



Joana Vicente dos Santos

Estudo da vigilância serológica da toxoplasmose nas utentes do Laboratório de Análises Clínicas

Dra. Isabel Vicente (LIV)

Dissertação de Mestrado

Mestrado em Análises Clínicas

Trabalho realizado sob orientação da sra. Professora Doutora Maria Isaura Sousa

Setembro de 2009

É autorizada a reprodução integral desta dissertação apenas para efeitos de investigação, mediante declaração escrita do interessado, que a tal se compromete.

Em memória da minha mãe, uma força da natureza que me ensinou em tenra idade a dar
o melhor de mim.

A sua obra e memória estarão para sempre no meu coração.

Ao meu pai, o meu companheiro das tribulações da vida, por me fazer sentir muito
amada.

À minha avó por me ter ensinado a rezar.

Ao meu irmão pelo seu sorriso terno de criança.

À Prof. Isaura, sem a sua amizade e dedicação este trabalho não seria possível.

Aos meus amigos que têm sido um forte e importante apoio.

AGRADECIMENTOS

À Prof. Doutora Maria Isaura Sousa, minha orientadora, por toda a amizade e carinho com que me acolheu, ensinou e ajudou. A sua disponibilidade e palavra amiga foram por vezes o meu único incentivo para terminar uma tarefa que parecia impossível.

Ao Prof. Doutor Franklim Marques por estar sempre disponível para me ouvir nas alturas complicadas e dar soluções.

À Prof. Doutora Maria da Purificação Tavares pela disponibilização de alguns documentos utilizados para a realização do trabalho e pelo apoio dado.

Ao Laboratório de Análises Clínicas Canidelo, s.a., Dra. Isabel Vicente, na pessoa do seu Presidente do Conselho Administrativo, Eng. Tobias Fenster, por ter permitido utilizar a base de dados do laboratório.

Aos colaboradores do Laboratório de Análises Clínicas Canidelo, s.a., Dra. Isabel Vicente, desde as recepcionistas, aos técnicos de colheita, aos técnicos superiores de saúde, sem a sua colaboração e zelo profissional seria impossível ter acesso aos dados que me permitiram realizar o trabalho.

Aos meus amigos, Carolina Rocha e ao Bártolo Santos pela sua disponibilidade em colaborar na tradução de documentos utilizados neste trabalho.

Ao Miguel Matos e à Carla Silva pela sua disponibilidade em colaborar no tratamento estatístico dos dados deste trabalho.

À Dra Marcela Ribeiro pela disponibilização de alguns documentos utilizados para a realização do trabalho.

Resumo

A toxoplasmose congénita é uma infecção parasitária que pode provocar graves sequelas no feto, podendo mesmo causar a sua morte intra-uterina. Contudo, é possível diminuir substancialmente e mesmo evitar os danos decorrentes desta infecção desde que sejam seguidas algumas políticas de prevenção.

Este trabalho tem como objectivo analisar o tipo de prevenção da toxoplasmose congénita correntemente aplicado às utentes que se dirigem a um laboratório de análises clínicas privado localizado em várias localidades do norte do nosso país. O laboratório em causa é o Laboratório de Análises Clínicas Canidelo, S.A., Dra Isabel Vicente (LIV).

Para tal, foi realizado um estudo estatístico utilizando a base de dados do laboratório em questão, centrado essencialmente em frequências absolutas e relativas dos dados inquiridos de cada utente, de modo a analisar a vigilância serológica da toxoplasmose nas utentes que recorrem ao LIV.

Observou-se que uma média de 46% das grávidas com serologia negativa não fizeram a devida vigilância serológica, o que pode implicar riscos de saúde desnecessários para o feto. Pode verificar-se igualmente que uma média de 12% das grávidas com serologia positiva para *Toxoplasma gondii* fizeram vigilância serológica desnecessária, existindo assim gastos desnecessários do sistema nacional de saúde (SNS) português.

Concluiu-se que a prevenção serológica da toxoplasmose congénita nas utentes que recorrem ao LIV está a ser efectuada de forma incorrecta, sendo feita tardiamente em algumas situações.

Este trabalho pode constituir um alerta para que se realizem acções de formação nas áreas abrangidas, dirigidas à população e aos profissionais de saúde, no sentido de se efectuar uma vigilância serológica eficaz, apenas nas situações em que esta se torna necessária, isto é, no caso das grávidas não imunes à toxoplasmose.

Palavras chave: *Toxoplasma gondii*; Toxoplasmose congénita; Vigilância serológica

Abstract

Congenital Toxoplasmosis is a parasitic infection that can cause serious consequences to the fetus, which can even include its intrauterine death. However, it is possible to substantially reduce and even avoid the damages that are due to this infection since some prevention policies are taken into account.

This work aims to analyze the type of prevention of congenital toxoplasmosis currently applied to patients who direct themselves to a private clinical analysis laboratory located in several towns in the north of our country. The laboratory in question is the “Laboratório de Análises Clínicas Canidelo, S.A., Dra Isabel Vicente (LIV)”.

Thus, a statistical study was conducted using the laboratory data basis, essentially centered in absolute and relative frequencies for each individual data, so that it is possible to analyze the toxoplasmosis serological supervision in LIV’s users.

It was observed that an average of 46% of pregnant women with negative serology have not done the proper serological supervision, which may lead to unnecessary health risks to the fetus. It also can be seen that an average of 12% pregnant women with positive serology for *Toxoplasma gondii* have done unnecessary serological supervision, which contribute to Portuguese Health National System (SNS) unnecessary spending.

It was concluded that the serological prevention of congenital toxoplasmosis in LIV’s patients is being incorrectly done and, in some situations, it is delayed.

This work may constitute an alert to perform training courses in the covered areas, driven to the population and to the health professionals, in order to carry out an effective serological supervision only in the necessary cases, in other words, in toxoplasmosis not immune pregnant women.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, congenital toxoplasmosis, serological supervision

Índice Sistemático

Agradecimentos	iv
Resumo	v
Abstract	vi
Índice sistemático	vii
Índice de figuras	x
Índice de gráficos	xi
Índice de tabelas	xii
Lista de abreviaturas e símbolos	xiii
PARTE I – Introdução	1
1. Agente Etiológico	1
2. Taxonomia do <i>T. Gondii</i>	2
3. Morfologia do <i>T. Gondii</i>	2
3.1. Taquizóito	3
3.2. Bradizóito e quisto tecidual	5
3.3. Oocisto e esporozoóito	6
4. Ciclo de vida do <i>T. Gondii</i>	7
5. Transmissão	10
6. Resistência e sensibilidade do <i>T. gondii</i>	11
7. Toxoplasmose	13
7.1. Toxoplasmose adquirida no indivíduo imunocompetente	13
7.1.1 Toxoplasmose ganglionar	14
7.1.2 Toxoplasmose ocular	15
7.1.3 Formas graves de toxoplasmose	15

7.2.Toxoplasmose adquirida no indivíduo imunodeprimido	15
7.3.Toxoplasmose congénita	17
8.Diagnóstico da toxoplasmose	18
8.1.Diagnóstico serológico	18
8.2.Conduas do diagnóstico da toxoplasmose	21
8.2.1. Diagnóstico da imunidade materna	21
8.2.2. Diagnóstico de uma seroconversão materna	21
8.2.3. Diagnóstico da toxoplasmose congénita	22
8.2.3.1 Diagnóstico pré-natal	22
8.2.3.2. Diagnóstico neo-natal	23
8.2.3.3. Diagnóstico pós-natal	23
9.Tratamento da toxoplasmose	24
9.1.Inibidores da síntese de ácido fólico	25
9.2.Macrólidos	25
10.Políticas de prevenção e controlo	26
10.1.Regulamentação das políticas de prevenção	26
10.2.Vigilância serológica durante a gravidez	30
10.3.Medidas de higiene	31
10.4. Vacinação	32
PARTE II – Material e Métodos	33
1.Recolha de dados	34
1.1 Definição das variáveis usadas no estudo	35
1.2 .Autorização do uso dos dados	35
2.Tratamento estatístico dos dados	36
3.Caracterização da amostra	36
3.1 Variáveis demográficas	37
PARTE III – Apresentação de resultados	44
1.Taxa anual de pedidos de serologia da toxoplasmose	44

2.Taxa anual de mulheres com serologia da toxoplasmose negativa	45
3.Taxa de grávidas não imunes	46
4.Taxa de grávidas não imunes que não fizeram vigilância serológica durante a gravidez	47
5.Taxa de mulheres imunes à toxoplasmose	49
6.Taxa de mulheres imunes que repetiram a serologia da toxoplasmose	50
7.Trimestre de gravidez em que as mulheres recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer a serologia	51
8.Taxa da periodicidade anual da vigilância serológica da toxoplasmose em grávidas não imunes	52
PARTE IV – Discussão dos resultados	54
1.Taxa anual de pedidos de serologia da toxoplasmose	54
2.Taxa anual de mulheres com serologia da toxoplasmose negativa	54
3.Taxa de grávidas não imunes	55
4.Taxa de grávidas não imunes que não fizeram vigilância serológica durante a gravidez	55
5.Taxa de mulheres imunes à toxoplasmose	56
6.Taxa de mulheres imunes que repetiram a serologia da toxoplasmose	57
7.Trimestre de gravidez em que as mulheres recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer a serologia	58
8.Taxa da periodicidade anual da vigilância serológica da toxoplasmose em grávidas não imunes	59
PARTE V – Conclusão	61
PARTE VI – Anexos	65
Referências bibliográficas	71

Índice de figuras

Figura 1: <i>Ctenodactylus gondii</i> (2)	1
Figura 2: Taquizoítos de <i>Toxoplasma gondii</i> , corados com Giemsa, de um esfregaço de líquido peritoneal obtido de um rato inoculado com <i>T. gondii</i> . (3)	3
Figura 3: Estrutura do taquizoíto de <i>T. gondii</i> (4)	4
Figura 4: Quisto tecidual de <i>Toxoplasma gondii</i> em tecido cerebral corado com hematoxilina eosina (100 X) (3)	6
Figura 5: B ₁ Oocisto imaturo; B ₂ e B ₃ esporogonia do oocisto; B ₄ oocisto maduro (3)	7
Figura 6: Ciclo de vida do <i>T.gondii</i> (3)	8
Figura 7: Fontes e modos de transmissão pelo <i>T.gondii</i> .	11
Figura 8: Ressonância magnética de toxoplasmose cerebral (23)	17
Figura 9: Curva Serológica da Toxoplasmose	19
Figura 10: Esquema de conduta relativamente à serologia da toxoplasmose numa mulher grávida imunocompetente	22

Índice de gráficos

Gráfico 1: Percentagem de utentes com pedido de serologia de toxoplasmose, por localidade, nos quatro anos do estudo	37
Gráfico 2: Percentagem de grávidas com pedido de serologia de toxoplasmose, por localidade, nos quatro anos do estudo	39
Gráfico 3: Taxa anual das mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV	40
Gráfico 4: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária, em 2006	41
Gráfico 5: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária, em 2007	42
Gráfico 6: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária, em 2008	42
Gráfico 7: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária, em 2009	43
Gráfico 8: Taxa de pedidos anual de serologia da toxoplasmose	45
Gráfico 9: Percentagem anual de mulheres com serologia negativa para toxoplasmose	46
Gráfico 10: Taxa de grávidas com ausência de anticorpos anti- <i>T.gondii</i> .	47
Gráfico 11: Taxa anual de grávidas não imunes que não fizeram vigilância durante a gravidez	49
Gráfico 12: Taxa anual de mulheres imunes em idade fértil	49
Gráfico 13: Taxa de mulheres imunes que repetiram a serologia	50
Gráfico 14: Trimestre de gravidez em que as mulheres recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer a serologia, durante os quatro anos do estudo	52
Gráfico 15: Taxa da periodicidade anual da vigilância da toxoplasmose em grávidas não imunes	53

Índice de tabelas

Tabela 1: Localidade vs Número de grávidas	38
Tabela 2: Número de mulheres em idade fértil vs Número de mulheres que recorreram ao LIV	39
Tabela 3: Distribuição das mulheres com pedido de serologia de toxoplasmose por faixa etária	41
Tabela 4: Número anual de grávidas vs Número anual de mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV	43
Tabela 5: Número de mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV vs número das mulheres que fizeram a serologia da toxoplasmose por ano	44
Tabela 6: Mulheres com serologia negativa vs Mulheres que realizaram a serologia da toxoplasmose	45
Tabela 7: Número de grávidas vs número de grávidas não imunes	46
Tabela 8: Número de grávidas não imunes vs número de grávidas não imunes que não fizeram vigilância durante a gravidez	48
Tabela 9: Número de mulheres imunes vs Mulheres que realizaram a serologia da toxoplasmose	49
Tabela 10: Número de mulheres imunes vs Mulheres que realizaram a serologia da toxoplasmose	50
Tabela 11: Número de grávidas que recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer serologia vs Trimestre de gravidez	51
Tabela 12: Percentagem de grávidas que recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer serologia vs Trimestre de gravidez	51
Tabela 13: Periodicidade anual da vigilância da toxoplasmose em grávidas não imunes	53

Lista de abreviaturas e símbolos

CE – Comunidade Europeia

DGS – Direcção Geral de Saúde do Ministério da Saúde português.

E.U.A. – Estados Unidos da América

FAO – Food and Agriculture Organisation, organização das Nações unidas para a alimentação e a agricultura.

LIV- Laboratório de análises clínicas Canidelo, s.a., Dra Isabel Vicente

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Polymerase Chain Reaction

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SNS – Sistema Nacional de Saúde português

® - Símbolo de marca registada

Parte I - Introdução

1. Agente Etiológico

O *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é um protozoário parasita intracelular obrigatório, agente da toxoplasmose humana e animal, o qual se encontra disperso por todo o mundo, mesmo nas populações dos países mais desenvolvidos. Trata-se de um coccídeo intestinal de felídeos que tem um número anormalmente alargado de hospedeiros intermediários. A infecção provocada por este parasita é prevalente em muitos animais de homeotérmicos incluindo os humanos. O nome *Toxoplasma* (*toxon* significa arco, *plasma* significa forma) deriva da sua forma em arco. Este parasita tem maior prevalência nas zonas de clima quente e húmido e a infecção provocada é mais prevalente em regiões com clima frio e seco.

O *T. gondii* foi descoberto, em 1908, nas células do fígado e baço de um roedor selvagem o *Ctenodactylus gondii* (Figura 1), na Tunísia, por Nicolle e Manceaux. O parasita foi descrito nesta mesma época por Splendore num laboratório em São Paulo, Brasil, nas vísceras de coelhos. Em 1923 foi referido por Janku em quistos retinianos duma criança com hidrocefalia. Em 1940 Wolf, Cowen e Paige isolam o parasita do cérebro dum recém-nascido portador de uma encefalite ficando deste modo demonstrado o primeiro caso de toxoplasmose congénita humana. Em 1942, Sabin caracterizou os aspectos clínico-parasitológicos da toxoplasmose congénita humana. Desmonts e col., em 1965, demonstraram o papel da carne na transmissão da toxoplasmose humana. Só em 1970 se conseguiu estabelecer definitivamente o ciclo de vida do *T. gondii*. Hutchison e colaboradores e Frenkel e colaboradores demonstraram a reprodução sexuada do *T. gondii* no intestino dos felídeos, (hospedeiros definitivos) que são responsáveis pela disseminação do parasita na natureza (1).



Figura 1: *Ctenodactylus gondii* (2)

2. Taxonomia do *T.Gondii* (Levine 1980)

Reino:	<i>Protista</i>
Sub-reino:	<i>Protozoa</i> (Goldfuss, 1918)
Filo :	<i>Apicomplexa</i> (Levine, 1970)
Classe :	<i>Sporozoea</i> (Leuckart, 1879)
Sub-classe :	<i>Coccidia</i> (LeucKart, 1879)
Ordem :	<i>Eucoccidiida</i> (Léger e Duboscq, 1910)
Sub-ordem :	<i>Eimeriina</i> (Léger, 1911)
Família :	<i>Sarcocystidae</i> (Porche, 1913)
Sub-família :	<i>Toxoplasmatinae</i> (Biocca, 1957)
Género :	<i>Toxoplasma</i> (Nicolle e Manceaux, 1909)
Espécie :	<i>Gondii</i> (Nicolle e Manceaux, 1909)

O género *Toxoplasma* contém uma única espécie.

3. Morfologia do *T.Gondii* (1)

O *T. gondii* apresenta-se sob três formas diferentes, consoante a fase de ciclo biológico em que se encontra: taquizoíto ou trofozoíto, oocisto contendo os esporozoítos e quisto contendo os bradizoítos.

3.1 Taquizoíto

O taquizoíto, trofozoíto ou forma proliferativa do parasita (Figura 2) tem o aspecto característico em arco com 6 a 8 μm de comprimento e 3 a 4 μm de largura., com a extremidade anterior mais afilada e a posterior mais arredondada, próximo da qual se localiza o núcleo.

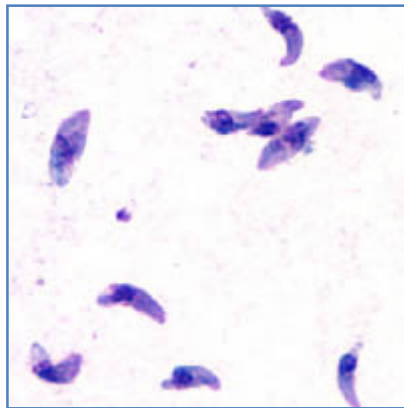


Figura 2: Taquizoítos de *Toxoplasma gondii*, corados com Giemsa, de um esfregaço de líquido peritoneal obtido de um rato inoculado com *T. gondii*. (3)

O parasita é limitado por uma película trimembranar característica, constituída por uma membrana plasmática contínua que é forrada internamente pelo complexo membranar interno ausente na extremidade posterior do parasita (Porchet e Torpier, 1977). Na parte média do corpo do parasita, a parede é interrompida pelo microporo (Nichols e col., 1983).

Na extremidade anterior do parasita localiza-se o complexo apical constituído por um conjunto de organitos (conóide, roptrias, grânulos densos e micronemas) característicos dos esporozoários donde derivou a designação Apicomplexa.

Conóide é uma estrutura em forma de tronco de cone, oco, é constituído por estruturas fibrilares espiraladas, é limitada anterior e posteriormente pelos anéis polares (Aikawa e Sterling, 1974). No anel polar posterior, situado na base do conóide, inserem-se 22 microtúbulos dispostos longitudinal e regularmente espaçados, na face interna do complexo membranar interno. (Nichols e Chiapino, 1987).

Roptrias são organitos com a forma de bastonetes alongados no sentido antero-posterior, limitados por membranas e situando-se no terço anterior da célula. As roptrias apresentam as extremidades anteriores afiladas, orientadas para o conóide onde se fundem em dois pedúnculos na extremidade anterior do parasita (Porchet e Nichols, 1983).

Grânulos densos são organitos citoplasmáticos arredondados com 200 µm de diâmetro, limitados por uma membrana e com localização lateral ao núcleo. Os grânulos densos são constituídos por uma substância homogênea. Durante muito tempo, os grânulos densos foram confundidos com as roptrias, mas a sua individualidade foi demonstrada por Vivier e Petitprez em 1972.

Micronemas são organitos mais pequenos que os grânulos densos, em forma de pequenos bastonetes limitados por uma membrana, localizando-se na parte anterior da célula. Os micronemas são pouco abundantes no taquizoíto ao contrário do que se observa no bradizoíto.

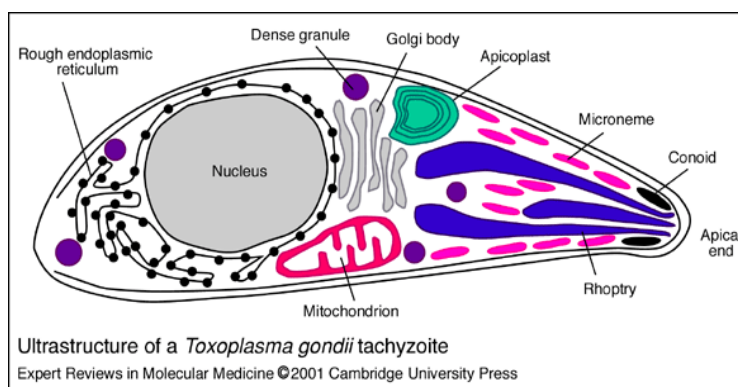


Figura 3 – Estrutura do taquizoíto de *T. gondii* (4)

O taquizoíto apresenta dispersos no seu citoplasma organitos característicos dos seres eucariotas: núcleo esférico, com 1 a 2 µm de diâmetro, situado na metade posterior da célula, uma mitocôndria com forma alongada e ramificada (Vivier e Petitprez, 1972), um retículo endoplasmático, numerosos ribossomas e diversas inclusões, tais como grãos de amilopectina (Senaud, 1967).

Estas estruturas são móveis e multiplicam-se dentro de vacúolos parasitóforos, no citoplasma de células nucleadas dos hospedeiros. São assim formas morfológicas de

multiplicação rápida do parasita e são os principais responsáveis pela citopatologia, podendo infectar hipoteticamente qualquer célula do corpo. A multiplicação do parasita ocorre por endodiogenia múltipla (5), processo de reprodução assexuada no qual o parasita se divide consecutivamente em dois. Quando o vacúolo parasitóforo preenche a célula hospedeira, esta rebenta, libertando os taquizoítos formados, que vão invadir novas células.

À medida que o hospedeiro vai criando imunidade contra o parasita, a multiplicação dos taquizoítos vai diminuindo e estes transformam-se em bradizoítos.

O taquizoíto quando extracelular, é muito susceptível à terapêutica, à acção dos anticorpos anti-toxoplasma e à acção dos sucos digestivos.

3.2 Bradizoíto e quisto tecidual

O quisto é a forma de vida latente (Figura 4) e constitui a forma de resistência e persistência do parasita nos tecidos dos hospedeiros intermediários e imunologicamente competentes. O quisto desenvolve-se progressivamente a partir do citoplasma da célula hospedeira podendo conter várias centenas de bradizoítos.

A parede quística que limita o quisto é constituída pela membrana da célula hospedeira que é forrada por material granuloso de natureza parasitária (Wanco e col., 1962). O quisto não se multiplica; permanece viável toda a vida do hospedeiro. O quisto tem a forma geralmente esférica e mede cerca de 5 a 50 µm de diâmetro, podendo contudo apresentar forma alongada quando a sua localização é no tecido muscular. A localização intracelular do quisto e a integridade da célula hospedeira são dois factores importantes para a sobrevivência do parasita (Ferguson e Hutchison, 1987).

Jacobs et al. (1960), caracterizaram biologicamente os quistos, quando constaram que a parede do quisto foi destruída pela pepsina ou tripsina, mas os organismos quísticos foram resistentes à digestão pelo suco gástrico (HCl-pepsina), enquanto os taquizoítos foram destruídos imediatamente. Deste modo, os quistos teciduais mostraram-se importantes no ciclo de vida do *T. gondii*, já que se demonstrou que os hospedeiros carnívoros podem ser infectados pela ingestão de carne infectada.

O bradizoíto é a forma do parasita contida no quisto e é caracterizado pela sua forma de multiplicação lenta. O bradizoíto estruturalmente é semelhante ao taquizoíto distinguindo-se deste pelas suas menores dimensões, pela localização mais posterior do núcleo, pelo maior número de micronemas e de grânulos citoplasmáticos contendo glicogénio (praticamente ausentes no taquizoíto).

Há contudo aspectos não estruturais que permitem a distinção entre o bradizoíto e o taquizoíto. Um deles é a resistência (3 horas) do bradizoíto às enzimas digestivas do hospedeiro ao contrário do taquizoíto que é rapidamente destruído (10 minutos) perdendo a sua capacidade infecciosa quando submetido à acção de tais enzimas (6).

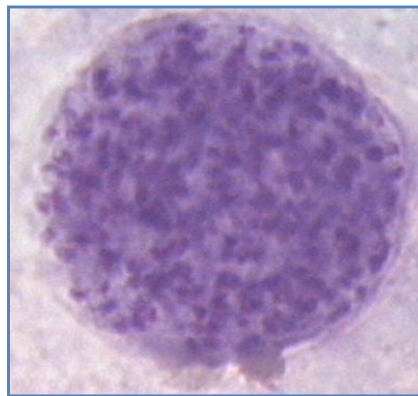


Figura 4 - Quisto tecidual de *Toxoplasma gondii* em tecido cerebral corado com hematoxilina eosina (100 X)
(3)

3.3 Oocisto e esporozoíto

A contaminação dos hospedeiros definitos por *T. gondii* conduz, após vários ciclos esquizogónicos, à invasão do epitélio intestinal por merozoítos. Algum tempo após a contaminação ocorre a diferenciação dos merozoítos em macrogametócitos femininos (esféricos, imóveis e volumosos) e em microgametócitos masculinos que se dividem libertando os microgâmetas flagelados e móveis. Por fecundação forma-se o ovo que ao fim de algum tempo adquire uma parede resistente formando-se o oocisto (Figura 5).

O oocisto é esférico mede cerca de 10 a 12 μm de diâmetro, contendo no seu interior um esporonte não infeccioso que é eliminado nas fezes.

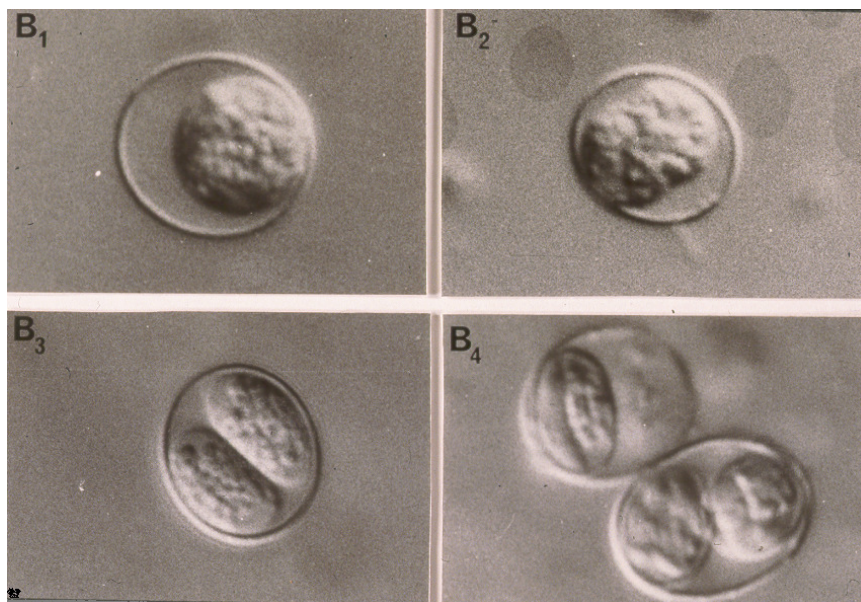


Figura 5 – B₁ Oocisto imaturo; B₂ e B₃ esporogonia do oocisto; B₄ oocisto maduro (3)

Este oocisto é imaturo, não esporulado, não infeccioso é o único estado diploide do ciclo parasitário.

No solo, após serem libertados para o exterior juntamente com as fezes dos felídeos, em condições de humidade, oxigénio e temperatura (20 e 25°C) adequadas o oocisto imaturo sofre a esporulação evoluindo para oocisto maduro e infeccioso. A esporulação termina com a formação de dois esporocistos contendo cada um quatro esporozoítos haploides. O tempo necessário para a maturação do oocisto varia de 1 a 5 dias e depende das condições ambientais.

4. Ciclo de vida do *T.Gondii*

O *T. gondii* apresenta um ciclo de vida heteroxénico (Figura 6) possuindo como hospedeiros definitivos os felídeos e como hospedeiros intermediários os animais homeotérmicos (mamíferos e aves).

Seguindo a nomenclatura de Hoare (1972) podemos distinguir o ciclo exoentérico ou assexuado (nos hospedeiros intermediários) e o ciclo entérico ou sexuado (no epitélio intestinal do hospedeiro definitivo).

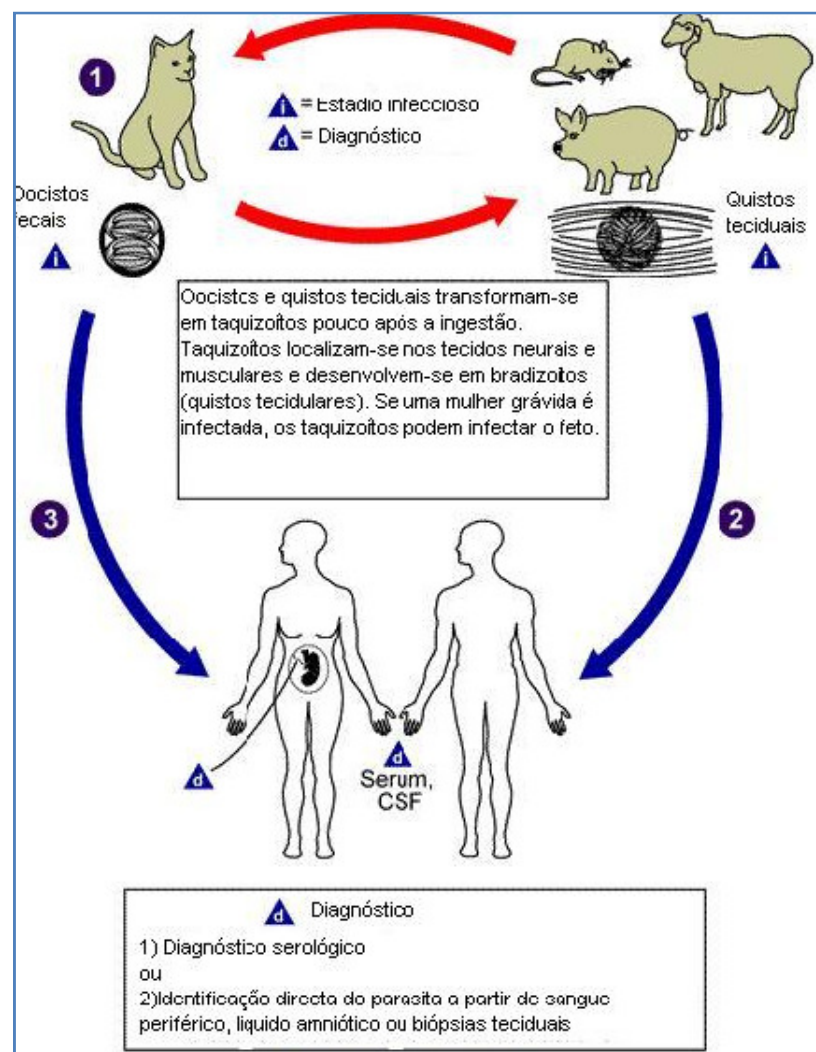


Figura 6: Ciclo de vida do *T.gondii* (3)

A reprodução sexuada decorre nos enterócitos dos felídeos (Golvan 1983; Frenkel, 1973). Estes contaminam-se ingerindo quistos ou oocistos infecciosos presentes nos alimentos. Por acção dos sucos digestivos, os esporozoítos ou bradizoítos (de acordo com a forma de contaminação) libertam-se e invadem o epitélio intestinal iniciando-se vários ciclos esquizogónicos. O tempo de duração desta fase do ciclo de vida, o número de esquizogonias e o número de merozoítos formados variam de acordo com as diferentes estirpes do parasita. Geralmente, a diferenciação dos merozoítos e formação de gametócitos ocorre 3 a 15 dias após a contaminação.

