

UFPE
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL



LUIZ FELIPE LYNCH DE MORAES

TOXOPLASMOSE OCULAR: NÍVEIS DE IgA SECRETORA ESPECÍFICA NA
LÁGRIMA DE PACIENTES NA FASE ATIVA E INATIVA DA DOENÇA

RECIFE/PE

2009

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

LUIZ FELIPE LYNCH DE MORAES

TOXOPLASMOSE OCULAR: NÍVEIS DE IgA SECRETORA ESPECÍFICA NA
LÁGRIMA DE PACIENTES NA FASE ATIVA E INATIVA DA DOENÇA

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

Orientadora: Prof^a Elizabeth Malagueño

RECIFE/PE

2009

Moraes, Luiz Felipe Lynch de

Toxoplasmose ocular: níveis de IgA secretora específica na lágrima de pacientes na fase ativa e inativa da doença / Luiz Felipe Lynch de Moraes. – Recife : O Autor, 2009.

72 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Medicina Tropical, 2009.

Inclui bibliografia, anexos e apêndice.

1. Toxoplasmose ocular. 2. IgA secretora da lágrima. I. Título.

617.721.6
717.72

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

UFPE
CCS2009-063



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE)

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE (CCS)

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL (PPGMEDTROP)¹

RELATÓRIO DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DO MESTRANDO

LUIZ FELIPE LYNCH DE MORÃES

No dia 05 de fevereiro do ano de 2009, às 14h00, na Sala Prof. Murillo La Greca – 3º. andar do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco (CCS/UFPE), os Membros Doutores: **Profa. Dra. Valdênia Maria Oliveira de Souza (UFPE/Membro Interno)**, a **Profa. Dra. Vláudia Maria Assis Costa (UFPE/Membro Externo)** e o **Prof. Dr. Fernando Oréfice (UFMG/Membro Externo)**, componentes da Banca Examinadora, em sessão pública, arguíram a mestrandia **LUIZ FELIPE LYNCH DE MORÃES** sobre a sua dissertação intitulada **“TOXOPLASMOSE OCULAR: NÍVEIS DE IgA SECRETORA ESPECÍFICA NA LÁGRIMA DE PACIENTES NA FASE ATIVA E INATIVA DA DOENÇA”**. Ao final da arguição de cada membro da Banca Examinadora e resposta do mestrando, as seguintes menções foram publicamente fornecidas.

Profa. Dra. Valdênia Maria Oliveira de Souza

Profa. Dra. Vláudia Maria Assis Costa (UFPE)

Prof. Dr. Fernando Oréfice

Aprovado
Flau APROVADO
Aprovado

Valdênia Souza

Profa. Dra. Valdênia Maria Oliveira de Souza

Vláudia Maria Assis Costa

Profa. Dra. Vláudia Maria Assis Costa

Fernando Oréfice
Prof. Dr. Fernando Oréfice

¹ Endereço: Av. Prof. Moraes Rêgo, s/n – Bloco A – Térreo do Hospital das Clínicas da UFPE. CEP.: 50670-420, Cidade Universitária, Recife-PE. Fone/Fax: (081) 2126.8527. Sítio: <http://www.ufpe.br/ppgmedtrop>

Dedico este trabalho a todos que
o vão ler, pois é para eles que este
trabalho foi feito.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que me ajudaram nas horas fáceis.

Agradeço, principalmente, aos que me ajudaram nas horas difíceis, sem colocar empecilhos, obstáculos ou limites para poder tornar este trabalho melhor. Assim agradeço a minha mãe, Maria Isabel, a minha irmã, Maria Antonieta, a meu pai, Luiz de Moraes, a meu pequeno sobrinho João Felipe Lynch e a minha namorada, Juliana Medeiros, pois, sem eles, não haveria motivo para realizar qualquer trabalho.

Agradeço também a minha orientadora, Dr^a Elizabeth Malagueño pelas incontáveis dicas e pela paciência, pois somente assim a dissertação tornou-se real, e as minhas companheiras de mestrado Narjara Melo, Maiara Severo e Mirelle Souza Leão, as quais tornaram o mestrado uma agradável experiência.

“If nature has made any one thing less susceptible than all others of exclusive property, it is the action of the thinking power called an idea...That ideas should freely spread from one to another over the globe, for the moral and mutual instruction of man, and improvement of his condition, seems to have been peculiarly and benevolently designed by nature, when she made them, like fire, expansible over all space, without lessening their density at any point, and like the air in which we breathe, move, and have our physical being, incapable of confinement, or exclusive appropriation. Inventions then cannot, in nature, be a subject of property”. (THOMAS JEFFERSON, 1813)

RESUMO

Introdução: A toxoplasmose ocular é provocada pelo *Toxoplasma gondii* que causa uveíte recorrente, cujo diagnóstico clínico pode se confundir com outras uveítes. Estudos mostram que há associação entre toxoplasmose ocular ativa e IgAs anti-*T. gondii* na lágrima.

Objetivo: Comparar os níveis de IgAs anti-*T. gondii* da lágrima da fase aguda com a fase inativa de pacientes com uveíte toxoplásmica.

Metodologia: Selecionaram-se 29 pacientes com uveíte toxoplásmica aguda que apresentavam níveis positivos de IgAs específica na lágrima para *Toxoplasma gondii* e foram acompanhados por período mínimo de dois anos. Após o acompanhamento a IgAs da lágrima anti-*T. gondii* dos pacientes foi medida e comparada com a fase aguda.

Resultados: A IgAs específica para *Toxoplasma gondii* encontrou-se negativa em 22 pacientes (75,86%) e positiva em sete pacientes (24,13%), dos quais seis (85,7%) tinham tempo de acompanhamento de até três anos. A redução da média dos níveis da IgAs na fase aguda de 1,54 para 0,72 na fase de inatividade foi significativa ($p=0,0001$).

Conclusão: A IgAs anti-*T. gondii* da lágrima encontra-se negativa em 75,86% pacientes após a fase aguda, podendo ser utilizada como marcador diagnóstico da toxoplasmose ocular ativa.

Palavras chave: Uveíte, toxoplasmose ocular, IgA secretora, lágrima

ABSTRACT

Introduction: Ocular toxoplasmosis is caused by the protozoan *Toxoplasma gondii* that leads to recurrent uveitis. Its clinical diagnosis is often confused with other types of uveitis. Studies have shown that there is an association between active ocular toxoplasmosis and the presence of IgAs anti-*T. gondii* in tears.

Objective: To compare the level of IgAs anti-*T. gondii* in tears of patients with toxoplasmic uveitis during acute phase versus inactive phase of the disease.

Methods: There were selected 29 patients with acute toxoplasmic uveitis who presented positive for the specific IgAs in tears. These patients were followed by a minimum period of two years. After that, the IgAs anti-*T. gondii* level was measured and compared with the acute phase level.

Results: The specific IgAs was negative in 22 patients (75.56%) and positive in 7 patients (24.13%). Among the latter, six patients (85.7%) had a follow up period up to three years. The decrease in the acute phase IgAs mean value from 1,53 to the inactive phase value of 0,73 was significant ($p=0,0001$).

Conclusions: IgAs anti-*T. gondii* of tears was negative in 75,56% of patients after the disease acute phase enabling this marker to be used for the diagnosis of active ocular toxoplasmosis.

Key words: Uveitis, ocular toxoplasmosis, secretory IgA, tear

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	Acquired Immune Deficiency Syndrome
CALT	“Conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue” - Tecido linfóide associado a conjuntiva
CCS	Centro de Ciências da Saúde
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EALT	“Eye-Associated Lymphoid Tissue” – Tecido linfóide associado ao olho
ELISA	Enzime-Linked ImunoSorbent Assay
et al	e outros
g	gramas
HEV	“High Endotelial Venules” – células endoteliais altas
IC	Intervalo de Confiança
IgA	Imunoglobulina A
IgAs	Imunoglobulina A secretora
IgD	Imunoglobulina D
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IFN-ã	Interferon gama
kDa	Kilo Dalton
LDALT	“Lacrimal Drainage-Associated Lymphoid Tissue” – Tecido linfóide associado à drenagem lacrimal
MALT mucosas	“Mucosa-Associated Lymphoid Tissue” – Tecido linfóide associado a mucosas
NK	Natural Killers
nm	Nanômetros
p.	Página
pp.	Páginas
PCR	Polymerase Chain Reaction
PDI	Protein Disulfide Isomerase
PE	Pernambuco

RT-PCR “Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction” - Reação de transcriptase reversa e reação de cadeia de polimerase

T. gondii *Toxoplasma gondii*

UFPE Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1 REVISÃO DA LITERATURA	12
1.1 Introdução	12
1.1.1 Anatomia do globo ocular	11
1.1.2 O sistema imunológico, introdução	14
1.1.3 Imunologia do olho humano	17
1.1.4 A lágrima e a IgAs	17
1.2 Toxoplasmose	20
1.2.1 O <i>Toxoplasma gondii</i> , introdução	20
1.2.2 Ciclo e formas evolutivas	21
1.2.3 Formas de contágio e epidemiologia	21
1.2.4 Imunologia na toxoplasmose	23
1.2.5 A toxoplasmose ocular	25
1.2.6 Diagnóstico da toxoplasmose ocular	26
1.2.7 Estudo de fluidos intra-oculares	27
1.2.8 Estudo da lágrima	28
2 PERGUNTA CONDUTORA	30
3 OBJETIVO GERAL	31
4 PACIENTES E MÉTODOS	32
4.1 Desenho do estudo	32
4.2 População alvo	32
4.3 População do estudo	32
4.4 Tipo de amostragem	32
4.5 Definição do tamanho da amostra	32
4.6 Definição das variáveis	33
4.6.1 Definição de uveíte	33
4.6.2 Definição do teste de IgAs anti <i>T. gondii</i> na lágrima	33
4.7 Integrantes da amostra	33
4.7.1 Critérios de inclusão	33
4.7.2 Critérios de exclusão	34
4.8 Métodos de coleta dos dados	34
4.9 Análise laboratorial	34
4.10 Análise estatística	35

4.11 Limitações metodológicas do estudo	35
4.11.1 Viés de seleção	35
4.11.2 Viés de aferição	35
4.11.2.1 Erro de classificação	35
4.11.2.2 Instrumentos de medida e coleta de dados	35
5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	37
6 ARTIGO – Preparado para a revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz	38
7 CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
APÊNDICES	64
APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido	64
ANEXOS	66
ANEXO A – Comitê de ética	66
ANEXO B – Orientação aos autores da revista Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz	67

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Introdução

1.1.1 Anatomia do globo ocular

O olho é o órgão responsável pela visão, se encontra localizado na órbita, porção do crânio destinada ao suporte e proteção do globo ocular e seus anexos. O globo ocular apresenta diversas estruturas responsáveis pela captação da luz e transmissão da mesma para o cérebro onde ela é processada, tendo-se a sensação da visualização das imagens, ou seja, a visão propriamente dita. Para que tal objetivo seja atingido são necessárias funções distintas nas diversas estruturas que o olho apresenta, assim inicialmente temos regiões com função de captação e focalização do estímulo luminoso e regiões com função de transformação desse estímulo luminoso em estímulo nervoso, bem como a transmissão desse novo estímulo ao córtex (FORRESTER et al., 2008; DANTAS, 2002).

Todo o processo acima descrito envolve a presença de milhões de delicadas conexões nervosas na retina, as quais devem, além de receber a imagem de forma nítida, se encontrar íntegras, visto que qualquer processo que promova a falta de nitidez na imagem transmitida ou falha na integridade das conexões retinianas pode induzir a uma baixa da visão, quer seja transitória ou permanente (FORRESTER et al., 2008; DANTAS, 2002).

Anatomicamente o olho humano apresenta distintas regiões. As túnicas que compõem o olho são a túnica fibrosa, vascular e interna ou nervosa. A túnica fibrosa compreende a córnea, o limbo e a esclera, a vascular compreende a coróide, o corpo ciliar e a íris e a interna (nervosa) compreende a retina. Internamente o globo ocular apresenta compartimentos distintos, assim há um segmento anterior e um segmento posterior, os quais são separados pela face posterior do cristalino e seu ligamento de suspensão, a zônula. O segmento anterior é dividido em duas câmaras, a anterior que vai do endotélio corneano à face anterior da íris e a posterior que vai da face posterior da íris à face anterior do cristalino. As câmaras se comunicam através da pupila e são preenchidas por humor aquoso, o qual se encontra em constante renovação (KNOP; KNOP, 2005a).

O segmento posterior do globo ocular é preenchido pelo humor vítreo, estrutura que se assemelha a um gel viscoelástico e é composto por 98% de água. É delimitado anteriormente pela face posterior do cristalino e posteriormente pela retina e nervo óptico, sendo este a

continuação das fibras ganglionares da retina e o responsável pela condução do estímulo elétrico ao cérebro (FORRESTER et al., 2008; DANTAS, 2002).

A retina é uma delicada estrutura responsável pela conversão da informação relevante do ambiente em impulsos nervosos que são transmitidos ao córtex para decodificação e análise. Anatomicamente é formada por dez camadas estrutural e funcionalmente distintas. O tecido retiniano é nutrido de duas maneiras distintas, sendo uma pela artéria central da retina e seus capilares que nutrem as camadas mais internas da retina e outra através do epitélio pigmentar da retina, onde ocorre difusão de nutrientes provenientes da coróide. Ambos mecanismos de nutrição são altamente seletivos, uma vez que tanto os vasos da retina como o epitélio pigmentar apresentam barreiras específicas e de elevada seletividade, isolando o tecido retiniano do ambiente sanguíneo (DANTAS, 2002).

