, v. 92, p. 167, 1985.

O'NEIL, J.F. The ocular manifestations of congenital infection: a study of the early effect and long – term outcome of maternally transmitted rubeola 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.; BORATO, L.M. Biomicroscopia da Córnea. In: BELFORT JR, R.; KARA – JOSÉ, N. **Córnea: clínica e cirúrgica**. São Paulo: Roca Ltda, 1997. cap.15, p.148-160.

_____. _____. Biomicroscopia e Gonioscopia. In: YAMANE, R. **Semiologia ocular**. Rio de Janeiro:Cultura Médica, 1990. cap.4, p. 63-71.

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

_____. Prevalência da toxoplasmose ocular em Campos dos Goitacazes, RJ. Estudo Interinstitucional 1999. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2000. v. 2, cap.37, p. 626-628.

_____. Toxoplasmose. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2000; v. 2, cap. 37, p.619 –620.

_____. BOMFIOLI, A. Toxoplasmose. In: ORÉFICE, F. **Uveíte clínica e cirúrgica**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2000; v. 2, cap. 37, p. 623-626.

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.

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.

_____. Aferição dos Eventos. In:_____. **Epidemiologia Teórica e Prática**, 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. cap.17, p. 365-369.

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

PORTELLA, E. Vasculites. In:_____. **Doenças Prevalentes da Retina e do Vítreo**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2002. p. 647-648.

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

PUJOL, M.; MOREL, C. & MALBRUNY, B. Intérêt de la recherche des IgA dans le diagnostic de la toxoplasmose, **Pathologie - Biologie**, v. 37, p. 893-896, 1989.

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

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

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.

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

SCHELLINI, S. A. et al. Toxoplasmose Ocular-Análise de 100 pacientes tratados na Faculdade de Medicina de Botucatu. **Revista Brasileira de Oftalmologia**, v.52, n.2, p.35-40, 1993.

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.

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.

SILVEIRA, C. et al. Clinical characterization of acquired ocular toxoplasmosis. **Ophthalmology**, v. 98, (suppl. 8), p. 113-114, 1991.

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.

SPLENDORE, 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.

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

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 Tissu Musculaire Cardiaque, les Muscles du Squelette le Tissu Cellulaire Sous-Cutané et al Tissu Nerveux. *Compt. Rend. Soc. Biol*, v. 97, p.1778-1781, 1927.

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.

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

ZIMMERMAN, L, E. Ocular pathology of toxoplasmosis. *Survey Ophthalmology*, v. 6, p.832-838, 1961.