Os macrogametócitos são ovais (5 por 7 μm) e originam os gâmetas femininos (macrogâmetas) e os microgametócitos correspondem a 2-4 por cento dos gametócitos totais. Os microgametócitos são esféricos medindo cerca de 10 μm de diâmetro originando cada um, por maturação, 12 a 32 microgâmetas flagelados.

A fecundação ocorre no interior de enterócito com formação do ovo ou zigoto que evolui para oocisto, sendo eliminado, ainda imaturo, com as fezes cerca de 30 dias após a contaminação. A eliminação de oocistos tem uma duração aproximada de 2 a 3 semanas. No solo em condições ambientais adequadas, o oocisto imaturo sofre esporogonia originando o oocisto maduro e infeccioso.

Quanto à fase assexuada do ciclo de vida do *T.gondii*, após a contaminação do hospedeiro intermediário, sobretudo por ingestão de quistos ou oocistos, ocorre a libertação do parasita (bradizoítos ou esporozoítos) a nível digestivo, com rápida evolução para taquizoítos. Estes rapidamente invadem as células e multiplicam-se no interior do vacúolo parasitóforo. O crescimento intravacuolar do parasita é contínuo acabando por destruir a célula hospedeira. Esta fase da doença é designada por fase aguda ou proliferativa da infecção e é tanto mais rápida quanto maior for a virulência do parasita.

Os parasitas libertados invadem as células vizinhas recomeçando um novo processo de multiplicação (endodiogenia) ou disseminam-se no organismo, via corrente sistémica e linfática. O crescimento do parasita no sistema mononuclear fagocítico assegura a disseminação do parasita no organismo hospedeiro.

A formação de quistos teciduais é rápida e parece estar relacionada com o estado imunitário do hospedeiro e com a virulência da estirpe contaminante (Ferguson e Hutichison, 1987). Os quistos permanecem vivos durante toda a vida do hospedeiro, sendo contaminantes quando ingeridos pelos carnívoros ou pelos omnívoros.

5. Transmissão

Tanto no hospedeiro definitivo como nos hospedeiros intermediários, sensíveis ao *T. gondii*, o modo de contaminação é variável.

A contaminação de todos os hospedeiros, independentemente do seu tipo de alimentação, pode ocorrer por ingestão de oocistos viáveis e presentes nos alimentos, sobretudo nos vegetais e nos legumes crus e na água. A ingestão de oocistos por parte do Homem também pode ocorrer como consequência de uma higiene deficiente (via fecal-oral).

A contaminação dos hospedeiros com regime alimentar carnívoro ou omnívoro, pode ocorrer por também devido à ingestão de quistos viáveis presentes na carne crua ou insuficientemente cozida (Desmonts, 1965). Este modo de contaminação parece ser o mais frequente no Homem.

A contaminação pode ocorrer por contacto directo do hospedeiro com o parasita. Esta forma de contaminação é frequente em indivíduos que trabalham em talhos, matadouros e actividades afins. Incluem-se neste tipo de contaminação as toxoplasmoses acidentais adquiridas em laboratório, aquando da manipulação de taquizoítos vivos, assim como as infecções por *T. gondii* resultantes de transfusões sanguíneas ou por transplante de órgãos provenientes de dadores infectados (8). É de ter em consideração que nas formas graves de parasitemia por toxoplasmose, os parasitas podem ser encontrados em úlceras e líquidos biológicos (saliva, leite, lágrimas, sangue, etc.). Estes parasitas, entrando em contacto com mucosas ou ferimentos, parecem ser infecciosos (9).

A transmissão congénita ocorre por passagem de taquizoítos do *T. gondii* da mãe para o feto (10), quando a primo-infecção ocorre na gestação e poderá ser considerada como o resultado do contacto directo do parasita com o feto por via transplacentária. O risco de

transmissão vertical aumenta progressivamente com a idade gestacional, é de 6% às 13 semanas, 40% às 26 semanas e 72% às 36 semanas (11). Casos raros de infecção congénita resultante de infecção materna antes gravidez têm sido descritos. Alguns estão relacionados com pacientes imunocomprometidos devido a reactivação dos quistos intra-teciduals do parasita, mas outros foram denunciados sem qualquer patologia associada (12). Finalmente, é provável que a reinfeção por ingestão materna de oocistos durante gravidez possam, excepcionalmente, ser uma fonte de transmissão vertical da infecção (13).

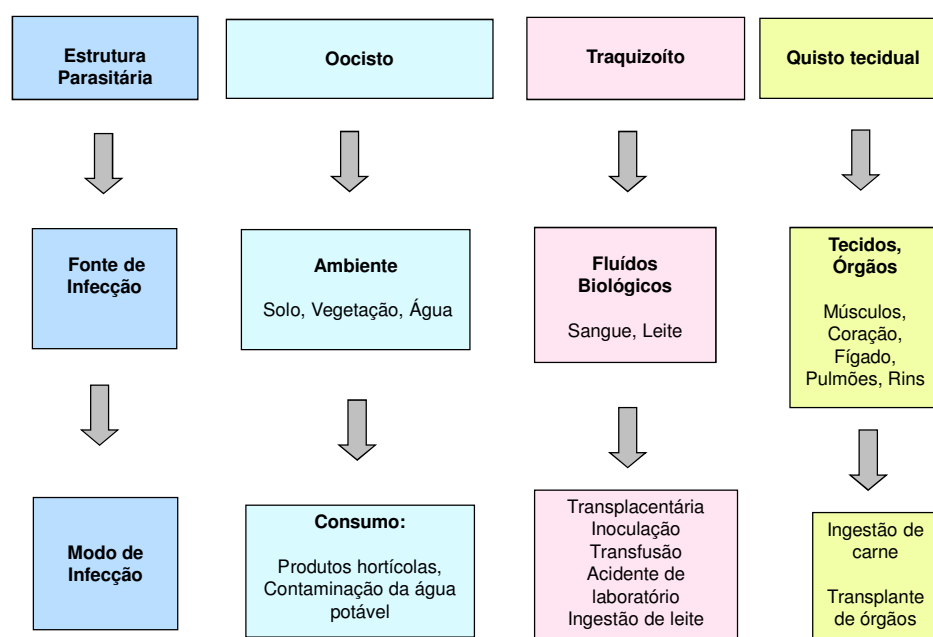


Figura 7: Fontes e modos de transmissão pelo *T. gondii*.

6. Resistência e sensibilidade do *T. gondii*

Esta referência é relevante, uma vez que está relacionada directamente com os cuidados a ter no sentido de prevenir a contaminação dos hospedeiros.

Os dados de resistência / susceptibilidade de diferentes estágios do parasita *T.gondii* são muitas vezes limitados e difíceis de interpretar de acordo com os parâmetros experimentais.

No entanto, podemos lembrar que:

- Quistos são destruídos por temperaturas de 67°C e congelação a -12°C durante pelo menos 3 dias, aplicada a uma peça de carne, no entanto esta duração pode ser insuficiente se a peça de carne for espessa (14). Os quistos permanecem infectantes após várias semanas a 4°C. A sua infecciosidade é mantida por 2 horas em meios muito ácidos (15). Graças a resultados experimentais contraditórios relativamente à acção da concentração de NaCl, a inactivação por concentrações salinas de 2% a 3% durante 48 horas não pode ser considerada como certa.
- Oocistos esporulados são destruídos por temperaturas de 60°C aplicadas durante 1 minuto. A congelação a -20°C é insuficiente para inactivar completamente os oocistos, tornando inaplicável a congelação como forma de assegurar a não infecciosidade dos vegetais. Estas estruturas são resistentes durante muito tempo em ambientes altamente ácidos e alcalino (16). Tal como os oocistos de outros coccídeos, são muito resistentes a agentes utilizados para a desinfecção, incluindo lixívia.
- Taquizoítos são estruturas mais frágeis. São destruídos pela água pura, mas podem persistir por vários dias em fluidos biológicos, como o leite a 4°C (17) sendo destruídos pela pasteurização.
- Bradizoíto quando libertado no tubo digestivo, resiste pelo menos 3 horas, à acção do suco gástrico, o que lhe permite invadir e multiplicar-se nas células do epitélio intestinal dos hospedeiros.
- Relativamente a outras condições que podem ser utilizadas no processamento de alimentos, apenas a ionização numa dose mínima de 0,5kGy foi recomendada. Outros modos de tratamento (microondas, salga e fumeiro) não se demonstraram totalmente eficazes.

7. Toxoplasmose

A expressão, a gravidade e o significado clínico de uma toxoplasmose são variáveis conforme se trate de uma infecção congênita ou adquirida após a nascença (Toxoplasmose adquirida). As manifestações clínicas da toxoplasmose são geralmente benignas ou mesmo inexistentes aquando da primo-infecção em hospedeiros imunocompetentes, contudo o *T. gondii* pode ser o responsável por quadros clínicos extremamente graves em hospedeiros imunodeprimidos.

Quando a primo-infecção materna é contemporânea com a gestação, o *T. gondii* pode ser responsável por fetopatias, de gravidade variável desde que ocorra a contaminação fetal (toxoplasmose congênita).

Nesta referência, vamos distinguir a toxoplasmose ocorrida na sequência de uma contaminação pós-natal em indivíduos imunocompetentes e em indivíduos imunodeprimidos, da toxoplasmose congênita transmitida no útero materno.

7.1 Toxoplasmose adquirida no indivíduo imunocompetente

Esta forma de toxoplasmose atinge o adulto e a criança (excepcionalmente a criança com menos de um ano de idade).

A ocorrência da toxoplasmose é clinicamente inaparente em cerca de 80% dos casos, incluindo as mulheres grávidas não imunes ao *T.gondii*. No entanto pode apresentar diversas formas, algumas das quais podem ser graves.

Geralmente resulta da ingestão de alimentos contaminados com as formas de resistência viáveis, oocistos e quistos, do parasita.

Após um período de incubação de 3 a 9 dias a infecção desenvolve-se segundo três fases:

- a) Fase primária, de invasão septicémica ou fase aguda

Após a multiplicação do parasita nas células do sistema mononuclear fagocítico locais, o *T. gondii*, dissemina-se por via sistémica e linfática no organismo assegurando deste modo a difusão do parasita no hospedeiro.

b) Fase secundária ou sub-aguda

Com o aparecimento dos anticorpos específicos, cessa a disseminação do parasita no organismo (resposta imune humoral). No entanto, o parasita vai persistir ao nível de determinados tecidos (cérebro, retina e músculos) pobres em anticorpos, podendo surgir nestes locais lesões granulomatosas ou necróticas.

c) Fase terciária, crónica ou de enquistamento

Nesta fase podemos falar de um equilíbrio entre o título de anticorpos e os parasitas na fase quística ou quiescente. O parasita enquista, preferencialmente, nos tecidos acima referidos, sem que se observe qualquer reacção inflamatória tecidual vizinha. Estes quistos apresentam longevidade igual à dos tecidos que os albergam. Pode, em determinadas situações, ocorrer a ruptura do quisto com libertação dos bradizoítos podendo, neste caso, observar-se uma reinfecção aguda localizada ou mesmo generalizada. Isto é frequente em doentes com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), em que se observa a reactivação (reinfecção endógena) duma toxoplasmose latente anteriormente adquirida.

Na toxoplasmose adquirida as formas inaparentes são as mais frequentes sendo a doença detectada aquando de um exame analítico de rotina.

7.1.1 Toxoplasmose ganglionar

Entre as formas com sinais clínicos aparentes, a mais frequente é a forma ganglionar (15 a 20% dos casos) caracterizada pelo aparecimento de adenopatias. Os gânglios são podem ser grandes, indolores, móveis, sem carácter inflamatório e com localização preferencial nos gânglios cervicais ou occipitais. Esta forma envolve fadiga muitas vezes intensa e prolongada, febre moderada e por vezes mialgia. Estes sintomas podem persistir por vários meses antes de regredirem espontaneamente, sem tratamento (18)

7.1.2 Toxoplasmose ocular

A infecção ocular por *T. gondii* foi durante muito tempo considerada excepcional em indivíduos imunocompetentes. No entanto, a frequência desta infecção é provavelmente subestimada na população em geral, devido à dificuldade do diagnóstico da toxoplasmose ocular. Numa série de 62 casos de toxoplasmose ocular, estimou-se que 35% dos casos são adquiridos (19).

7.1.3 Formas graves de toxoplasmose

As formas graves, na toxoplasmose adquirida, são extremamente raras e quase sempre são consequência da inoculação directa de grande número de taquizoítos (acidentes em laboratório) ou então surgem em indivíduos imunodeprimidos sendo neste caso o quadro mais frequente o da encefalite associado a alterações neurológicas como perda de consciência, hemiplagia, ataxia, etc, sendo nesta situação a evolução quase sempre fatal.

Foram observados danos múltiplos em órgãos de doentes que consumiram carne de caça na Guiana, surgindo a hipótese de contaminação por estirpes de *T. gondii* de uma virulência particular (20)

7.2 Toxoplasmose adquirida no indivíduo imunodeprimido

A toxoplasmose adquirida, doença geralmente benigna em indivíduos imunocompetentes pode tornar-se grave e mesmo mortal em doentes que apresentam um défice imunitário.

A partir dos anos 80, a toxoplasmose em imunodeprimidos, adquiriu grande interesse devido ao elevado aumento de enxertos de medula óssea, transplantes de diversos órgãos e também à grande expansão da SIDA. O desequilíbrio ou alteração da função imune pode ter consequências graves permitindo a disseminação do parasita, numa primo-infecção, ou a reinfecção duma toxoplasmose latente, anteriormente adquirida. Nesta última situação pode observar-se quadros clínicos graves com sintomatologia,

principalmente quando localizada a nível cerebral (figura 8), cardíaco, pulmonar e ocular (21).

Os indivíduos não imunes à toxoplasmose, e receptores de um transplante de um dador imune (toxoplasmose crónica), ficam expostos ao risco de uma toxoplasmose grave e disseminada devido à reactivação de quistos presentes no transplante. Esta situação pode estar na origem de formas poliviscerais de toxoplasmose que surgem algumas semanas após o transplante e em associação com a terapêutica imunossupressora habitualmente utilizada nestas situações clínicas.

Os indivíduos submetidos a transplantes de medula óssea, portadores de uma toxoplasmose crónica, ficam expostos à reactivação dos seus próprios quistos por supressão terapêutica da sua resposta imune. Nesta situação, as manifestações da toxoplasmose são habitualmente graves. No caso do receptor não imune que recebe um transplante medular proveniente de um dador portador de toxoplasmose crónica o risco de desenvolver uma toxoplasmose grave é menor, o que poderá ser explicado pela baixa carga parasitária transplantada e pela função normal dos leucócitos transfundidos.

As toxoplasmoses que podem revelar ou complicar uma infecção por HIV (Human Immunodeficiency virus) são frequentes, sendo também responsáveis pela maioria das manifestações neurológicas de SIDA. Destes doentes, 5 a 10% nos U.S.A. e 25 a 50% na Europa desenvolvem uma encefalite toxoplásmica (22) resultante, na maioria das situações, da reactivação de uma infecção crónica e não propriamente duma primo-infecção. Em grande número destes doentes, não se tem observado uma correlação entre título de anticorpos específicos da classe G (IgG) e as lesões clínicas toxoplásmicas observadas. Os anticorpos da classe M (IgM) não são habitualmente detectados nestes doentes. Pelas razões expostas o diagnóstico serológico é de difícil interpretação devido ao desequilíbrio imunológico presente.

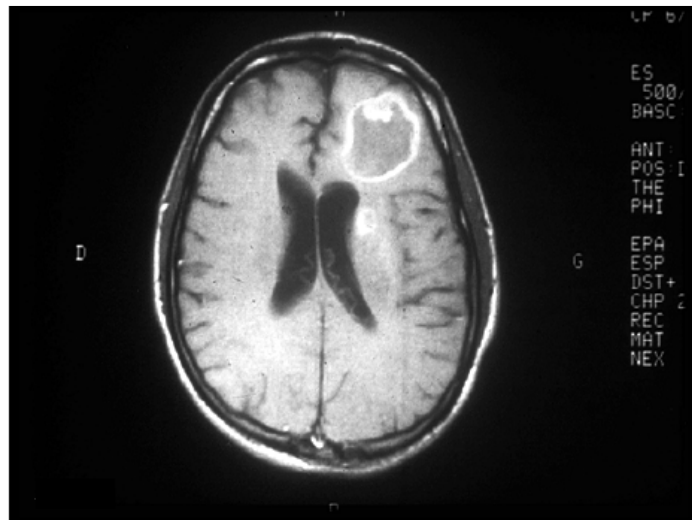


Figura 8: Ressonância magnética de toxoplasmose cerebral (23)

7.3 Toxoplasmose congénita

A infecção congénita resulta da passagem transplacentária de taquizoítos da mãe para o feto.

Quando a primo-infecção da toxoplasmose é adquirida durante a gestação, o risco de contaminação fetal é função da virulência do parasita, do estado imunológico da criança e do título materno de anticorpos anti-toxoplasma no momento da passagem transplacentária do parasita.

Sabe-se que a placenta constitui uma barreira à transmissão do parasita para o feto. Sabe-se também que com o evoluir da gestação a placenta sofre modificações estruturais que a deixam mais permeável, o que explica o aumento da frequência da toxoplasmose congénita em estados mais avançados da gestação. Por outro lado, ocorre de forma progressiva a maturação fetal tanto imunológica como orgânica, o que justifica a redução da gravidade das lesões fetais. Assim, calcula-se que o risco da passagem do parasita ao feto é de 17% no 1º trimestre, 25% no 2º trimestre e 65% no 3º trimestre de gestação. A ecografia é um meio auxiliar de diagnóstico essencial e fiável para confirmar a contaminação fetal desde as primeiras semanas.(24) Os valores globais conhecidos de transmissão materno-fetal situam-se entre os 20 e os 40%.(25)

A toxoplasmose adquirida no 1º trimestre de gravidez acompanhada de transmissão congénita provoca frequentemente a morte do feto *in utero* ou traduz-se por um abortamento espontâneo. Se a contaminação fetal surge depois do 2º trimestre de gravidez a lesão fetal é, em geral, revelada por ecografia que mostra sinais de hidrocefalia com dilatação ventricular frequentemente unilateral podendo, no entanto, a hidrocefalia ser substituída por uma microcefalia, calcificações intra-cranianas, uma hepatomegalia, uma ascite, um aumento do tamanho da placenta.(25) A descoberta de lesões graves levanta a questão da interrupção terapêutica da gravidez.

Verificam-se raramente casos de infecção congénita relacionados com infecções maternas anteriores à gravidez: caso de toxoplasmose ganglionar anterior, mas muito próxima da concepção ou de primo-infecção mais antiga associada a uma imunodepressão que é responsável por recorrências parasitémicas.

Sempre que ocorre a primo-infecção por *T. gondii* durante a gestação o tratamento materno deve ser iniciado o mais precocemente possível. Nesta situação, sempre que o diagnóstico pré-natal da toxoplasmose congénita é negativo, o tratamento deve prolongar-se até ao parto para assegurar a protecção do feto. Quando o diagnóstico pré-natal da toxoplasmose congénita é positivo, a criança deverá ser submetida a terapêutica adequada logo após o nascimento.

8. Diagnóstico da toxoplasmose

8.1 Diagnóstico serológico

Os anticorpos IgG anti-*T.gondii* surgem uma a duas semanas após a infecção pelo *T. gondii*, atingem um pico (normalmente em quatro a oito semanas, mas há casos em que pode permanecer até 36 semanas), declinam de forma variável e permanecem positivos por toda a vida. Actualmente a cinética das IgG é a mais segura para apreciar a evolução da infecção. Uma estabilidade da taxa de IgG permite concluir uma contaminação anterior a dois meses.

Os anticorpos IgM anti-*T.gondii* geralmente aparecem antes dos IgG anti-*T.gondii* e declinam mais rapidamente, por isso, a sua detecção pode ser útil para determinar uma infecção recente, embora por si só a presença de IgM não determine uma infecção

recente. Em alguns doentes estes anticorpos permanecem positivos durante muito tempo o que pode prejudicar a estimativa da duração da infecção. A resposta de IgM pode estar ausente em doentes imunodeprimidos e raramente em imunocompetentes.

Os anticorpos IgA anti-*T.gondii* apresentam o mesmo padrão de fase aguda da IgM, geralmente com duração mais breve, e não interferem com o factor reumatóide e com os anticorpos anti-nucleares. Contudo, em alguns casos podem também persistir por mais de um ano, por isso podem não contribuir mais do que a IgM para confirmar ou excluir uma infecção recente na gravidez. O estudo da cinética das IgA e IgE é um critério de diagnóstico suplementar cuja principal vantagem é a ausência de IgA e IgE naturais.

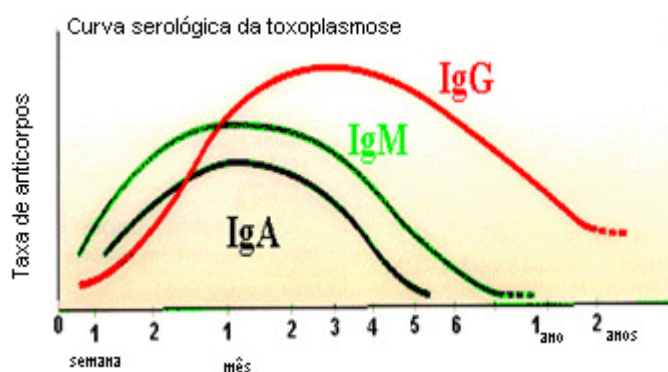


Figura 9: Curva Serológica da Toxoplasmose

A influência da terapêutica na cinética dos anticorpos é conhecida e pode colocar problemas de interpretação do diagnóstico. O tratamento precoce da grávida, desde o início da seroconversão, modifica a cinética das diferentes classes de anticorpos. As IgA e as IgM podem desaparecer ao fim de algumas semanas e as IgG mantêm-se em taxas moderadas, baixas ou mesmo não detectáveis. A vigilância serológica é obrigatória após o início de uma terapêutica anti-toxoplasma para confirmar a seroconversão e prevenir a toxoplasmose congénita.

Sendo a toxoplasmose uma infecção de modo geral benigna, normalmente só se efectua o diagnóstico em indivíduos que integram grupos considerados de risco (27):

- mulheres em idade fértil;

- fetos e recém-nascidos cuja mãe tenha tido uma infecção primária durante a gestação;
- indivíduos imunocomprometidos;
- indivíduos com coriorretinite de etiologia desconhecida.

No âmbito do tema relacionado especificamente com a toxoplasmose congénita limitamo-nos a especificar os métodos de diagnóstico utilizados quer em mulheres em idade fértil quer em fetos e recém-nascidos cuja mãe tenha tido uma infecção primária durante a gestação.

Nestes dois grupos o diagnóstico da toxoplasmose pode ser efectuado de dois modos:

- Diagnóstico indirecto: detecção e titulação dos anticorpos sintetizados pelo sistema imunitário humano contra o parasita (métodos serológicos);
- Diagnóstico directo: identificação do parasita por isolamento do parasita a partir de produtos biológicos, amplificação do seu ADN (ácido desoxirribonucleico) por PCR; demonstração histológica.

O diagnóstico directo é apenas realizado em laboratórios de referência e em estudos científicos.

Para a maioria dos laboratórios o diagnóstico da doença activa é feito através da titulação de anticorpos específicos para a toxoplasmose. Os valores dos títulos dependerão da técnica usada pelo laboratório: aglutinação directa, aglutinação indirecta, imunofluorescência e técnicas imunoenzimáticas (ELISA). Assim, a Direcção Geral de Saúde (DGS) recomenda: “Os testes deverão ser realizados sempre no mesmo laboratório e com métodos standardizados. É aconselhável a titulação simultânea de IgG e IgM específicas, o que é fundamental para o diagnóstico da doença activa. Os resultados da titulação dos anticorpos devem ser sempre acompanhados da sua interpretação”. (26)

8.2 Condutas do diagnóstico da toxoplasmose

8.2.1. Diagnóstico da imunidade materna

A imunidade toxoplásmica antiga é caracterizada pela presença de títulos baixos de IgG raramente acompanhados de IgM residual, mas, sem a presença de IgA. A confirmação da imunidade baseia-se na estabilidade dos anticorpos séricos de IgG detectados numa segunda amostra colhida com um intervalo mínimo de três semanas após a primeira colheita.

A confirmação de tal imunidade dispensa novas serologias.

8.2.2. Diagnóstico de uma seroconversão materna

A toxoplasmose materna inaparente, assintomática, é de descoberta serológica. O aparecimento e aumento progressivo de anticorpos específicos IgM, IgA e IgG traduz a seroconversão.

Na mulher não imune o aparecimento, durante a gestação, de anticorpos específicos é argumento suficiente para suspeitar de uma toxoplasmose recentemente adquirida.

O diagnóstico de uma toxoplasmose evolutiva é delicado na ausência de uma primeira amostra isenta de anticorpos específicos (negativa). Uma seroconversão é suspeitada pela presença de IgM associada à presença de IgA específicas, sendo a confirmação do diagnóstico estabelecida nos dois dias seguintes pelo estudo da cinética das IgG, IgA e IgM.

Um aumento significativo das IgG com presença simultânea de IgM e IgA em duas amostras, colhidas em alturas diferentes, (3 semanas de intervalo) testemunham uma infecção recente em evolução.

A detecção de IgA possui um grande valor de diagnóstico em virtude da sua duração transitória ao contrário do que, por vezes, ocorre com as IgM que podem ser detectadas por períodos de tempo relativamente longos.

O tratamento precoce das seroconversões explica a frequência actual de baixos títulos de IgG, o que requer uma certa prudência na interpretação serológica dos anticorpos perante uma suspeita de toxoplasmose evolutiva.

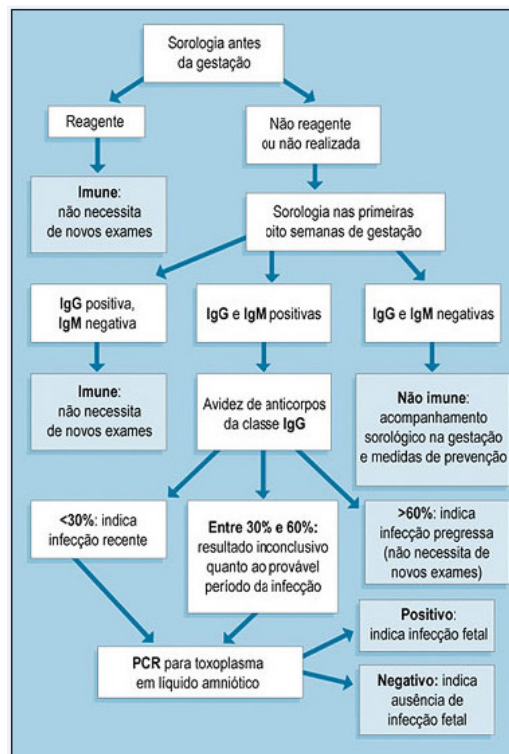


Figura10: Esquema de conduta relativamente à serologia da toxoplasmose numa mulher grávida imunocompetente.

8.2.3. Diagnóstico da toxoplasmose congénita

O diagnóstico da toxoplasmose congénita pode ser feito em três fases diferentes: pré-natal, neo-natal e pós-natal.

8.2.3.1 Diagnóstico pré-natal

Uma neo-síntese fetal de anticorpos específicos das classes de IgM e IgA devem ser pesquisadas no líquido amniótico, colhido a partir da 18^a semana, e melhor ainda, no sangue do cordão umbilical colhido a partir da 21^a semana. Se a amniocentese pode ser proposta até ao parto, a punção funicular menos inofensiva, deve ser evitada para além da 34^a semana.(28)

As técnicas da pesquisa de neo-síntese de anticorpos no feto devem ser de particular sensibilidade. A presença de IgM ou IgA deve ser tomada em consideração depois de, completamente, eliminada a hipótese de contaminação da amostra fetal com sangue materno. A pesquisa directa do *T. gondii* nas punções fetais deve ser sistemática. A punção funicular permite a pesquisa de sinais indirectos, de orientação, de uma contaminação fetal, tais como: aumento das IgM e das IgA totais, trombopenia, hipereosinófilia e aumento de certas enzimas como a LDH e a gamaGT.

O diagnóstico da toxoplasmose congénita pré-natal deverá incluir a vigilância ecográfica.

8.2.3.2. Diagnóstico neo-natal

A presença de IgM e IgA nas diferentes amostras séricas (sangue, sangue do cordão umbilical), locais (líquidos amnióticos e raquidianos) e tecidual (placenta) impõem uma confirmação no 10º dia, após o nascimento, para fixar o diagnóstico.

Como já referido, as IgM e as IgA maternas não atravessam a placenta portanto, as IgM detectadas no sangue do cordão umbilical correspondem a uma resposta fetal, na ausência de qualquer contaminação da amostra fetal com sangue materno. Deve, no entanto, sempre que a reacção é positiva no sangue do cordão, confirmar-se o resultado numa amostra de sangue periférico para a eliminação de possíveis resultados falsamente positivos.

8.2.3.3. Diagnóstico pós-natal (28)

Considerando a transmissão passiva das IgG maternas para o feto e a sua persistência, na criança, até cerca dos 10 meses, é difícil distinguir as IgG maternas das IgG recém-sintetizadas pela criança, com lesão congénita. Na ausência de sinais clínicos e biológicos a vigilância deve ser assegurada até ao desaparecimento dos anticorpos específicos (IgG) passivamente transmitidos (cerca de 1 ano após o nascimento). Esta pesquisa deve ser mantida durante um período mais ou menos longo (6 meses) para detecção de uma neo-síntese de anticorpos específicos.

A detecção da presença de IgM específicas sintetizadas pela criança, no período de vigilância pós-natal, confirma a toxoplasmose congénita.

9.Tratamento da toxoplasmose

Os diferentes padrões de tratamento da toxoplasmose baseiam-se num número muito limitado drogas.