Várias são as estruturas acessórias do olho contidas na órbita e que atuam contribuindo com o globo ocular para que o mesmo exerça suas funções. São descritas a musculatura extrínseca ocular, as fâscias musculares, a pálpebra e supercílios, a conjuntiva e o aparelho lacrimal, sendo este último composto pela glândula lacrimal principal, glândulas lacrimais acessórias e vias de excreção lacrimal. A principal função do aparelho lacrimal é a produção, manutenção e excreção da lágrima e seus componentes (KNOP; KNOP, 2000, 2001, 2007).

Importante correlação funcional na imunologia da superfície ocular é encontrada entre a glândula lacrimal, a conjuntiva e o sistema de drenagem lacrimal. Trabalhos descrevem as propriedades imunológicas dos três tecidos separadamente e em conjunto, como componentes do tecido linfóide associado a mucosas, MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue). A glândula lacrimal apresenta células linfóides em sua estrutura com produção de Imunoglobulina A secretora (IgAs) a qual é liberada na lágrima com importantes funções protetoras da superfície ocular. A conjuntiva apresenta uma lâmina própria rica em células derivadas da medula óssea que formam o sistema imune da mucosa denominado tecido linfóide associado à conjuntiva (CALT, Conjunctiva-Associated Lymphoid Tissue). O sistema de drenagem lacrimal apresenta em seu epitélio canalicular tecido linfóide difuso que contribui com o sistema imune secretor sendo integrado ao sistema imune de mucosas, o qual se denomina tecido linfóide associado à drenagem lacrimal (LDALT, Lacrimal Drainage-Associated Lymphoid Tissue) (KNOP; KNOP, 2000, 2001, 2007).

A glândula lacrimal, a conjuntiva e o sistema de drenagem lacrimal são contínuos e atuam em conjunto como MALT, atuando na preservação da integridade e funcionalidade da superfície ocular. A percepção desse tecido como unidade e suas funções específicas, o tem colocado como um novo componente do sistema imune das mucosas recebendo o nome de

tecido linfóide associado ao olho (EALT, Eye-Associated Lymphoid Tissue) (KNOP; KNOP, 2005b).

1.1.2 O sistema imunológico, introdução

O sistema imune apresenta dois componentes funcionalmente diferentes, o sistema imune inato e o sistema imune adaptativo. A resposta imune inata se caracteriza, entre outras coisas, pela resposta rápida a patógenos que expressam padrões moleculares com ativação rápida de células efetoras do sistema imunológico e do sistema complemento com eliminação do patógeno por citólise ou fagocitose. A resposta inata apresenta também um papel fundamental na iniciação da resposta adaptativa, macrófagos e células dendríticas apresentam antígenos para células B e células T, o que é facilitado pelo sistema complemento. Componentes do sistema inato também auxiliam na ativação de células apresentadoras de antígenos assim como na expansão clonal de células T e B, com formação de células de memória para o antígeno. Uma segunda exposição ao mesmo antígeno resultará em uma resposta mais rápida e aumentada na expansão de células B e T antígeno-específicas. O tipo de resposta desencadeada é extremamente variável, dependendo do tipo de antígeno identificado, suscetibilidade do hospedeiro, maneira e local como o antígeno é expresso, entre outros fatores. A resposta pode apresentar predominância de anticorpos produzidos pelas células B (resposta humoral) ou predominância de células T efetoras (resposta celular).

Anticorpos estão presentes na membrana das células B e são ativamente secretadas pelos plasmócitos. Recebem o nome de imunoglobulinas. Os anticorpos de membrana das células B lhe fornecem especificidade antígeno-anticorpo e os anticorpos liberados no sangue e secreções funcionam, de uma maneira geral, como efetores da imunidade adquirida humoral ligando-se a antígenos e participando de funções imunes. São divididos em cinco isotipos, cada um com características distintas, imunoglobulinas G, A, M, D e E (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE), ainda com formação de subclasses das imunoglobulinas G (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) e IgA (IgA1 e IgA2) (ABBAS, 2007).

A IgG constitui 80% das imunoglobulinas séricas e possui capacidade de atravessar a placenta. IgM é a imunoglobulina presente na membrana das células B, sendo nesse local a sua forma monomérica. Constitui de 5 a 10% das imunoglobulinas séricas onde se encontra em sua forma pentâmera, onde cinco monômeros são ligados entre si e possuem em sua estrutura uma cadeia polipeptídica adicional, a cadeia J (do inglês Joint chain). A presença da cadeia J permite que o pentâmero se ligue aos receptores de células secretórias possibilitando

o transporte através de epitélios secretores com liberação da IgM para secreções externas, onde exerce função secundária na defesa das mucosas. É a primeira classe de imunoglobulina a ser produzida na resposta ao antígeno, sendo muitas vezes utilizada como marcador diagnóstico para identificação de doenças. Não possui capacidade de atravessar a placenta.

A IgD constitui aproximadamente 0,2% do total das imunoglobulinas séricas e juntamente com a IgM, são expressas por células B maduras em sua membrana. As suas funções efetoras no sistema imune são pouco conhecidas. A IgE é a imunoglobulina responsável por mediar as reações de hipersensibilidade imediata, sendo fundamental nos processos alérgicos, além de atuar nas defesas contra parasitas. Apresenta concentração sérica extremamente baixa.

A IgA constitui apenas 10 a 15% das imunoglobulinas séricas, mas é a imunoglobulina predominante nas secreções externas como leite materno, saliva, lágrima e muco dos brônquios, trato geniturinário e trato digestivo. A produção diária de IgA é a maior entre as imunoglobulinas variando de 5 a 15g (gramas).

A forma sérica predominante é a monomérica, podendo existir outras formas poliméricas (dímeros, trímeros e tetrâmeros), estas contêm a cadeia J, semelhante à encontrada na IgM e que exerce a mesma função, permitir que a IgA sérica seja captada pela célula epitelial e conduzida ao ambiente externo. A IgA das secreções é normalmente um dímero, podendo ser também um tetrâmero, e é denominada IgA secretória (IgAs), possui além da cadeia J um outra cadeia polipeptídica denominada componente secretor (ABBAS, 2007).

Os plasmócitos que produzem a IgA migram preferencialmente para a porção subepitelial do trato gastrointestinal, assim como do interstício de glândulas mamária, salivar e lacrimal, onde a IgA é secretada como dímero. Na base das células epiteliais da mucosa é produzido o receptor poli-Ig, após a ligação com este receptor a IgA é transportada através da barreira epitelial até o lúmen onde será secretada. Parte do receptor é quebrado, ficando ligado à IgA constituindo a peça secretória ou componente secretor. Uma vez secretada na forma secretora, a IgA possui um importante papel na prevenção de adesão de patógenos inibindo a colonização de bactérias e infecções virais, o que é facilitado pela disposição dimérica ou tetramérica da IgAs. Tal disposição permite conexão com antígenos com múltiplos epítomos facilitando a retirada de patógenos do ambiente, através da constante renovação que as secreções mucosas normalmente apresentam (ABBAS, 2007). A IgAs das mucosas pode ser considerada como natural ou adquirida. A forma natural das mucosas atua no sistema imune inato e tem como características a poliespecificidade e a não relação com a idade. A IgA

adquirida apresenta função antígeno-específica e está relacionada com a idade e com exposição ao antígeno (MEEK et al., 2002; OCHSENBEIN; ZINKERNAGEL, 2000).

A IgA, tanto a forma sérica como a secretora, além de apresentarem importantes funções imunológicas, podem ser utilizadas no diagnóstico de diversas doenças de variadas etiologias, como exemplo a púrpura de Henoch-Schönlein (CASANUEVA; RODRIGUEZ-VALVERDE; LUCEÑO, 1988), hepatite B (ZHANG et al., 2009) e toxoplasmose (GARWEG et al., 2004).

A coordenação da resposta imunológica é fundamental para a proteção do hospedeiro, entretanto diversos aspectos podem levar a uma resposta deficiente ou mesmo prejudicial, uma vez que nem todos os estímulos antigênicos são nocivos. A inflamação decorrente da resposta imune pode ser deletéria em locais onde a capacidade de regeneração é mínima ou quando o reconhecimento de antígenos é realizado de forma inadequada, percebendo-se antígenos próprios como sendo não próprios ou mesmo quando se reage a antígenos úteis ao próprio organismo. A capacidade de resposta depende também da distribuição do tecido linfóide no local, sua organização em centros germinativos ou em aglomerados de células imunocompetentes e o modo como o antígeno é apresentado. Para uma melhor coordenação da resposta imunológica o próprio organismo modula seu sistema imune com o desenvolvimento de respostas regionais, assim a resposta sanguínea, por exemplo, a um antígeno, pode ser diferente da resposta intestinal ao mesmo antígeno no mesmo hospedeiro. O extremo da imunidade regional ocorre quando a necessidade de modulação induz diferenças importantes na resposta imunológica, como acontece no imunoprivilégio (DELVES; ROITT, 2007a; 2007b; KAPLAN; NIEDERKORN, 2007).

No olho percebe-se que qualquer estrutura que leve a uma resposta inflamatória pode produzir mais dano que o próprio antígeno desencadeador da resposta, uma vez que estruturas do olho possuem capacidade regenerativa limitada além de serem extremamente delicadas, em especial a retina, onde a perda de conexões nervosas pode gerar dano visual irreversível mesmo não ocorrendo destruição tecidual. Dentro desse contexto o olho desenvolveu mecanismos que tornam a resposta imune ocular diferenciada: o imunoprivilégio ocular (KAPLAN, 2007).

1.1.3 Imunologia do olho humano

O status imunológico do olho pode ser dividido em duas porções com propriedades imunologicamente distintas, um compartimento interno e um compartimento externo (MEEK et al., 2003; KAPLAN, 2007).

O compartimento ocular interno corresponde ao ambiente intra-ocular e suas estruturas. Imunologicamente este compartimento se apresenta isolado do ambiente externo por diversos fatores, sendo os principais a ausência de vasos linfáticos e a presença de zônulas de oclusão entre as células endoteliais, epiteliais, endotélio dos vasos intra-oculares e epitélio pigmentar da retina, formando assim as barreiras oculares. O isolamento resultante constitui uma barreira efetiva para moléculas solúveis e contribui para a constituição única do humor aquoso e do vítreo. O imunoprivilégio ocular depende de vários fatores que incluem o isolamento intra-ocular acima descrito, fatores imunomoduladores solúveis presentes no humor aquoso, receptores de superfície de células parenquimatosas intraoculares com capacidade imunomoduladora, regulação específica do sistema complemento e células apresentadoras de antígeno promotoras de tolerância antigênica. Todos contribuindo para um ambiente de imunossupressão onde há inibição da resposta inflamatória, especialmente a resposta imune celular (KAPLAN, 2007; STREILEIN, 1999)

O compartimento ocular externo, do ponto de vista imunológico, se refere à glândula lacrimal, a conjuntiva e a via lacrimal de drenagem que, por possuírem células linfóides e atuarem em conjunto, recebem o nome de EALT, sendo um componente do sistema imune das mucosas com resposta imune regionalizada (MEEK et al., 2003).

1.1.4 A lágrima e a IgAs

A superfície ocular está diretamente exposta ao ambiente externo, conseqüentemente a uma infinidade de antígenos e microorganismos patogênicos. Diversos mecanismos locais são responsáveis pela manutenção da integridade das estruturas oculares externas, como a córnea, uma vez que lesões suas podem evoluir para a perda de transparência com resultante baixa de visão. Componentes da imunidade inata e de imunidade adquirida permitem um equilíbrio com o ambiente externo e proteção do sistema visual (KNOP; KNOP, 2005b).

Os componentes passivos do sistema imune inato da superfície ocular são uma complexa colaboração de múltiplos processos anatômicos, teciduais, celulares e bioquímicos. A defesa mais externa é fornecida pela proteção anatômica orbitária, cujo sistema ósseo e

formato protegem o olho de traumas e corpos estranhos. As pálpebras e os cílios ajudam a proteger o globo ocular além de promoverem o piscar, movimento reflexo que constantemente, no período de vigília, redistribui o filme lacrimal pelo olho e bombeia a lágrima para o canal lacrimal, favorecendo a drenagem e renovação da lágrima com retirada de produtos e microorganismos que se acumulam na superfície ocular (NORDLUND; PEPOSE, 2005).

O filme lacrimal é uma complexa estrutura que compõe a segunda camada de defesa contra invasão microbiana da superfície ocular. É descrita classicamente como composto por três camadas, uma mais externa lipídica, uma intermediária aquosa e uma mais interna, a camada de mucina. A produção basal de aproximadamente 1µl/minuto gera um fluxo contínuo que se dirige da região supero - temporal à região nasal do globo ocular onde a lágrima é drenada. Esse fluxo, associado à renovação do filme lacrimal, constituem um importante mecanismo de limpeza da superfície ocular.

O filme lacrimal também contribui para as defesas da superfície ocular por conter várias proteínas em sua constituição, mais de 500 já foram identificadas sendo algumas possuidoras de propriedades antimicrobianas e antiinflamatórias como a lisozima, lactoferrina, lipocalinas específicas da lágrima, â-lisina, fosfolipase A2 e IgAs. A mucina do filme lacrimal também contribui na proteção da superfície ocular formando uma cobertura sobre o epitélio da córnea altamente resistente à degradação enzimática limitando a adesão de micróbios ao epitélio corneano (BEUERMAN, 2005; KNOP; KNOP, 2005b).

Macrófagos, neutrófilos e mastócitos, células que atuam no sistema inato de defesa também são encontradas na conjuntiva, juntamente com proteínas do sistema complemento.

A presença de tecido linfóide caracteriza a atividade que a imunidade adquirida apresenta na superfície ocular, onde encontramos um amplo componente do sistema imune de mucosas, o EALT, além de uma rede de vasos linfáticos que drenam para os linfonodos pré-auriculares e submandibulares. O EALT vem sendo constantemente estudado por diversos autores. Trabalhos de Knop e Knop (2005b) descrevem a glândula lacrimal, a conjuntiva e o sistema lacrimal de drenagem como componentes do EALT. Acreditava-se que a produção de IgAs na lágrima era devida apenas a glândula lacrimal, porém atualmente sabe-se que as células linfóides conjuntivais também são consideradas produtoras de IgAs, o que foi verificado através de RT-PCR (Reação de Transcriptase Reversa e Reação de Cadeia de Polimerase – “Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction”) do tecido conjuntival (KNOP; KNOP; CLAUS, 2008).