O fármaco ideal no contexto da toxoplasmose congénita deveria ser não só eficaz e parasiticida contra os diferentes estados parasitários como deveria apresentar uma biodisponibilidade em todo o organismo e atravessar a placenta, com ausência absoluta de toxicidade fetal ou efeito teratogénico. De facto ainda não foi descoberto nenhum medicamento que cumpra todos estes critérios.

Os trabalhos existentes sobre a eficácia terapêutica não são completos, pois praticamente não existem estudos longitudinais comparativos entre indivíduos tratados e indivíduos não tratados. Estes estudos não são facilmente realizados pois, por motivos éticos, não se deve negar o tratamento a indivíduos comprovadamente infectados. Assim, apesar de opiniões divergirem quanto à eficácia do tratamento, este continua a ser o mais aconselhado (29)

Segundo alguns autores o tratamento com medicação adequada reduz significativamente o aparecimento de sequelas nas crianças infectadas, especialmente sequelas graves. Quanto mais cedo é iniciado o tratamento após infecção materna, menos frequentemente são encontradas sequelas no recém-nascido.

Diferentes autores defendem que o tratamento *in utero* não tem influência na transmissão materno-fetal, ao contrário do que é advogado por Holfeld (33), que afirma haver uma diminuição de 60% na transmissão materno-fetal quando se institui o tratamento com espiramicina, mas diminui as sequelas na criança em quantidade e gravidade.

Quando se detecta uma seroconversão materna durante a gestação, recomenda-se o início do tratamento medicamentoso com o objectivo de impedir a passagem do parasita para a circulação fetal e/ou diminuir os danos no feto. Este tratamento inicia-se então, com espiramicina logo após a detecção da seroconversão materna, no entanto, havendo confirmação de infecção fetal altera-se o tratamento para pirimetamina associada a sulfadiazina (30).

As drogas conhecidas são activas apenas em taquizoítos e não têm nenhum efeito sobre os quistos.e são agrupadas em duas categorias principais: inibidores da síntese de ácido fólico e macrólidos (31).

9.1. Inibidores da síntese de ácido fólico

Estes incluem os inibidores da diidrofolato redutase (DHFR) e sulfonamidas.

Os princípios activos mais utilizados no tratamento da toxoplasmose são os inibidores da síntese dos folatos – essencial para diferentes vias metabólicas do parasita. O *T.gondii*, ao contrário dos mamíferos, não tem capacidade para utilizar os precursores dos folatos, tais como ácido folínico. (29)

Embora a deficiência em folato possa provocar embriopatias e problemas hematológicos severos, é possível fazer a administração de um antagonista do folato juntamente com ácido folínico – o parasita não conseguirá prosseguir com as suas vias metabólicas, enquanto o doente utilizará o ácido folínico para compensar a actividade do inibidor da síntese do folato.

Sabin e Warren (1942) relataram a eficácia de **sulfonamidas** contra a toxoplasmose murina. As sulfonamidas são inibidores da síntese do folato; a sulfadiazina é um dos compostos mais eficazes já que atravessam rapidamente a placenta.

Pirimetamina é um inibidor da síntese do folato, atravessa a barreira placentar e difunde-se no sangue fetal, tendo sido considerada teratogénica em animais, é contra-indicada na gestação, principalmente durante o primeiro trimestre (50).

Eyles e Coleman (1953) descobriram os efeitos sinérgicos da terapia combinada com sulfonamidas e pirimetamina, este último é a terapia padrão para toxoplasmose em seres humanos (32).

9.2. Macrólidos

Estes antibióticos são activos sobre *T. gondii*, mas seu efeito é apenas parasitoestático em concentrações elevadas. No entanto, tanto em adultos como no feto, estas concentrações elevadas atingem alguns tecidos, como fígado e pulmões, mas não o cérebro ou o olho, o que limita consideravelmente o seu interesse para o tratamento da toxoplasmose grave.

Garin e Eyles (1958) descobriram actividade anti-toxoplásmica da espiramicina em macacos. Por a espiramicina não ser tóxica e não atravessar a placenta, tem sido usado de forma profilática em mulheres durante a gravidez para reduzir a transmissão do parasita de mãe para o feto.

Outros macrólidos, tais como roxitromicina, azitromicina ou claritromicina têm propriedades farmacocinéticas mais favoráveis (melhores concentrações tecidual), mas são contra-indicadas nas mulheres grávidas.

O quetólidos, uma nova família de drogas relacionadas aos macrólidos, são eficazes na toxoplasmose animal, mas ainda não foram experimentados em seres humanos.

10. Políticas de prevenção e controlo

A potencial gravidade da toxoplasmose no Homem implicou a tomada de medidas cruciais à prevenção desta doença.

As medidas profiláticas passam principalmente pelos cuidados higieno-dietéticos que a grávida deve adoptar e pela vigilância serológica, uma vez que, nenhum fármaco é 100% eficaz, e não existe vacina preventiva.

Em pacientes imunocomprometidos, a prevenção da toxoplasmose é melhor definida e divulgados. Em utentes altamente imunodeprimidos e mulheres soropositivas para toxoplasmose a prevenção da reactivação do *T. gondii* baseia-se na quimioprofilaxia (cotrimoxazol) que é amplamente aplicada e eficaz, mas que por não constar no âmbito do trabalho, este tipo de prevenção não vai ser estudado.

10.1. Regulamentação das políticas de prevenção

No que respeita às políticas de prevenção em relação à toxoplasmose congénita, são poucos os países que têm programas de prevenção previstos na legislação.

A nível europeu as práticas não estão niveladas, os estados membros favorecem medidas de despistagem e simples recomendações dirigidas à população. A toxoplasmose não faz parte das zoonoses de declaração obrigatória, no entanto, a directiva europeia 2003/99/CE classifica a toxoplasmose como uma zoonose a vigiar em função da situação epidemiológica.

A França e a Áustria são actualmente os únicos que têm legislados programas de prevenção para as grávidas, rastreio pré-concepcional e pré-natal. A Dinamarca optou recentemente por um programa de rastreio neonatal. A Grã-Bretanha, a Noruega e a Finlândia consideram que não é aconselhável instituir qualquer programa de prevenção da toxoplasmose congénita. Em países como a Alemanha, Bélgica, Itália, Suíça e Portugal o rastreio de primoinfecções maternas é unicamente aconselhado.

Um relatório de um grupo de estudo da OMS (1999) recomendava aos seus Estados-Membros a harmonização dos sistemas nacionais de vigilância das zoonoses e doenças zoonóticas transmitidas pelos alimentos, incluindo a toxoplasmose. Assim, a OMS passou a rever e actualizar as listas existentes de doenças de declaração obrigatória comum, em colaboração com a FAO, para os seres humanos e animais, mas até à data a toxoplasmose humana não foi aceite.

Em 2000, a CE estabeleceu uma rede de monitorização especializada em zoonoses. A toxoplasmose foi classificada entre as doenças transmitidas pelos alimentos e água ou ambiente, devendo ser feita uma análise de dados em função da situação epidemiológica. Em 2002 a CE decidiu estabelecer as definições de casos de notificação de doenças transmissíveis. Esta decisão é aplicável e obrigatória desde 1 de Janeiro de 2003 aos Estados Membros na sua totalidade (artigo 249.^o do Tratado). Essa decisão esclarece a descrição clínica da doença e métodos recomendados para o diagnóstico. No entanto, até à data não existe uma lei sobre o rastreio da toxoplasmose nos estados membros, excepto em França e Áustria.

Descreve-se de seguida o trabalho que está a ser realizado nos seguintes países europeus:

- França, em 1978, foi legislada a obrigatoriedade da realização de exames serológicos para a toxoplasmose, aquando do exame pré-nupcial. A 27 de Setembro de 1983 é emitida a circular número 605 com as regras higieno-sanitárias a seguir pelas mulheres grávidas. Em 1985 foi estabelecido o rastreio

serológico na primeira consulta pré-natal, e em 1992 tornou-se obrigatória a realização de exames serológicos mensais para a toxoplasmose durante a gestação em mulheres com ausência de anticorpos contra o *T. gondii*, ainda antes do fim do primeiro trimestre de gestação. Em 2003 a “Santé publique” decretou dois artigos únicos a nível mundial. O artigo R2121-1 em que o médico pode emitir o certificado pré-nupcial após realização dos testes serológicos para a rubéola e toxoplasmose, que são obrigatórios para as mulheres com menos de cinquenta anos (realizado na ausência de material escrito para considerar a imunidade concedida) e o artigo R2122-2, relativo aos exames realizados durante a gravidez em que é obrigatório, o rastreio para a toxoplasmose, nos mesmos termos. Se a serologia for positiva, é necessária a identificação e o doseamento de anticorpos. Além disso, a serologia para a toxoplasmose é repetida mensalmente a partir da segunda consulta pré-natal, se não houver imunidade. Além da realização dos exames as gestantes devem receber informação acerca da infecção e métodos de prevenção . Se ocorrer seroconversão durante a gestação a gestante é tratada com espiramicina e se for diagnosticada a infecção fetal, o tratamento é alterado para pirimetamina associado a sulfadiazina e ácido fólico.

- Áustria (34). Em 1975 foi implementado um programa de prevenção da toxoplasmose congénita baseado no rastreio das mulheres gestantes Este programa implica incentivos financeiros às grávidas, o que encoraja as mulheres a realizar triagem durante a gravidez, uma vez que apenas quem faz a vigilância correctamente recebe subsídio. Esta atribuição foi revista e severamente reduzida (de 1090 € para 145 €) em 1997 o que causou uma diminuição na triagem (-10%). Assim, as autoridades austríacas tornaram a rever as modalidades de financiamento desses incentivos e agora os austríacos recebem cerca de € 60 por mês durante os 3 primeiros anos do filho com a condição de se submeterem a exames para despistagem da toxoplasmose, entre outras. O rastreio implica a realização de um teste serológico à mulher no início da gestação, se houver ausência de anticorpos anti-*T.gondii*, a grávida deve repetir a serologia no segundo e terceiro trimestre, se for detectada a infecção, o tratamento é iniciado de imediato.

- Alemanha (35) Desde 1996, as directrizes oficiais recomendam o diagnóstico da toxoplasmose durante tratamentos contra infertilidade, antes da concepção, durante a gravidez e após o nascimento. Realizou-se um projecto para recolher dados sobre a toxoplasmose congénita em recém-nascidos que foi abandonado por razões financeiras.
- Bélgica (36) A alta incidência de toxoplasmose congênita tem levado as autoridades belgas a desenvolver uma conduta em matéria de prevenção entre as mulheres grávidas. Associações de Ginecologia e Obstetrícia desenvolveram orientações para as grávidas: a vigilância deve ocorrer durante a gravidez a partir da primeira consulta; se houver seronegatividade, a mulher grávida deve realizar análises trimestrais da serologia da toxoplasmose para detectar qualquer seroconversão. Deram também recomendações para o consumo e confecção de alimentos.
- Dinamarca (37) Desde 1999 é realizada a triagem serológica de toxoplasmose para detecção de deficiências em recém-nascidos. Os resultados de um estudo prévio indicaram que um programa de rastreio de recém-nascido que identificasse IgM específicas permitiria rastrear cerca de 75% de infecções em crianças nascidas de mães não tratadas, o que poderia ser aplicado em regiões com baixa prevalência de toxoplasmose, como é o caso dinamarquês.
- Itália (38) Desde 1994, devida à pressão exercida por profissionais sujeitos a litígios relacionados com toxoplasmose não diagnosticada, o seguro de saúde apoia e reembolsa dois exames. As serologias devem ser realizadas nas 20^a e 36^a semanas de amenorréia em mulheres em risco. Desde 1998, as mulheres seronegativas realizam uma serologia mensal e diagnóstico pré-natal em casos de seroconversão.
- Finlândia (39) Não há exames sistemáticos de rotina durante a gravidez, mas há uma selecção prévia das grávidas a quem esses exames se destinam. Além disso, são dadas informações sobre a prevenção primária às mulheres grávidas.
- Noruega (40) No início de 1990, um programa de triagem em 36.000 mulheres grávidas concluiu a necessidade de exames de rotina entre as mulheres risco.

Estas recomendações foram dirigidas às populações consideradas com maior risco de contaminação. Medidas dietéticas e de higiene são ensinadas a todas as mulheres grávidas.

- Reino Unido (41) Toda mulher grávida recebe um livro de informações publicadas pelas autoridades ou por instituições de caridade que informam para o risco de toxoplasmose. Esses conselhos podem variar muito de acordo com fontes. Não há fiscalização obrigatória ou triagem para toxoplasmose durante ou após gravidez, e os testes serológicos são realizados a pedido da utente.

Em Portugal (42) embora não exista uma legislação que obriga o rastreio, as autoridades de saúde pública (DGS) incentivam a realização de testes no início da gravidez. A interrupção da gravidez é utilizada nos casos de dano fetal, embora com a actual legislação possa ser utilizada não exclusivamente em situações clínicas. Na prática, a atitude médica pode variar entre a total ausência de fiscalização, as recomendações para a prevenção e o controle mensal. A DGS indica que o conhecimento do estado imunitário, antes da concepção, é importante, porque permite informar adequadamente a mulher acerca dos cuidados que deverá ter durante a gravidez, assim como orientar correctamente qualquer dúvida de diagnóstico que surja ao longo da gravidez.

As grávidas não imunizadas devem ser aconselhadas a (26):

- evitar o contacto próximo com animais domésticos , nomeadamente gatos, e a utilizar luvas , se houver necessidade de manusear o recipiente dos dejectos;
- utilizar luvas quando praticarem jardinagem ;
- ingerir alimentos bem cozinhados, em particular carne e ovos ;
- lavar cuidadosamente as frutas e verduras.

10.2. Vigilância serológica durante a gravidez

Georges Desmonts iniciou estudos em Paris (França), na década de 60, relativamente à seroconversão em mulheres durante a gravidez e a transmissão de *T. gondii* ao feto. O

sangue materno foi obtido na primeira consulta médica, em 7 meses, e no momento do parto. Desmonts iniciou o tratamento profilático em mulheres que tiveram seroconversão durante a gravidez. Os resultados deste estudo de 15 anos demonstraram o seguinte:

1. A infecção adquirida durante os dois primeiros trimestres foi mais prejudicial para o feto.
2. Nem todas as mulheres que adquiriram a infecção a transmitiram ao feto.
3. Mulheres soropositivas antes da gravidez não transmitem a infecção ao feto.
4. O tratamento com espiramicina reduziu a transmissão congénita em 50%, mas não a gravidade das lesões fetais (43).

Na mesma época, Otto Thalhammer iniciou um programa de selecção semelhante para grávidas na Áustria (44). Além dos conhecimentos científicos, estes programas têm ajudado a divulgar informações para a prevenção da toxoplasmose. Em Massachusetts (E.U.A.), na década de 1980, foi iniciada a triagem neonatal com serologia da toxoplasmose e tratamento precoce para infecção congénita de *T. gondii* (45). A eficácia do tratamento de *T. gondii* para infecção do feto e do recém-nascido não está totalmente delineada, e muitas questões relacionadas com o custo/benefícios da triagem e tratamento durante a gravidez e em recém-nascidos continuam a ser examinados

Então, a mulher em idade fértil deverá procurar saber o seu estado imunitário face ao *T. gondii*. Caso se observe ausência de imunidade (não imune) e em situação de gravidez deverá ser feito, a título preventivo, o controlo serológico periódico (mensal), para o despiste precoce de uma possível seroconversão. Caso esta ocorra, deverá iniciar-se o tratamento adequado o mais precocemente possível, que deverá ser mantido até ao parto. Por outro lado, o tratamento e acompanhamento clínico pré-natal, neo-natal e pós-natal da criança, deve ser feito, no sentido de prevenir ou minorar as lesões causadas por uma possível transmissão congénita.

10.3. Medidas de higiene

Actualmente, as medidas de prevenção primária são o único tipo de protecção para as gestantes susceptíveis à toxoplasmose (seronegativas). Um conjunto de medidas

preventivas higieno-dietéticas deve ser, rigorosamente, respeitado durante a gestação. Estas medidas incluem uma higiene individual cuidada, a lavagem cuidadosa das mãos antes da manipulação dos alimentos, lavagem cuidadosa dos legumes e frutos crus, a ingestão de carnes (qualquer que seja a espécie) bem cozidas e evitar o contacto com gatos e materiais que possam estar contaminados com excrementos de gato, usar luvas para limpar a cama do gato e para fazer jardinagem, e não alimentar o gato com carne crua.

Depois da descoberta do ciclo de vida de *T. gondii* em 1970, foi possível aconselhar mulheres grávidas e outras populações susceptíveis a evitar o contacto com oocistos (46). Foram realizados estudos que mostraram a amplitude térmica necessária para matar o *T. gondii* em carne infectada através da congelação (47), cozedura (48), e radiações gama (49). Estes dados agora são utilizados pelas agências reguladoras para aconselhar consumidores sobre a segurança da carne. Congelamento da carne durante a noite num congelador doméstico antes do consumo humano ou animal continua a ser o método mais fácil e económico para reduzir a transmissão de *T. gondii* através da carne.

10.4. Vacinação

Actualmente, comercializa-se uma vacina viva atenuada para ovelhas, a qual é eficaz na redução da mortalidade neonatal desta espécie (50). No entanto, não há nenhuma vacina para humanos, gatos e suínos. As vacinas de DNA poderiam constituir avanços significativos na prevenção à infecção por *Toxoplasma gondii* devido à forte imunidade humoral e celular induzida por este parasita.

Parte II – Material e Métodos

Este trabalho apresenta como inovação o facto de analisar o tipo de trabalho que está a ser realizado num laboratório privado da zona norte do país bem como o tipo de prevenção da toxoplasmose congénita que se está fazer nas áreas que esse laboratório abrange. O laboratório em causa é o Laboratório de Análises Clínicas Canidelo, s.a., Dra. Isabel Vicente (LIV).

O aparelho utilizado no LIV para a realização da serologia da toxoplasmose é o ADVIA Centaur[®]. O kit usado para a detecção dos anticorpos da classe M contra *T.gondii* é o “Toxo M do ADVIA Centaur[®]” da Siemens[®] (Anexo 1). O kit usado para a detecção dos anticorpos da classe G contra *T.gondii* é o “Toxo G do ADVIA Centaur[®]” da Siemens[®] (Anexo 2). É de referir que o LIV possui um kit de outra casa comercial para fazer confirmações de títulos positivos. Os confirmatórios são executados no aparelho VIDAS da Biomérieux[®] e o kit em questão é o “VIDAS[®] TOXO IgM” usado para a detecção dos anticorpos IgM contra *T.gondii* (Anexo 3). No estudo da cinética das IgG, pode haver a necessidade de se executar a avidez das IgG (em situações de um exagerado aumento dos títulos das IgG), o LIV envia o soro da utente para um laboratório externo que utiliza um kit “VIDAS[®] TOXO IgG AVIDITY[®]” (Anexo4). Uma vez que se trata de uma análise esporádica o LIV não tem volume de amostras suficiente que lhe permita comprar o kit em questão.

O soro das utentes que realizam a serologia da toxoplasmose (entre outras análises), é congelado no mínimo durante 3 meses. Sempre que necessário este soro é utilizado para confirmar seroconversões ou subidas exageradas dos títulos de anticorpos da classe G anti-*T.gondii*, em casos de reactivação.

1. Recolha de dados

Foram recolhidos dados das utentes do LIV, desde 2 de Janeiro de 2006 até à data de 29/05/2009.

A recolha de dados foi feita, exclusivamente, através do uso do software do LIV (Clinidata XXI[®]) que utiliza um sistema de organização de base de dados da Oracle[®].

Esta recolha implicou a utilização de alguns filtros que o software dispõe, tais como: definição de período temporal, definição de sexo, informações clínicas e resultados analíticos dos títulos de anticorpos das classes G e M anti-*T.gondii*.

No LIV, os dados demográficos de cada utente são introduzidos informaticamente no sistema informático numa ficha individualizada, sendo obrigatório o registo do nome, data de nascimento, idade, sexo, análises a efectuar, entre outros.

O sistema informático atribui automaticamente vários códigos para cada utente. Gera um código único para cada utente que nunca se repete que é o número mecanográfico (NC). Outro código que o sistema informático gera automaticamente e que é utilizado por questões práticas é o número de tubo (NT), a sua numeração é constituída por duas letras indicativas do posto onde a colheita foi realizada e por quatro números do 1000 ao 9999 que se vão repetindo ao longo do tempo. Gera-se ainda o número de identificação individual (NID) ou seja um número de identificação pessoal que permite ao sistema reconhecer a vinda posterior desse mesmo doente sendo possível ter acesso aos resultados históricos desse doente, bem como aos seus dados demográficos.

O software permite a passagem automática de alguns dados para o formato de Excel 2007[®]. Outras informações foram apenas colocadas em suporte digital na forma de base de dados (Excel 2007[®]) uma vez que apenas se encontravam disponíveis no programa para visualização/consulta.

Durante a análise de resultados foram retiradas algumas questões que teria interesse trabalhar, uma vez que se considera que os dados em posse do laboratório não traduziam a realidade. Esta questão ocorre porque as informações clínicas que o laboratório dispõe dependem da informação fornecida pelo técnico que realiza as colheitas, dependendo assim do zelo do técnico, uma vez que há indicação por parte do laboratório para que se faça sempre um inquérito aos doentes antes da colheita do

produto biológico (Anexo 5). Deste inquérito verbal apenas têm interesse para este estudo saber se a utente está grávida, de quanto tempo e se sabe se está “imune ou não à toxoplasmose”. Esta última questão não foi utilizada no trabalho uma vez que havia resultados em quantidade e qualidade (algumas das mulheres inquiridas não sabiam responder) não satisfatória para se fazer um trabalho estatístico.

1.1 Definição das variáveis usadas no estudo

Em cada um dos anos em estudo, foram recolhidos os seguintes dados: NC, NT, NID, data de colheita, data de nascimento, idade, sexo, informação clínica, resultados das análises dos anticorpos IgG e IgM anti-*T.gondii.*, de todas as mulheres que recorreram ao laboratório com idades compreendidas entre os 12 e os 50 anos de idade e que fizeram a serologia da toxoplasmose, desde 2 de Janeiro de 2006 até à data de 29/05/2009.

Pediu-se igualmente uma contagem anual, desde 2 de Janeiro de 2006 até à data de 29/05/2009, de todas as mulheres que recorreram ao LIV, independentemente da idade e das análises que realizaram.

Há um campo para introdução das informações clínicas não obrigatório, onde se inclui se está grávida ou se análises são pré-concepcionais e tempo de gestação. Este campo embora não de introdução obrigatória é normativo.

1.2 Autorização do uso dos dados

O projecto de estudo foi submetido à aprovação da administração do LIV, em que ficou vedado o acesso aos dados demográficos de cada utente excepto idade, sexo e data de nascimento, tendo assim sido respeitada a confidencialidade das utentes.

2. Tratamento estatístico dos dados

Foi feita a análise descritiva dos dados, centrada essencialmente em frequências absolutas e relativas para cada um dos níveis de desagregação utilizados.

A informação de alguns dados foi codificada e colocada em suporte digital na forma de uma base de dados no programa Excel 2007[®], tendo sido realizada uma dupla digitalização dos dados, para verificação e correcção de erros.

Os dados obtidos do Clinidata XXI foram tratados e trabalhados convenientemente conforme os objectivos no programa Excel 2007[®].

3. Caracterização da amostra

A amostra deste estudo é constituída pelos utentes do sexo feminino em idade fértil (dos 12 aos 50 anos de idade) que se dirigiram aos postos de recolha do LIV, entre Janeiro de 2006 e 29 de Maio de 2009 para realizar a serologia da toxoplasmose.

É de ter em consideração que este estudo apenas incluiu mulheres imunocompetentes. Não estão incluídos os casos de vigilância serológica da toxoplasmose por suspeita de reactivação da infecção crónica causada por imunodepressão.

Refere-se ainda que as mulheres contidas na amostragem incluem as mulheres que realizaram a serologia para despiste de infecção, as mulheres que realizaram análises pré-concepcionais e as mulheres grávidas.

Presume-se no entanto que o número de grávidas tido em consideração possa não corresponder à realidade porque algumas delas podem não ter sido introduzidas no sistema informático como tal.

Há uma margem de erro inerente ao facto de a informação clínica presente na base de dados depender do facto de o técnico de colheitas realizar o inquérito ao doente, do doente responder conscientemente e de o administrativo introduzir correctamente os

dados fornecidos pelo técnico de colheitas, ou seja os dados disponíveis dependem do zelo e do profissionalismo de vários colaboradores da instituição que participou no estudo, o que implica sempre uma margem de erro não quantificável que não foi tida em consideração.

3.1 Variáveis demográficas

Consideramos como local de origem das utentes em idade fértil, a localidade onde se situa o posto de colheita onde se dirigiram.

Assim, validamos os dados referidos no gráfico1 que se segue, em percentagens, por ano e por localidade.

Há a referir um acréscimo de doentes na freguesia de Mafamude, Vila Nova de Gaia, em 2008 e 2009 devido à abertura de mais três postos de colheitas do LIV nessa localidade.

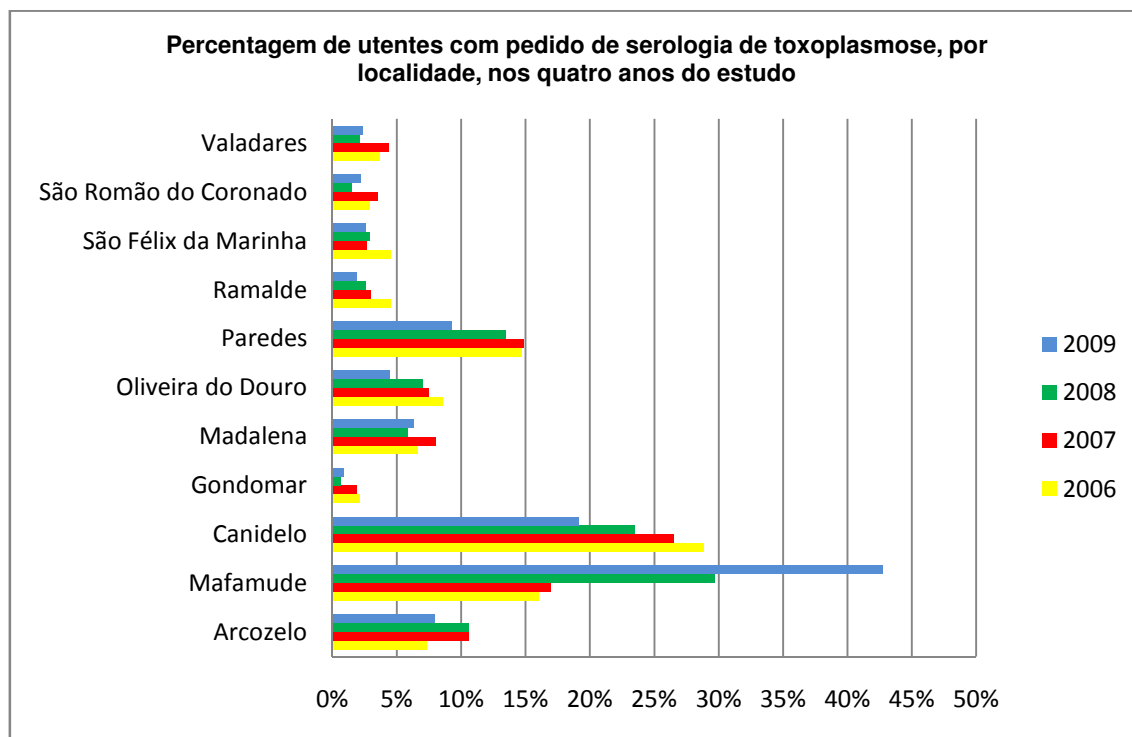


Gráfico 1: Percentagem de utentes com pedido de serologia de toxoplasmose, por localidade, nos quatro anos do estudo.

Entre as utentes em idade fértil com pedido de serologia de toxoplasmose tidas em consideração no estudo, considerou-se como grávidas as que tinham indicação como tal no campo do sistema informático “informações clínicas”.

Em relação ao número de grávidas com pedido de serologia da toxoplasmose, consideramos igualmente como local de origem, a localidade onde se situa o posto de colheita onde se dirigiram.

Assim, validamos os dados referidos na tabela que se segue (Tabela1), em percentagens, por ano e por localidade.

Tabela 1: Localidade vs Número de grávidas

Localidade	2006	%	2007	%2	2008	%3	2009	%4
Canidelo	170	37%	146	29%	282	24%	104	21%
Arcozelo	56	12%	82	16%	118	10%	37	8%
Espinho	0	0%	0		27	2%	12	2%
Mafamude	74	16%	69	14%	295	26%	185	38%
Ramalde	19	4%	17	3%	38	3%	10	1%
Madalena	23	5%	35	7%	76	6%	25	5%
Paredes	9	1%	18	3%	117	10%	48	9%
Oliveira do Douro	68	15%	51	10%	77	6%	24	4%
Ovar		0%	43	8%	94	8%	21	4%
São Félix da Marinha	34	7%	22	4%	37	3%	20	3%
Valadares	13	0%	30	6%	42	2%	12	2%
	466		513		1203		498	

Quando analisamos a distribuição das grávidas por localidade (gráfico 2), podemos verificar que às localidades Gondomar e São Romão do Coronado (presentes no gráfico 1) não recorreram mulheres grávidas. Assim, ou realmente nunca recorreram a estes postos de recolha nenhuma grávida (apenas recorreram mulheres para realização de análises pré-concepcionais) ou as informações clínicas destas mulheres não foram devidamente introduzidas no sistema informático ou as mulheres que recorreram a estes postos de recolha foram omissas na informação. Por outro lado, Ovar e Espinho presentes no gráfico 2 não se encontram presentes no gráfico 1, porque embora haja

uma pequena percentagem de mulheres grávidas a recorrerem a estes postos de recolha, não executaram a serologia da toxoplasmose (pelo menos em quantidade suficiente para serem tidas em consideração no gráfico 1), mas antes outras análises.

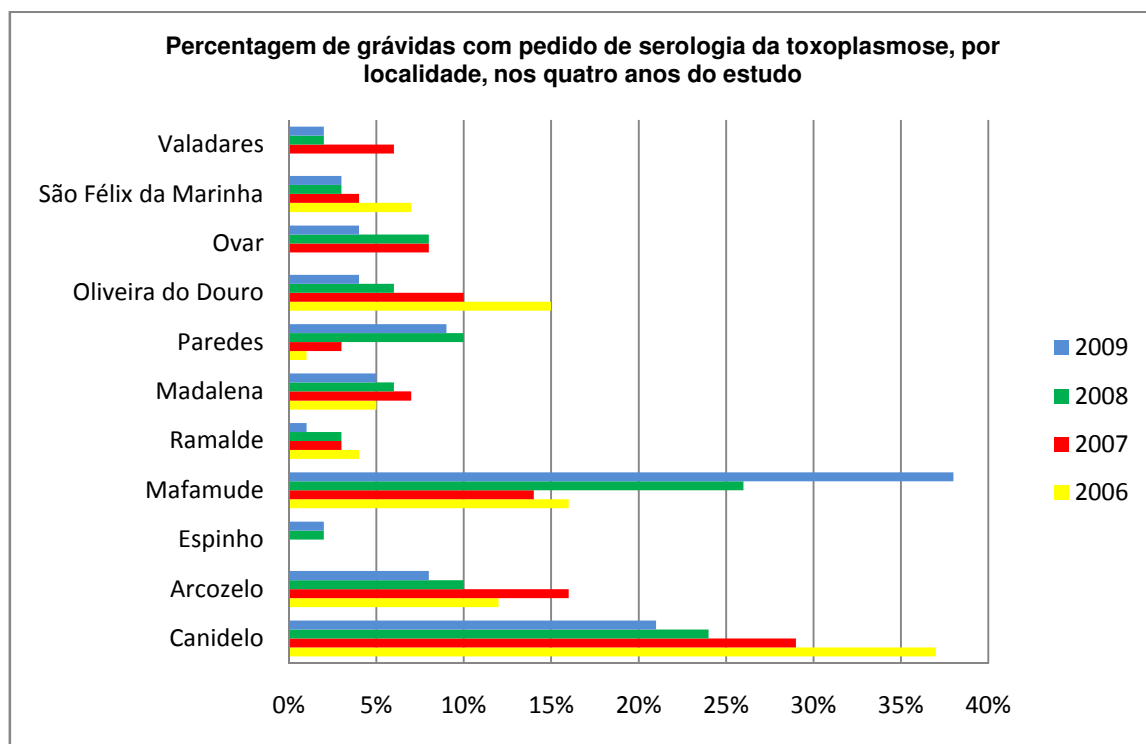


Gráfico 2: Percentagem de grávidas com pedido de serologia de toxoplasmose, por localidade, nos quatro anos do estudo.

Na tabela 2 apresenta-se a taxa anual das mulheres em idade fértil (12-50) que recorreram ao LIV para cada um dos anos de estudo.

Tabela2: Número de mulheres em idade fértil vs Número de mulheres que recorreram ao LIV.

Ano	nr mulheres idade fértil(12-50)	nr mulheres q recorreram ao laboratório	%
2006	17984	27935	64,38%
2007	19695	30986	63,56%
2008	25262	41282	61,19%
2009	12216	20348	60,04%

Observando-se o gráfico 3 verifica-se que há uma diminuição na taxa de mulheres em idade fértil que recorrem ao LIV de ano para ano. Deve recordar-se que há um envelhecimento genérico da população portuguesa (51) que explica este facto.

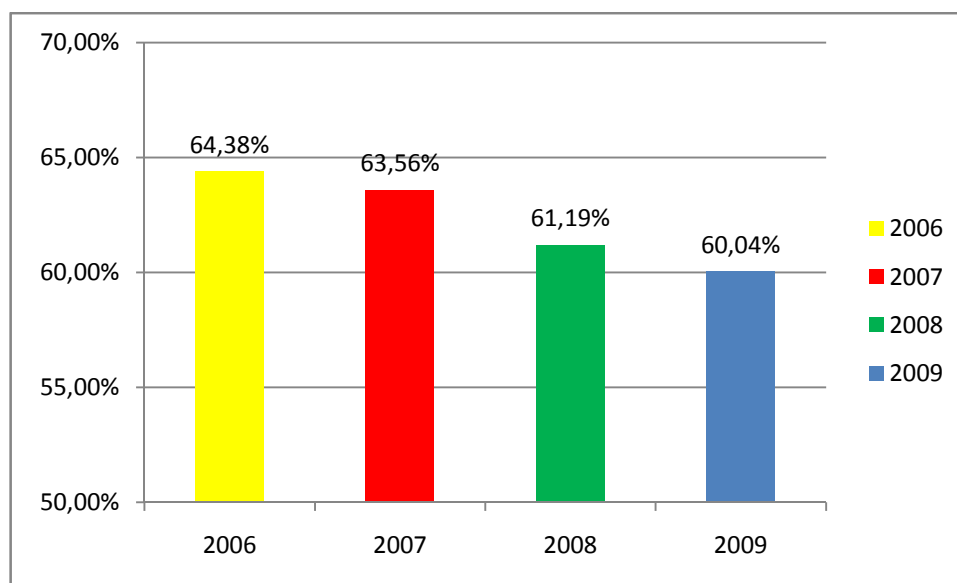


Gráfico 3: Taxa anual das mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV.

Relativamente à idade, foram arbitrariamente estabelecidos quatro grupos etários entre as mulheres com pedido de serologia de toxoplasmose (tabela 3):

- <20: mulheres com idade inferior 20 anos
- 20 – 29: mulheres com idade compreendida entre os 20 e os 29 anos
- 30 – 39: mulheres com idade compreendida entre os 30 e os 39 anos
- ≥40: mulheres com idade igual ou superior a 40 anos

A distribuição por grupos etários não apresenta diferenças consideráveis de ano para ano. Aproximadamente 50% das utentes que fizeram a serologia têm entre 30 e 39 anos e cerca de 40% têm entre 20 e 29 anos de idade. Em menor percentagem encontram-se as mulheres com menos de 20 anos e com idade ≥40 anos.

Relativamente à idade das mulheres que realizaram a análise, os principais grupos etários representados estão entre os 20 e os 39 anos, que são provavelmente as idades em que as taxas de maternidade no nosso país é mais elevada. Não foi possível confirmar esta dedução por não termos acesso a estes dados.

A ter em consideração é o aumento anual que se regista, embora discreto, do número de mulheres que fizeram a serologia, com idade ≥ 40 anos de idade.

Tabela3: Distribuição das mulheres com pedido de serologia de toxoplasmose por faixa etária

Faixa etária	2006	2006%	2007	2007%	2008	2008%	2009	2009%
<20	73	5,85%	79	5,80%	90	5,25%	55	6,19%
[20 - 29]	521	41,75%	566	41,56%	722	42,10%	334	37,61%
[30 - 39]	618	49,52%	679	49,85%	843	49,15%	448	50,45%
≥ 40	36	2,88%	38	2,79%	60	3,50%	51	5,74%
TOTAL	1248		1362		1715		888	

Os gráficos que seguem demonstram a percentagem de mulheres que fizeram a serologia da toxoplasmose por faixa etária por ano.

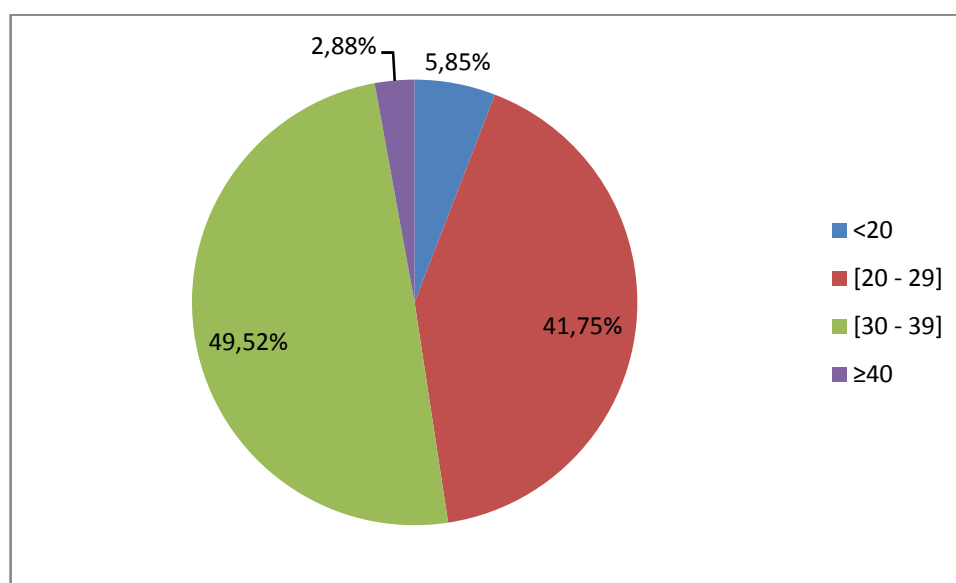


Gráfico 4: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária, em 2006.

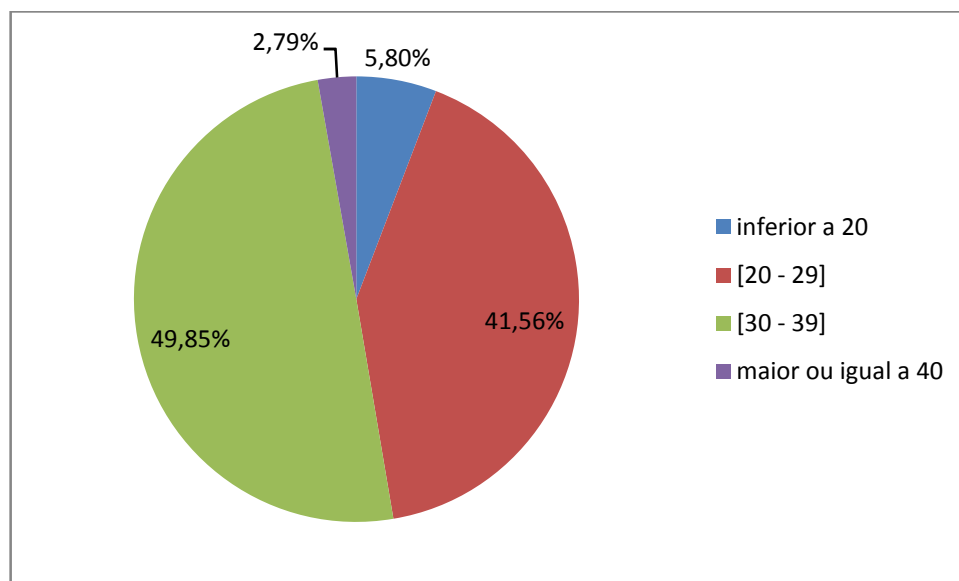


Gráfico 5: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária, em 2007.

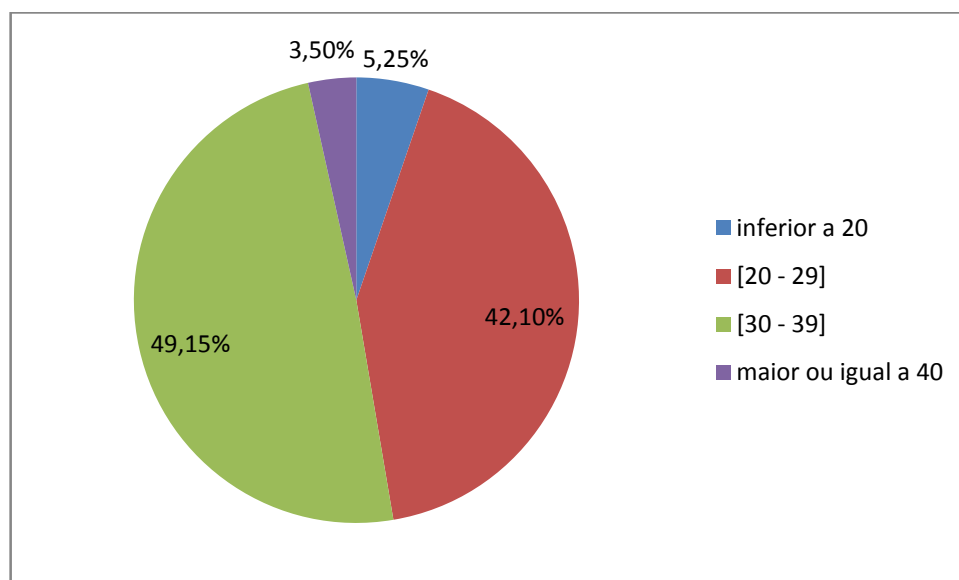


Gráfico 6: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária, em 2008.

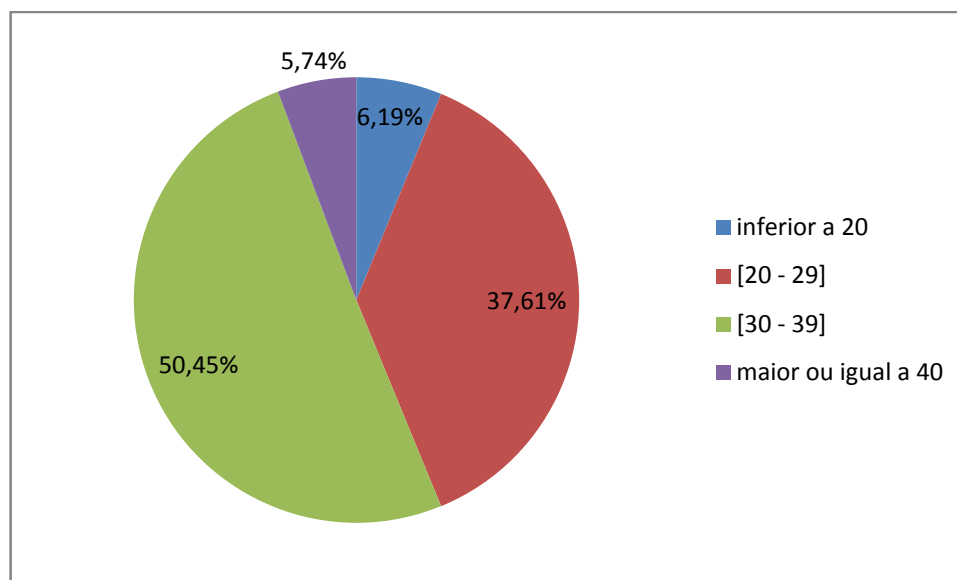


Gráfico 7: Percentagem de utentes que fizeram serologia de toxoplasmose por faixa etária em 2009

Quando analisamos o número anual de mulheres grávidas que recorreram ao LIV, verificamos que as taxas se mantêm semelhantes de ano para ano, com uma taxa média de 4%, havendo apenas a referir um ligeiro acréscimo no ano de 2008.

Tabela4: Número anual de grávidas vs Número anual de mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV

Ano	Nrº grávidas	Nrº mulheres(12-50)recorreram LIV	%
2006	466	17984	3%
2007	513	19695	3%
2008	1203	25262	5%
2009	498	12216	4%

PARTE III – Apresentação de resultados

1. Taxa anual de pedidos de serologia da toxoplasmose

Na tabela 5 apresenta-se a taxa das mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV e realizaram a serologia da toxoplasmose, para cada um dos anos em estudo. A taxa média de pedidos de serologia da toxoplasmose destes quatro anos de estudo é de 6,68%.

Tabela 5: Número de mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV vs número das mulheres que fizeram a serologia da toxoplasmose por ano.

Ano	Nrº Mulheres(12-50) recorreram LIV	Nrº Mulheres(12-50) realizaram serologia toxoplasmose	%
2006	17984	1248	6,94%
2007	19695	1362	6,92%
2008	25262	1715	6,79%
2009	12216	888	7,27%

Analisando o gráfico 8 verifica-se que a taxa de pedidos anual destas análises é relativamente constante. Contudo, observa-se uma ligeira diminuição de pedidos em 2008 e contrariamente um ligeiro aumento de pedidos em 2009.

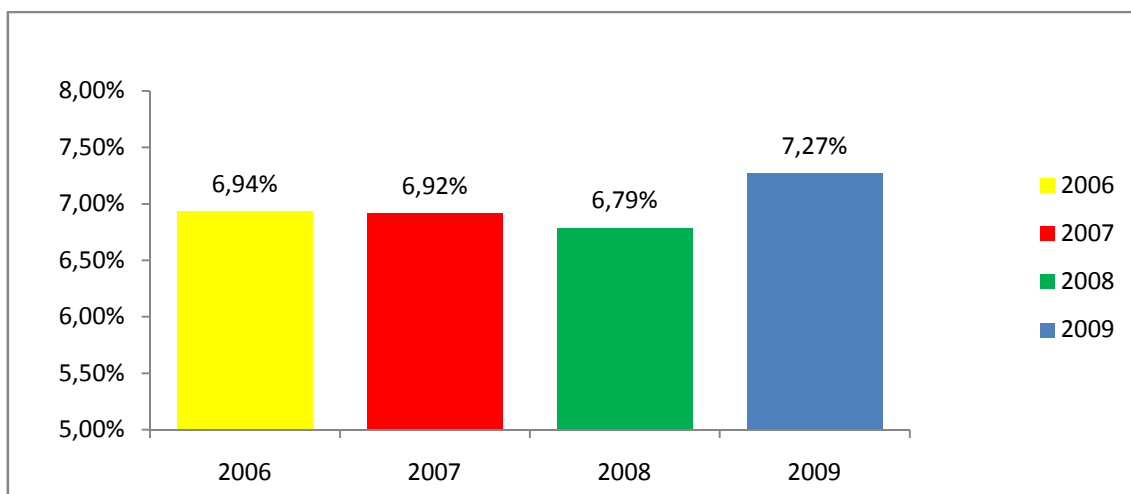


Gráfico 8: Taxa de pedidos anual de serologia da toxoplasmose

2. Taxa anual de mulheres com serologia da toxoplasmose negativa

Na tabela 6 apresenta-se a taxa anual de mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV com serologia da toxoplasmose negativa.

Tabela6: Mulheres com serologia negativa vs Mulheres que realizaram a serologia da toxoplasmose

Ano	Mulheres com serologia negativa	Mulheres que realizaram serologia	%
2006	896	1248	71,79%
2007	982	1362	72,10%
2008	1245	1715	72,59%
2009	677	888	76,24%

No gráfico 9 pode verificar-se que a percentagem anual de mulheres com ausência de anticorpos anti-*T.gondii* permanece sempre elevada acima dos 70%.

Observa-se também um aumento gradual da taxa de mulheres com ausência de anticorpos anti-*T.gondii* ao longo desses quatro anos.

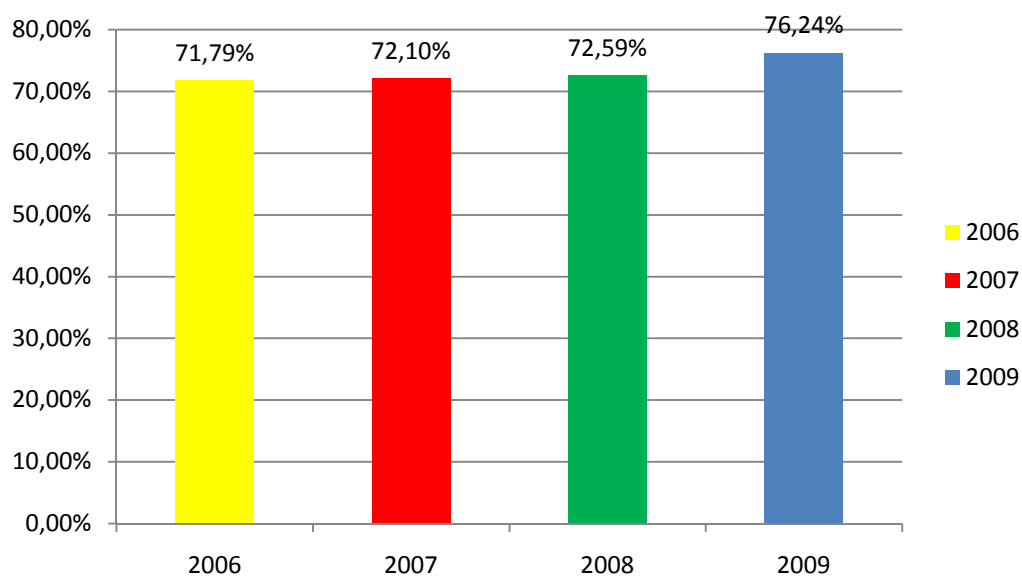


Gráfico 9: Percentagem anual de mulheres com serologia negativa para toxoplasmose

3. Taxa de grávidas não imunes

Na tabela 7 apresenta-se a taxa de grávidas não imunes que recorreram ao LIV par cada um dos anos do estudo.

Tabela7: Número de grávidas vs número de grávidas não imunes

Ano	Nrº grávidas	Nrº grávidas não imunes	%
2006	466	359	77%
2007	513	355	69%
2008	1203	950	79%
2009	498	386	78%

Observando-se o gráfico 10 pode verificar-se, que ao contrário do ponto 2 (Taxa anual de mulheres com serologia da toxoplasmose negativa), não há um aumento gradual da taxa de grávidas não imunes. Em 2007 e em 2009 há ligeiros decréscimos face ao ano anterior.

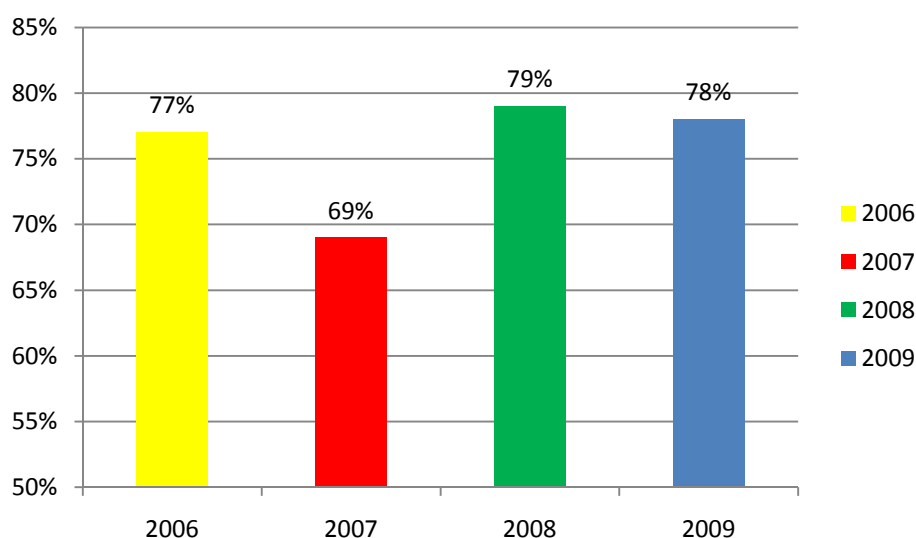


Gráfico 10: Taxa de grávidas com ausência de anticorpos anti-*T.gondii*.

4. Taxa de grávidas não imunes que não fizeram vigilância serológica durante a gravidez

Na tabela 8 apresenta-se a taxa de grávidas não imunes que não fizeram vigilância serológica durante a gravidez, para cada um dos anos em estudo. A taxa média de grávidas não imunes que não fizeram vigilância serológica durante a gravidez destes quatro anos de estudo é de 46%.

Tabela 8: Número de grávidas não imunes vs número de grávidas não imunes que não fizeram vigilância durante a gravidez

Ano	Nrº grávidas não imunes	Nrº grávidas não imunes sem vigilância	%
2006	359	184	51%
2007	355	226	64%
2008	950	290	31%
2009	386	145	38%

Observando-se o gráfico 11 pode verificar-se uma grande variação na taxa anual de grávidas não imunes que não fizeram vigilância durante a gravidez. Observa-se no entanto uma grande diferença de 2007 para 2008, em que houve um decréscimo na taxa de grávidas não imunes que não fizeram vigilância durante a gravidez, de 64 para 31 por cento.

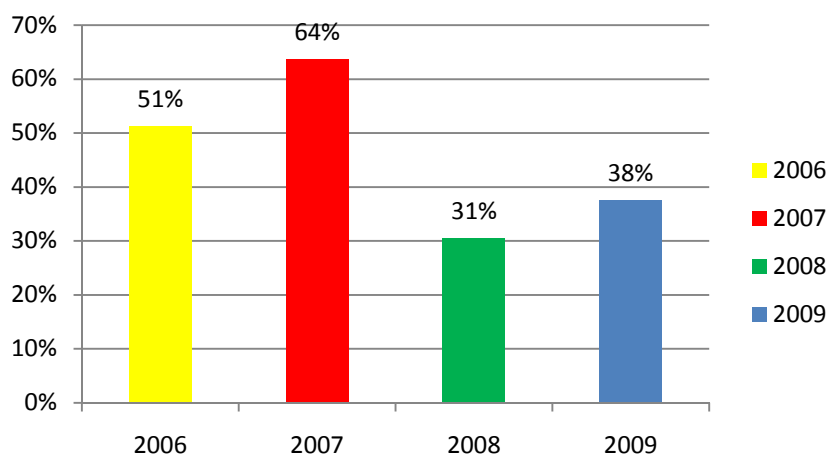


Gráfico 11: Taxa anual de grávidas não imunes que não fizeram vigilância durante a gravidez

5. Taxa de mulheres imunes à toxoplasmose

Na tabela 9 apresenta-se a taxa de mulheres em idade fértil que recorreram ao LIV e que apresentam anticorpos anti-*T.gondii*, para cada um dos anos em estudo.

Tabela 9: Número de mulheres imunes vs Mulheres que realizaram a serologia da toxoplasmose

Ano	Nrº mulheres imunes	Mulheres que realizaram serologia	%
2006	352	1248	39%
2007	379	1362	39%
2008	468	1715	38%
2009	211	888	31%

Observando-se o gráfico 12 pode verificar-se uma diminuição gradual na taxa anual de mulheres que apresentam anticorpos anti-*T.gondii*.

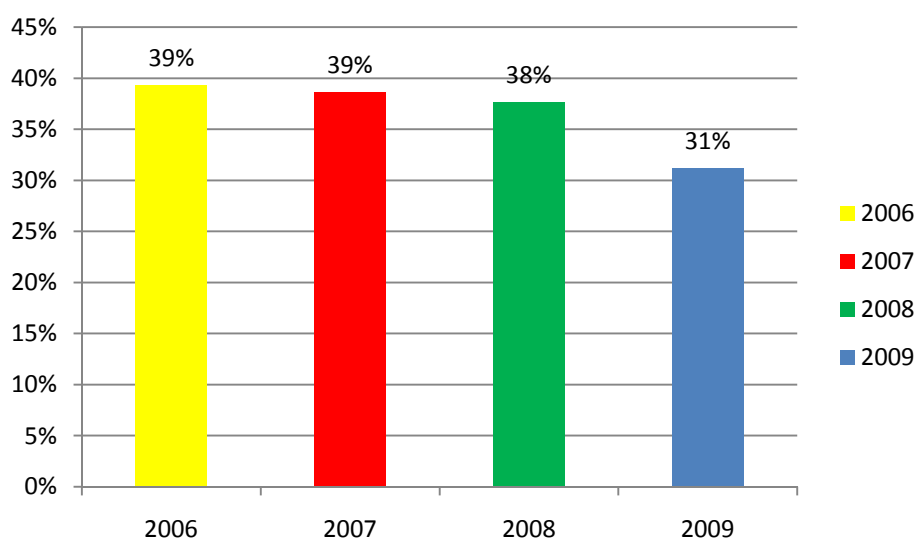


Gráfico 12: Taxa anual de mulheres imunes em idade fértil que recorreram ao LIV.

6. Taxa de mulheres imunes que repetiram a serologia da toxoplasmose

Na tabela 10 apresenta-se a taxa das mulheres imunes que repetiram a serologia da toxoplasmose, para cada um dos anos em estudo. A taxa média de mulheres imunes que repetiram a serologia da toxoplasmose durante a gravidez destes quatro anos de estudo é de 12%.

Tabela 10: Número de mulheres imunes vs Mulheres que realizaram a serologia da toxoplasmose

Ano	Mulheres imunes que repetiram serologia	Mulheres imunes	%
2006	33	352	9%
2007	39	379	10%
2008	105	468	22%
2009	16	211	8%

Pode observar-se no gráfico 13, que embora a taxa de repetições entre as mulheres imunes não seja elevada há um acréscimo significativo de 2007 para 2008 em que passa de um valor de 10 por cento para um valor de 22 por cento. A taxa torna a diminuir drasticamente de 2008 para 2009 atingindo um valor de 8 %.

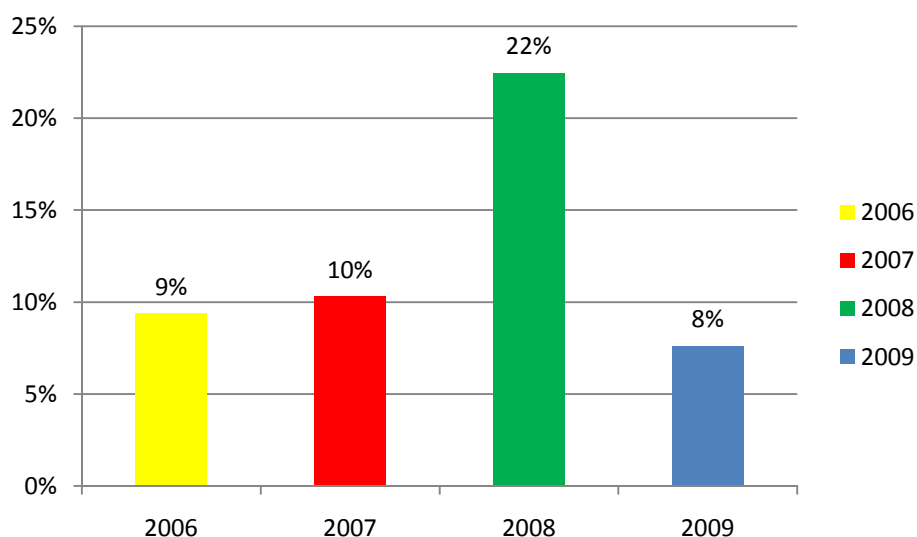


Gráfico 13: Taxa de mulheres imunes que repetiram a serologia.

7. Trimestre de gravidez em que as mulheres recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer a serologia

Na tabela 11 apresenta-se o trimestre de gravidez em que as grávidas recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer a serologia da toxoplasmose e na tabela 12 a percentagem correspondente, para cada um dos quatro anos do estudo.

Tabela 11: Número de grávidas que recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer serologia vs Trimestre de gravidez.

Ano	1º Trimestre	2º Trimestre	3º Trimestre	Não responde
2006	193	70	44	159
2007	237	53	46	177
2008	453	101	43	606
2009	185	59	15	239

Tabela 12: Percentagem de grávidas que recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer serologia vs Trimestre de gravidez.

Ano	1ºTrimestre	2º Trimestre	3º trimestre	Não respondeu
2006	42%	15%	9%	34%
2007	64%	15%	12%	9%
2008	38%	8%	4%	50%
2009	37%	12%	3%	48%

No gráfico 14, que relaciona a primeira serologia com a idade da gestação, pode observar-se que a maioria das grávidas se dirigiu ao LIV pela primeira vez para realizar a serologia da toxoplasmose ainda no primeiro trimestre, havendo uma diminuição gradual para o segundo e terceiro trimestres.