A resposta adquirida da mucosa conjuntival frente ao estímulo antigênico é semelhante à de outras mucosas, há o reconhecimento do antígeno com apresentação do mesmo aos linfócitos pelas células apresentadoras de antígeno e posteriormente liberação de anticorpos, ou seja, há uma resposta aferente e eferente. Na mucosa ocular, especificamente, os folículos linfóides do EALT são o local onde o sistema imune adquirido tem seu braço efetor. A presença de células M, centros germinativos e células endoteliais altas (HEV, “High Endotelial Venules”) mostram a capacidade do EALT para funcionar como MALT. Os linfócitos entram em contato com os antígenos do ambiente externo através das células apresentadoras de antígeno e sofrem diferenciação em células efectoras com atividade celular ou humoral, sendo a IgAs a imunoglobulina predominante na resposta humoral. Os linfócitos circulantes sanguíneos entram nos tecidos linfóides via as HEV. Os linfócitos ativados podem sair do tecido linfóide através de vasos linfáticos e entrar, através do ducto torácico, na circulação sanguínea onde o acesso a outras mucosas resulta na chamada recirculação linfocitária, integrando a superfície ocular ao sistema imune das mucosas (KNOP; KNOP, 2005a) como mostram Gregory e Filler (1987) em estudo onde a ingestão oral de *Streptococcus mutans* induziu secreção de anticorpos específicos IgA1 e IgA2 na saliva, lágrimas e colostro, evidenciando a conexão entre a resposta imune de diferentes mucosas. Fatores que modulam essa resposta imune nas mucosas incluem a imunogenicidade e a quantidade de antígeno exposto à mucosa inicialmente (MEEK et al., 2002). Esse aspecto é relevante quando se busca compreender a origem dos anticorpos na lágrima.

Os diversos processos patológicos que acometem a superfície ocular podem evoluir com modificações na IgAs da lágrima, assim, tanto sua quantificação como sua especificidade podem ser úteis no estudo da superfície ocular como já sugeriam Coyle e Sibony (1986) ao utilizarem o teste de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) na medição das concentrações de imunoglobulinas da lágrima. Com a utilização do ELISA possibilitou-se a utilização de pequenas quantidades de lágrima com boa sensibilidade e confiabilidade. A técnica de coleta da lágrima para estudos apresenta variações na literatura. Autores como Coyle e Sibony (1986) e Meek et al. (2000) utilizam micropipetas em fundo de saco conjuntival para a coleta da lágrima, Lynch et al. (2004) descrevem a coleta da lágrima com uso de papel filtro em toxoplasmose e Hoshino et al. (2006) avaliam a eficácia da medida da IgAs com uso de papel filtro mostrando sua aplicabilidade.

A análise na IgAs para fins de estudo tem sido descrita em diversos estudos. Hassan et al. (2001) associam os níveis de IgAs à infecção de ceratite por acantoamoeba. Yavuz et al. (2006) mostram a possibilidade de utilização da IgAs na lágrima como marcador de atividade

no olho seco na síndrome de Sjögren. A utilização de IgAs no diagnóstico de cisticercose ocular também tem sido mostrada na literatura (SAHU; PARIJA; SAHU, 2008).

Meek et al. (2000) descrevem a presença da IgAs específica para *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) em indivíduos normais. Levantam a possibilidade de serem anticorpos naturais o que mais tarde é demonstrado na literatura (MEEK et al., 2002). Lynch et al. (2004) verificaram a existência de associação entre uveíte por *Toxoplasma gondii* e IgA secretora específica anti-*T gondii* na lágrima. Tese subsequente (LYNCH, 2007), concluiu que através do teste da IgA secretora anti-*Toxoplasma gondii* na lágrima é possível diferenciar pacientes portadores de uveíte posterior ativa por toxoplasmose ocular de pacientes portadores de uveítes causadas por outras etiologias.

1.2 Toxoplasmose

1.2.1 O *Toxoplasma gondii*, introdução

A toxoplasmose é provocada pelo *Toxoplasma gondii*, protozoário intracelular que provoca uma variedade de achados clínicos em mamíferos tanto aquáticos como terrestres, incluindo seres humanos e algumas espécies de aves.

O *Toxoplasma gondii* foi descrito pela primeira vez por Alphonso Splendore em 1908 em São Paulo, em coelhos, denominando-o *Toxoplasma cuniculli*. No mesmo ano, na Tunísia, Charles Nicolle e Louis Manceaux observaram o parasita no roedor africano *Ctenodactylus gondii*, denominando-o *Leishmania gondii*, no ano seguinte percebendo que não se tratava de uma espécie do gênero leishmania o denominaram *Toxoplasma gondii*. É parasita intracelular obrigatório e apresenta três formas evolutivas: taquizoíta, forma infectante de replicação rápida, bradizoíta, forma latente de replicação lenta e esporozoíta (KAWAZOE, 1988). É uma zoonose de distribuição mundial, que apresenta como hospedeiro definitivo os felídeos, sendo o homem um hospedeiro intermediário da doença. A prevalência é variável sendo maior em zonas tropicais e menor em locais de clima árido ou frio (ORÉFICE; OLIVEIRA, 2005). São descritas três cepas diferentes, cepas tipo I, II e III assim como formas recombinantes, com virulência diferente entre elas. A cepa I é considerada a de maior virulência em camundongos e a cepa tipo II tem sido descrita como prevalente em pacientes com AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) (JABS; NGUYEN, 2006; BOOTHROYD; GRIGG, 2002).

1.2.2 Ciclo e formas evolutivas

O toxoplasma apresenta dois ciclos de vida distintos, o ciclo assexuado e o ciclo sexuado, ocorrendo este último apenas entre felinos, sendo o gato epidemiologicamente relevante para a contaminação de seres humanos. No trato gastrointestinal dos gatos, após ingestão de oocistos, bradizoítos ou taquizoítos, há o surgimento de gametócitos (macromegatócitos e micromegatócitos) que se fundem e formam zigotos, os quais evoluem para formar oocistos. Após o amadurecimento, um oocisto apresenta dois esporocistos com quatro esporozoítos em seu interior. A liberação de oocistos pelo gato pode durar cerca de 30 dias e a infectividade dos cistos pode chegar a 18 meses em condições favoráveis (DUBEY et al., 1998). No ciclo assexuado um hospedeiro suscetível se contamina com qualquer uma das formas infectantes do *T. gondii*. Após a penetração inicia-se a proliferação de formas taquizoítas, forma de multiplicação rápida, que vão se disseminar pelo organismo através do sangue, linfa ou dentro de células, caracterizando a fase aguda da doença. É nesta fase de proliferação que o parasita penetra no olho e pode se alojar na retina. Com o avançar da doença e surgimento da resposta imune adquirida, o ambiente hostil induz à formação de cistos teciduais de repouso, onde, em seu interior, há a presença de bradizoítos (JABS; NGUYEN, 2006; ORÉFICE; OLIVEIRA, 2005).

1.2.3 Formas de contágio e epidemiologia

A contaminação humana pelo *Toxoplasma gondii* ocorre através da ingestão de qualquer uma de suas formas infectantes, as quais geralmente são adquiridas através de alimentos ou água contaminada com oocistos ou alimentos contendo cistos teciduais com bradizoídeos, especialmente carnes mal cozidas. A transmissão vertical pode ocorrer se a gestante se contamina durante a gravidez. Outras formas de contaminação são descritas, como ingestão de taquizoítos através de líquidos contaminados como leite ou saliva, inalação de taquizoítos, transplantes de órgãos entre outros (ORÉFICE; OLIVEIRA, 2005).

A prevalência elevada da infecção pelo *Toxoplasma gondii* a torna a zoonose mais difundida em todo o mundo. Nos Estados Unidos estima-se que de 22,5% da população possui anticorpos para o toxoplasma, mostrando o contato prévio com o parasita (JONES et al., 2001). O risco de contato aumenta com a idade, sendo as mulheres em idade fértil uma população de risco que requer cuidados adicionais pela possibilidade de transmissão vertical (HOLLAND, 2004). No Brasil a prevalência é variável conforme as diferentes regiões

estudadas, assim, no Rio Grande do Sul alcança 82%, 42% em São Paulo e 50% na Bahia (SEBBEN et al., 1995; ABREU et al., 1998).

As formas clínicas de apresentação em seres humanos podem ser divididas em quatro síndromes distintas: infecção primária no paciente imunocompetente, infecção no paciente imunoincompetente, infecção congênita e retinocoroidite (ROSENTHAL; GOLDSMITH, 2008).

A infecção primária no paciente imunocompetente é assintomática em sua grande maioria. Cerca de 10 a 20% dos pacientes podem apresentar sintomas semelhantes à mononucleose com resolução benigna. Manifestações severas são raras. A retinocoroidite na infecção primária pode ocorrer, mas é um evento pouco freqüente e variável conforme a região estudada (HOLLAND 2004).

A imunossupressão pode ser um fator determinante no aparecimento de formas atípicas de toxoplasmose, em pacientes com AIDS, câncer ou uso de terapias imunossupressoras o surgimento de quadros infreqüentes, como a neurotoxoplasmose, pode levar a graves complicações. No paciente infectados pelo vírus HIV a neurotoxoplasmose pode ser doença definidora de AIDS e apresenta importante morbidade e mortalidade nesses pacientes, a variedade de achados clínicos e a dificuldade de interpretar os exames laboratoriais tornam o diagnóstico difícil nesses casos. A neurotoxoplasmose pode ser decorrente de reativação de cistos latentes ou de primoinfecção, sendo ambas as formas potencialmente graves.

A transmissão vertical para o feto pode ocorrer durante a primoinfecção de pacientes gestantes, quando na fase de disseminação da toxoplasmose aguda a forma taquizoíta atravessa a placenta e infecta o feto. Os achados no feto são variáveis podendo ocorrer desde aborto, malformações congênitas, achados tardios da toxoplasmose e formas assintomáticas. O achado tardio da toxoplasmose mais freqüente é a retinocoroidite, que seria decorrente de reativação de cisto toxoplásmico que teria alcançado a retina na primoinfecção.

A toxoplasmose ocular é uma doença potencialmente grave para a visão que na atualidade é aceita como a doença mais comumente causadora de lesões na retina e a principal causa de uveíte posterior em todo o mundo (HOLLAND et al., 2002), incluindo nosso meio (ORÉFICE; OLIVEIRA, 2005).

1.2.4 Imunologia na toxoplasmose

A contaminação com o parasita induz a uma série de alterações imunes que culminam com a transformação da forma taquizoíta em bradizoíta levando a um estado de latência do *T.gondii*.

Na contaminação da doença, o toxoplasma penetra no tecido e inicia a fase de replicação dentro das células infectadas. O tecido mais comumente acometido é o trato gastrointestinal. Na multiplicação do parasita há o rompimento da célula, liberação de novos taquizoítos e infecção de células adjacentes com necrose tecidual local e disseminação para nódulos linfáticos mesentéricos e distribuição por via linfática e hematogênica para os diversos tecidos do corpo.

Durante a fase aguda inicial da toxoplasmose, neutrófilos, macrófagos e células NK (natural killers) compõem a principal resposta do hospedeiro através de fagocitose, citotoxicidade celular e liberação de interferon gama (IFN- γ), entretanto essa resposta inicial é ineficiente na erradicação do parasita. Macrófagos e células dendríticas apresentam antígenos para linfócitos CD4+ e CD8+ do tecido linfóide com início da resposta celular com predomínio de padrão Th1, com secreção especialmente de Interleucina-12 (IL-12). O IFN- γ ativa células efetoras estimulando a fagocitose, estimula as células NK e a citotoxicidade mediada por células CD8+. Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e óxido nítrico são produzidos por macrófagos ativados aumentando a destruição do parasita (LANG et al., 2007).

A presença de anticorpos também é importante no controle da infecção. Passados três a dez dias encontra-se IgM sérica que é seguida pela IgA sérica. A IgE também é detectável na fase aguda da doença assim como a IgG, sendo esta última presente com baixa avidéz durante a infecção recente. Com a evolução tem-se um período de transição, onde os níveis de IgG se elevam e a avidéz cresce, deixando de ser considerada fraca aproximadamente no quarto mês após a infecção e diminuem os anticorpos IgA e IgE e IgM. A IgM permanece positiva de 12 a 18 meses, a IgA de 6 a 9 meses e a IgE de 4 a 6 meses (KODYM et al., 2007). Progressivamente, há o perfil de infecção latente ou crônica, com anticorpos IgG de baixos títulos e de alta avidéz e ausência dos outros isotipos. A velocidade de progressão para o estado de latência é variável com o estado imunitário do paciente. Ao nível de mucosas também há uma resposta imune com produção de IgAs que coincide com a infecção aguda, como mostram estudos com colostro de Mack e Mcleod (1992) e em trabalhos experimentais (CHARDÈS et al., 1990).

Instalada a imunidade celular e humoral, inicia-se a eliminação dos parasitas com uma redução significativa no número de taquizoítos em todos os tecidos (MONTROYA; KOVACS; REMINGTON, 2004).

Na primeira semana de infecção inicia-se a formação dos cistos em diversos tecidos, com preferência pelo cérebro, retina e musculatura esquelética e cardíaca. A formação dos cistos é decorrente de uma transformação do taquizoíto que, em um ambiente hostil gerado pela resposta imune, busca mecanismos de se manter viável. Os cistos são estruturas que não induzem respostas imunes, podendo permanecer latentes nos tecidos por anos. Possuem em seu interior bradizoítos, que são as formas de replicação lenta do *T.gondii* e responsáveis pelas reativações da doença que ocorrem quando os cistos se rompem. Diversos fatores são relacionados à conversão de taquizoítos em bradizoítos, podendo-se citar IFN- γ , óxido nítrico, TNF- α , presença de células T e IL-12 (NUSSEMBLAT, 2004; DUBEY et al., 1998).