É de salientar que há uma percentagem elevada em 2006, 2008 e 2009 de mulheres que “não respondeu”. Estas grávidas não sabiam, não responderam, ou não lhes foi perguntado em que trimestre da gestação se encontravam quando realizaram a análise.

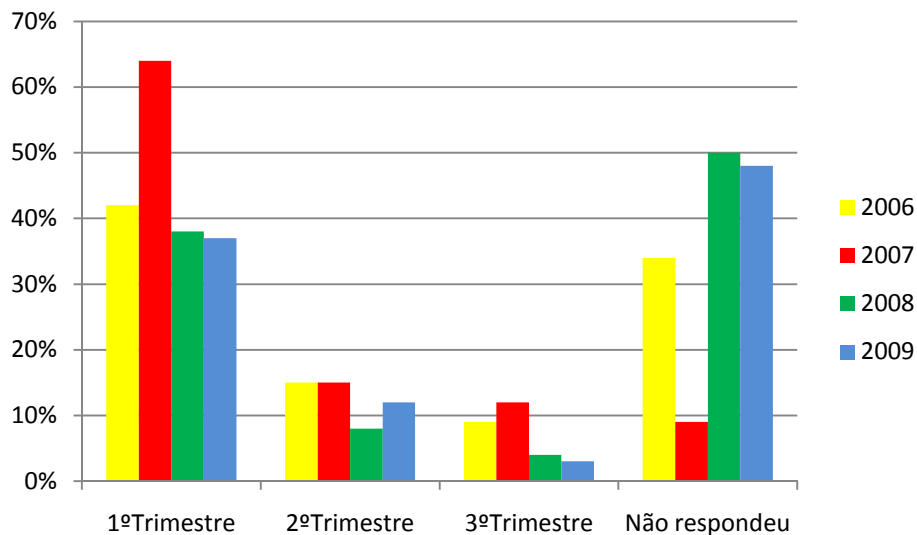


Gráfico 14: Trimestre de gravidez em que as mulheres recorreram pela primeira vez ao LIV para fazer a serologia, durante os quatro anos do estudo

8. Taxa da periodicidade anual da vigilância serológica da toxoplasmose em grávidas não imunes

Na tabela 13 apresenta-se a periodicidade anual da vigilância serológica da toxoplasmose por parte das grávidas não imunes.

Tabela 13: Periodicidade anual da vigilância da toxoplasmose em grávidas não imunes

Ano	1x	2x	3x	4x	Nrº grávidas n imunes	% 1x	% 2x	% 3x	% 4x
2006	230	98	27	4	359	64,07%	27,30%	7,52%	1,11%
2007	247	46	52	10	355	69,58%	12,96%	14,65%	2,82%
2008	514	273	126	37	950	54,11%	28,74%	13,26%	3,89%
2009	259	107	20		386	67,10%	27,72%	5,18%	0,00%

Pode observar-se no gráfico 15, que há uma diminuição gradual no número de vindas anuais ao LIV, em que a grande maioria das mulheres só realiza a serologia da toxoplasmose apenas uma vez.

Verifica-se que em 2009 nenhuma mulher recorreu ao laboratório mais do que três vezes.

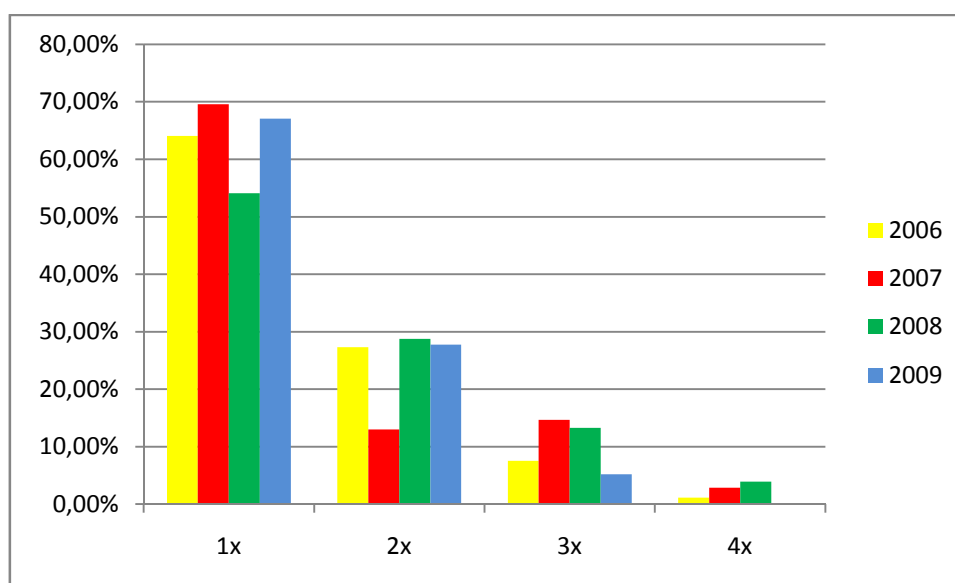


Gráfico 15: Taxa da periodicidade anual da vigilância da toxoplasmose em grávidas não imunes.

PARTE IV – Discussão dos resultados

1. Taxa anual de pedidos de serologia da toxoplasmose

Durante o período de tempo estudado, observam-se ligeiras variações do número de pedidos de serologia da toxoplasmose. Pode considerar-se que uma percentagem média de pedidos de serologia de toxoplasmose de 6,98% em mulheres em idade fértil é baixa, o que se pensa estar relacionado com a baixa taxa de natalidade (menor número de gravidezes) também não querendo eliminar a hipótese de haver razões economicistas na baixa taxa anual do pedido destas análises.

2. Taxa anual de mulheres com serologia da toxoplasmose negativa

Estes resultados incluem as mulheres que procuraram o laboratório para o diagnóstico serológico da toxoplasmose com objectivos pré-concepcional e pós-concepcional e que apresentavam serologia negativa

O facto de verificarmos uma tendência ascendente deste valor poderá estar relacionado com:

- Maior esclarecimento da população no que diz respeito ao problema da toxoplasmose na gravidez;
- Melhoria das condições sanitárias;
- Melhor qualidade da água de consumo fornecida às populações;
- Implementação de medidas de higiene e dietéticas (por exemplo, a maior utilização dos congeladores domésticos que atingem entre -15 e -20°C, temperaturas de congelação suficientes para inviabilizar os quistos teciduais e a redução do consumo de carne devido à situação económica desfavorável do país).

- Melhoria da qualidade da protecção materno infantil oferecida pelo SNS.

3 Taxa de grávidas não imunes

Estes resultados apenas incluem as mulheres que afirmaram estar grávidas aquando do inquérito.

De acordo com os resultados obtidos verifica-se que a prevalência de anticorpos anti-*T.gondii* é baixa, o que já tinha sido verificado no ponto anterior. Este facto está de acordo com os dados obtidos por outros autores.

Assim, a discussão dos resultados deste ponto já está referida no ponto anterior.

Relativamente à diminuição da taxa de grávidas não imunes em 2007, não se encontra qualquer razão aparente.

4. Taxa de grávidas não imunes que não fizeram vigilância serológica durante a gravidez

O objectivo de fazer a vigilância serológica para a toxoplasmose durante a gestação é, como já foi dito anteriormente, conseguir detectar o mais cedo possível uma primo-infecção materna, para iniciar o tratamento adequado de forma a diminuir ou evitar a transmissão ao feto bem como as possíveis sequelas consequentes. Desta forma, não é indiferente que a serologia seja efectuada uma só vez durante a gestação, trimestralmente ou mensalmente. Apesar de, em Portugal, as recomendações da DGS (26) irem no sentido da execução trimestral da serologia em causa, o ideal é realizar análises mensais, para que uma possível seroconversão seja detectada precocemente.

Estes resultados, desta amostra, mostram-nos que uma % considerável de grávidas, com ausência de protecção contra o *T. gondii* (taxa média de 46% dos quatro anos de estudo), não fizeram a vigilância serológica durante a gestação, expondo o feto ao risco de toxoplasmose congénita, caso ocorra a primo-infecção materna por *T. gondii*. Esta situação poderá justificar-se pelo facilitismo, porque face a um primeiro resultado da serologia negativo, as grávidas podem considerar-se isentas de risco da transmissão do parasita ao feto.

Assim, esta % elevada de grávidas não fez a adequada prevenção da toxoplasmose congénita ao não realizar a vigilância serológica e periódica da toxoplasmose, visto que a primo-infecção se desenvolve, geralmente, de forma assintomática na grande maioria dos hospedeiros imunocompetentes.

É de referir que na amostra em estudo podem estar incluídas mulheres que efectivamente fizeram a vigilância em causa mas em laboratórios de análises clínicas distintos, ou seja estes resultados desanimadores quanto à falta de vigilância serológica nas grávidas não imunes podem não corresponder à realidade.

5. Taxa de mulheres imunes à toxoplasmose

Com estes resultados verificamos que a % de mulheres imunes à toxoplasmose, durante o período de tempo em estudo, é consideravelmente inferior à percentagem das mulheres não imunes.

Estes resultados estão de acordo com o que se tem vindo a verificar a nível europeu o que pode significar que as medidas preventivas da toxoplasmose são eficazes muito particularmente a congelação das carnes, a nível doméstico, a qual inviabiliza os quistos teciduais que são a principal fonte de contaminação humana relativamente à

toxoplasmose. O melhor esclarecimento da população relativamente às outras medidas higieno-dietéticas também é de ter em consideração.

6. Taxa de mulheres imunes que repetiram a serologia da toxoplasmose

À partida mulheres que tenham efectuado análises anteriores e cujo resultado seja positivo (“imunes” à *T.gondii*) não necessitam de repetir a análise, pois o resultado manter-se-á positivo e a protecção da criança estará assegurada na mulher imunocompetente. Como todas as mulheres incluídas neste estudo eram imunocompetentes o risco da toxoplasmose congénita não existiu (embora haja um estudo que pode colocar em causa esta questão) (12).

Estes resultados evidenciam o número de serologias da toxoplasmose que foram feitas, durante o período em estudo, desnecessariamente. Este facto implica gastos desnecessários por parte do SNS português.

Podemos afirmar que as 1410 mulheres que estão “imunes” a *T.gondii* não necessitariam de realizar análises para a toxoplasmose durante a gestação (amostra dos quatro anos de estudo). No entanto, dessas 193 repetiram a análise, a qual pode ser justificada pelo facto do médico não confiar no resultado anterior e como tal pedir a sua confirmação. Este número de repetições não é elevado, demonstrando que genericamente a população e os técnicos de saúde estão bem informados, no entanto, mesmo sendo baixa a percentagem de repetições, trata-se de uma situação que implica custos desnecessários.

O aumento significativo de repetições que ocorreram no ano de 2008, não apresenta qualquer razão aparente, embora possa ter ocorrido devido à remodelação informática que ocorreu em numerosos centros de saúde das áreas abrangidas no estudo. Esta

remodelação informática pode ter levado à perda de dados anteriores de algumas utentes.

Deve considerar-se que se houver alteração do estado de imunocompetência da mulher (ex. quimioterapia, radioterapia, linfadenopatias, SIDA,...), têm que ser seguidas devido a risco de reactivação, de resto as outras grávidas não deveriam ser seguidas

7. Trimestre de gravidez em que as mulheres recorrerem pela primeira vez ao LIV para fazer a serologia

O interesse da vigilância serológica, periódica na grávida não imune é fundamental para o diagnóstico da primo-infecção, uma vez esta é, geralmente, assintomática. Fazendo o diagnóstico o mais precocemente o diagnóstico da primo-infecção materna, mais rapidamente é instituída a terapêutica.

A experiência clínica, confirma que o tratamento materno da primoinfecção por *T.gondii* reduz em 60% a possibilidade da contaminação fetal e se esta eventualmente ocorrer as lesões fetais não serão tão graves como na ausência de tratamento (30)

Os resultados que relacionam, no tempo, a primeira serologia com a idade da gestação revelam-se bastante interessantes:

Uma elevada percentagem de grávidas faz a primeira análise ainda no 1º trimestre da gravidez. Este facto é positivo já que indica que a maioria das grávidas está a cumprir com as indicações da DGS que vão no sentido de iniciar a vigilância da serologia da toxoplasmose logo no início da gravidez ("Todas as mulheres devem ter uma prova laboratorial para a toxoplasmose antes da concepção ou, na gravidez, o mais

precocemente possível”(26)). Seria curioso mas não foi possível estudar o estado imunitário contra o *T. gondii* nesta fase. É provável que muitas delas não tivessem necessidade de fazer esta análise, caso já soubessem estar imunes contra a toxoplasmose antes da concepção.

As grávidas não imunes, que aparecem no laboratório pela primeira vez para fazer a serologia da toxoplasmose no 2º e 3º trimestres de gravidez correram o risco da transmissão vertical do parasita, caso a primo-infecção ocorresse durante este período de tempo. Sabe-se que o risco de contaminação fetal é tanto maior quanto mais avançado for o tempo de gestação em que ocorre a primo-infecção materna por *T. gondii*.

Observa-se também que uma percentagem elevada de grávidas não responde. Este ponto leva-nos a pensar que há uma elevada falta de conhecimento, quer por parte da grávida, quer por parte dos técnicos de saúde que as orientam, do risco que o feto corre de desenvolver uma toxoplasmose congénita. Estas são, muito provavelmente serologias inconsequentes, sem qualquer critério de diagnóstico ou de prevenção.

8. Taxa da periodicidade anual da vigilância serológica da toxoplasmose em grávidas não imunes

Neste gráfico verifica-se que a maior % de grávidas não imunes só realizou a serologia da toxoplasmose uma vez durante a gravidez ficando o restante tempo de gestação sem controlo serológico.

Geralmente quando o resultado é negativo na primeira análise deixa de existir preocupação no controlo serológico até o fim da gestação. É provável que a grávida tome medidas de higiene e dietéticas especiais para prevenir a infecção por *T.gondii*. Contudo e uma vez que a infecção é, geralmente assintomática estas medidas preventivas não

são totalmente eficazes, existe sempre o risco de contaminação, portanto existe a necessidade de vigilância serológica periódica.

Embora esta seja uma prática incorrecta esperamos que seja esta a razão de descontinuidade da vigilância serológica da toxoplasmose e não seja um total desinteresse que pode por em risco a saúde da criança. Pode também ser tido em consideração que nos últimos anos houve um estreito controlo economicista nos centros de saúde, o que pode ter influenciado negativamente os médicos na altura de fazer os pedidos da serologia em causa.

De novo, é de referir que na amostra em estudo podem estar incluídas mulheres que efectivamente fizeram a vigilância em causa mas que fizeram a opção errada de serem vigiadas em laboratórios de análises clínicas distintos. Este facto vai contra as indicações da DGS que afirma: “Para a monitorização serológica da toxoplasmose deve ser utilizado, sempre, o mesmo laboratório,...”. (26) Assim, estes resultados desanimadores quanto à falta de vigilância serológica nas grávidas não imunes podem não corresponder à realidade.

PARTE V – Conclusão

O número de pedidos de serologia da toxoplasmose é relativamente baixo, verificando-se que em alguns casos não há pedidos de vigilância serológica da toxoplasmose para as mulheres não imunes que necessitam de a fazer enquanto outras grávidas (as imunes) e imunocompetentes a fazem desnecessariamente.

Os resultados deste trabalho confirmaram uma diminuição aparente dos valores da prevalência da toxoplasmose na população abrangida pelo LIV, tendo como base estudos anteriores. Existe uma tendência para a diminuição da prevalência da toxoplasmose adquirida (no adulto) e portanto na mulher grávida o que pode estar relacionado com os hábitos alimentares no que diz respeito ao consumo de carne (congelação a -15°C antes de utilização), bem como ao maior esclarecimento da população no que diz respeito a outras medidas higieno-dietéticas.

Uma percentagem significativa de mulheres sem anticorpos anti-*T.gondii* não são vigiadas durante a gravidez o que implica um risco para o feto, uma vez que se contraírem a infecção durante a gestação, que não costuma ter sinais clínicos, não há forma de diagnosticar a infecção, o que impedirá o tratamento. Pode concluir-se, então, que há falta de vigilância periódica e regular da toxoplasmose durante a gravidez da mulher não imune, que é fundamental para o diagnóstico e tratamento precoces na primo-infecção. Ressalva-se, no entanto, a possibilidade de as grávidas realizarem as suas análises em laboratórios de análises clínicas distintos, o que não é aconselhado pela DGS. Este facto, é outro problema que se coloca na vigilância serológica da grávida, porque só realizando as análises no mesmo laboratório de análises clínicas, se pode assegurar que há um acompanhamento pelo mesmo método diagnóstico (de forma a ser comparável). Caso as análises sejam feitas em laboratórios diferentes, esta situação pode dificultar o correcto diagnóstico e tratamento de primo-infecções maternas por *T.gondii*, e também contribuir na maior parte dos casos para a realização de análises serológicas desnecessárias visto que muitas vezes a própria grávida não sabe se é ou não imune à toxoplasmose.

A percentagem de mulheres imunes imunocompetentes que continuam a ser vigiadas durante a gravidez periodicamente, embora relativamente baixa, implica custos desnecessários, havendo uma utilização ineficaz dos recursos do Sistema Nacional de Saúde.

Quanto à primeira serologia executada durante a gravidez, pode concluir-se que a maioria das grávidas fez a análise no primeiro trimestre, seguindo as recomendações da DGS. No entanto, embora a percentagem de grávidas que só se dirigem ao LIV nos 2º e 3º trimestres não seja elevada, caso a grávida não esteja imune à toxoplasmose, corre risco de transmissão vertical do parasita, caso a primo-infecção tenha ocorrido durante este período de tempo.

Os inquéritos colocados às grávidas que fazem serologia da toxoplasmose, no LIV, são incompletos ou ausentes no que diz respeito a hábitos alimentares e de higiene, o que retira ao laboratório o importante papel na educação e prevenção da saúde materno infantil.

O LIV, deparando-se com estes resultados já estabeleceu acções de melhoria nos seus procedimentos, que implicam uma revisão dos inquéritos, acções de formação contínuas aos técnicos de colheitas, no sentido de os alertar quanto à importância das informações clínicas e também uma alteração no sistema informático que implica a obrigatoriedade de resposta da utente à questão “Está grávida?” ainda durante a introdução dos dados da utente (ainda na recepção), quando forem requisitadas análises que se pensa serem importantes para o diagnóstico pré-natal, por exemplo, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, etc.

Como conclusão verifica-se que ainda há muito a fazer no que diz respeito à prevenção da toxoplasmose congénita.

Quanto a perspectivas de trabalhos futuros, pode sugerir-se:

- Realização do mesmo trabalho com dados de outros laboratórios privados que estejam mais distribuídos geograficamente, aproveitando para estudar outras variáveis.
- Realização de acções de formação aos profissionais de saúde que contactam com a população feminina em idade fértil, no sentido de esclarecer os procedimentos referentes à prevenção da toxoplasmose congénita, tanto no que respeita ao planeamento da gestação como à prevenção primária e secundária de modo a que, no futuro, possam ser implementadas correctamente.
- Realização de um inquérito serológico a nível nacional para a toxoplasmose no sentido de confirmar, com base laboratorial, a diminuição da prevalência da toxoplasmose em Portugal.
- Continuação dos estudos sobre a identificação exhaustiva de fontes de infecção por *T.gondii*, de modo a verificar se estão todas abrangidas pelas medidas de prevenção primária, nomeadamente determinação da importância que a água de consumo desempenha na contaminação das populações.

Anexo1 – Toxo M Siemens

Toxoplasma M (Toxo M)



Teste para detecção de anticorpos IgM contra *Toxoplasma gondii*

Indica informações revisadas

Resumo do teste

Tipo da amostra	Soro, <u>plasma heparinizado, plasma com EDTA</u>
Volume da amostra	10 µL
Calibrador	Toxo M
Sensibilidade e faixa do teste	Índice de 0,10 a 40,00

Conteúdo

REF	Conteúdo	Número de testes
05303018 (120153)	1 embalagem ReadyPack de reagente principal contendo Reagente Lite e Fase sólida de Toxo M no ADVIA Centaur® Cartão da curva-mestre para Toxo M no ADVIA Centaur 1 frasco de Calibrador Baixo para Toxo M 1 frasco de Calibrador Alto para Toxo M Cartão de valores atribuídos ao calibrador para Toxo M no ADVIA Centaur	50

Para obter uma definição dos símbolos usados na rotulagem dos produtos, consulte *Como entender os símbolos* no Apêndice D.

Indicações

Para uso diagnóstico *in vitro* na detecção qualitativa de anticorpos IgM contra *Toxoplasma gondii* em soro ou plasma utilizando o sistema ADVIA Centaur®.

AVISO: A detecção de IgM contra toxoplasma em uma certa amostra, como determinado através de testes de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças dos métodos de teste utilizados e à especificidade do reagente. Os resultados do laboratório relatados ao médico devem incluir a identidade do teste de IgM contra toxoplasma utilizado. Os valores obtidos com métodos diferentes de teste não podem ser intercambiados. O nível de IgM relatado não pode ser correlacionado com uma titulação de ponto final.

O teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur é utilizado para medir o anticorpo IgM contra *T. gondii* que se presume ser originário de uma infecção aguda, recente ou reativada de toxoplasmose. Qualquer medição do anticorpo IgM contra *T. gondii* deve ser realizada em conjunto com a determinação do anticorpo IgG contra *T. gondii*.

Esse teste ainda não foi aprovado pelo FDA ou para triagem de doadores de sangue ou plasma.

Materiais necessários, mas não fornecidos

REF	Descrição	Conteúdo
03089388 (120383)	Material de controle de qualidade de Toxo M do ADVIA Centaur	2 x 1,5 mL de Controle negativo 2 x 1,5 mL de Controle positivo Cartão de valores esperados
01137199 (112351)	Solução para lavagem 1 do ADVIA Centaur	2 x 1500 mL/embalagem

Resumo e explicação do teste

O *Toxoplasma gondii* é um parasita protozoário intracelular que afeta aves e mamíferos, tendo gatos como seus hospedeiros principais. A infecção é normalmente propagada através da ingestão de carnes cruas ou mal cozidas contendo cistos ou através do contato com fezes de gato infestadas com oocistos. O clima, os hábitos alimentares e a presença de gatos influenciam a prevalência de *T. gondii* que varia consideravelmente com a localização geográfica e a idade. Em indivíduos imunocompetentes saudáveis, as infecções são geralmente assintomáticas ou subclínicas. Se a toxoplasmose for diagnosticada durante os estágios iniciais da infecção, a doença pode ser tratada eficazmente com terapia antibiótica.

Em gestantes, a infecção por *T. gondii* representa uma ameaça potencial ao feto. O risco de a gestante transmitir a infecção ao feto é de aproximadamente 25% no primeiro trimestre e aumenta até aproximadamente 65% no terceiro trimestre.¹ Quanto mais cedo na gestação a mãe for infectada, maior será a gravidade potencial da toxoplasmose congênita. Se o feto for infectado, a criança pode apresentar sintomas como linfadenopatia, coriorretinite, microcefalia e calcificações cerebrais.

Em populações imunodeprimidas, como pacientes com câncer fazendo quimioterapia, pacientes transplantados e pacientes com AIDS, o *T. gondii* se tornou um patógeno oportunista importante levando a infecções graves ou fatais.^{2,3} Presume-se que o estado imunodeprimido desses pacientes possa permitir a reativação de uma infecção latente³ e eles podem apresentar sintomas como dores de cabeça, confusão mental, febre e deficiência neurológica focal.

Devido à dificuldade de isolamento do organismo, os testes de IgM contra toxoplasma são usados em conjunto com informações clínicas no diagnóstico da infecção pelo *T. gondii*. Em pacientes infectados com toxoplasma, o anticorpo IgM contra *T. gondii* aumenta durante a fase aguda da infecção, porém pode permanecer presente por vários meses. Um resultado positivo confirmado da presença de IgM anti-*T. gondii* supõe uma infecção atual ou recente. No caso de infecções reativadas em indivíduos imunossuprimidos, ainda não foi determinada uma resposta imunológica de IgM.⁴ A presença de anticorpos IgG contra *T. gondii* indica que o indivíduo foi infectado no passado, porém o nível de reatividade não indica quando a infecção ocorreu.

Princípio do teste

O teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur é um imunoensaio tipo sanduíche para a captura de imunoglobulina utilizando tecnologia quimioluminescente direta. O anticorpo monoclonal IgM μ anti-humano está covalentemente acoplado a partículas paramagnéticas na fase sólida. No Reagente Lite, o antígeno *T. gondii* é complexado com um monoclonal anti-p30 marcado com éster de acridina. A formação de complexos de antígeno-anticorpo será observada se o IgM contra toxoplasma estiver presente na amostra.

O sistema automaticamente realiza as seguintes etapas:

- coloca 10 μ L de amostra em uma cubeta
- coloca 340 μ L de Fase sólida e incuba a mistura durante 18 minutos a 37°C
- separa a Fase sólida da mistura e aspira o reagente não ligado
- lava a cubeta com solução para lavagem 1
- coloca 200 μ L de Reagente Lite e incuba a mistura por 18 minutos a 37°C
- separa a Fase sólida da mistura e aspira o reagente não ligado
- lava a cubeta com solução para lavagem 1
- coloca 300 μ L de reagente ácido e a mesma quantidade de reagente básico para iniciar a reação quimioluminescente
- relata os resultados de acordo com a opção selecionada, como está descrito nas instruções de operação do sistema ou no sistema de ajuda on-line

Existe uma relação direta entre a quantidade de atividade de IgM contra toxoplasma presente na amostra do paciente e a quantidade de unidades relativas de luz (RLUs) detectadas pelo sistema. Um resultado reativos (positivo) ou não reativos (negativo) é determinado utilizando um Valor do Índice. Consulte a seção *Interpretação dos resultados* para obter uma descrição do Valor de Índice.

Coleta e manuseio de amostras

Os tipos de amostras recomendados para esse teste são soro, plasma heparinizado ou plasma EDTA. Não utilize amostras inativadas pelo calor. O desempenho do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur ainda não foi determinado em sangue de cordão umbilical, amostras neonatais, amostras de cadáveres ou outros fluidos corporais, exceto soro ou plasma como, por exemplo, saliva, urina, líquido amniótico ou pleural.

- Manuseie todas as amostras como se pudessem transmitir doenças.
- Teste as amostras logo que possível após a coleta. Armazene as amostras entre 2 e 8°C se as mesmas não forem testadas imediatamente.
- Armazene as amostras entre 2 e 8°C por no máximo 7 dias. As amostras podem ser armazenadas por 48 horas no coágulo.
- Congele as amostras, isentas de eritrócitos, a -20°C ou abaixo dessa temperatura por no máximo 180 dias. Não armazene em congelador frost-free. Não foi observada nenhuma diferença qualitativa quando amostras fracamente positivas e amostras negativas passaram por 3 ciclos de congelamento/descongelamento.
- A embalagem e o rótulo das amostras devem estar de acordo com as normas federais e internacionais para o transporte de amostras clínicas e de agentes etiológicos. Armazene as amostras entre 2 e 8°C, após seu recebimento. Quando se espera que o transporte exceda 7 dias, envie as amostras congeladas.

Antes de colocar as amostras no sistema, certifique-se que:

- As amostras estão livres de fibrina ou de qualquer outro material particulado. O material particulado foi removido por meio de filtração ou centrifugação a 1000 x g durante 10 a 15 minutos.
- As amostras não contêm bolhas.

Reagentes



Armazene os reagentes na posição vertical entre 2 e 8°C.

Agite todas as embalagens de reagentes principais manualmente antes de carregá-las no sistema. Inspeccione visualmente a parte inferior da embalagem do reagente para certificar-se de que todas as partículas estão dispersas e suspensas. Para obter informações detalhadas sobre a preparação dos reagentes para uso, consulte o Apêndice C, *Manuseio de reagentes*.

Embalagem de reagente	Reagente	Volume	Ingredientes	Armazenamento	Estabilidade
Embalagem ReadyPack do reagente principal para Toxo M do ADVIA Centaur	Reagente Lite	10,0 mL/ embalagem de reagente	Antígeno <i>T. gondii</i> (~3 µg/mL) complexado com um monoclonal anti-p30 marcado com éster de acridina em solução tampão de proteína com tensoativo e conservantes	2 a 8°C	até a data de validade impressa no rótulo da embalagem. Para obter informações sobre a estabilidade no equipamento, consulte as seções <i>Estabilidade no equipamento e Intervalos de calibração</i> .

Embalagem de reagente	Reagente	Volume	Ingredientes	Armazenamento	Estabilidade
	Fase sólida	17,0 mL/ embalagem de reagente	anticorpo monoclonal IgM μ anti-humano (~24 μ g/mL) acoplado de forma covalente a partículas paramagnéticas em solução tampão de proteína com tensoativo e conservantes	2 a 8°C	até a data de validade impressa no rótulo da embalagem. Para obter informações sobre a estabilidade no equipamento, consulte as seções <i>Estabilidade no equipamento e Intervalos de calibração</i> .
Toxo M frascos de calibrador	Calibradores	600 μ L/ frasco	plasma humano processado positivo para anticorpos IgM contra toxoplasma com conservantes	2 a 8°C	até a data de validade do frasco ou no equipamento – 8 horas
frascos de material de controle de qualidade para Toxo M*	Controles	1,5 mL/ frasco	plasma humano processado negativo e positivo para anticorpos IgM contra toxoplasma com conservantes	2 a 8°C	até a data de validade do frasco ou no equipamento – 8 horas
ADVIA Centaur WASH 1*	Solução para lavagem 1	1500 mL/ embalagem	fosfato em solução salina tamponada com azida sódica (< 0,1%) e tensoativo	2 a 25°C	até a data de validade do frasco ou no equipamento – 14 dias

* Consulte a seção *Materiais necessários, mas não fornecidos*



CUIDADO! RISCO BIOLÓGICO: contém material de origem humana. Embora cada unidade de doador de plasma ou soro humanos utilizada na fabricação desse produto tenha sido testada e classificada (por métodos aprovados pelo FDA) como não reativa para antígeno de superfície de Hepatite B (HBsAg), anticorpos contra Hepatite C (HCV), HIV-1 e HIV-2, todos os produtos que utilizam material de origem humana devem ser manuseados como potencialmente infecciosos. Como nenhum método de teste pode oferecer garantia absoluta da ausência dos vírus da Hepatite B ou C, HIV ou de outros agentes infecciosos, esses produtos devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório estabelecidas.⁵⁻⁷

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Carregamento dos reagentes

Certifique-se de que o sistema possui quantidade suficiente de embalagens de reagentes principais. Para obter informações detalhadas sobre a preparação do sistema, consulte as instruções de operação do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

CUIDADO: Agite todas as embalagens de reagentes principais manualmente antes de carregá-las no sistema. Inspeção visualmente a parte inferior da embalagem do reagente para certificar-se de que todas as partículas estão dispersas e suspensas. Para obter informações detalhadas sobre a preparação dos reagentes para uso, consulte o Apêndice C, *Manuseio de reagentes*.