O comportamento das imunoglobulinas séricas tem sido utilizado para definir o diagnóstico da toxoplasmose na prática médica. O diagnóstico da fase aguda classicamente é efetuado com a análise da IgM, mas a manutenção de níveis elevados por meses, assim como pode ocorrer com a IgA, tem dificultado a interpretação dos resultados (GORGIEVESKI-HRISOHO; GERMANN; MATTER, 1996).

Suzuki, Rocha e Rossi (2001) comparando níveis de imunoglobulinas em 33 pacientes com toxoplasmose latente há pelo menos um ano, encontram persistência de níveis de IgM elevados em quatro pacientes (12,12%). Ao estudarem a IgA o número de pacientes que mantém níveis elevados chega a seis (18,18%), o que mostra uma limitação como marcadoras da doença ativa. Hipóteses diferentes têm sido discutidas na literatura para justificar esses achados, Correia et al. (2007), em artigo de revisão, relatam que a contínua micro-reativação de cistos não pode ser excluída como possibilidade e que outros fenômenos como reação cruzada com outros anticorpos próprios ou estranhos também pode contribuir.

Anticorpos naturais que reagem com o *T. gondii* foram descritos por Hajeer et al. (1994) na saliva de 52 pacientes, sendo 27 com infecção recente, oito com infecção crônica e 17 sem sinais de infecção por toxoplasmose. Os autores utilizaram imunoblot e encontraram IgAs reagindo em todos os pacientes com antígenos do *T. gondii*, sendo as bandas mais frequentes encontradas as de 35 e 43kilodaltons (kDa).

A presença de IgAs reagindo com o *Toxoplasma gondii* na lágrima também foi descrita por vários autores, Meek et al. (2000) descrevem a presença de anticorpos IgAs naturais anti *T. gondii* em pacientes sem sinais de infecção. Lynch et al. (2004) descrevem a presença de IgAs específica anti *T. gondii* em pacientes acometidos de toxoplasmose ocular.

1.2.5. A toxoplasmose ocular

A toxoplasmose ocular apresenta duas formas de contaminação distintas, a congênita e a adquirida, sendo importante distinguir ambas.

Na forma congênita a contaminação pelo toxoplasma ocorre durante a gestação, o recém nascido pode apresentar alterações oftalmológicas ao nascimento, caracterizando a forma congênita neonatal, ou pode nascer sem alterações oftalmológicas, mas com cistos retinianos que podem, anos mais tarde, romper e desencadear uma retinocoroidite toxoplásmica, caracterizando a forma congênita tardia.

Na toxoplasmose ocular adquirida a contaminação com o *T. gondii* ocorre após o nascimento com o surgimento de alterações oftalmológicas juntamente com a primoinfecção, caracterizando a forma adquirida concomitante, ou sem alterações oftalmológicas, mas com a presença de cistos retinianos silenciosos que, semelhante a forma congênita tardia, podem, anos mais tarde, romper e desencadear uma retinocoroidite toxoplásmica, caracterizando a forma adquirida tardia.

A toxoplasmose ocular se caracteriza por uma retinocoroidite, ou seja, o taquizoítio inicia a replicação na retina com necrose tecidual local que se propaga em direção à coróide e surgem sinais de inflamação adjacente. A descrição clássica da lesão toxoplásmica é de uma retinocoroidite granulomatosa, focal e necrosante que após a resolução do quadro forma uma cicatriz pigmentada com centro atrófico. Entretanto, lesões atípicas têm se mostrado cada vez mais frequentes, especialmente pacientes idosos e imunossuprimidos, onde as características da lesão podem ser diferentes das classicamente descritas, implicando em dificuldades diagnósticas (LABALETTE et al., 2002).

A uveíte pelo *T. gondii* é uma doença recidivante. Recidivas retinianas ocorrem tanto na doença congênita quanto na doença adquirida pós-natal. Tipicamente aparecem como lesões satélites nas bordas de uma cicatriz retinocoroideana pré-existente, onde haveria cistos quiescentes, embora em alguns pacientes ocorra longe de cicatrizes, em áreas de retina com aspecto prévio clinicamente normal. Estudos experimentais têm mostrado fortes evidências que a necrose retiniana associada a lesões primárias e recorrentes de retinocoroidites é atribuível à proliferação de parasitas na forma de taquizoítos e que a reação inflamatória e suas complicações associadas seriam resposta de hipersensibilidade aos antígenos do toxoplasma. As taxas de recidiva são variáveis na literatura, podendo chegar a 27% nos dois primeiros anos decorrentes do primeiro episódio e a 2/3 dos pacientes mantendo-se acompanhamento prolongado (HOLLAND, 2003; ORÉFICE; OLIVEIRA, 2005).

1.2.6 Diagnóstico da toxoplasmose ocular

O diagnóstico da Toxoplasmose ocular é primariamente clínico, sendo o padrão ouro da doença reativada, a presença de lesões cicatrizadas de margens bem definidas, graus variáveis de hipertrofia do epitélio pigmentar da retina e atrofia retinocoróideia, acompanhada de lesão satélite em atividade inflamatória e vitreíte, presença ou não de vasculite dos vasos retinianos, com ou sem comprometimento das estruturas do pólo anterior (STANFORD et al., 2002; GARWEG, 2005a; ORÉFICE; OLIVEIRA, 2005).

O diagnóstico laboratorial na toxoplasmose ocular é utilizado em casos selecionados, uma vez que as lesões clássicas são identificadas clinicamente com instituição imediata do tratamento adequado. Pacientes com formas atípicas podem se beneficiar de exames laboratoriais complementares na tentativa de confirmação diagnóstica, podendo-se utilizar exames de sangue, fluidos intraoculares como humor aquoso e vítreo e análise da lágrima.

A análise de anticorpos séricos em pacientes com toxoplasmose ocular não mostra correlação com o quadro clínico ocular na maioria dos pacientes, sendo comum a ocorrência de títulos baixos de IgG (ORÉFICE; OLIVEIRA, 2005). Nos casos de lesões atípicas, a sorologia negativa para toxoplasmose pode excluir a doença, entretanto os altos índices de positividade para a IgG na população apenas contribuem para o diagnóstico presuntivo, como mostram Ronday et al. (1999) que estudando pacientes com toxoplasmose ocular encontram IgG anti *T. gondii* positiva em 100% dos pacientes e em 74% dos controles.

A pesquisa de IgM sérica, na maioria das vezes é negativa. Lynch (2007) em análise de 123 pacientes com toxoplasmose ocular de Pernambuco e Minas Gerais encontrou apenas um paciente com IgM positiva, indicando a forma adquirida recente, entretanto esses níveis podem ser variáveis de acordo com a região e costumes locais como mostram outros estudos que encontram IgM em até 25% dos pacientes analisados (ONGKOSUWITO et al., 1999). Outro aspecto relevante da IgM é manutenção de seus níveis elevados após a primoinfecção, o que tem sido correlacionado ao aumento da sensibilidade dos testes para detecção da IgM anti *T. gondii* no sangue. Com a evolução dos testes o período de positividade tende a aumentar tornando a detecção da IgM anti *T. gondii* um marcador de infecção recente, mas não, necessariamente, aguda, dificultando a distinção entre a toxoplasmose ocular adquirida recente da adquirida tardia.

A IgA sérica na toxoplasmose ocular aguda também tem sido analisada com valores de positividade que variam de 7 a 16% (GARWEG et al., 2004; RONDAY et al., 1999), entretanto a IgA sérica pode se manter elevada por meses após a primoinfecção, o que

dificulta a interpretação dos resultados em casos de reativações da toxoplasmose ocular. A persistência elevada dos níveis séricos de IgA após a primoinfecção é mostrada por Suzuki, Rocha e Rossi (2001) que, analisando a IgA sérica anti *T. gondii* em pacientes com toxoplasmose aguda sistêmica encontraram positividade da IgA em 100% dos pacientes na fase aguda e em 18,18% dos pacientes na fase de latência, cujo tempo de acompanhamento após a primoinfecção foi de até 72 meses. Estudo semelhante, realizado por Kodym et al. (2006), mostra que os pacientes com toxoplasmose aguda sistêmica apresentam IgA sérica anti *T. gondii* positiva em 96,2% dos casos e que pacientes com toxoplasmose latente apresentam positividade em 17,4%. Sendo assim, mostra-se que os testes sorológicos contribuem pouco no diagnóstico da doença ocular aguda.

1.2.7 Estudo de fluidos intra-oculares

Estudo de fluidos intra-oculares tem sido mostrado como importante auxílio no diagnóstico da toxoplasmose ocular, sendo prática freqüente em alguns países como mostram Torun et al. (2008) em questionário realizado com oftalmologistas da Sociedade de Uveítes da Alemanha onde 59% deles usam a análise de fluidos intra-oculares em casos selecionados, especialmente em formas atípicas. Na análise do humor aquoso pode-se avaliar a presença da IgG, IgM, IgE e IgA anti-*T. gondii* e, através do Coeficiente de Desmonts, determinar se a produção desses anticorpos é intraocular ou não, comparando os níveis intraoculares com os níveis séricos das imunoglobulinas. Assim, quando se comprova a produção intraocular, tem-se maior probabilidade de um caso agudo de toxoplasmose ocular. A análise do ácido desoxirribonucléico (DNA) do *T.gondii* através da técnica de PCR também pode ser utilizada nos fluidos intraoculares.

A sensibilidade e a especificidade alcançada na análise de humor aquoso são insatisfatórias quando utilizados testes isolados de IgG, IgA ou PCR, mas quando se utilizam os três testes em conjunto a sensibilidade pode chegar a 91% e a especificidade a 100% (RONDAY et al., 1999). Garweg et al. (2004), utilizando imunoblotting da IgG e da IgA alcança níveis de sensibilidade de 70% e especificidade de 77%, o que ele descreve como satisfatórios. Embora a análise de humor aquoso seja útil no diagnóstico de toxoplasmose ocular, a técnica de coleta torna sua utilização limitada. A paracentese da câmara anterior pode ser efetuada em lâmpada de fenda ou bloco cirúrgico e se trata de um procedimento invasivo que, mesmo raramente, pode levar a complicações como sangramentos intra-

ocultares, catarata, abscessos corneanos e até endoftalmite (CHEUNG; DURRANI; MURRAY, 2004).

Outra limitação ao teste é a dificuldade em obter quantidade suficiente de material para análise, Garweg et al. (2005b), em estudo realizado com pacientes brasileiros, obtiveram insucesso na obtenção de material intraocular de pacientes com toxoplasmose aguda, em sete dos 34 pacientes solicitados a realizar o procedimento, dois por recusa e cinco por quantidade insuficiente de material coletado para análise.

1.2.8 Estudo da lágrima

A IgAs anti *T. gondii* da lágrima constitui uma outra possibilidade que pode ser utilizada para o diagnóstico da toxoplasmose ocular. Meek et al. (2000) inicialmente descreveram a presença de IgAs na lágrima com reação com o *T. gondii* em 82,25% de 62 pacientes saudáveis onde apenas 23% tinham evidência de contato prévio com o parasita. No estudo foram detectadas bandas de antígeno através de imunoblot sendo encontradas as mais frequentes as de 74, 70, 49 e 34 kDa, não foi verificada associação entre as bandas encontradas com idade, fluxo lacrimal durante a coleta, concentração de IgA das amostras de lágrima e tampouco com sorologia positiva sérica para toxoplasmose. A origem das IgAs na lágrima nos pacientes estudados é colocada com sendo decorrente de resposta a estimulação crônica do MALT com resposta na lágrima ou como anticorpos naturais. Em estudo posterior Meek et al. (2002), reavaliam a IgAs da lágrima de pacientes normais e através de imunoblot identificam o antígeno de 49 kDa como sendo a PDI (protein disulfide isomerase), enzima essencial que funciona no retículo endoplasmático de células eucariotas e está presente na superfície do *Toxoplasma gondii*. Utilizando imunoblot em fragmentos da PDI e testes com pacientes de diversas idades e PDI de humanos e de *Plasmodium falciparum*, Meek et al. (2002) mostram que a IgAs de pessoas normais que reage contra um dos fragmentos (o fragmento “tireoxina like”) é um anticorpo natural componente do sistema imune inato com poliespecificidade e capacidade de fazer reação cruzada com exames de detecção de IgAs anti *T. gondii* na lágrima.

Lynch et al. (2004) utilizando ELISA, técnica que apresenta sensibilidade diferente do imunoblot, mostraram que em casos de toxoplasmose ocular aguda há a presença de anticorpos IgAs anti *T. gondii* e que há associação entre uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii* e IgA secretora específica na lágrima, constatando que os pacientes com a doença tinham 18 vezes mais chances de apresentar IgA secretora da

lágrima positiva quando comparados com os controles (odds ratio = 18,61. $p=0,0001$). No estudo foram analisadas lágrimas de 25 pacientes com toxoplasmose ocular recidivada (todos possuíam cicatriz associada a lesão satélite) e 50 controles normais. No grupo com toxoplasmose ocular ativa 84% apresentaram IgAs anti *T. gondii* positiva, enquanto apenas 22% dos controles apresentavam níveis positivos. A sensibilidade e especificidade foram determinadas encontrando valores de 84% e 78%, respectivamente. Posteriormente Lynch (2007) mostrou que o teste da IgAs da lágrima anti *T.gondii* é válido para diferenciar a uveíte por *Toxoplasma gondii* com uveítes de outras etiologias.

A utilização da IgAs da lágrima como marcador diagnóstico de uveíte por *Toxoplasma gondii* é possível, no entanto faz-se necessário obter dados sobre o comportamento da IgAs nas diversas fases que a doença apresenta, uma vez que a positividade dos níveis de IgAs da lágrima anti *T. gondii* pode variar com as fases estudadas, especialmente em se tratando de uma doença cujas recidivas são frequentes.

2 PERGUNTA CONDUTORA

Como se comportam os níveis de IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima na fase aguda e na fase de inatividade de pacientes acometidos de uveíte posterior ativa por *Toxoplasma gondii*, acompanhados por tempo mínimo de 2 anos?

3 OBJETIVO GERAL

Comparar os níveis de IgA secretora anti-*T. gondii* da lágrima da fase aguda na fase de inatividade de pacientes acometidos de uveíte posterior ativa por *Toxoplasma gondii*, acompanhados por tempo mínimo de 2 anos.

4 PACIENTES E MÉTODOS

4.1 Desenho do estudo

Realizou-se uma coorte de pacientes, onde se selecionaram portadores de uveíte posterior aguda causada pelo *Toxoplasma gondii* com níveis positivos de IgAs específica para o *Toxoplasma gondii* na lágrima medidos no momento da fase aguda. Os pacientes foram acompanhados por um período de dois a seis anos. Durante a fase de inatividade da toxoplasmose ocular, coletou-se nova amostra de lágrima dos pacientes e os níveis de IgAs foram comparados com os da fase aguda.

4.2 População alvo

Pacientes acometidos de uveíte posterior ativa por *Toxoplasma gondii*.

4.3 População do estudo

A população do estudo foi definida como pacientes acompanhados no ambulatório de uveítes do Hospital das Clínicas da UFPE que apresentaram uveíte posterior aguda por *Toxoplasma gondii* com níveis positivos de IgAs anti *Toxoplasma gondii* na lágrima e atingiram a cura há no mínimo dois anos.

4.4 Tipo de amostragem

Foi utilizada amostragem não probabilística, do tipo “conveniência”, selecionando os indivíduos a partir de um julgamento de valor, nesse estudo, a partir da presença de uveíte posterior ativa com níveis positivos de IgAs anti *Toxoplasma gondii* na lágrima. Foram usados critérios padronizados para o diagnóstico de uveíte posterior ativa por *Toxoplasma gondii*, sendo esses casos representativos da população alvo.

4.5 Definição do tamanho da amostra

Considerados os resultados encontrados no próprio estudo, tem-se que a média dos níveis de IgAs na lágrima dos pacientes no momento da fase aguda é de 1,53 e que a média

dos pacientes após o acompanhamento é de 0,73. Utilizado o programa “Win Episcopes 2.0®” com os valores de desvio padrão de 0,93, intervalo de confiança de 95%, erro á de 5% e erro â de 20% (power 80%), calculou-se uma amostra de 27 pacientes como sendo necessária para a realização do estudo.

4.6 Definição das variáveis

4.6.1 Definição de uveíte

O diagnóstico de uveíte por toxoplasmose foi definido como presença de lesões retinianas cicatrizadas, de margens bem definidas, graus variáveis de hipertrofia do epitélio pigmentar da retina e atrofia retinocoróideia, acompanhada de lesão satélite em atividade inflamatória e vitreíte, presença ou não de vasculite dos vasos retinianos, com ou sem comprometimento das estruturas do pólo anterior (STANFORD et al., 2002; GARWEG, 2005a; ORÉFICE, 2005).

4.6.2 Definição do teste de IgAs anti *T. gondii* na lágrima

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

4.7 Integrantes da amostra

4.7.1 Critérios de inclusão

Incluíram-se no estudo pacientes do Hospital das Clínicas da UFPE portadores de uveíte posterior aguda causada pelo *Toxoplasma gondii* com níveis positivos de IgAs específica para o *Toxoplasma gondii* na lágrima e que apresentaram o episódio inicial no período compreendido entre fevereiro de 2002 e março de 2006. Todos os pacientes apresentavam tempo mínimo de acompanhamento de dois anos. A presença de quadro prévio com mais de dois anos de evolução é colocado como fator de inclusão uma vez que na

literatura (KODYM et al., 2007) encontra-se que níveis de imunoglobulinas de fase aguda podem permanecer elevados por meses após a primoinfecção pelo *Toxoplasma gondii*. A IgM sérica pode ser encontrada por até 18 meses e a IgA sérica por até nove meses, assim, esperasse que com mais de dois anos os níveis detectados sejam decorrentes apenas da fase de latência da toxoplasmose, sem influência da fase ativa da doença.

4.7.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo aqueles indivíduos que apresentavam idade menor que 10 anos no episódio da uveíte, visto que o comportamento das imunoglobulinas nessa idade pode ser diferente da população adulta. Excluíram-se integrantes que referiram presença de imunodeficiência congênita ou adquirida, uso de drogas imunossupressoras ou corticóides e transplantados.

Pacientes que apresentaram quadro de doença inflamatória intra-ocular posteriormente ao evento inicial, independente de sua etiologia, também foram excluídos.

4.8 Métodos de coleta dos dados

Todos os pacientes foram atendidos no ambulatório de oftalmologia do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco, onde se efetuou exame oftalmológico completo. Para análise da IgAs na lágrima foi coletada lágrima utilizando fita de papel filtro nº 4-A marca Toyo, de 5.0cm de comprimento x 0.5cm de largura. O papel foi dobrado 0,5cm antes da ponta terminal, para ser inserido no terço externo da pálpebra inferior, sendo retirada após cinco minutos. As amostras foram congeladas após coleta, até o momento da análise laboratorial.

4.9 Análise laboratorial

As análises das amostras de lágrimas foram efetuadas no setor de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami da Universidade Federal de Pernambuco. A presença na lágrima de IgA secretora anti-*T. gondii*, analisada por método imunoenzimático (ELISA), utilizando antígeno bruto da cepa RH de *T. gondii*, em níveis superiores aos definidos pelo ponto de corte, foi considerada como positiva, conforme descrito por Lynch et al. (2004).

4.10 Análise estatística

A análise consistiu em descrever e comparar a população de pacientes que apresentavam IgAs anti-*T. gondii* positiva na lágrima com os resultados da IgAs, após um período mínimo de dois anos. Os testes estatísticos utilizados foram o t de student para amostras pareadas e o Qui-Quadrado de Pearson, sendo analisados com um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). O software utilizado foi o Stata versão 9.0.

4.11 Limitações metodológicas do estudo

4.11.1 Viés de seleção

Os participantes do estudo podem apresentar diferenças importantes em relação à população que eles representam, o que pode representar uma falha no método de seleção da amostra.

Com o intuito de minimizar possibilidades de recusa na manutenção do acompanhamento, os pacientes receberam orientação necessária quanto à doença em questão e foram criadas condições de atendimento rápidas e eficientes.

4.11.2 Viés de aferição

4.11.2.1 Erro de classificação

Definição inadequada das variáveis pode conduzir a este tipo de viés. Para minimizar a possibilidade de equívoco na classificação da toxoplasmose ocular os pacientes foram examinados por dois oftalmologistas com experiência em uveítes e apenas os pacientes com diagnósticos concordantes participaram do estudo.

4.11.2.2 Instrumentos de medida e coleta de dados

A má utilização de instrumentos de medida e equívocos na coleta de dados pode ser fonte de erros de classificação. Para diminuir possibilidades de indução de viés foi realizada análise criteriosa dos prontuários, treinamento extensivo dos profissionais

participantes das diversas etapas do estudo e padronização da técnica de coleta, armazenamento e análise do material.

5 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O estudo foi desenvolvido sob o protocolo N° 044/2004-CEP/Centro de Ciências da Saúde (CCS) fornecido pela Comissão de Ética e Pesquisa em seres humanos, da Universidade Federal de Pernambuco.

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

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

6 ARTIGO - Preparado para a revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz

TOXOPLASMOSE OCULAR: NÍVEIS DE IgA SECRETORA ESPECÍFICA NA
LÁGRIMA DE PACIENTES NA FASE ATIVA E INATIVA DA DOENÇA

Autores:

Luiz Felipe Lynch de Moraes

Maria Isabel Lynch

Elizabeth Malagueño

Silvana Ferreira

Mirelle Souza Leão Vasconcelos

Narjara Melo

Rodrigo Santana do Nascimento

Filiação: Universidade Federal de Pernambuco

Endereço para correspondência

Elizabeth Malagueño de Santana

Campus Universitário, Cidade Universitária, Recife-PE-Brasil. CEP: 50670-901.

Tel.: + 55 81 2101 2515; Fax: + 55 81 2126 8485.

E-mail: malagueno@nlink.com.br

RESUMO

Introdução: A toxoplasmose ocular é provocada pelo *Toxoplasma gondii* que causa uveíte recorrente, cujo diagnóstico clínico pode se confundir com outras uveítes. Estudos mostram que há associação entre toxoplasmose ocular ativa e IgAs anti-*T. gondii* na lágrima.

Objetivo: Comparar os níveis de IgAs anti-*T. gondii* da lágrima da fase aguda com a fase inativa de pacientes com uveíte toxoplásmica.

Metodologia: Selecionaram-se 29 pacientes com uveíte toxoplásmica aguda que apresentavam níveis positivos de IgAs específica na lágrima para *Toxoplasma gondii* e foram acompanhados por período mínimo de 2 anos. Após o acompanhamento a IgAs da lágrima anti-*T. gondii* dos pacientes foi medida e comparada com a fase aguda.

Resultados: A IgAs específica para *Toxoplasma gondii* encontrou-se negativa em 22 pacientes (75,86%) e positiva em 7 pacientes (24,13%), dos quais seis (85,7%) tinham tempo de acompanhamento de até três anos. A redução da média dos níveis da IgAs na fase aguda de 1,54 para 0,72 na fase de inatividade foi significativa ($p=0,0001$).

Conclusão: A IgAs anti-*T. gondii* da lágrima encontra-se negativa em 75,86% pacientes após a fase aguda, podendo ser utilizada como marcador diagnóstico da toxoplasmose ocular ativa.

Palavras chave: Uveíte, toxoplasmose ocular, IgA secretora, lágrima

INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma das principais causas de uveíte em todo o mundo e a principal causa de uveíte em nosso meio. (Silveira et al. 1988). A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii*, protozoário que pode acometer o globo ocular de diversas formas, sendo a lesão clássica da toxoplasmose ocular uma retinocoroidite granulomatosa, focal e necrosante. Os quadros clínicos variados são muitas vezes de difícil diagnóstico, se tornando um problema para médicos e pacientes. A toxoplasmose ocular é uma doença recorrente onde cerca de 2/3 dos pacientes podem ser acometidos de novas lesões oculares após períodos de melhora clínica, podendo agravar as seqüelas prévias (Holland 2003).

O diagnóstico da uveíte toxoplásmica é eminentemente clínico, uma vez que na toxoplasmose ocular, geralmente não há correlação entre os níveis de anticorpos séricos e a sintomatologia ocular do paciente (Stanford et al. 2002). Análise de fluidos intraoculares pode ser útil em pacientes selecionados, coletando-se humor aquoso através de punção do globo ocular (Garweg et al. 2004).

A IgA é encontrada no sangue e principalmente nas secreções mucosas na forma denominada IgA secretória sendo a principal imunoglobulina de secreções como saliva, lágrima, colostro e intestino. Diversas linhas de investigação têm procurado verificar a resposta imune das mucosas contra o *Toxoplasma gondii* detectando a IgA específica contra o parasita e utilizando essa imunoglobulina como marcador diagnóstico.

A presença de IgAs reagindo com o *Toxoplasma gondii* na lágrima já foi descrita por diversos autores, Meek et al. (2000) descrevem a presença de anticorpos IgAs naturais anti *T. gondii* em pacientes sem sinais de infecção. Lynch et al. (2004) descrevem a presença de IgAs específica anti *T. gondii* em pacientes acometidos de toxoplasmose ocular. Estudo mostra (artigo submetido para publicação), que através do teste da IgA secretora anti-*Toxoplasma*

gondii na lágrima é possível diferenciar pacientes portadores de uveíte posterior ativa por toxoplasmose ocular de pacientes portadores de uveítes causadas por outras etiologias, demonstrando a viabilidade da utilização da IgAs específica anti-*T. gondii* como teste diagnóstico.

Para uma interpretação dos níveis de IgAs anti-*T. gondii* para o diagnóstico de toxoplasmose ocular, é necessário o conhecimento dos níveis da IgA nas diversas fases da doença. Sabe-se que os níveis de IgA sérica anti-*Toxoplasma gondii* nas formas sistêmicas de toxoplasmose se elevam na fase aguda da doença e mantêm-se elevados por até 9 meses, voltando para níveis prévios à doença (Kodym et al. 2007). No âmbito oftalmológico, não há estudos na literatura consultada que mostrem como se comporta a IgAs de pacientes acometidos de toxoplasmose ocular após a cura, o que pode dificultar a interpretação do teste diagnóstico, uma vez que diversos pacientes apresentam recidivas da doença ocular e níveis alterados pela infecção prévia podem comprometer a interpretação dos resultados.

O presente estudo compara os níveis de IgAs específica anti-*T gondii* na fase aguda da toxoplasmose ocular com os níveis da fase inativa da doença. Com esta análise pretende-se acrescentar informações que ofereçam subsídios para a interpretação dos índices da IgA secretora da lágrima no diagnóstico laboratorial da doença ocular. O que facilita a atuação do oftalmologista na condução clínica dos pacientes portadores de uveítes.

PACIENTES E MÉTODOS

Realizou-se uma coorte de pacientes, onde se selecionaram portadores de uveíte posterior aguda causada pelo *Toxoplasma gondii* com níveis positivos de IgAs específica para o *Toxoplasma gondii* na lágrima medidos no momento da fase aguda. Os pacientes foram acompanhados por um período de dois a seis anos. Durante a fase de inatividade da toxoplasmose ocular, coletou-se nova amostra de lágrima dos pacientes e os níveis de IgAs foram comparados com os da fase aguda.