Coloque as embalagens ReadyPack do reagente principal no compartimento para reagente principal utilizando as setas nas embalagens como guia. O sistema agita automaticamente as embalagens de reagente principal para manter a suspensão dos reagentes homogênea. Para obter informações detalhadas sobre o carregamento dos reagentes, consulte as instruções de operação do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

CUIDADO: Os Calibradores Baixo e Alto incluídos nesse kit são compatíveis com a embalagem ReadyPack do reagente principal. Não misture lotes de calibradores com lotes diferentes de embalagens de reagentes.

Estabilidade no equipamento e Intervalo de calibração

Estabilidade no equipamento	Intervalo de calibração
28 dias	14 dias

Além disso, o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur requer uma calibração de dois pontos:

- quando houver mudança dos números de lote nas embalagens do reagente principal
- quando ocorrer a substituição dos componentes do sistema
- quando os resultados do controle de qualidade estiverem repetidamente fora da faixa

CUIDADO:

- Descarte as embalagens dos reagentes ao final do intervalo de estabilidade no equipamento.
- Não utilize reagentes com a data de validade vencida.

Calibração

Utilização das etiquetas do código de barras

OBSERVAÇÃO: As etiquetas do código de barras do calibrador são específicas do número de lote. Não utilize etiquetas do código de barras pertencentes a um lote de calibradores com qualquer outro lote de calibradores.

Utilize as etiquetas do código de barras do calibrador para Toxoplasma M do ADVIA Centaur a fim de identificar os copos de amostras dos Calibradores Baixo e Alto ao realizar o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur. Coloque a etiqueta do código de barras no copo de amostras, de modo que os caracteres que devem ser lidos na lateral da etiqueta fiquem na posição vertical.

Realização de uma calibração

Cada lote de calibradores contém um cartão de valores atribuídos ao calibrador para facilitar a inserção dos valores de calibração no sistema. Insira os valores utilizando o leitor de código de barras ou o teclado.

OBSERVAÇÃO: Esse procedimento utiliza volumes suficientes de calibradores para medir cada calibrador em duplicata.

1. Programe os calibradores na lista de tarefas.
2. Marque dois copos de amostras com etiquetas do código de barras: um para o calibrador baixo e outro para o calibrador alto.

OBSERVAÇÃO: Cada gota do frasco do calibrador contém aproximadamente 50 µL.

3. Agite levemente os Calibradores Baixo e Alto e distribua no mínimo 3 a 4 gotas nos copos de amostras apropriados.
4. Carregue os copos de amostras em um rack.
5. Coloque o rack na fila de entrada de amostras.
6. Verifique se os reagentes do teste estão carregados.
7. Inicie a fila de entrada, se necessário.

OBSERVAÇÃO: Descarte qualquer calibrador que restar nos copos de amostras após 8 horas. Não torne a encher os copos de amostras quando estiverem com pouco volume; se necessário, distribua calibradores novos.

Controle de qualidade

Para o controle de qualidade do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur utilize o material de controle de qualidade de Toxoplasma M do ADVIA Centaur. Consulte o cartão de valores esperados para obter os valores esperados sugeridos específicos ao número de lote dos controles positivo e negativo.

Utilização das etiquetas do código de barras

OBSERVAÇÃO: As etiquetas do código de barras do controle são específicas ao número do lote. Não utilize etiquetas do código de barras de um lote de controles com qualquer outro lote de controles.

Utilize as etiquetas do código de barras do controle de qualidade para Toxoplasma M do ADVIA Centaur a fim de identificar os copos de amostras positivos e negativos ao realizar o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur. Coloque a etiqueta do código de barras no copo de amostras, de modo que os caracteres que devem ser lidos na lateral da etiqueta fiquem na posição vertical.

Realização do controle de qualidade

Para obter detalhes sobre a inserção dos valores do controle de qualidade, consulte as instruções de operação do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

Para monitorar o desempenho do sistema e as tendências do gráfico, o requisito mínimo necessário é que dois níveis de material de controle de qualidade sejam testados nos dias em que as amostras forem analisadas. As amostras de controle de qualidade também devem ser testadas ao realizar uma calibração de dois pontos. Trate da mesma forma todas as amostras de controle de qualidade e as amostras de pacientes.

OBSERVAÇÃO: Esse procedimento utiliza volumes suficientes de controles para medir cada controle em duplicata.

1. Programe as amostras de controle de qualidade na lista de tarefas.
2. Marque dois copos de amostras com etiquetas do código de barras de controle de qualidade: um para o controle positivo e outro para o controle negativo.

OBSERVAÇÃO: Cada gota do frasco do controle contém aproximadamente 50 µL.

3. Misture levemente os materiais de controle de qualidade e distribua no mínimo 3 a 4 gotas nos copos de amostras apropriados.
4. Carregue os copos de amostras em um rack.
5. Coloque o rack na fila de entrada de amostras.
6. Verifique se os reagentes do teste estão carregados.
7. Inicie a fila de entrada, se necessário.

OBSERVAÇÃO: Descarte qualquer material de controle de qualidade que restar nos copos de amostras após 8 horas. Não torne a encher os copos de amostras quando estiverem com pouco volume; se necessário, distribua materiais de controle de qualidade novos.

Ações corretivas

Se os resultados do controle de qualidade não estiverem dentro dos valores esperados sugeridos ou dentro dos valores estabelecidos pelo laboratório, siga estas instruções:

- se os controles estiverem fora da faixa, considere os resultados das amostras inválidos e repita o teste
- revise estas instruções para certificar-se de que o teste foi realizado de acordo com os procedimentos recomendados pela Bayer HealthCare

- certifique-se de que os materiais estão dentro do prazo de validade
- certifique-se de que foi realizada a manutenção necessária
- se necessário, processe novamente as amostras de controle de qualidade ou entre em contato com a Bayer HealthCare para obter assistência

Volume da amostra

Esse teste requer 10 µL de amostra para uma determinação única. Esse volume não inclui o volume morto do recipiente da amostra ou o volume adicional necessário para realizar testes em duplicata ou para realizar outros testes na mesma amostra. Para obter informações detalhadas sobre a determinação do volume mínimo necessário, consulte a seção *Requisitos de volume de amostra* no *Manual de referência do ADVIA Centaur*.

Procedimento do teste

Para obter informações detalhadas sobre o procedimento, consulte as instruções de operação do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

CUIDADO: Não carregue recipientes de amostras de tamanhos diferentes no mesmo rack. O indicador do rack deve estar posicionado na configuração correta para o tamanho do recipiente da amostra.

1. Prepare o recipiente para cada amostra e coloque as etiquetas do código de barras nos recipientes das amostras, conforme necessário.
2. Carregue cada recipiente de amostra em um rack, certificando-se que as etiquetas do código de barras fiquem claramente visíveis.
3. Coloque os racks na fila de entrada.
4. Verifique se os reagentes do teste foram carregados.
5. Inicie a fila de entrada, se necessário.

Observações sobre o procedimento

Descarte

Descarte todos os materiais de risco ou biologicamente contaminados de acordo com as práticas de sua instituição. Descarte todos os materiais de modo seguro e aceitável e de acordo com todos os requisitos federais, estaduais e municipais.

Interpretação dos resultados

Para obter informações detalhadas sobre como o sistema calcula os resultados, consulte as instruções de operação do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

O limite clínico do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur foi determinado através da análise de amostras soronegativas e soropositivas, que foram confirmadas utilizando um teste de IgM por EIA contra toxoplasma disponível comercialmente. A distribuição dos valores de índice foi traçada após a análise, e o limite do teste (índice 1,0) foi determinado quando se atingiu uma especificidade relativa > 99% e uma sensibilidade relativa de 100%.

O sistema relata os resultados de anticorpo IgM contra toxoplasma como um valor de índice e como reativos (positivo) ou não reativos (negativo). Um limite 1,0 do valor do índice é utilizado para distinguir as amostras positivas das negativas:

- SD.
12/6/07
- Amostras com um valor calculado inferior ao índice de 0,9 são consideradas negativas.
 - Amostras com um valor calculado entre os índices de 0,9 e 0,99 são consideradas duvidosas.
 - Amostras com um valor calculado superior ou igual ao índice de 1,0 são consideradas positivas.
 - Se os controles estiverem fora da faixa, os resultados das amostras são considerados inválidos e devem ser repetidos.

A magnitude do resultado medido acima do limite não indica a quantidade total de anticorpo presente na amostra.

A detecção de IgM contra toxoplasma em uma amostra, determinada em testes de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças nos métodos de teste e à especificidade dos reagentes.

Utilize a tabela a seguir para interpretar os resultados do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur:

Resultado de IgM Anti-<i>T. gondii</i>	Resultado de IgG Anti-<i>T. gondii</i>	Interpretação
Negativo	Negativo	Presume-se que o paciente não foi infectado e não possui infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Se os sintomas persistirem, teste uma nova amostra dentro de 3 semanas.
Negativo	Positivo	Não é possível determinar através desse teste se o paciente possui ou não uma infecção por <i>T. gondii</i> . reativada. Aparentemente o paciente não foi previamente infectado com <i>T. gondii</i> . A infecção ocorreu há mais de 1 ano.
Negativo	Duvidoso	Obtenha uma nova amostra para realizar mais testes. O paciente pode não ter uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Não é possível determinar se o paciente foi previamente infectado por <i>T. gondii</i> .
Duvidoso	Negativo	Obtenha uma nova amostra para determinar anticorpos IgM contra <i>T. gondii</i> . Não é possível determinar se o paciente possui uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Aparentemente o paciente não foi infectado previamente com <i>T. gondii</i> . Se o novo resultado da amostra for positivo ou duvidoso para anticorpos IgM, a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Duvidoso	Positivo	Obtenha uma nova amostra para determinar anticorpos IgM contra <i>T. gondii</i> . Não é possível determinar se o paciente possui ou não uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Aparentemente o paciente não foi previamente infectado com <i>T. gondii</i> . Se o novo resultado da amostra for positivo ou duvidoso para anticorpos IgM, a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Duvidoso	Duvidoso	Obtenha uma amostra nova para realizar mais testes. Não é possível determinar se o paciente possui uma infecção aguda ou se foi previamente infectado por <i>T. gondii</i> . Se o novo resultado da amostra for positivo ou duvidoso para anticorpos IgM, a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Positivo	Negativo	Obtenha uma amostra nova para realizar mais testes. O paciente pode ou não possuir uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Como o resultado dos anticorpos IgG contra <i>T. gondii</i> foi negativo, a amostra pode ter sido obtida nos primeiros estágios da doença evitando uma determinação exata. Reteste a nova amostra com um outro teste de IgM anti- <i>T. gondii</i> . Se a amostra ainda apresentar um resultado positivo para anticorpos IgM, deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.

Resultado de IgM Anti- <i>T. gondii</i>	Resultado de IgG Anti- <i>T. gondii</i>	Interpretação
Positivo	Positivo	O paciente pode ou não possuir uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Obtenha uma nova amostra para realizar mais testes. Como o resultado dos anticorpos IgG contra <i>T. gondii</i> foi positivo, é possível que o paciente possua uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . A nova amostra deve ser repetida com um teste diferente de IgM anti- <i>T. gondii</i> . Se a amostra ainda apresentar um resultado positivo para anticorpos IgM e IgG contra <i>T. gondii</i> , a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Positivo	Duvidoso	Não é possível determinar se o paciente possui infecção aguda de <i>T. gondii</i> . Obtenha uma nova amostra para realizar mais testes. Não é possível determinar se o paciente foi previamente infectado com <i>T. gondii</i> . A amostra pode ter sido obtida muito cedo, nos primeiros estágios da doença, para que possa haver uma determinação exata. Reteste a nova amostra com um outro teste de IgM anti- <i>T. gondii</i> . Se os novos resultados da amostra ainda demonstrarem um resultado positivo para IgM e o IgG for positivo/negativo/duvidoso para os anticorpos contra <i>T. gondii</i> , a amostra deve ser enviada para um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.

Limitações

O teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur está limitado à detecção dos anticorpos IgM contra *T. gondii* em soro ou plasma humanos.

Não utilize amostras inativadas pelo calor. O desempenho do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur ainda não foi determinado em sangue de cordão umbilical, amostras neonatais, amostras de cadáveres ou fluidos corporais, exceto soro ou plasma como, por exemplo, saliva, urina, líquido amniótico ou pleural.

As amostras de pacientes coletadas nos primeiros estágios da fase aguda da infecção podem conter níveis de IgM para toxoplasma inferiores ao limite do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur. Além disso, o diagnóstico de uma infecção recente não deve se basear em uma única amostra, pois os anticorpos IgM contra *T. gondii* podem persistir no soro durante vários meses após a infecção.⁸ A presença dos anticorpos IgM contra *T. gondii* não implica diagnóstico de uma infecção recente.

Como o IgM contra toxoplasma pode permanecer no soro durante vários meses após a infecção, tenha cuidado ao interpretar os resultados de pacientes que podem ter recebido transfusões de sangue ou infusões de outros produtos sanguíneos nos últimos meses.

Em regiões geográficas com uma aparente baixa prevalência de IgM contra toxoplasma em populações assintomáticas, o valor prognóstico positivo de qualquer teste é reduzido devido à maior possibilidade de um resultado positivo ser, na verdade, falso positivo.⁹ Como em todos os testes diagnósticos *in vitro*, cada laboratório deve determinar suas próprias faixas de referência para fazer a avaliação diagnóstica dos resultados do paciente.¹⁰

Anticorpos humanos anti-rato (HAMA) ou anticorpos heterófilos podem estar presentes em amostras de indivíduos expostos a imunoglobulinas de rato ou imunoglobulinas animais de fontes naturais ou como parte de terapias para doenças. Esses anticorpos podem interferir com o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur, apresentando resultados falsos positivos ou falsos negativos.¹¹ Essas amostras não devem ser testadas.

As amostras negativas e positivas de IgM contra toxoplasma foram testadas para detectar interferências, de acordo com as diretrizes da NCCLS:¹²

<i>Amostras de soro que são ...</i>	<i>demonstram ≤ 10% de alteração em resultados até no máximo ...</i>
hemolizadas	500 mg/dL de hemoglobina
lipêmicas	1000 mg/dL de triglicérides
ictéricas	40 mg/dL de bilirrubina conjugada 20 mg/dL de bilirrubina não conjugada
proteínicas	3 g/dL de proteína
proteinemia alta	12 g/dL de proteína

Valores esperados

A incidência de toxoplasmose varia consideravelmente de acordo com a localização geográfica e idade do paciente. Foram relatados os seguintes dados na literatura:¹³

<i>Localização</i>	<i>Taxa de soroprevalência</i>
Europa	
França, Itália	50–85%, por região
Alemanha	20–72%, por região
Reino Unido	20%
Japão	24%
África	20–65%, por país
América do Sul	36–82%, por país
América do Norte	8–38%, por região

Nesse estudo, a taxa de soropositivos no teste de IgM contra toxoplasma para amostras obtidas nos EUA a partir de gestantes assintomáticas, pacientes hospitalizados e pacientes HIV positivos foi determinada como 1,2%.

A distribuição das taxas de soropositivos do Toxoplasma M do ADVIA Centaur observada nesse estudo está resumida a seguir:

<i>População</i>	<i>N</i>	<i>Positivo</i>
Gestantes	445	7 (1,6%)
Pacientes hospitalizados	465	9 (1,9%)
Doadores de sangue	540	4 (0,7%)
Pacientes positivos para HIV-1	100	0 (0,0%)
Total	1550	20 (1,2%)

Como em todos os testes diagnósticos in vitro, cada laboratório deve determinar suas faixas de referência para fazer a avaliação diagnóstica dos resultados de pacientes.¹⁰

Características do desempenho

Sensibilidade e especificidade

O desempenho do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur foi determinado através do teste de 1800 amostras em 3 locais. Os resultados para o ADVIA Centaur foram comparados aos resultados de teste gerados em um teste de IgM contra toxoplasma automatizado, disponível comercialmente. Foram utilizadas amostras novas e congeladas. As amostras incluíram as seguintes populações: pré-natal (N = 445), doadores de sangue assintomáticos (N = 540), pacientes hospitalizados assintomáticos (N = 465) e pacientes com status positivo de IgM contra toxoplasma confirmado.

Sensibilidade relativa inicial

Utilizando um método alternativo, 256 apresentaram resultados positivos para o anticorpo IgM contra toxoplasma. Das amostras que testaram positivo, 0 foram duvidosas, 254 foram positivas e 2 foram negativas utilizando o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur. A especificidade relativa inicial foi de 99,2%.

Especificidade relativa inicial

Utilizando um método alternativo, 1542 amostras apresentaram resultado negativo para anticorpo IgM contra toxoplasma. Das amostras negativas nesse teste, 2 foram duvidosas, 13 foram positivas e 1527 foram negativas utilizando o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur. A especificidade relativa inicial foi de 99,0%.

OBSERVAÇÃO: As amostras que apresentaram resultados duvidosos não foram incluídas no cálculo de sensibilidade relativa, especificidade relativa e concordância relativa.

Sensibilidade, especificidade, e concordância relativas antes da resolução de amostras discordantes

Local	N	Sensibilidade relativa inicial (%)	Especificidade relativa inicial (%)	Concordância relativa inicial (%)
1	1086	99,4 (154/155)	99,6 (926/930)	99,5 (1080/1085)
2	350	98,0 (50/51)	99,3 (294/296)	99,1 (344/347)
3	364	100,0 (50/50)	97,5 (307/314)	98,1 (357/364)
Total	1800	99,2 (254/256)	99,2 (1527/1540)	99,2 (1781/1796)

OBSERVAÇÃO: O termo *relativo* se refere à comparação direta dos resultados de Toxoplasma M do ADVIA Centaur com um teste semelhante. Não se tentou correlacionar a presença ou ausência da doença e nenhuma avaliação pode ser feita em relação à exatidão do teste no prognóstico da infecção por toxoplasma.

Resolução de amostras discordantes

Amostras com resultados discordantes foram testadas utilizando outro teste de IgM contra toxoplasma disponível comercialmente. Os resultados finais estão apresentados na tabela a seguir.

OBSERVAÇÃO: As amostras que apresentaram resultados duvidosos não foram incluídas nos cálculos de sensibilidade relativa, especificidade relativa e concordância relativa.

Sensibilidade, especificidade e concordância relativas após a resolução de amostras discordantes

Local	N	Sensibilidade Relativa (%)	Especificidade Relativa (%)	Concordância Relativa (%)
1	1086	99,4 (154/155)	99,5 (926/931)	99,4 (1080/1086)
2	350	100,0 (50/50)	99,3 (295/297)	99,4 (345/347)
3	364	100,0 (52/52)	98,7 (307/311)	98,9 (359/363)
Total	1800	99,6 (256/257)	99,3 (1528/1539)	99,3 (1784/1796)

Avaliação de estados patológicos com potencial de interferência

Amostras suscetíveis à reação cruzada ou à interferência foram avaliadas utilizando o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur e um teste automatizado de IgM contra toxoplasma, disponível comercialmente. As populações avaliadas no estudo incluíram HAMA, RF, ANA, AMA, CMV, EBV, HSV, VZV, rubéola, sífilis, mieloma múltiplo e parvovírus B19. Das 113 amostras testadas, 112 (99,1%) obtiveram resultados negativos no teste de EIA. Utilizando o teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur, uma especificidade relativa de 99,1% foi atingida nas amostras negativas por EIA. Não foi indicada nenhuma interferência significativa ou reação cruzada para esses estados patológicos.

Precisão

A reprodutibilidade do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur foi determinada de acordo com a descrição apresentada no protocolo EP5-T2 da NCCLS.¹⁴ Um painel com oito participantes foi testado duas vezes em dois processamentos diários separados, por um período de 20 dias (n = 80). Os resultados seguintes foram obtidos utilizando um lote de reagente e uma curva de calibração armazenada:

Participante do painel	N	Índice	Dentro do mesmo processamento		Total*	
			DP	% CV	DP	% CV
Controle negativo	80	0,12	0,10	8,84	0,011	9,53
Controle positivo	80	2,57	0,076	2,94	0,114	4,44
1	80	0,18	0,022	12,16	0,023	12,72
2	80	0,40	0,022	5,51	0,029	7,18
3	80	0,73	0,035	4,88	0,045	6,22
4	80	1,39	0,052	3,77	0,077	5,57
5	80	4,26	0,168	3,95	0,203	4,78
6	80	8,91	0,302	3,39	0,455	5,11

* Inclui testes dentro do mesmo processamento e entre processamentos.

A reprodutibilidade do sistema foi determinada através do teste de um painel composto de sete participantes com dois lotes de reagentes, utilizando cinco instrumentos e três locais durante vários dias. O painel foi testado três vezes, em cada um dos 25 processamentos. Foram obtidos os seguintes resultados:

Participante do painel	N	Índice	Dentro do mesmo processamento		Total†	
			DP	% CV	DP	% CV
Controle negativo	165	0,11	0,02	NA*	0,02	NA
Controle positivo	165	2,13	0,07	3,31	0,09	4,01
1	165	0,10	0,00	2,19	0,00	2,90
2	165	1,11	0,07	6,51	0,08	6,96
3	165	1,65	0,05	2,99	0,07	4,15
4	165	2,81	0,17	6,14	0,19	6,89
5	165	3,74	0,12	3,12	0,15	3,92
6	150	5,67	0,19	3,30	0,22	3,81
7	163	8,28	0,26	3,16	0,35	4,21

* Não aplicável.

† Inclui testes dentro do mesmo processamento e entre processamentos.

Padronização

A padronização do teste de Toxoplasma M do ADVIA Centaur teve como base a concordância clínica relativa com os testes de Toxoplasma M comercialmente disponíveis (consulte *Características de desempenho*). Os valores atribuídos aos calibradores e controles seguem essa padronização.

Assistência técnica

Para serviços de atendimento ao cliente, favor entrar em contato com seu distribuidor ou prestador de suporte técnico local.

Referência bibliográfica

1. Litwin CM, Hill HR. Serologic and DNA-based testing for congenital and perinatal infections. *J Pediatr Infect Dis.* 1997;16:1166–75.
2. Armstrong AS, Safford JW, Holbert DN, Mushahra IK. Congenital diseases of microbiological origin. In: *The Immunoassay Handbook: Applications*. Edited by David Wood. New York: Stockton Press, 1994:499–501.
3. Galván RML, Alvarado VV, Gutierrez GV, et al. Prevalence of IgG and IgM anti-Toxoplasma antibodies in patients with HIV and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 1997;30(6):465–7.
4. Levy RM, Pnes VG, Rosenblum ML. Central nervous system mass lesions in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). 1984;61:9–16.
5. Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. *MMWR* 1988;37:377–82, 387–8.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections-second edition; approved guideline. NCCLS Document M29-A2; Wayne (PA): NCCLS; 2001 Dec. 105p.
7. Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.
8. Wong B, Gold JW, Brown AE et al. Central nervous system toxoplasmosis in homosexual men and parenteral drug abusers. *Ann. Int. Med.* 1984;100:36–42.
9. Galen R. New Math in the Lab: Predictive Value Theory. *Diag Med.* 1979; 23–31.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. How to define, determine, and utilize reference intervals in the clinical laboratory; approved guideline. NCCLS Document C28-A. Wayne (PA): NCCLS; 1995 June 59p.
11. Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34:27–33.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference testing in clinical chemistry; proposed guideline. NCCLS Document EP7-P. Wayne (PA): NCCLS; 1986.
13. Bertrand, L. Seroconversion de la toxoplasmose. *Tempo Medical*, n° 422–20/03/91–13.
14. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices-second edition; tentative guideline. NCCLS Document EP5-T2. Wayne (PA): NCCLS; 1992 March.

A denominação Bayer, a Cruz Bayer, ADVIA Centaur, e ReadyPack são marcas comerciais da Bayer

© 2000 Bayer HealthCare LLC. Todos os direitos reservados.

US Pats 5,609,822; 4,745,181; 4,918,192; 5,110,932; 5,656,426; 5,788,928



Anexo 2 – Toxo G Siemens

Toxoplasma G (Toxo G)



Teste para a detecção de anticorpos IgG contra *Toxoplasma gondii*

Indica informação revisada

Resumo do teste

Tipo de amostra	Soro, plasma heparinizado, plasma com EDTA
Volume da amostra	10 µL
Calibrador	Toxo G
Sensibilidade e limites do teste	0,5 – 700 UI/mL

Conteúdo

REF	Conteúdo	Número de testes				
04520287 (120154)	1 embalagem de reagente principal ReadyPack® contendo Reagente Lite e Fase Sólida para Toxo G ADVIA Centaur® Cartão de curva mestra para Toxo G ADVIA Centaur 1 frasco de calibrador baixo Toxo G <table border="1"><tr><td>CAL</td><td>L</td></tr></table> 1 frasco de calibrador alto Toxo G <table border="1"><tr><td>CAL</td><td>H</td></tr></table> Cartão de valores atribuídos ao calibrador Toxo G ADVIA Centaur	CAL	L	CAL	H	100
CAL	L					
CAL	H					

Para obter uma definição dos símbolos usados na rotulagem dos produtos, consulte *Descrição dos símbolos* no Apêndice D.

Indicações

Para uso diagnóstico *in vitro* na detecção quantitativa de anticorpos IgG contra *Toxoplasma gondii* em soro ou plasma utilizando o sistema ADVIA Centaur®.

ATENÇÃO: Os valores calculados para IgG contra toxoplasma em uma dada amostra, como determinado por testes de fabricantes diferentes, podem variar devido às diferenças entre métodos de teste e especificidade de reagentes. Os resultados relatados pelo laboratório ao médico devem identificar o teste IgG contra toxoplasma utilizado. Os valores obtidos com métodos de teste diferentes não podem ser intercambiados.

Esse teste não foi liberado pelo FDA ou aprovado para a triagem de doadores de sangue ou de plasma.

Materiais necessários mas não fornecidos

REF	Descrição	Conteúdo				
06317233 (120382)	Material de controle de qualidade para Toxo G ADVIA Centaur	2 x 3,0 mL de controle negativo <table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>-</td></tr></table> 2 x 3,0 mL de controle positivo <table border="1"><tr><td>CONTROL</td><td>+</td></tr></table> Cartão de valores esperados	CONTROL	-	CONTROL	+
CONTROL	-					
CONTROL	+					
01137199 (112351)	Solução para lavagem 1 <table border="1"><tr><td>WASH</td></tr></table> ADVIA Centaur	WASH	2 x 1500 mL/embalagem			
WASH						

Resumo e explicação do teste

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário parasita intracelular que afeta aves e mamíferos, tendo gatos como seus principais hospedeiros. A infecção, geralmente, é propagada pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos ou através do contato com fezes de gato infestadas com oocistos. O clima, hábitos alimentares e a presença de gatos influenciam a prevalência do *T. gondii*, que pode variar consideravelmente de acordo com a localização geográfica e a idade. Em indivíduos imunocompetentes saudáveis, as infecções são geralmente assintomáticas ou subclínicas. Se a toxoplasmose for diagnosticada durante os estágios iniciais da infecção, a doença pode ser tratada de maneira eficaz com terapia antibiótica.

Em gestantes, a infecção por *T. gondii* representa uma ameaça potencial ao feto. O risco de a gestante transmitir a infecção para o feto é de aproximadamente 25% no primeiro trimestre e aumenta até aproximadamente 65% no terceiro trimestre.¹ Quanto mais cedo na gestação a mãe for infectada, maior será a gravidade potencial de toxoplasmose congênita. Se o feto for infectado, a criança pode apresentar sintomas, como linfadenopatia, coriorretinite, microcefalia e calcificações cerebrais.

Em populações imunossuprimidas, como pacientes com câncer fazendo quimioterapia, pacientes transplantados e pacientes com AIDS, o *T. gondii* se tornou um patógeno oportunista importante, levando a infecções graves ou fatais.^{2,3} Acredita-se que o estado imunossuprimido desses pacientes possa permitir a reativação de uma infecção latente³ e eles podem apresentar sintomas, como dores de cabeça, confusão mental, febre e deficiência neurológica focal.

O uso dos testes IgG contra toxoplasma mostrou-se um método confiável para estabelecer o status imune e avaliar a suscetibilidade à infecção por *T. gondii*. A presença de anticorpos IgG indica que o indivíduo foi infectado com toxoplasma no passado, mas o nível de reatividade não indica quando a infecção ocorreu. Na maioria dos pacientes com AIDS, a resposta do IgG à infecção primária de *T. gondii* geralmente não apresenta um aumento significativo nas titulações de IgG.⁴

Princípio do teste

O teste Toxoplasma G ADVIA Centaur é um imunoensaio tipo sanduíche para a captura de imunoglobulina que utiliza tecnologia quimioluminométrica direta. O anticorpo monoclonal anti-humano IgG_{Fc} é covalentemente ligado a partículas paramagnéticas na Fase Sólida. No Reagente Lite, o antígeno *T. gondii* purificado é complexado com um monoclonal anti-p30 marcado com éster de acridina. Haverá formação de complexos antígeno-anticorpo se o IgG contra toxoplasma estiver presente na amostra.

O sistema realiza automaticamente as seguintes etapas:

- coloca 10 µL de amostra em uma cubeta
- coloca 250 µL de Fase Sólida e incuba a mistura durante 18 minutos a 37°C
- separa a Fase Sólida da mistura e aspira o reagente não ligado
- lava a cubeta com solução para lavagem 1
- coloca 100 µL de Reagente Lite e incuba a mistura durante 18 minutos a 37°C
- separa a Fase Sólida da mistura e aspira o reagente não ligado
- lava a cubeta com solução para lavagem 1
- coloca 300 µL de Reagente Ácido e a mesma quantidade de Reagente Básico para iniciar a reação quimioluminescente
- relata os resultados de acordo com a opção selecionada, conforme descrito nas instruções operacionais do sistema ou no sistema de ajuda on-line

Existe uma relação direta entre a quantidade de atividade de IgG contra toxoplasma presente na amostra do paciente e a quantidade de unidades relativas de luz (RLUs) detectada pelo sistema. Um resultado reativos (positivo) ou não reativos (negativo) é determinado usando um valor clínico limite de 10 UI/mL. Consulte *Interpretação dos resultados* para obter uma descrição.

Coleta e manuseio das amostras

Soro, plasma heparinizado ou plasma com EDTA são os tipos de amostra recomendados para este teste. Não use amostras inativadas pelo calor. O desempenho do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur não foi estabelecido em sangue de cordão umbilical, amostras neonatais, amostras de cadáveres ou líquidos corporais diferentes de soro ou plasma, como saliva, urina e líquido amniótico ou pleural.

- Manuseie todas as amostras como se elas pudessem transmitir doenças.
- Teste as amostras logo que possível após a coleta. Armazene as amostras entre 2 e 8°C, se elas não forem testadas imediatamente.
- Armazene as amostras entre 2 e 8°C por no máximo 7 dias. As amostras podem ser armazenadas no coágulo.
- Congele as amostras, isentas de eritrócitos, a -20°C ou abaixo dessa temperatura, para um armazenamento mais longo. Não armazene em congelador do tipo "frost-free". Quando amostras fracamente positivas e amostras negativas foram submetidas a três ciclos de congelamento/descongelamento, nenhuma diferença qualitativa foi observada.
- A embalagem e os rótulos das amostras para envio devem estar de acordo com as normas federais e internacionais para o transporte de amostras clínicas e agentes etiológicos. As amostras mantidas à temperatura ambiente por até 7 dias ou refrigeradas por até 14 dias não demonstraram diferenças qualitativas. Armazene as amostras entre 2 e 8°C, após seu recebimento. Quando se espera que o transporte exceda 7 dias, envie as amostras congeladas.

Antes de colocar as amostras no sistema, certifique-se de que:

- As amostras não contêm fibrina nem qualquer outra partícula. Remova partículas através de filtração ou centrifugação a 1000 x g durante 10 a 15 minutos.
- As amostras não contêm bolhas de ar.

Reagentes



Armazene os reagentes na posição vertical entre 2 e 8°C.

Agite manualmente todas as embalagens de reagentes principais antes de colocá-las no sistema. Inspeção visualmente a parte inferior da embalagem do reagente para certificar-se de que todas as partículas estão dispersas e ressuspensas. Para obter informação detalhada sobre a preparação dos reagentes para uso, consulte o Apêndice C, *Manuseio de reagentes*.

Embalagem de reagente	Reagente	Volume	Ingredientes	Armazenamento	Estabilidade
embalagem de reagente principal ReadyPack para Toxo G ADVIA Centaur	Reagente Lite	10,0 mL/ embalagem do reagente	<i>Antígeno T gondii</i> (~1,05 µg/mL) complexo com anti-p30 monoclonal marcado com éster de acridina em solução tampão de proteína com tensoativo e conservantes	2–8°C	até a data de validade impressa no rótulo da embalagem. Para obter informações sobre a estabilidade no equipamento, consulte <i>Estabilidade no equipamento e intervalo de calibração</i> .

Embalagem de reagente	Reagente	Volume	Ingredientes	Armazenamento	Estabilidade
	Fase Sólida	25,0 mL/ embalagem do reagente	anticorpo monoclonal IgG _{FC} anti-humano (~0,3 mg/mL) covalentemente ligado a partículas paramagnéticas em solução tampão de proteína com tensoativo e conservantes	2–8°C	até a data de validade impressa no rótulo da embalagem. Para obter informações sobre a estabilidade no equipamento, consulte <i>Estabilidade no equipamento e intervalo de calibração</i> .
Frascos de calibrador para Toxo G	Calibradores	1,0 mL/ frasco	plasma humano processado positivo para anticorpos IgG contra toxoplasma com conservantes	2–8°C	até a data de validade impressa no frasco ou no equipamento – 8 horas
frascos do material de controle de qualidade para Toxo G*	Controles	3,0 mL/ frasco	plasma humano processado negativo e positivo para anticorpos IgG contra toxoplasma com conservantes	2–8°C	até a data de validade impressa no frasco ou no equipamento – 8 horas
ADVIA Centaur WASH 1*	Solução para lavagem 1	1500 mL/ embalagem	solução salina tamponada com fosfato contendo azida sódica (< 0,1%) e tensoativo	2–25°C	até a data de validade impressa no frasco ou no equipamento – 14 dias

* Consulte *Materiais necessários mas não fornecidos*



CUIDADO! RISCO BIOLÓGICO: Foi utilizado material humano na fabricação deste produto. Embora todas as unidades doadas de soro ou plasma humano usadas na fabricação deste produto tenham sido testadas por métodos aprovados pelo FDA e consideradas não-reativas para antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg), anticorpo contra hepatite C (HCV) e anticorpos contra HIV-1/2, todos os produtos fabricados com o uso de material de origem humana devem ser manuseados como potencialmente infectantes. Como nenhum método de teste pode oferecer total garantia de ausência de vírus da hepatite B ou C, HIV ou outros agentes infecciosos, esses produtos devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório estabelecidas.⁵⁻⁷

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Colocação dos reagentes

Certifique-se de que o sistema possui embalagens suficientes de reagente principal. Para obter informações detalhadas sobre a preparação do sistema, consulte as instruções operacionais do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

Agite manualmente todas as embalagens de reagente principal antes de colocá-las no sistema. Inspeção visualmente a parte inferior da embalagem do reagente para certificar-se de que todas as partículas estão dispersas e ressuspensas. Para obter informações detalhadas sobre a preparação dos reagentes para o uso, consulte o Apêndice C, *Manuseio de reagentes*.

Coloque as embalagens do reagente principal ReadyPack no compartimento do reagente principal utilizando as setas nas embalagens como guia de colocação. O sistema agita automaticamente as embalagens de reagente principal para manter a suspensão dos reagentes homogênea. Para obter informações detalhadas sobre a colocação dos reagentes no sistema, consulte as instruções operacionais do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

OBSERVAÇÃO: Os calibradores baixo e alto fornecidos neste kit são específicos para a embalagem de reagente principal ReadyPack. Não misture lotes de calibradores com diferentes lotes de embalagens de reagentes.

Estabilidade no equipamento e intervalo de calibração

Estabilidade no equipamento	Intervalo de calibração
28 dias	14 dias

Além disso, o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur exigirá uma calibração de dois pontos:

- quando houver mudança dos números de lote das embalagens de reagente principal
- quando houver substituição dos componentes do sistema
- quando os resultados do controle de qualidade estiverem repetidamente fora da faixa

OBSERVAÇÃO:

- Descarte as embalagens de reagente ao final do intervalo de estabilidade no equipamento.
- Não utilize reagentes com a data de validade vencida.

Calibração

Utilização das etiquetas de código de barras

OBSERVAÇÃO: As etiquetas de código de barras do calibrador são específicas do número do lote. Não utilize etiquetas de código de barras de um lote de calibradores com outros lotes de calibradores.

Utilize as etiquetas de código de barras do calibrador para Toxoplasma G ADVIA Centaur para identificar os copos de amostras dos calibradores baixo e alto quando realizar o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur. Posicione a etiqueta de código de barras no copo de amostras com a porção legível na vertical do copo.

Realização de uma calibração

Cada lote de calibradores contém um cartão de valores atribuídos ao calibrador para facilitar a inserção dos valores de calibração no sistema. Insira os valores usando o leitor de código de barras ou o teclado.

OBSERVAÇÃO: Esse procedimento utiliza volumes suficientes de calibradores para medir cada calibrador em duplicata.

1. Programe os calibradores na lista de trabalho.
2. Marque dois copos de amostras com etiquetas de código de barras para calibrador: uma para o baixo e outra para o alto.

OBSERVAÇÃO: Cada gota do frasco do calibrador contém aproximadamente 50 µL.

3. Agite suavemente os calibradores alto e baixo e distribua, no mínimo, 3 a 4 gotas nos copos de amostras adequados.
4. Coloque os copos de amostras em um rack.
5. Coloque o rack na fila de entrada de amostras.
6. Verifique se os reagentes do teste foram colocados.
7. Inicie a fila de entrada, se necessário.

OBSERVAÇÃO: Descarte qualquer calibrador remanescente nos copos de amostras após 8 horas. Não encha novamente os copos de amostras quando estiverem com pouco volume, distribua calibradores novos.

Controle de qualidade

Para o controle de qualidade do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur utilize o material de controle de qualidade de Toxoplasma G ADVIA Centaur. Consulte o cartão de valores esperados para obter os valores esperados sugeridos, específicos para o número de lote dos controles positivo e negativo.

Utilização das etiquetas de código de barras

OBSERVAÇÃO: As etiquetas de código de barras do controle são específicas do número do lote. Não utilize etiquetas de código de barras de um lote de controles com outros lotes de controles.

Utilize as etiquetas de código de barras do controle de qualidade do Toxoplasma G ADVIA Centaur para identificar os copos de amostras positivos e negativos quando realizar o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur. Posicione a etiqueta de código de barras no copo de amostras com a porção legível na vertical do copo.

Realização do controle de qualidade

Para obter informações detalhadas sobre a inserção dos valores do controle de qualidade, consulte as instruções operacionais do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

Como requisito mínimo para monitorar o desempenho do sistema e as tendências do gráfico, é necessário testar dois níveis de material de controle de qualidade a cada dia em que as amostras forem analisadas. As amostras de controle de qualidade também devem ser testadas quando for realizada uma calibração de dois pontos. Manuseie todas as amostras de controle de qualidade da mesma forma que as amostras de pacientes.

OBSERVAÇÃO: Esse procedimento utiliza volumes suficientes de controles para medir cada controle em duplicata.

1. Programe as amostras de controle de qualidade na lista de trabalho.
2. Marque dois copos de amostras com etiquetas de código de barras de controle de qualidade: uma para o positivo e outra para o negativo.

OBSERVAÇÃO: Cada gota do frasco do controle contém aproximadamente 50 µL.

3. Agite suavemente os materiais de controle de qualidade e distribua, no mínimo, 3 a 4 gotas nos copos de amostras adequados.
4. Coloque os copos de amostras em um rack.
5. Coloque o rack na fila de entrada de amostras.
6. Verifique se os reagentes do teste foram colocados.
7. Inicie a fila de entrada, se necessário.

OBSERVAÇÃO: Descarte qualquer material de controle de qualidade remanescente nos copos de amostras após 8 horas. Não encha novamente os copos de amostras quando estiverem com pouco volume; se necessário, distribua materiais de controle de qualidade novos.

Ações corretivas

Se os resultados do controle de qualidade não estiverem dentro dos valores esperados sugeridos ou dentro dos valores estabelecidos pelo laboratório, siga as seguintes instruções:

- considere inválidos os resultados da amostra e repita o teste, se os controles estiverem fora dos limites aceitáveis
- revise essas instruções para certificar-se de que o teste foi realizado de acordo com os procedimentos recomendados pela Bayer HealthCare
- verifique se os materiais estão dentro do prazo de validade

- verifique se foi realizada a manutenção necessária
- se necessário, processe novamente as amostras de controle de qualidade ou entre em contato com a Bayer HealthCare para obter assistência

Volume da amostra

Este teste requer 10 µL de amostra para uma única determinação. Esse volume não inclui o volume morto no recipiente da amostra nem o volume adicional necessário para realizar testes em duplicata ou outros testes na mesma amostra. Para obter informações detalhadas sobre a determinação do volume mínimo necessário, consulte *Requisitos de volume da amostra* no *Manual de Referência ADVIA Centaur*.

Procedimento do teste

Para obter informações detalhadas sobre o procedimento, consulte as instruções operacionais do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

CUIDADO: Não coloque recipientes de amostra de tamanhos diferentes em um mesmo rack. O indicador do rack deve estar posicionado na configuração correta para o tamanho de recipiente de amostra.

1. Prepare o recipiente de cada amostra e afixe as etiquetas de código de barras nos recipientes de amostra, conforme necessário.
2. Coloque cada recipiente de amostra em um rack, certificando-se de que as etiquetas de código de barras estão claramente visíveis.
3. Coloque os racks na fila de entrada.
4. Verifique se os reagentes do teste foram colocados.
5. Inicie a fila de entrada, se necessário.

Observações sobre o procedimento

Descarte

Descarte os materiais de risco ou biologicamente contaminados de acordo com as práticas de sua instituição. Todos os materiais devem ser descartados de maneira segura e aceitável e de acordo com as normas federais, estaduais e municipais.

Interpretação dos resultados

Para obter informações detalhadas sobre como o sistema calcula os resultados, consulte as instruções operacionais do sistema ou o sistema de ajuda on-line.

O limite clínico do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur foi determinado pela análise de amostras soronegativas e soropositivas que foram confirmadas utilizando um teste IgG por EIA contra toxoplasma disponível no mercado. A distribuição de valores foi traçada depois da análise e o limite do teste (10,0 UI/mL) foi definido no ponto em que foram atingidas a especificidade relativa > 99% e a sensibilidade relativa > 98%.

O sistema relata os resultados de anticorpo IgG contra toxoplasma em UI/mL e como reativos (positivo) ou não reativos (negativo). Um valor limite de 10,0 UI/mL é utilizado para distinguir as amostras positivas das negativas:

- As amostras com valor calculado inferior a 6,4 UI/mL são consideradas negativas.
- As amostras com valor calculado entre 6,4 e 9,9 UI/mL são duvidosas.

- As amostras com valor calculado superior ou igual a 10,0 UI/mL são consideradas positivas.
- Os resultados das amostras são inválidos e devem ser repetidos, se os controlos estiverem fora dos limites aceitáveis.

A magnitude do resultado medido acima do limite não indica a quantidade total de anticorpos presentes na amostra.

A detecção de IgG contra toxoplasma em uma dada amostra, como determinado por testes de fabricantes diferentes, pode variar devido às diferenças entre métodos de teste e especificidade de reagentes.

A tabela seguinte pode ser utilizada na interpretação dos resultados de Toxoplasma G:

Resultado de IgG Anti-<i>T. gondii</i>	Resultado de IgM Anti-<i>T. gondii</i>	Interpretação
Negativo	Negativo	Presume-se que o paciente não foi infectado e não possui infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Se os sintomas persistirem, teste uma nova amostra dentro de 3 semanas.
Positivo	Negativo	Não é possível determinar através destes resultados se o paciente possui ou não uma infecção por <i>T. gondii</i> reactivada. Aparentemente o paciente foi previamente infectado com <i>T. gondii</i> . A infecção pode ter ocorrido há mais de um ano. Se o indivíduo não tiver já tido resultados positivos de anticorpos de <i>T. gondii</i> , confirme o resultado num laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose.
Duvidoso	Negativo	Obtenha uma nova amostra para realizar mais testes. O paciente pode não ter uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Não é possível determinar se o paciente foi previamente infectado por <i>T. gondii</i> .
Negativo	Duvidoso	Obtenha uma nova amostra para determinar anticorpos IgM contra <i>T. gondii</i> . Não é possível determinar se o paciente possui uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Aparentemente o paciente não foi infectado previamente com <i>T. gondii</i> . Se o novo resultado da amostra for positivo ou duvidoso para anticorpos IgM, a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Positivo	Duvidoso	Obtenha uma nova amostra para determinar anticorpos IgM contra <i>T. gondii</i> . Não é possível determinar se o paciente possui uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Aparentemente o paciente não foi previamente infectado com <i>T. gondii</i> . Se o novo resultado da amostra for positivo ou duvidoso para anticorpos IgM, a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Duvidoso	Duvidoso	Obtenha uma amostra nova para realizar mais testes. Não é possível determinar se o paciente possui uma infecção aguda ou se foi previamente infectado por <i>T. gondii</i> . Se o novo resultado da amostra for positivo ou duvidoso para anticorpos IgM e/ou IgG contra <i>T. gondii</i> , a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Negativo	Positivo	Obtenha uma amostra nova para realizar mais testes. O paciente pode ou não possuir uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Como o resultado dos anticorpos IgG contra <i>T. gondii</i> foi negativo, a amostra pode ter sido obtida nos primeiros estágios da doença evitando uma determinação exacta. Reteste a nova amostra com um outro teste de IgM anti- <i>T. gondii</i> . Se a amostra ainda apresentar um resultado positivo para anticorpos IgM Toxoplasma, deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.
Positivo	Positivo	O paciente pode ou não possuir uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . Obtenha uma nova amostra para realizar mais testes. Como o resultado dos anticorpos IgG e IgM contra <i>T. gondii</i> foi positivo, é possível que o paciente possua uma infecção aguda por <i>T. gondii</i> . A nova amostra deve ser repetida com um teste diferente de IgG e IgM anti- <i>T. gondii</i> . Se a amostra ainda apresentar um resultado positivo para anticorpos IgG e IgM contra <i>T. gondii</i> , a amostra deve ser enviada a um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.

Resultado de IgG Anti- <i>T. gondii</i>	Resultado de IgM Anti- <i>T. gondii</i>	Interpretação
Duvidoso	Positivo	Não é possível determinar se o paciente possui infecção aguda de <i>T. gondii</i> . Obtenha uma nova amostra para realizar mais testes. Não é possível determinar se o paciente foi previamente infectado com <i>T. gondii</i> . A amostra pode ter sido obtida muito cedo, nos primeiros estágios da doença, para que possa haver uma determinação exacta. Reteste a nova amostra com um outro teste de IgM e IgG anti- <i>T. gondii</i> . Se os novos resultados da amostra ainda demonstrarem um resultado positivo para IgM e o IgG for positivo/negativo/duvidoso para os anticorpos contra <i>T. gondii</i> , a amostra deve ser enviada para um laboratório de referência com experiência em diagnóstico de toxoplasmose, para mais testes.

Limitações

O teste Toxoplasma G ADVIA Centaur está limitado à detecção de anticorpos IgG contra *T. gondii* em soro ou plasma humanos.

As amostras coletadas nos estágios iniciais da infecção podem ter níveis de IgG que são classificados como negativos.

Não use amostras inativadas pelo calor. O desempenho do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur não foi estabelecido com sangue de cordão umbilical, amostras neonatais, amostras de cadáveres ou líquidos corporais diferentes de soro ou plasma, como saliva, urina e líquido amniótico ou pleural.

A utilização do teste para diagnóstico de infecção recente testando amostras agudas e convalescentes ainda não foi validada.

Como o IgG contra toxoplasma pode permanecer no soro durante vários meses após a infecção, tenha cuidado ao interpretar os resultados de pacientes que podem ter recebido transfusões de sangue ou infusões de outros produtos sanguíneos nos últimos meses.

Em regiões geográficas com uma aparente baixa prevalência de IgG contra toxoplasma em populações assintomáticas, o valor prognóstico positivo de qualquer teste é reduzido devido à maior possibilidade de que um resultado positivo seja, na realidade, falsamente positivo.⁸ Como com todos os testes diagnósticos *in vitro*, cada laboratório deve determinar seu próprio intervalo de referência para a avaliação diagnóstica dos resultados dos pacientes.⁹

Anticorpos humanos anti-rato (HAMA) ou anticorpos heterófilos podem estar presentes em amostras de indivíduos expostos a imunoglobulinas de ratos ou a imunoglobulinas animais de fontes naturais ou como parte de terapias para doenças. Esses anticorpos podem interferir no teste Toxoplasma G ADVIA Centaur e fornecer resultados falsamente negativos ou falsamente positivos.¹⁰ Essas amostras não devem ser testadas.

A presença de anticorpos anti-nuclear (ANA) e anti-mitocondrial (AMA) em amostras de pacientes com síndrome autoimune pode interferir no teste Toxoplasma G ADVIA Centaur e fornecer resultados falsamente positivos ou falsamente negativos. Essas amostras não devem ser testadas.

De acordo com as diretrizes do NCCLS¹¹, as amostras positivas e negativas de IgG contra toxoplasma foram testadas para detectar interferências como se segue:

Amostras de soro . . .	demonstraram ≤ 10% de alteração em resultados até . . .
hemolisadas	500 mg/dL de hemoglobina
lipêmicas	1000 mg/dL de triglicérides
ictéricas	40 mg/dL de bilirrubina conjugada 20 mg/dL de bilirrubina não conjugada
proteínêmicas	3 g/dL de proteína
proteinemia alta	12 g/dL de proteína

Valores esperados

A prevalência de anticorpo IgG contra *T. gondii* varia consideravelmente de acordo com a localização geográfica e a idade do paciente. As seguintes taxas de prevalência no soro para várias populações foram relatadas na literatura:

Localização	Taxa de soroprevalência
Europa	
França, Itália	50–85%, por região
Alemanha	20–72%, por região
Reino Unido	20%
Japão	24%
África	20–65%, por país
América do Sul	36–82%, por país
América do Norte	8–38%, por região

Em ensaios clínicos, as taxas de soropositivos para o anticorpo IgG contra *T. gondii* para amostras obtidas nos EUA de gestantes (N = 494) e de indivíduos saudáveis e de baixo risco (N = 1224) foram 15,0% e 18,6%, respectivamente.

A distribuição das classificações do Toxoplasma G ADVIA Centaur observada nos ensaios clínicos está resumida a seguir:

População	N	Positivo
Gestantes	494	74 (15,0%)
Pacientes hospitalizados/clínicos escolhidos aleatoriamente	1224	228 (18,6%)
Total	1718	302 (17,6%)

Como em todos os testes diagnósticos *in vitro*, cada laboratório deve determinar sua(s) própria(s) faixa(s) de referência para a avaliação diagnóstica dos resultados de pacientes.⁹

Características de desempenho

Sensibilidade e especificidade relativas

O desempenho do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur foi determinado testando um total de 1804 amostras em três locais. Os resultados do ADVIA Centaur foram comparados aos resultados de teste gerados em um teste IgG por EIA automatizado contra toxoplasma, disponível no mercado. Foram utilizadas amostras novas e congeladas. As amostras incluíam as seguintes populações: pré-natal (N = 494), doadores de sangue assintomáticos (N = 418), pacientes hospitalizados assintomáticos (N = 806) e 86 pacientes com status positivo de IgG contra toxoplasma confirmado.

Sensibilidade relativa inicial

Utilizando o método alternativo, 388 apresentaram resultados positivos para o anticorpo IgG contra toxoplasma. Das amostras que apresentaram resultados positivos, 12 foram duvidosas, 363 foram positivas e 13 foram negativas, utilizando o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur. A sensibilidade relativa inicial foi de 96,5%.

Especificidade relativa inicial

Utilizando o método alternativo, 1400 apresentaram resultados negativos para o anticorpo IgG contra toxoplasma. Das amostras que apresentaram resultado negativo, 11 foram duvidosas, 19 foram positivas e 1370 foram negativas, utilizando o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur. A especificidade relativa inicial foi de 98,6%.

OBSERVAÇÃO: As amostras que apresentaram resultados duvidosos não foram incluídas no cálculo de sensibilidade relativa, especificidade relativa e concordância relativa.

Sensibilidade, especificidade e concordância relativas antes da resolução de amostras discordantes

Local	N	Sensibilidade inicial relativa (%)	Especificidade inicial relativa (%)	Concordância inicial relativa (%)
1	804	99,5 (210/211)	98,4 (568/577)	98,7 (778/788)
2	500	94,7 (89/94)	97,7 (384/393)	97,1 (473/487)
3	500	90,1 (64/71)	99,8 (418/419)	98,4 (482/490)
Total	1804	96,5 (363/376)	98,6 (1370/1389)	98,2 (1733/1765)

OBSERVAÇÃO: O termo *Relativo* se refere a uma comparação direta dos resultados do Toxoplasma G ADVIA Centaur com os resultados de um teste semelhante. Não se tentou correlacionar a presença ou a ausência da doença e nenhuma avaliação pode ser feita em relação à segurança do teste no prognóstico da infecção por toxoplasmose.

Resolução de amostras discordantes

As amostras com resultados discordantes foram testadas usando um outro teste disponível no mercado para IgG contra toxoplasma. Os resultados obtidos são mostrados na tabela a seguir.

OBSERVAÇÃO: As amostras que forneceram resultados duvidosos não foram incluídas no cálculo de sensibilidade relativa, especificidade relativa e concordância relativa.

Sensibilidade, especificidade e concordância relativas após a resolução de amostras discordantes

Local	N	Sensibilidade relativa (%)	Especificidade relativa (%)	Concordância relativa (%)
1	804	99,5 (210/211)	99,3 (571/575)	99,4 (781/786)
2	500	95,8 (92/96)	99,7 (387/388)	99,0 (479/484)
3	500	94,1 (64/68)	99,8 (422/423)	99,0 (486/491)
Total	1804	97,6 (366/375)	99,6 (1380/1386)	99,1 (1746/1761)

OBSERVAÇÃO: Amostras inicialmente discordantes no ensaio (N = 32) foram repetidas em duplicata usando o dispositivo e amostras repetidamente discordantes foram testadas em um IgG por EIA secundário contra toxoplasma. Os cálculos de concordância, sensibilidade e especificidade relativas se basearam em observações realizadas após a condução do teste de resolução. Os cálculos de especificidade e sensibilidade relativas não incluem amostras que apresentaram resultados duvidosos no teste Toxoplasma G ADVIA Centaur ou EIA. Os cálculos de concordância relativa se basearam no número de amostras positivas e negativas concordantes para o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur e EIA.

Avaliação de estados de doenças potencialmente interferentes

Amostras potencialmente interferentes ou de reação cruzada foram avaliadas usando o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur e um IgG por EIA automatizado contra toxoplasma, disponível no mercado. As populações avaliadas incluíram RF, CMV, EBV, HSV, VZV, sífilis, mieloma múltiplo, parvovírus B19 e vacinados contra influenza. Das 93 amostras testadas, 93 (100%) apresentaram resultado negativo por EIA. Utilizando o teste Toxoplasma G ADVIA Centaur, uma especificidade de 100% foi obtida nas amostras negativas por EIA. Nenhuma interferência significativa ou reação cruzada para esses estados patológicos foi indicada.

Precisão

A reprodutibilidade do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur foi determinada conforme descrito no protocolo EP5-T2 do NCCLS.¹² O painel de participantes foi testado duas vezes em dois processamentos diários separados, por um período de 20 dias (n = 80). Os seguintes resultados foram obtidos usando um lote de reagente e uma curva de calibração armazenada:

Participante do painel	N	Concentração média (UI/mL)	Dentro do mesmo processamento		Total†	
			DP	CV %	DP	CV %
Controle negativo	80	0,37	0,06	NA*	0,09	NA
Controle positivo	80	27,54	0,89	3,2	0,98	3,6
1	80	1,67	0,09	5,2	0,12	7,3
2	80	8,22	0,14	1,7	0,33	4,0
3	80	20,00	0,27	1,3	0,65	3,3

* Não se aplica

† Inclui dentro do mesmo processamento e de processamento a processamento.

A reprodutibilidade do sistema foi determinada testando um painel de 6 participantes com 3 lotes de reagentes, incluindo 5 instrumentos e 3 locais, durante vários dias. O painel foi testado três vezes em cada um dos 40 processamentos. Foram obtidos os seguintes resultados:

Participante do painel	N	Concentração média (UI/mL)	Dentro do mesmo processamento		Total†	
			DP	CV %	DP	CV %
Controle negativo	210	0,20	0,23	NA*	0,25	NA
Controle positivo	210	29,91	0,61	2,05	0,75	2,51
1	120	18,32	0,44	2,42	0,53	2,91
2	120	45,02	0,84	1,86	1,12	2,50
3	120	50,57	0,96	1,89	1,15	2,27
4	120	123,71	7,84	6,33	7,88	6,37

* Não se aplica

† Inclui dentro do mesmo processamento e de processamento a processamento.

Linearidade

A linearidade do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur foi determinada usando uma série de diluições diferenciais de duas misturas de soro com titulações de anti-*T. gondii* de 8 e 930 UI/mL. A análise de regressão linear dos valores esperados comparados com os valores observados indicou menos de 5% de ajuste do valor mínimo de recuperação no intervalo.

Padronização

A padronização do teste Toxoplasma G ADVIA Centaur segue o terceiro padrão internacional da Organização Mundial de Saúde (OMS) para soro antitoxoplasma humano (TOXM). Uma comparação entre os limites de 0 a 500 UI/mL utilizando quatro lotes de reagentes forneceu a seguinte correlação:

$$\text{Toxoplasma G ADVIA Centaur} = 1,02 (\text{OMS}) + 10,7 \text{ UI/mL} \\ r = 0,99$$

Os valores atribuídos de calibradores e controles seguem essa padronização.

Assistência técnica

Para serviços de atendimento ao cliente, entre em contato com o prestador de suporte técnico ou distribuidor local.

Referências bibliográficas

1. Litwin CM, Hill HR. Serologic and DNA-based testing for congenital and perinatal infections. *J Pediatr Infect Dis.* 1997;16:1166–75.
2. Armstrong AS, Safford JW, Holbert DN, Mushahra IK. Congenital diseases of microbiological origin. In: *The Immunoassay Handbook: Applications*. Edited by David Wood. New York: Stockton Press, 1994:499–501.
3. Galván RML, Alvarado VV, Gutierrez GV, et al. Prevalence of IgG and IgM anti-Toxoplasma antibodies in patients with HIV and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 1997;30(6):465–7.
4. Wong, B, Gold, JW, Brown, AE et al. Central nervous system toxoplasmosis in homosexual men and parenteral drug abusers. *Ann. Int. Med.* 1984; 100:36-42.
5. Centers for Disease Control. Update: Universal precautions for prevention of transmission of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus and other bloodborne pathogens in healthcare settings. *MMWR* 1988;37:377-82, 387-8.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline - Third Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS Document M29-A3.
7. Federal Occupational Safety and Health Administration, Bloodborne Pathogens Standard, 29 CFR 1910.1030.
8. Galen RS. New Math in the Lab: Predictive Value Theory. *Diag Med.* 1979; 23–31.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2000. NCCLS Document C28-A2.
10. Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988; 34:27–33.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline - Second Edition*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005. NCCLS document EP7-A2.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). *Evaluation of precision performance of clinical chemistry devices—second edition; tentative guideline*. NCCLS Document EP5-T2. Wayne (PA); NCCLS; 1992 March.

A denominação Bayer, a Cruz Bayer, ADVIA Centaur, e ReadyPack são marcas comerciais da Bayer.

© 2000 Bayer HealthCare LLC. Todos os direitos reservados.

US Pats 5.609.822; 4.745.181; 4.918.192; 5.110.932; 5.656.426; 5.788.928

Anexo 3 – VIDAS Toxo M

VIDAS[®] TOXO IgM (TXM)

IVD

O VIDAS TOXO IgM é um teste qualitativo automatizado nos aparelhos VIDAS, que permite a detecção das IgM anti-toxoplásmicas no soro pela técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

O *Toxoplasma gondii*, protozoário, parasita intracelular obrigatório, é um patógeno muito frequente no homem. O parasita, cujo hospedeiro definitivo é o gato, encontra-se disseminado na natureza e infecta inúmeros outros mamíferos (1).