Participaram do estudo 29 pacientes acometidos de toxoplasmose ocular ativa portadores de lesão clínica padrão ouro, ou seja, presença de lesões retinianas cicatrizadas, de margens bem definidas, graus variáveis de hipertrofia do epitélio pigmentar da retina e atrofia retinocoróideia, acompanhada de lesão satélite em atividade inflamatória e vitreíte, presença ou não de vasculite dos vasos retinianos, com ou sem comprometimento das estruturas do pólo anterior (Stanford et al. 2002; Garweg 2005). Todos apresentavam níveis de IgA secretória específica da lágrima positivo para toxoplasmose e foram acompanhados no ambulatório de uveítes do Hospital das Clínicas da UFPE, eram maiores de 10 anos, imunocompetentes e não haviam apresentado doença inflamatória intra-ocular de qualquer etiologia após o evento inicial. Os pacientes selecionados apresentaram o episódio inicial no período compreendido entre fevereiro de 2002 e março de 2006. Em todos os pacientes obteve-se amostras de lágrima para medida da IgA secretora específica anti *Toxoplasma gondii* na fase de inatividade da doença.

Para obtenção da lágrima foi utilizado fita de papel filtro nº 4-A marca Toyo, de 5.0cm de comprimento x 0.5cm de largura. O papel foi dobrado 0,5cm antes da ponta terminal, inserido no terço externo da pálpebra inferior, sendo retirado após cinco minutos. As amostras foram congeladas a -22°C após coleta, até o momento da análise laboratorial.

As análises das amostras de lágrimas foram efetuadas no setor de Imunologia do Laboratório de Imunopatologia Keizo-Asami da Universidade Federal de Pernambuco. A presença na lágrima de IgA secretora anti-*T. gondii*, analisada por método imunoenzimático (ELISA), utilizando antígeno bruto da cepa RH de *T. gondii*, em níveis superiores aos definidos pelo ponto de corte, foi considerada como positiva, conforme descrito por Lynch et al. (2004).

Os testes estatísticos utilizados foram o t de student para amostras pareadas e o Qui-Quadrado de Pearson, sendo analisados com um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). O software utilizado foi o Stata versão 9.0.

O estudo foi realizado sob o protocolo 044/2004 – CEP/CCS do Comitê de Ética da Universidade Federal de Pernambuco.

RESULTADOS

Participaram da pesquisa 29 pacientes portadores de toxoplasmose ocular ativa. A média de idade no momento do início do acompanhamento foi de 28,1 anos (14 a 59 anos). A média do tempo de acompanhamento desses pacientes foi de $3,5 \pm 1,2$ anos, onde, 68,9% dos casos tiveram tempo de seguimento de entre 2 e 3 anos e 31,1% tempo de acompanhamento entre 4 e 6 anos. O olho direito apresentava a doença em 18 (62,1%) pacientes e o olho esquerdo em 11 (37,9%) pacientes. Tabela 1.

A análise qualitativa dos valores mostra que dos 29 pacientes que se encontravam com IgAs anti *T. gondii* positiva na lágrima durante a toxoplasmose ocular aguda, sete (24,13%) (IC de 95%: 10,3 – 43,5) mantiveram níveis positivos na fase de inatividade enquanto 22 (75,86%) (IC de 95%: 56,5 – 89,7) passaram a apresentar resultados negativos.

Análise quantitativa da média dos níveis de IgAs específica anti *Toxoplasma gondii* na lágrima dos pacientes na fase aguda da doença foi de 1,54 (IC de 95%: 1,26 – 1,82), enquanto na fase de inatividade a média encontrada foi de 0,72 (IC de 95%: 0,50 – 0,94), mostrando uma redução estatisticamente significativa ($p = 0,0001$) nos níveis encontrados. Figura 1.

Entre os pacientes que mantiveram níveis positivos de IgAs na fase inativa, seis (85,7%) apresentaram tempo de acompanhamento de 2 a 3 anos e um (14,3%) de 4 a 6 anos.

Comparou-se as médias da IgAs dos pacientes na fase ativa e na fase inativa separando-os pelo tempo de acompanhamento. Foi visto que a média da IgAs anti *T. gondii* da fase ativa dos pacientes acompanhados por período de 2 a 3 anos foi maior que a média da fase inativa, com significância estatística ($p=0,049$), o mesmo ocorrendo com os pacientes acompanhados por 4 a 6 anos ($p=0,033$). Figura 2. A redução nas médias da fase ativa para a fase inativa foi maior (69,6%) no grupo acompanhado por 4 a 6 anos que a redução (46,5%)

no grupo com 2 a 3 anos de acompanhamento. O tamanho da amostra não permitiu avaliar a significância estatística dos dados.

DISCUSSÃO

Verificou-se nos pacientes estudados a idade média de 28,1 anos, o que mostra que os pacientes avaliados acompanham a tendência da toxoplasmose ocular de recidivar entre a segunda e quarta décadas, como discute Holland (2004) e mostram Lynch et al. (2008) que, avaliando 64 pacientes com toxoplasmose ocular, encontraram idade média de 29 anos. A toxoplasmose não apresenta predileção por olho e no estudo apresentado, a diferença entre os olhos acometidos não foi estatisticamente significativa, fato também já descrito na literatura (Lynch et al. 2008). O tempo de seguimento mínimo de dois anos foi determinado com o intuito de minimizar a possibilidade de serem encontrados anticorpos relacionados ao evento agudo, como ocorre na toxoplasmose sistêmica, onde a IgM sérica pode ser encontrada até 18 meses e a IgA até nove meses (Kodym et al. 2007).

Os pacientes incluídos nos estudo apresentavam toxoplasmose aguda recidivada pelo menos uma vez, visto que todos possuíam cicatriz associada à lesão satélite ativa no momento que iniciaram o acompanhamento e todos apresentavam IgAs específica da lágrima positiva para o *T. gondii* no momento da fase aguda da toxoplasmose ocular. Na fase de inatividade da doença, após acompanhamento mínimo de dois anos, 22 (75,86%) passaram a apresentar resultados negativos e sete (24,13%) mantiveram níveis positivos.

A IgAs da lágrima é produzida na superfície ocular, especificamente na glândula lacrimal e conjuntiva (Knop & Knop 2007). A IgAs pode natural ou ser produzida após infecção, ambas apresentam reação com o *Toxoplasma gondii* como mostram Meek et al. (2000) que descrevem, através de imunoblot, a presença de anticorpos na lágrima que reagem com o *T. gondii* em pacientes saudáveis sem diferença entre pacientes com IgG sérica positiva ou negativa. Posteriormente comprova-se que a reação é decorrente de anticorpos naturais (Meek et al. 2002).

A análise do comportamento da imunoglobulina nos pacientes estudados leva a perceber que diferem do comportamento de anticorpos naturais, uma vez que os pacientes do estudo apresentavam IgAs positiva na vigência da toxoplasmose ocular aguda e 75,56% passaram a apresentar níveis negativos na fase de inatividade da doença, comportamento que não seria esperado de anticorpos naturais, os quais mantêm níveis semelhantes no decorrer dos anos, como descrito por Meek et al. (2000, 2002) que utilizaram imunoblot, técnica que detecta anticorpos naturais ou específicos, desde que reajam com o *Toxoplasma gondii*.

No presente estudo utilizou-se o ELISA, técnica que ao determinar a reatividade da IgAs anti *T. gondii* da lágrima, subtrai as absorbâncias dos indivíduos normais, quer sejam de origem residual ou naturais, deste modo a reatividade ao *T. gondii* aqui descrita, é uma razão que considera anticorpos específicos em concentrações acima dos encontrados nos indivíduos sem toxoplasmose.

Anticorpos específicos, séricos e de mucosas, podem ser encontrados na fase de primoinfecção. Com a evolução natural da doença aguda, sintomática ou não, há o surgimento de linfócitos B de memória, responsáveis pela produção rápida de imunoglobulinas em casos de novo encontro com o parasita, em especial sua forma taquizoíta. Na fase de latência há decréscimo dos níveis de IgA tanto sérica como de mucosas, apenas com manutenção dos níveis de IgG sérica. A fase de latência pode ser interrompida em pacientes com toxoplasmose ocular onde, por ocasião da ruptura de cistos, pode haver recidivas da doença. Em tais casos há um novo estímulo para a produção de imunoglobulinas que é acompanhado de uma resposta da mucosa ocular, com detecção de IgAs específica para o *T. gondii*, como mostram Lynch et al. (2004) onde a análise de 25 pacientes com uveíte toxoplásmica aguda mostrou que 84% apresentavam IgAs anti *T. gondii* enquanto dos 50 controles saudáveis, 22% estavam positivos para o teste.

Diversos mecanismos podem explicar uma resposta positiva na lágrima frente à uma retinocoroidite toxoplásmica reativada. A quebra das barreiras oculares e a saída de células apresentadoras de antígenos parecem ser os mais prováveis. A inflamação local, tanto ao nível de vasos da retina como do epitélio pigmentar da mesma, poderia expor antígenos de taquizoítos que estimulariam a proliferação clonal de linfócitos B de memória, que ao circularem pelos capilares da mucosa ocular, seriam captados pelas HEV e induziriam a liberação de IgAs específica anti *T. gondii* na lágrima. Outra possibilidade que complementa a anterior seria a saída de células apresentadoras de antígenos do globo ocular, que chegariam aos linfonodos submandibulares, como mostram Egan et al. (1996) em camundongos, onde haveria a ativação de linfócitos B específicos que poderiam chegar a mucosa ocular com produção da IgAs específica. Ambos os mecanismos são mostrados na literatura em diversas doenças, porém não têm sido comprovados na toxoplasmose (Meek et al. 2003).

No estudo, a persistência de níveis considerados positivos de IgAs anti *T. gondii* na lágrima ocorreu em sete pacientes (24,13%). O estímulo para manter a produção de IgAs específica por longos períodos pode ser local ou sistêmico. Considerando que a mucosa ocular não é colonizada cronicamente pelo *T. gondii*, o estímulo para manter níveis positivos de IgAs específica possui outra origem, sendo duas possibilidades levantadas.

Uma possibilidade seria estímulo proveniente de cistos oculares ou de outros tecidos, que levariam a apresentação crônica de antígenos toxoplásmicos, através do rompimento assintomático desses cistos (Holland 2003) com o qual, linfócitos circulantes manteriam níveis positivos de IgA sérica e IgA secretora nas mucosas, entre elas a mucosa ocular. Corroboram essa possibilidade diversos estudos, Susuki et al. (2001), analisando a IgA sérica anti *T. gondii* em pacientes com toxoplasmose latente, encontraram positividade da IgA em 18,18% com acompanhamento de até 72 meses, Kodym et al. (2006), em estudo semelhante, detectam positividade desta mesma imunoglobulina em 17,4% dos pacientes estudados.

Outra possibilidade seria a estimulação crônica da mucosa intestinal que pode ocorrer pela contínua exposição ao *Toxoplasma gondii*, especialmente em locais com elevados índices de prevalência. Ingestão freqüente de cisto teciduais ou oocistos pode estimular linfócitos B de memória da mucosa intestinal a produzirem IgAs no próprio intestino, o que pode ser acompanhado de uma resposta em todas as mucosas, visto que linfócitos ativados podem alcançar a corrente sanguínea através do sistema linfático e serem captados por outras mucosas, iniciando a produção de anticorpos específicos (Gregory & Filler 1987; Knop & Knop 2007).

É possível verificar no estudo que entre os sete pacientes que mantiveram níveis positivos de IgAs na fase inativa, seis (85,7%), apresentaram tempo de acompanhamento de até 3 anos e apenas um (14,3%) apresentava tempo de acompanhamento de quatro a seis anos. Observa-se também que a média da IgAs dos pacientes da fase inativa acompanhados por período de 2 a 3 anos é maior (0,84) que a média da fase inativa dos pacientes acompanhados por período de 4 a 6 anos (0,44) (Figura 2). O tamanho da amostra não permitiu análise de significância estatística para avaliação do tempo de acompanhamento, mas percebe-se uma tendência a diminuição dos níveis de IgAs anti *T. gondii* com o transcorrer do tempo. Acompanhamento de um maior número de pacientes por um tempo prolongado pode vir a confirmar a existência dessa tendência.

O estudo da IgAs anti *T. gondii* da lágrima para diagnóstico da toxoplasmose ocular foi demonstrada em estudo anterior (Lynch et al. 2004). Trata-se de um exame acessível, de fácil realização, sem complicações, de baixo custo e não invasivo, que pode ser utilizado em qualquer paciente e cuja coleta de material pode ser efetuada no laboratório. Análise de fluidos intraoculares para o diagnóstico de toxoplasmose ocular é uma técnica que, para obter níveis satisfatórios de sensibilidade e especificidade, necessita de análise de imunoglobulinas A, M e G, séricas e intraoculares bem como PCR para detecção de DNA do parasita (Garweg

et al. 2004), tornando-se dispendiosa. É necessário um profissional experiente para realizar a punção da câmara anterior, que além de ser invasiva apresenta complicações raras, mas possíveis (Cheung et al. 2004), devendo-se utilizar apenas em casos selecionados.

Para poder interpretar corretamente os resultados da IgAs anti *T. gondii* na lágrima nos casos de recidivas oculares, que podem ocorrer em até 2/3 dos pacientes (Oréface 2005), é fundamental conhecer os valores da IgAs em pacientes fora da fase aguda. No estudo apresentado, quando comparadas as médias da IgAs nos pacientes da fase ativa com a fase inativa, tem-se um decréscimo de 1,54 para 0,72 ($p = 0,0001$), o que mostra que a IgAs pode ser utilizada como marcador de fase aguda, pois seus níveis normalizam após o evento da uveíte (Figura 1). Um caso de uma paciente participante do estudo evidencia o descrito acima. Em junho de 2005, com 34 anos, apresentou toxoplasmose ocular ativa, com IgAs positiva. A amostra da lágrima referente ao período de inatividade foi coletada em abril de 2008, sendo IgAs negativa. Em junho de 2008, na vigência de uma recidiva da uveíte toxoplásmica coletou-se nova mostra de lágrima, a qual apresentou IgAs positiva, evidenciando que a superfície ocular recebeu novo estímulo para a produção de IgAs anti *T. gondii*, durante a fase aguda da toxoplasmose ocular.

Os resultados obtidos no presente estudo permitem observar-se que a IgAs específica anti *T. gondii* da lágrima acompanha a fase aguda da toxoplasmose ocular, com tendência a negatização dos valores quando a doença se encontra inativa, podendo ser importante marcador diagnóstico da uveíte toxoplásmica aguda e contribuir para facilitar a atuação do oftalmologista na condução clínica dos pacientes portadores de uveítes.

REFERÊNCIAS

Cheung CMG, Durrani OM, Murray PI 2004. The safety of anterior chamber paracentesis in patients with uveitis. *Br J Ophthalmol* 88: 582-583.

Egan RM, Yorkey C, Black R, Loh WK, Stevens JL, Woodward JG 1996. Peptide-specific T cell clonal expansion in vivo following immunization in the eye, an immune-privileged site. *J Immunol* 157: 2262-2271

Garweg JG, Garweg SD, Flueckiger F, Jacquier P, Boehnke M 2004. Aqueous humor and serum immunoblotting for immunoglobulin types G, A, M, and E in cases of human ocular toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 42: 4593-4598

Garweg JG 2005. Determinants of immunodiagnostic success in human ocular toxoplasmosis. *Parasite Immunol* 27: 61-68.

Gregory RL, Filler SJ 1987. Protective secretory immunoglobulin A antibodies in humans following oral immunization with *Streptococcus mutans*. *Infect Immun* 55: 2409-2415.

Holland GN 2003. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. *Am J Ophthalmol* 136: 973-988.

Holland GN 2004. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part II: disease manifestations and management. *Am J Ophthalmol* 137: 1-17.

Knop E, Knop N 2007. Anatomy and immunology of the ocular surface. In JY Niederkorn, HJ Kaplan (eds), Immune Response and the Eye. Chemical Immunology and Allergy, Karger, Basel, p. 36-49.

Kodym P, Machala L, Roháčová H, Sirocká B, Malý M 2007. Evaluation of a commercial IgE ELISA in comparison with IgA and IgM ELISAs, IgG avidity assay and complement fixation for the diagnosis of acute toxoplasmosis. Clin Microbiol Infect 13: 40-47

Lynch MI, Cordeiro F, Ferreira S, Ximenes R, Oréfice F, Malagueño E 2004. Lacrimal secretory IgA in active posterior uveites induced by *Toxoplasma gondii*. Mem Inst Oswaldo Cruz 99: 861-864.

Lynch MI, Moraes LFL, Malagueño E, Ferreira S, Cordeiro F, Oréfice F 2008. Características Clínicas de 64 indivíduos portadores de uveítes posterior activa presumiblemente toxoplásmica en Pernambuco. Arq Bras Oftalmol 71: 43-48.

Meek B, Klaren VN, van Haeringen NJ, Kijlstra A, Peek R 2000. IgA Antibodies to *Toxoplasma gondii* in Human Tears. Invest Ophthalmol Vis Sci 41: 2584-2590.

Meek B, Back JW, Klaren VN, Speijer D, Peek R 2002. Conserved regions of protein disulfide isomerase are targeted by natural IgA antibodies in humans. Int Immunol 14: 1291-1301.

Meek B, Speijer D, de Jong PT, de Smet MD, Peek R 2003. The ocular humoral immune response in health and disease. Prog Retin Eye Res. 22: 391-415.

Oréfice F, Garcia LM 2005. Toxoplasmose. In: F Oréfice. *Uveíte Clínica e Cirúrgica*, Cultura Médica, Rio de Janeiro, p. 724–728.

Silveira C, Belfort RJr, Burnier MJr, Nussenblatt R 1988. Acquired toxoplasmic infection as the cause of toxoplasmic retinochoroiditis in families. *Am J Ophthalmol* 106: 362-364.

Stanford MR, Gras L, Wade A, Gilbert RE 2002. Reliability of expert interpretation of retinal photographs for the diagnosis of toxoplasma retinochoroiditis. *Br J Ophthalmol* 86: 636-639.

Suzuki LA, Rocha RJ, Rossi CL 2001. Evaluation of serological markers for the immunodiagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *J Med Microbiol* 50: 62-70.

TABELAS

TABELA I. Caracterização dos pacientes portadores de toxoplasmose ocular acompanhados no Hospital das Clínicas da UFPE.

Variáveis	N	%
Olho doente		
Direito	18	62,1
Esquerdo	11	37,9
Tempo de seguimento		
2 anos	03	10,34
3 anos	17	58,62
4 anos	04	13,75
5 anos	01	3,44
6 anos	04	13,75
Total	29	100,0

FIGURAS

FIGURA 1. Média dos níveis da IgAs anti *T. gondii* na fase ativa e inativa da toxoplasmose ocular nos paciente acompanhados no Hospital das Clínicas da UFPE.

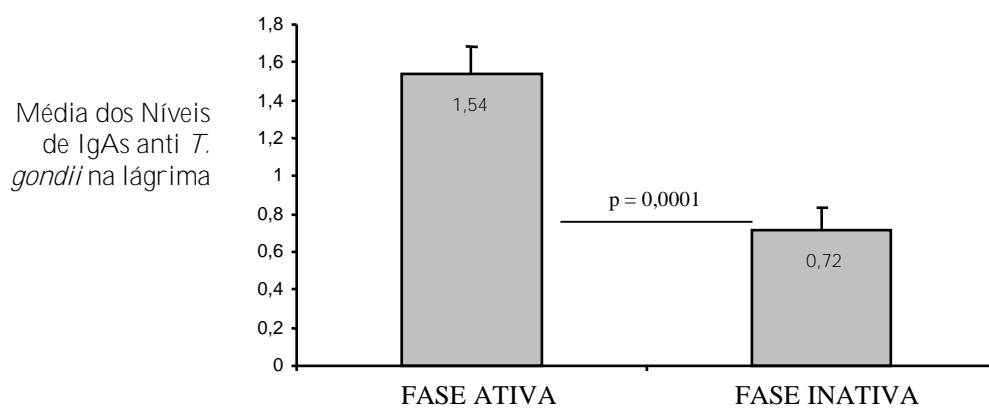
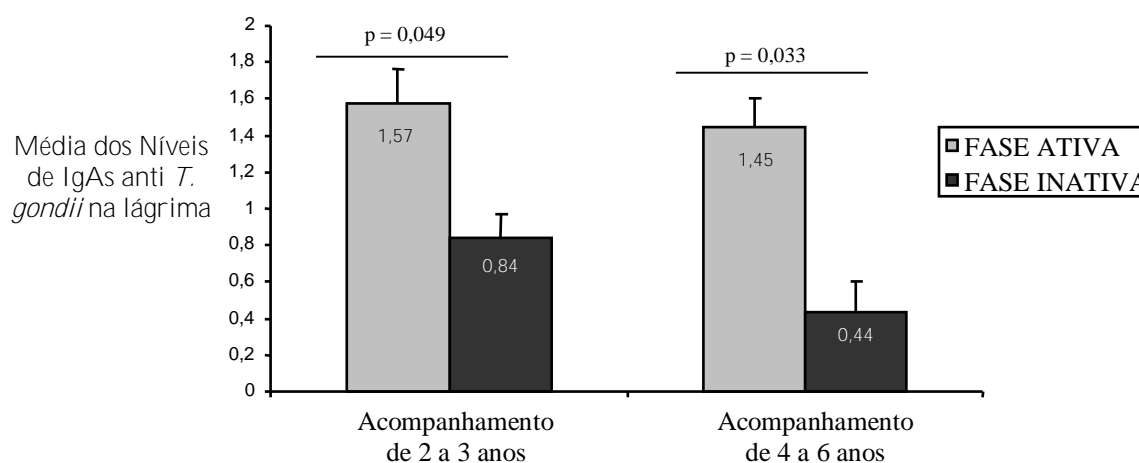


FIGURA 2. Média dos níveis da IgAs anti *T. gondii* na fase ativa e inativa da toxoplasmose ocular, separados conforme tempo de acompanhamento, nos paciente acompanhados no Hospital das Clínicas da UFPE.



7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo permitem concluir que a IgAs específica anti *T. gondii* da lágrima acompanha a fase aguda da toxoplasmose ocular, com tendência a negatização dos valores quando a doença se encontra inativa, o que permite a sua utilização como marcador diagnóstico da uveíte toxoplásmica aguda e assim contribuir para facilitar a atuação do oftalmologista na condução clínica dos pacientes portadores de uveítes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K.; LICHMAN, A. H.; POBER, J. S. Cellular and Molecular Immunology. 6. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 2007.

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

BEUERMAN, Roger W. Tear Film. In: Krachmer; Mannis; Holland. Cornea. 2. ed. Philadelphia: Elsevier, 2005. v. 01, cap. 04, p. 45-52.

BOOTHRODYD, J.; GRIGG, M. E. Population biology of toxoplasma gondii and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? Current Opinion in Microbiology, v.5, p.438-442, 2002.

CASANUEVA, B.; RODRIGUEZ-VALVERDE, V.; LUCEÑO, A. Circulating IgA producing cells in the differential diagnosis of Henoch-Schönlein purpura. The Journal of Rheumatology, v. 15(8), p. 1229-33, 1988.

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.

CHEUNG, C.M.G.; DURRANI, O.M.; MURRAY, P.I. The safety of anterior chamber paracentesis in patients with uveitis. British Journal of Ophthalmology, v. 88, p. 582-583, 2004.

CORREA, D. et al. Congenital and acquired toxoplasmosis: diversity and role of antibodies in different compartments of the host. Parasity Immunology, v. 29, p. 651-660, 2007.

COYLE, P. K.; SIBONY, P. A. Tear immunoglobulins measured by ELISA. Investigative Ophthalmology & Visual Science, v. 27, p. 622-625, 1986.

DANTAS, A. M. Anatomia Funcional do Olho e Seus Anexos. 2. ed. Rio de Janeiro: Colina, 2002.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The Immune system, first of two parts. The New England Journal of Medicine, v. 343, p. 37-49, 2007a.

DELVES, P. J.; ROITT, I. M. The Immune system, second of two parts. The New England Journal of Medicine, v. 343, p. 108-117, 2007b.

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

EGAN, R. M. et al. Peptide-specific T cell clonal expansion in vivo following immunization in the eye, an immune-privileged site. Journal of Immunology, v. 157(6), p. 2262-22

FORRESTER, J. V.; DICK, A. D.; McMENAMIN, P. G.; ROBERTS, F. The Eye. 3. ed. Philadelphia: Saunders, 2008.

GARWEG, J.G. et al. Aqueous humor and serum immunoblotting for immunoglobulin types G, A, M, and E in cases of human ocular toxoplasmosis. Journal of Clinical Microbiology, v. 42, p. 4593-4598, 2004.

GARWEG, J. G. Determinants of immunodiagnostic success in human ocular toxoplasmosis. Parasite Immunology, v. 27, p. 61-68, 2005a.

GARWEG, J.G. et al. Specific antibody levels in the aqueous humor and serum of two distinct populations of patients with ocular toxoplasmosis. International Journal of Medical Microbiology, v. 295, p. 287-295, 2005b.

GORGIEVSKI-HRISOHO, M.; GERMANN, D.; MATTER, L. Diagnostic Implications of Kinetics of Immunoglobulin M and A Antibody Responses of *Toxoplasma gondii*. Journal of Clinical Microbiology, v. 34, p. 1506-1511, 1996.

GREGORY, R. L.; FILLER, S. J. Protective secretory immunoglobulin A antibodies in humans following oral immunization with *Streptococcus mutans*. Infection and Immunity, v. 55, p. 2409-2415, 1987.

HAJEER, A. H. et al. *Toxoplasma gondii*: detection of antibodies in human saliva and serum. Parasite Immunology, v. 16(1), p. 43-50, 1994.

HASSAN, A. et al. Tear IgA and serum IgG antibodies against acanthamoeba in patients with acanthamoeba keratitis. Basic Investigation, v. 20(6), p. 622-627, 2001.

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

HOLLAND, G. N. Ocular Toxoplasmosis: A global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. *American Journal of Ophthalmology*, v. 136, n. 6, p. 973-988, 2003.

HOLLAND, G. N. Ocular Toxoplasmosis: A global reassessment. Part II: Disease manifestation and management. *American Journal of Ophthalmology*, v. 137, n. 1, p. 1-17, 2004.

HOSHINO, M. et al. Clinical evaluation of a measurement method for secretory IgA in tears. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi*, v. 110 (4), p. 276-281, 2006.

JABS, Douglas A.; NGUYEN, Quan Dong. Ocular Toxoplasmosis. In: RYAN, Stephen J. *Retina*. 4. ed. Baltimore: Elsevier, 2006. v. 2, cap. 89, p. 1583-1596.

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

KAPLAN, H. J. Anatomy and Function of the Eye. In: NIEDERKORN, J. Y., KAPLAN, H. J. (eds). *Immune Response and the Eye*. Chemical Immunology and Allergy. Basel, Karger, 2007. v. 92, p. 4-10.

KAPLAN, H. J.; NIEDERKORN, J. Y. Regional Immunity and Immune Privilege. In: NIEDERKORN, J. Y., KAPLAN, H. J. (eds). *Immune Response and the Eye*. Chemical Immunology and Allergy. Basel, Karger, 2007. v. 92, p. 11-26.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, P. D. *Parasitologia Humana*. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1988. c. 16, p. 143-155.

KNOP, E.; KNOP, N. Conjunctiva-associated lymphoid tissue in the human eye. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, v. 41, p. 1270-1279, 2000.

KNOP, E.; KNOP, N. Lacrimal drainage-associated lymphoid tissue (LDALT): A part of the human mucosal immune system. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, v. 42, p. 566-574, 2001.

KNOP, N.; KNOP, E. Ultrastructural anatomy of CALT follicles in the rabbit reveals characteristics of M- cells, germinal centers and high endothelial venules. *The Journal of Anatomy*, v. 207, p. 409-426, 2005a.

KNOP, E.; KNOP, N. The role of eye-associated lymphoid tissue in corneal immune protection. *The Journal of Anatomy*, v. 206, p. 271-285, 2005b.

KNOP, E.; KNOP, N. Anatomy and Immunology of the Ocular Surface. In: NIEDERKORN, J.Y., KAPLAN, H. J. (eds). *Immune Response and the Eye. Chemical Immunology and Allergy*. Basel, Karger, 2007. v. 92, p. 36-49.

KNOP, E.; KNOP, N.; CLAUS, P. Local production of secretory IgA in the eye-associated lymphoid tissue (EALT) of the normal human ocular surface. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, v. 49(6), p. 2322-2329, 2008.

KODYM, P. et al. Evaluation of a commercial IgE ELISA in comparison with IgA and IgM ELISAs, IgG avidity assay and complement fixation for the diagnosis of acute toxoplasmosis. *Clinical Microbiology Infective*, v. 13(1), p. 40-47, 2006.

LABALETTE, P. et al. Ocular toxoplasmosis after the fifth decade. *American Journal of Ophthalmology*, v. 133, p. 506-515, 2002.

LANG, C.; GROB, U.; LÜDER, G. K. Subversion of innate adaptive immune responses by *Toxoplasma gondii*. *Parasitology Research*, v. 100, p. 191-203, 2007.

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

LYNCH, M. I. Validação do teste de IgA secretora específica da lágrima em portadores de uveíte posterior ativa presumivelmente por *Toxoplasma gondii*. Recife: Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

LYNCH, M. I. et al. Características clínicas de 64 indivíduos portadores de uveíte posterior activa presumivelmente toxoplásmica em Pernambuco. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, v. 71(1), p. 43-48, 2008.

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.

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

MEEK, B. et al. Conserved regions of protein disulfide isomerase are targeted by natural IgA antibodies in humans. International Immunology, v. 14, p. 1291-1301, 2002.

MEEK, B. et al. The ocular humoral immune response in health and disease. Progress in Retinal and Eye Research, v. 22, p. 391-415, 2003.

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

NORDLUND, Michael L.; PEPOSE, Jay S. Corneal Response to Infection. In Krachmer; Mannis; Holland. Cornea. 2. ed. Philadelphia: Elsevier, 2005. v. 01, cap. 07, p. 95-114.

NUSSENBLATT, Robert B. Ocular Toxoplasmosis. In: NUSSENBLATT, Robert B.; WHITCUP, Scott M. Uveitis. 3. ed. Philadelphia: Mosby, 2004. cap. 13, p. 214-243.

OCHSENBEIN, A.F.; ZINKERNAGEL, R. M. Natural antibodies and complement link innate and acquired immunity. Immunology Today, v. 21, p. 624-630, 2000.

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, Fernando; OLIVEIRA, Lílian Maria Garcia Bahia de. Toxoplasmose. In: ORÉFICE, Fernando. Uveíte Clínica e Cirúrgica. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2005. v. 2, cap. 42, p. 699-804.

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.

ROSENTHAL, Philip J.; GOLDSMITH, Robert S. Toxoplasmosis. In: McPHEE, Stephen J.; PAPADAKIS, Maxine A. CURRENT, Medical diagnosis & treatment. 47. ed. California: McGrawHill, 2008. cap. 35, p. 1301-1304.

SAHU, P.S.; PARIJA, S.C.; SAHU, P.K. Tear IgA-ELISA: A novel and sensitive method for diagnosis of ophthalmic cysticercosis. *Acta Tropica*, v. 106, p. 168-174, 2008.

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.

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.

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

STREILEIN, J. W. Immunoregulatory Mechanisms of the Eye. *Progress in Retinal and Eye Research*, v. 18, p. 357-370, 1999.

SUZUKI, L.A.; ROCHA, R.J.; ROSSI, C.L. Evaluation of serological markers for the immunodiagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *Journal of Medical Microbiology*, v. 50, p. 62-70, 2001.

TORUN, N. et al. Diagnosis and treatment of ocular toxoplasmosis: A survey of German-speaking ophthalmologist. *Ophthalmologe*, v. 105(11), p. 1023-1028, 2008.

YAVUZ, S. et al. Comparative analysis of autoantibodies against a-fodrin in serum, tear fluid, and saliva from patients with Sjögren's syndrome. *Journal of Rheumatology*, v. 33 (7), p. 1289-1292, 2006.

ZHANG, S. et al. Clinical significance of anti- HEV IgA in diagnosis of acute genotype 4 hepatitis E virus infection negative for anti-HEV IgM. *Digestive Diseases Science*, v.1, 2009.

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido

NÍVEIS DE IGA SECRETORA ESPECÍFICA DA LÁGRIMA EM PACIENTES ACOMETIDOS PREVIAMENTE DE UVEÍTE POSTERIOR ATIVA POR *Toxoplasma gondii*.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA TROPICAL

Investigador: Luiz Felipe Lynch de Moraes

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

Tel: 34234166

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

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

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

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

Recife, ... de de 200..

Nome do pesquisador responsável _____

Nome do pai ou responsável _____

Nome da criança _____

1ª Testemunha _____

2ª Testemunha _____

ANEXO A - Comitê de ética



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Comitê de Ética em Pesquisa

Of. N.º 461/2004-CEP/CCS

Recife, 25 de agosto de 2004.

Ref. Protocolo de Pesquisa n.º 044/2004-CEP/CCS

Título: "Validação do teste de IgA Secretora Específica da lagrima em portadores de Uveíte Posterior ativa Presumivelmente por *Toxoplasma gondii*."

Senhor (a) Pesquisador (a):

Informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco CEP/CCS/UFPE analisou, de acordo com a Resolução n.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, o protocolo de pesquisa em epígrafe aprovando-o em 07/04/2004 com recomendação colocar TCLE em papel timbrado e constar o nome e o número do telefone do pesquisador e do CEP. Por que em caso de dúvidas ou esclarecimentos.

Ressaltamos que ao pesquisador responsável deverá apresentar relatório, em / /

Atenciosamente,



Prof. Geraldo Bosco Lindoso Couto
Vice-coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
CCS/UFPE

À
Profa. Maria Isabel Lynch Gaete
Dep. de Cirurgia CCS/UFPE

31/08/04
Daf de

ANEXO B – Orientação aos autores da revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz



[Home](#) | [Current Issues](#) | [Past Issues](#) | [Special Issues](#) | [Future Issues](#) | [Subscription](#) |
[Editorial Board](#) | [Editorial Office](#)

Instructions to Authors

Author Guidelines

The manuscript should be prepared using standard word processing software and should be printed (font size 12) double-spaced throughout the text, figure captions, and references, with margins of at least 3 cm. The figures should come in the extension tiff, with a minimum resolution of 300 dpi. Tables and legends to figures must be submitted all together in a single file. Figures, must be uploaded separately as supplementary file.

The manuscript should be arranged in the following order:

Running title: with up to 40 characters (letters and spaces)

Title: with up to 250 characters

Author's names: without titles or graduations

Institutional affiliations: full address of the corresponding author only

Summary: up to 200 words (100 words in case of short communications). It should emphasize new and important aspects of the study or observations.

Key words: 3-6 items must be provided. Terms from the Medical Subject

Headings (Mesh) list of Index Medicus should be used.

Sponsorships: indicating the sources of financial support and change of address

Introduction: should set the purpose of the study, give a brief summary (not a review) of previous relevant works, and state what new advance has been made in the investigation. It should not include data or conclusions from the work being reported.

Materials and Methods: should briefly give clear and sufficient information to permit the study to be repeated by others. Standard techniques need only be referenced.

Ethics: when reporting experiments on human subjects, indicate whether the procedures followed were in accordance with the ethical standards of the responsible committee on human experimentation (institutional or regional) and with the Helsinki Declaration of 1975, as revised in 1983. When reporting experiments on animals, indicate whether the institution's or a national research council's guide for, or any national law on the care and use of laboratory animals was followed.

Results: should be a concise account of the new information discovered, with the least personal judgement. Do not repeat in text all the data in the tables and illustrations.

Discussion: should be limited to the significance of the new information and relate the new findings to existing knowledge. Only unavoidable citations should be included.

Acknowledgements: should be short and concise, and restricted to those absolutely necessary.

References: must be accurate. Only citations that appear in the text should be referenced. Unpublished papers, unless accepted for publication, should not be cited. Work accepted for publication should be referred to as "in press" and a letter of acceptance of the journal must be provided. Unpublished data should only be cited in the text as "unpublished observations", and a letter of permission from the author must be provided. The references at the end of the paper should be arranged in alphabetic order according to the surname of the first author.

The titles of journals should be abbreviated according to the style used in the Index Medicus. Consult:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals&TabCmd=Limits>

- In the text use authors' surname and date:

Lutz (1910) or (Lutz 1910)

With two authors it is:

(Lutz & Neiva 1912) or Lutz and Neiva (1912)

When there are more than two authors, only the first is mentioned:

Lutz et al. (1910) or (Lutz et al. 1910).

- At the end of the paper use the following styles:

Journal article

Chagas C, Villela E 1922. Forma cardiaca da tripanosomiase americana. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 14: 15-61.

Book and Thesis

Forattini OP 1973. *Entomologia Médica. Psychodidae, Phlebotominae, Leishmaniose, Bartonelose*, Vol. IV, Edgard Blucher, São Paulo, 658 pp.

Morel CM 1983. *Genes and Antigens of Parasites. A Laboratory Manual*, 2nd ed., Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, xxii + 580 pp.

Mello-Silva CC 2005. *Controle alternativo e alterações fisiológicas em Biomphalaria glabrata (Say, 1818), hospedeiro intermediário de Schistosoma mansoni Sambom, 1907 pela ação do látex de Euphorbia splendens var. hislopii N.E.B (Euphorbiaceae)*, PhD Thesis, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 85 pp.

Chapter in book

Cruz OG 1911. The prophylaxis of malaria in central and southern Brasil. In R Ross, *The Prevention of Malaria*, John Murray, London, p. 390-398.

Journal article on the Internet

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* [serial on the Internet]. 2002 Jun [cited 2002 Aug 12];102(6):[about 3 p.]. Available from:
<http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

Monograph on the Internet

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [monograph on the Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.nap.edu/books/0309074029/html/>.

Homepage/Web site

Cancer-Pain.org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.

Part of a homepage/Web site

American Medical Association [homepage on the Internet]. Chicago: The Association; c1995-2002 [updated 2001 Aug 23; cited 2002 Aug 12]. AMA Office of Group Practice Liaison; [about 2 screens]. Available from:
<http://www.ama-assn.org/ama/pub/category/1736.html>

DATABASE ON THE INTERNET

Open database:

Who's Certified [database on the Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from:
<http://www.abms.org/newsearch.asp>

Closed database:

Jablonski S. Online Multiple Congenital Anomaly/Mental Retardation (MCA/MR) Syndromes [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of

Medicine (US). c1999 [updated 2001 Nov 20; cited 2002 Aug 12]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/mesh/jablonski/syndrome_title.html

Part of a database on the Internet

MeSH Browser [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US); 2002 - [cited 2003 Jun 10]. Meta-analysis; unique ID: D015201; [about 3 p.]. Available from:

<http://www.nlm.nih.gov/mesh/MBrowser.html> Files updated weekly. Updated June 15, 2005

- Illustrations: figures and tables must be understandable without reference to the text.

Figures: presented in tiff format with a minimum of 300 dpi and photographs must be sharply focused, well contrasted, and if mounted onto a plate, the figures should be numbered consecutively with Arabic numbers. Magnification must be indicated by a line or bar in the figure, and referenced, if necessary in the caption (e.g., bar = 1 mm). Plates and line figures should either fit one column (8 cm) or the full width (16.5 cm) of the page and should be shorter than the page length to allow inclusion of the legend. Letters and numbers on figures should be of a legible size upon reduction or printing. A colour photograph illustrates the cover of each issue of the Journal and authors are invited to submit illustrations with legends from their manuscript for consideration for the cover

- Tables should supplement, not duplicate, the text and should be numbered with Roman numerals. A short descriptive title should appear above each table, with any explanations or footnotes (identified with *a*, *b*, *c*, etc.) below.

- Short communications: should communicate rapidly single results or techniques. They should occupy no more than three printed pages including figures and/or tables. They should not contain excessive references. References should be cited at the end of the paper using the same format as in full papers. A brief summary and three key

words must be provided.

- Alternative format: manuscripts may be submitted following the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals" produced by the International Committee of Medical Journal Editors also known as the Vancouver Style. In this case, authors should follow the guidelines in the fifth edition (Annals of Internal Medicine 1997; 126: 36-47, or at the website <http://www.acponline.org/journals/resource/unifreq/htm>) and will be responsible for modifying the manuscript where it differs from the instructions given here, if the manuscript is accepted for publication.

Authors should also follow the Uniform Requirements for any guidelines that are omitted in these Instructions.

Once a paper is accepted for publication, the authors must provide:

- an affidavit, provided by the Editorial Office, signed by all authors. Authors from different countries or institutions may sign in different sheets containing the same basic statement;
- a copyright assignment form, provided by the Editorial Office, signed by the corresponding author.
- Page charges: there will be no page charges.
- Proofs: one set of page proofs will be supplied for the author to check for typesetting accuracy, to be returned by the stipulated date. No changes to the original manuscript will be allowed at this stage.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)