A toxoplasmose é geralmente muito discreta no indivíduo imunocompetente, mas os danos fetais, como nos imunodeprimidos, podem ser severos. A toxoplasmose congénita devida a uma contaminação maternal pré-concepcional é excepção e ocorre frequentemente nas mulheres imunodeprimidas (11). As que são seronegativas são susceptíveis de serem infectadas durante a gravidez. A transmissão que pode ocorrer ao feto, resulta da passagem transplacentária de toxoplasma durante a fase aguda da doença. A frequência e a gravidade dos danos fetais dependem de vários factores, entre os quais, a data do aparecimento da infecção maternal, a virulência da estirpe/cepa infectante, a importância do inóculo e a qualidade da resposta imunitária da mãe (2-7).

O diagnóstico de uma infecção por *T. gondii* baseia-se essencialmente na exploração laboratorial: detecção das imunoglobulinas específicas (IgM e IgG) (1, 4, 6).

O diagnóstico de uma infecção aguda adquirida durante a gravidez far-se-á pela detecção de uma seroconversão, ou por um aumento significativo do título de anticorpos detectados em duas colheitas/coletas sequenciais analisadas em paralelo (7-10).

O objectivo deste teste é de ajudar na determinação do estatuto imunitário.

PRINCÍPIO

O princípio do doseamento associa o método imunoenzimático por imunocaptura com uma detecção final em fluorescência (ELFA).

O cone de utilização única serve tanto de fase sólida como de suporte de pipetagem. Os outros reagentes da reacção imunológica estão prontos a ser usados e pré-repartidos na barrete.

Todas as etapas do teste são realizadas automaticamente pelo aparelho. Estas são constituídas por uma sucessão de aspiração e dispensação do meio reaccional.

Após uma etapa de diluição do soro, as IgM são capturadas pelo Ac policlonal presente na parede do cone. As IgM anti-toxoplásmicas são detectadas especificamente pelo antigénio toxoplásmico inactivado (estirpe/cepa RH Sabin), este mesmo revelado por um anticorpo monoclonal de murino anti-toxoplásmico (anti-P30), conjugado com fosfatase alcalina.

Durante a etapa final de revelação, o substrato (4-metil-umbeliferil fosfato) é aspirado e depois dispensado pelo cone; a enzima do conjugado catalisa a reacção de hidrólise deste substrato num produto (4-metil-umbeliferona) cuja fluorescência emitida é medida a 450 nm. O valor do sinal de fluorescência é proporcional à concentração de anticorpos presentes na amostra. Terminado o teste, é calculado um índice automaticamente pelo aparelho em relação a um calibrador S1 memorizado e impresso.

COMPOSIÇÃO DOS REAGENTES DA EMBALAGEM (60 TESTES):

60 barretes TXM	STR	Prontas a usar.
60 cones TXM 2 x 30	SPR	Prontos a usar. Cones sensibilizados com anticorpo anti-cadeia μ humana (cabra).
Controlo positivo TXM 1 x 2 ml (líquido)	C 1	Soro humano* que contém IgM anti-toxoplásmicas + estabilizante proteico + azida sódica 1 g/l. Índice : o intervalo de confiança está indicado no cartão MLE com a menção : "Control C1 (+) Test Value Range".
Controlo negativo TXM 1 x 2 ml (líquido)	C 2	Soro humano* negativo em IgM anti-toxoplásmicas + estabilizante proteico + azida sódica 1 g/l.
Calibrador TXM 1 x 1 ml (líquido)	S 1	Soro humano* que contém IgM anti-toxoplásmicas + estabilizante proteico + azida sódica 1 g/l.
1 Cartão MLE		Ficha de especificações que contém os dados de fabrico necessários à calibração do teste.
1 Folheto Informativo		

* Foi verificada a ausência de antigénio HBs, de anticorpos anti-VIH1, anti-VIH2 e de anticorpos anti-VHC. No entanto, não podendo nenhum teste dar uma garantia absoluta, deve este produto ser manipulado com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos.

O cone

O cone (SPR®) é sensibilizado na altura do fabrico com anticorpos anti-cadeia μ humana (cabra). Cada cone é identificado pelo código TXM. Utilizar unicamente o número de cones necessário e deixar os restantes na saqueta/sachet. **Fechar correctamente a saqueta/sachet após abertura.**

A barrete

A barrete é composta por 10 poços cobertos por uma folha de alumínio selada e etiquetada. A etiqueta tem um código de barras com informação relativa ao tipo de teste realizado, ao número de lote e à data de validade. O primeiro poço apresenta uma parte perfurada para facilitar a introdução da amostra. O último poço é uma cuvette que permite a leitura em fluorimetria. Os poços intermédios contêm os diferentes reagentes necessários à análise.

Descrição da barrete TXM

1	Poço-amostra.
2	Diluyente do soro: Tampão TRIS (50 mmol/l) pH 7,4 + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (300 μ l).
3	Tampão de pré-lavagem: TRIS (50 mmol/l) pH 7,4 + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 μ l).
4 - 5 - 7 - 8	Tampão de lavagem: TRIS (50 mmol/l) pH 7,4 + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 μ l).
6	Conjugado: imunocomplexo (antigénio toxoplásmico estirpe/cepa RH Sabin cultivada em rato (12) - anticorpo monoclonal de rato anti-P30) marcado com fosfatase alcalina + azida sódica 0,9 g/l + gentamicina 0,02 % (400 μ l).
9	Poço vazio
10	Cuvete de leitura com substrato: 4-metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina (DEA*) (0,62 mol/l, ou seja, 6,6%, pH 9,2) + azida sódica 1 g/l (300 μ l).

* Reagente IRRITANTE:

- **R 36:** irritante para os olhos.
 - **S 26:** em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.
- Para mais informações, consultar a ficha de segurança disponível a pedido.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Pipeta de ponta descartável que permite a distribuição de 100 μ l.
- Luvas sem pó de talco descartáveis.

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.
- Unicamente para uso profissional.
- Este dispositivo contém componentes de origem humana. Nenhum dos métodos de análise actualmente conhecidos pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível. É aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (consultar o manual : Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - última edição).
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- Não utilizar os cones se a saqueta/sachet estiver danificada.
- Não utilizar as barretes visivelmente alteradas (folha de alumínio ou de plástico danificada).
- Não utilizar os reagentes após a data de validade indicada na etiqueta da embalagem.

- Não misturar os reagentes (ou consumíveis) provenientes de números de lotes diferentes.
- Não utilizar luvas com pó de talco, o talco pode levar a falsos resultados para alguns testes imunoenzimáticos.
- Os reagentes da embalagem contêm um conservante (azida sódica), susceptível de reagir com as canalizações de chumbo ou de cobre dos lavatórios, formando azidas metálicas explosivas. É aconselhável passar por água qualquer produto de rejeição.
- O substrato (poço nº 10 da barrete) contém um agente irritante (dietanolamina a 6,6%). Ter em antecção a frase de risco "R" e os conselhos de prudência "S" supra citados.
- As projecções devem ser tratadas com um líquido detergente ou uma solução de lixívia/água sanitária contendo, pelo menos 0,5 % de hipoclorito de sódio. Consultar o Manual de Utilização para eliminar as projecções sobre ou no interior do VIDAS. Não autoclavar produtos que contenham lixívia/água sanitária.
- Os elementos do módulo VIDAS e mini VIDAS devem ser regularmente limpos e descontaminados (consultar o Manual de utilização).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- Conservar o dispositivo VIDAS TXM a 2° - 8° C.
- **Não congelar os reagentes.**
- **Deixar a 2° - 8° C os reagentes não utilizados.**
- Na abertura da embalagem, verificar se a(s) saqueta(s)/sachet(s) dos cones está(ão) bem fechada(s) e se não está(ão) danificada(s). Se não for o caso, não utilizar os cones.
- **Após cada utilização, fechar bem a saqueta/sachet com o desidratante para manter a estabilidade dos cones e colocar novamente a embalagem a 2° - 8° C.**
- Todos os componentes permanecem estáveis até à data de validade indicada na etiqueta da embalagem, se forem conservados nas condições exigidas.

AMOSTRAS

Natureza e colheita/coleta das amostras:

Soro

É aconselhado a cada laboratório validar o tipo de tubo de colheita/coleta utilizado.

A utilização de soro proveniente de sangue do cordão umbilical ou de recém-nascidos não foi validada para este teste. Para este tipo de amostra, recomenda-se a utilização da técnica Toxo-ISAGA, referência 75 361.

Não foi validada a utilização de amostras hemolisadas, lipémicas ou ictericas, nesse caso, é aconselhado fazer novamente a colheita/coleta.

Os soros inativados a 56°C durante 30 minutos podem ser testadas com VIDAS TOXO IgM.

Estabilidade das amostras

As amostras podem ser armazenadas a 2° - 8° C durante 7 dias, no máximo, para além desse período, congelá-las a -25° ± 6° C.

Evitar as congelações e descongelações sucessivas.

PROCEDIMENTO

Para instruções completas, consultar o Manual de Utilização do VIDAS ou do mini VIDAS.

Introdução dos dados do cartão MLE

Na recepção de um novo lote, as especificações (ou dados de fabrico) devem ser introduzidas no aparelho (VIDAS ou mini VIDAS) usando o cartão MLE (ficha de especificações) incluído em cada embalagem. Se esta operação não for efectuada **antes de começar os testes**, o aparelho não poderá editar os resultados. Estas especificações introduzem-se uma única vez para cada lote.

É possível introduzir as especificações manual ou automaticamente com o cartão MLE.

Calibração

A calibração, utilizando o calibrador fornecido na embalagem, deve ser efectuada na recepção de cada novo lote após introdução das especificações do lote (cartão MLE) e todos os 14 dias. Esta operação permite ajustar a calibração a cada aparelho e à evolução eventual do reagente no decorrer do tempo.

O calibrador, identificado por S1, será analisado **em duplicado** (consultar o Manual de Utilização). O valor do calibrador deve estar compreendido nos limites de RFV ("Relative Fluorescence Value") fixados. Se não for o caso: fazer novamente uma calibração.

Realização do teste

1. **Tirar do frigorífico apenas os reagentes necessários, deixá-los 30 minutos à temperatura ambiente antes de os utilizar.**
2. Utilizar uma barrete TXM e um cone TXM para cada amostra, controlo ou calibrador a testar. Verificar se a saqueta/sachet de cones foi bem fechada após cada utilização.
3. Digitar ou seleccionar TXM no aparelho para introduzir o código do teste. O calibrador identificado obrigatoriamente por "S1", deve ser utilizado **em duplicado**. Se o controlo positivo tiver de ser testado, será identificado por "C1". Se o controlo negativo tiver de ser testado, será identificado por "C2".
4. Se necessário, clarificar as amostras por centrifugação.
5. Homogeneizar em vortex o calibrador, os controlos e as amostras.
6. Pipetar **100 µl** de calibrador, de amostra ou de controlo no poço-amostra.
7. Colocar no aparelho os cones e as barretes. Verificar a concordância dos códigos (cores e letras) entre o cone e a barrete.
8. Começar a análise (consultar o Manual de Utilização). Todas as etapas são geridas automaticamente pelo aparelho. Os resultados obtêm-se em, aproximadamente **40 minutos**.
9. Terminada a análise, retirar os cones e as barretes do aparelho.
10. Eliminar os cones e as barretes utilizados num recipiente apropriado.

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

Terminado o teste, os resultados são analisados automaticamente pelo sistema informático. O aparelho efectua duas medidas de fluorescência na cuvete de leitura para cada teste. A primeira leitura corresponde ao branco da cuvete antes do substrato entrar em contacto com o cone. A segunda leitura é efectuada após incubação do substrato com a enzima presente no cone. O cálculo do RFV (Relative Fluorescence Value) é o resultado da diferença das duas medidas. Este aparece na folha de resultados.

O aparelho calcula para cada amostra um valor de teste (índice) que é a relação entre o seu RFV e o do calibrador memorizado.

A interpretação dos resultados do teste deve ser feita tendo em conta o contexto clínico e, eventualmente, os resultados de outros testes ou de outros métodos de doseamento das IgM.

Não estando disponível nenhum calibrador internacional para o doseamento das IgM anti-toxoplásmicas, o reagente VIDAS TOXO IgM é calibrado em relação a soros de seroteca.

Limiar e interpretação dos resultados

Índice	Interpretação
$i < 0,55$	Negativo
$0,55 \leq i < 0,65$	Equívoco
$i \geq 0,65$	Positivo

Para índices compreendidos entre 0,55 e 0,65, fazer novamente o teste. Se a verificação der novamente uma interpretação equívoca, proceder a uma nova colheita/coleta.

CONTROLO DE QUALIDADE

Um controlo positivo e um controlo negativo estão incluídos em cada embalagem VIDAS TOXO IgM.

Este(s) controlo(s) deve(m) ser utilizado(s) na abertura de cada nova embalagem para confirmar a ausência de alteração dos reagentes. Cada calibração deve ser também verificada utilizando este(s) controlo(s). Para que o aparelho possa verificar o valor do(s) controlo(s), é necessário identificá-lo(s) por C1 e C2.

Se o valor dos controlos se afastar dos valores esperados, os resultados não podem ser validados.

Nota

É da responsabilidade do utilizador garantir que o controlo da qualidade é efectuado em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITES DO TESTE

Pode ser detectada uma interferência com alguns soros contendo anticorpos dirigidos contra os componentes do reagente, por isso, os resultados deste teste devem ser interpretados tendo em conta do contexto clínico e, eventualmente, os resultados de outros testes.

Numa criança com menos 6 meses, pode acontecer que a produção de IgM não possa ser detectada, é necessário então constatar um aumento significativo do título das IgG específicas.

Nos doentes com SIDA, sendo a detecção do aumento das IgG ou da presença das IgM pouco fiável, a presença de IgG associada a sinais radiológicos permite suspeitar o diagnóstico. Aproximadamente, 100% das pessoas com SIDA e que desenvolvem uma toxoplasmose, apresentam IgGs no soro, sendo que as IgM são raramente detectadas.

Sendo que a persistência das IgM anti-toxoplásmicas, após seroconversão, pode ocorrer durante vários meses ou anos, fenómeno regularmente descrito, a presença isolada das IgM anti-toxoplásmicas não permite afirmar o carácter recente da infecção na ausência de histórico serológico.

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

Os estudos de VIDAS TOXO IgM deram os seguintes resultados:

PrecisãoReprodutibilidade intra-ensaio:

Foram doseadas 3 amostras 20 vezes em 3 séries diferentes e no mesmo aparelho.

Soros	Média do índice	Desvio padrão	CV % Intra-ensaio
S1	0,96	0,04	3,8
C1	1,39	0,03	2,0
C2	0,09	0,01	11,5

Reprodutibilidade inter-ensaio

Foram doseadas 3 amostras em simples em 7 séries diferentes no mesmo aparelho VIDAS.

Soros	Média do índice	Desvio padrão	CV % Inter-ensaio
S4	2,09	0,10	4,8
S5	0,76	0,04	5,3
S6	0,11	0,01	8,2

Especificidade relativa

A especificidade relativa de VIDAS TOXO IgM foi calculada em relação à técnica Toxo-ISAGA IgM Ref. 75361 em amostras recentes não seleccionadas provenientes de uma população imunizada ou não e efectuada em rotina, soros de mulheres grávidas tendo havido toxoplasmose e colhidos/coletados antes da contaminação, sangue de cordão de recém-nascidos isentos de qualquer contaminação toxoplásmica e soros de crianças com toxoplasmose congénita mas sem IgM anti-toxoplásmica.

Dos 1483 soros considerados negativos com o dispositivo Toxo-ISAGA IgM, 7 soros foram considerados equívocos e 1465 soros foram considerados negativos com o VIDAS TOXO IgM, ou seja, uma especificidade relativa de **99,25%*** (1465/1476) Intervalo de confiança de 95%: 98,66% - 99,59%.

Das 11 amostras consideradas positivas com VIDAS TOXO IgM e negativas com Toxo-ISAGA IgM, 4 soros foram considerados positivos com outra técnica de detecção das IgM anti-toxoplásmicas e 2 soros correspondiam a soros de seguimentos colhidos/coletados mais de 8 semanas após a infecção (IgM residuais).

*Os resultados equívocos não foram utilizados para o cálculo do comportamento funcional.

Sensibilidade relativa

A sensibilidade relativa de VIDAS TOXO IgM foi calculada em relação à técnica Toxo-ISAGA, Ref. 75361 com soros de mulheres grávidas que tiveram contacto com a toxoplasmose durante a gravidez e com soros de recém-nascidos com toxoplasmose congénita.

No total, foram estudados 77 casos de seroconversão e 24 casos de infecções congénitas laboratoriais e clinicamente documentadas.

Toxoplasmoses adquiridas:

Dos 150 soros de seroconversão considerados positivos com Toxo-ISAGA IgM, 144 foram considerados positivos com VIDAS TOXO IgM. Nenhum soro foi considerado equívoco.

A sensibilidade relativa com os soros de mulheres grávidas que contraíram toxoplasmose durante a gravidez foi de **96,00%** (Intervalo de confiança de 95%: 91,43% - 98,18%.)

Dos 6 soros considerados discordantes:

- quatro soros correspondiam a soros de seguimento colhidos/coletados mais de 8 semanas após a infecção (IgM residuais). Dois soros foram também considerados negativos com outras duas técnicas de detecção das IgM anti-toxoplásmicas.

- dois soros correspondiam a amostras colhidas/coletadas pouco tempo após a contaminação: ausência ou taxas fracas em IgG anti-toxoplásmicas (Teste de lise negativo ou fracamente positivo) e presença de taxas fracas em IgM (Toxo-ISAGA IgM diminutamente positivo). Para estes dois casos, a seroconversão foi detectada em amostras posteriores.

Toxoplasmoses congénitas:

Em 30 soros de Toxoplasmoses congénitas considerados positivos pela técnica Toxo-ISAGA IgM, 27 foram considerados positivos com VIDAS TOXO IgM. Nenhum soro foi considerado equívoco.

A sensibilidade relativa em relação à técnica Toxo-ISAGA IgM em soros de recém-nascidos com toxoplasmose congénita é de **90,00%** (Intervalo de confiança a 95% : 73,47% - 97,89%). O valor preditivo positivo nesta população foi de 100% (Intervalo de confiança de 95% : 87,23% - 100,00%).

Dos 3 soros considerados discordantes, um soro foi colhido/coletado do sangue do cordão umbilical no nascimento. Os dois outros soros foram colhidos/coletados, respectivamente, no primeiro e no terceiro mês. Um soro apresentava uma taxa diminuta em IgM toxoplásmicas (Toxo-ISAGA IgM fracamente positivo).

Tendo em conta os resultados obtidos nos dossiers de toxoplasmose congénita, é recomendado confirmar todos os soros de recém-nascidos com toxoplasmose congénita e considerados negativos em VIDAS TOXO IgM com a técnica Toxo-ISAGA IgM.

REACÇÕES CRUZADAS E INTERFERÊNCIAS

Durante as avaliações, foram testadas 24 amostras com factor reumatóide, negativas em IgM anti-toxoplásmicas e 10 amostras contendo IgM anti-EBV, negativas em IgM anti-toxoplásmicas. Todas estas amostras foram negativas com VIDAS TOXO IgM.

PREVALÊNCIA

T. gondii é um patógeno estrito cuja prevalência é muito diferente de um país para outro ou mesmo de uma região para outra.

A contaminação por *T.gondii* pode variar segundo os hábitos culturais e alimentares conduzindo a uma prevalência que pode ir de menos de 10% em algumas regiões da Europa do Norte a mais de 90% em África.

ELIMINAÇÃO DE RESÍDUOS

Eliminar os reagentes utilizados ou não utilizados e os materiais descartáveis contaminados seguindo os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMBROISE-THOMAS P., et al. Le toxoplasme et sa pathologie. Médecine et Maladies infectieuses, 1993, 23 spécial, 121-128.
2. HOHLFELD P., DALFOS F., COSTA J.M., THULLIEZ Ph., FORESTIER F., SOLE Y., VIDAUD M. Nouvelle approche du diagnostic prénatal de la toxoplasmose congénitale. Journal de Pédiatrie et de Puériculture, 1993, 6, 341-346.
3. REMINGTON J.S./KLEIN J.P. Toxoplasmosis in : REMINGTON J.S AND DESMONT S.G EDS - Infectious diseases of the fetus and newborn infant 1990 p 89-195 W.B. SAUNDERS, PHILADELPHIA.

4. CANDOLFI E., KIEN T. Les nouvelles données de l'interprétation de la sérologie de la toxoplasmose par l'évaluation comparée d'anciennes et de nouvelles techniques sérologiques. Spectra Biologie, 1990, 90, 55-62.
5. SANTORO F., AFCHEIN D., PIERCE R., CESBRON J.Y., OVLAQUE G., CAPRON A. Serodiagnosis of Toxoplasma infection using a purified parasite protein (P30). Clin. exp. Immunol., 1985, 62, 262-269.
6. THULLIEZ P. et al., Evaluation de trois réactifs de détection par immunocapture des IgM spécifiques de la toxoplasmose. - Revue française des laboratoires, Février 1988, n°169 p 25-31.
7. AMBROISE-THOMAS P., FRANCESIO J., SIMON S. et al. - Les facteurs rhumatoïdes. Cause de non spécificité de l'immunofluorescence anti-IgM dans la toxoplasmose - Ann. Biol. Clin., 1980, 38, 315-319.
8. POULETTY P., PINON J.M., GARCIA-GONZALEZ M., et al. - An Anti-Human Immunoglobulin M Monoclonal Antibody for detection of Antibodies to Toxoplasma gondii. - Eur. J. Clin. Microbiol., 1984, 3, n° 6, 510-515.
9. POULETTY P., KADOUCHE J., GARCIA-GONZALEZ M. et al. - An Anti-Human Chain Monoclonal Antibody : Use for detection of IgM Antibodies to Toxoplasma gondii by reverse Immunosorbent assay - J. Immunol. Methods., 1985, 76, n° 2, 289-298.
10. FORTIER B., AJANA F., CAMUS D. - Prévention, diagnostic et suivi de la toxoplasmose congénitale. - NPN Médecine, 1990, 165, 259-265.
11. DESMONTS G. - Toxoplasmoses congénitales. Cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. - Press. Méd. 1990 : volume 31 n°9 p1445-9.
12. COUZINEAU P. and BAUFINE-DUCROCQ H. Study of the possibilities of utilization of TG 180 sarcoma of the mouse. Application to toxoplasmosis. Ann.Parasitol.Hum.Comp., 1969, 44, p.217-224.

QUADRO DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
	Referência de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Limites de temperatura
	Prazo de validade
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Conteúdo suficiente para "n" ensaios

Brasil: Distribuído por bioMérieux Brasil, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261

CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:
VIDE EMBALAGEM



bioMérieux® SA
au capital de 12 029 370 €
673 620 399 RCS LYON

A bioMérieux, o logotipo azul, VIDAS e SPR são marcas utilizadas, depositadas e/ou registadas, propriedade exclusiva da bioMérieux, SA ou de uma das suas filiais.

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>

CE 0459
Impresso em França

Anexo 4 – VIDAS Toxo G AVIDITY

VIDAS® TOXO IgG AVIDITY (TXGA)

IVD

O VIDAS Toxo IgG Avidity é um teste qualitativo automatizado no sistema VIDAS, que permite avaliar a avides das IgG anti-toxoplásmicas no soro ou no plasma humano (heparinato de lítio, citrato de sódio, EDTA) pela técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

INTRODUÇÃO E OBJECTIVO DO TESTE

A determinação do Índice de avides (4,6) é um teste complementar à pesquisa das IgG e IgM anti-toxoplásmicas. Após a detecção de IgG e de IgM anti-toxoplásmicas, o índice de avides ajuda a excluir uma infecção recente com menos de 4 meses (3).

Um dos elementos para estabelecer o diagnóstico da toxoplasmose no sujeito imunocompetente é a detecção das IgM específicas. No entanto, se a seroconversão não for demonstrada formalmente, são necessários outros estudos, em especial no decurso da gravidez, para avaliar a data da contaminação com a maior precisão possível (5). Com efeito, o risco de infecção e a severidade das consequências para o feto estão estreitamente ligadas ao período em que a infecção materna ocorreu.

Para estabelecer um diagnóstico de infecção toxoplásmica, é corrente associar a detecção de vários marcadores e/ou de várias técnicas. Todavia, os elementos informativos obtidos são frequentemente incompletos e a data da infecção é pouco precisa, especialmente, quando são detectadas IgM residuais.

A avaliação da avides das IgG específicas permite uma datação mais precisa, visto que a avides aumenta progressivamente ao longo do tempo.

O VIDAS Toxo IgG Avidity é uma técnica simples que permite distinguir os anticorpos de fraca avides e os de forte avides. A detecção dos anticorpos de forte avides é sinal de uma primo-infecção com mais de quatro meses (1, 2, 7).

PRINCÍPIO

No decurso de um teste ELISA, a introdução de um agente que perturbe a ligação Ag-Ac (como a ureia) tem pouco efeito na ligação Ag-Ac de forte avides, mas tem muito na ligação dos Ac de fraca avides. A comparação dos resultados obtidos com e sem agente dissociante equivale a uma medida de avides.

O princípio de doseamento associa o método imunoenzimático sandwich em duas etapas com uma detecção final em fluorescência (ELFA). O cone de utilização única serve tanto de fase sólida como de suporte de pipetagem. Os outros reagentes da reacção imunológica estão prontos a ser usados e pré-repartidos na barrete.

VIDAS Toxo IgG Avidity utiliza uma barrete dupla, composta por uma barrete de referência e uma barrete teste. A amostra a analisar, previamente diluída, é colocada em cada um dos 2 poços amostra da barrete dupla : referência e teste.

As IgG anti-toxoplásmicas da amostra, se estiverem presentes, formam complexos com o antígeno fixado na fase sólida. Na barrete de referência, a lavagem permite eliminar os anticorpos não específicos, permanecendo os anticorpos específicos fixados na fase sólida. Na barrete teste, a lavagem com o agente dissociante modifica as ligações antígeno-anticorpo. Unicamente os anticorpos de forte avides permanecem ligados na fase sólida, enquanto que os de fraca avides são eliminados.

Os anticorpos anti-IgG humanos conjugados com fosfatase alcalina são em seguida aspirados e dispensados várias vezes no interior do cone, fixando-se assim às IgG humanas eventualmente presentes na parede do cone. O conjugado não fixado é eliminado por lavagem.

Todas as etapas do teste são realizadas automaticamente pelo aparelho. São constituídas de uma sucessão de ciclos de aspiração e de dispensação do meio reacção.

Durante a etapa final de revelação, o substrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) é aspirado e dispensado pelo cone; a enzima do conjugado catalisa a reacção de hidrólise deste substrato num produto (4-Metil-umbeliferona) cuja fluorescência é medida a 450 nm. Esta é proporcional à concentração dos anticorpos presentes na amostra. Terminado o teste, os resultados são calculados automaticamente pelo aparelho, e impressos. A relação entre a concentração de anticorpos de forte avides (barrete teste) e a concentração de anticorpos totais (barrete referência) fornece um índice que reflecte a avides dos anticorpos presentes na amostra analisada.

COMPOSIÇÃO DOS REAGENTES DA EMBALAGEM (30 TESTES) :

30 barretes duplas TXGA	STR	Prontas a usar.
60 cones TXGA 2 x 30	SPR	Prontas a usar. Cones sensibilizados com antígeno toxoplásmico membranar e citoplásmico.
Controlo de forte avides TXGA 1 x 2 ml (líquido)	C1	Soro humano* que contém IgG anti-toxoplásmicas + estabilizante proteico + azida sódica 1 g/l. O intervalo de confiança em índice está indicado no cartão MLE com a menção : "Control C1 (+) Test Value Range". O intervalo de confiança em "Relative Fluorescence Value (RFV)" está indicado no cartão MLE com a menção : "C1 Ref RFV Range".
Controlo de fraca avides TXGA 1 x 1,2 ml (líquido)	C2	Soro humano* que contém IgG anti-toxoplásmicas + estabilizante proteico + azida sódica 0,9 g/l.
Diluinte amostra 1 x 13 ml (líquido)	R1	Soro humano* + estabilizante proteico + azida sódica 1 g/l.
1 Cartão MLE		Ficha de especificações que contém os dados de fabrico necessários para a calibração do teste.
1 Folheto informativo		

* Foi verificada a ausência de antígeno HBs, de anticorpos anti-VIH1, anti-VIH2 e de anticorpos anti-VHC. No entanto, não podendo nenhum teste dar uma garantia absoluta, deve este produto ser manipulado com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos.

O cone

O cone é sensibilizado na altura do fabrico com um antígeno toxoplásmico membranar e citoplásmico. Cada cone é identificado pelo código TXGA. Utilizar unicamente o número de cones necessário e deixar os cones restantes na saqueta/sachet após abertura. **Fechar correctamente a saqueta/sachet após a abertura.**

A dupla barrete

Cada uma das duas barretes é composta de 10 poços cobertos por uma folha de alumínio selada e etiquetada. A etiqueta tem um código de barras referente ao tipo de teste realizado, ao número de lote e à data de validade. O primeiro poço apresenta uma parte perfurada para facilitar a introdução da amostra. O último poço é uma cuvete que permite a leitura em fluorimetria. Os poços intermédios contêm os diferentes reagentes necessários à análise.

Descrição da barrete Referência (barrete da esquerda)

Poços	Reagentes
1	Poço amostra.
2	Diluyente do soro : Tampão TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 µl).
3	Tampão de pré-lavagem : TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 µl).
4 - 5 - 7 - 8	Tampão de lavagem : TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 µl).
6	Conjugado : Anticorpo monoclonal anti-IgG humanas (rato) marcado com fosfatase alcalina + azida sódica 0,9 g/l (400 µl).
9	Diluyente soro : Tampão TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (400 µl).
10	Cuvete de leitura com substrato : 4-Metil-umbeliferil fosfato (0,6 mmol/l) + dietanolamina (DEA*) (0,62 mol/l, ou seja, 6,6%, pH 9,2) + azida sódica 1 g/l (300 µl).

Descrição da barrete Teste (barrete da direita)

Poços	Reagentes
1	Poço-amostra.
2	Diluyente soro : Tampão TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 µl).
3	Tampão de pré-lavagem : TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 µl).
4 - 5	Tampão de lavagem : TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + agente dissociante + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 µl).
7 - 8	Tampão de lavagem : TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (600 µl).
6	Conjugado : Anticorpo monoclonal anti-IgG humanas (rato) marcado com fosfatase alcalina + azida sódica 0,9 g/l (400 µl).
9	Diluyente do soro : Tampão TRIS (50 mmol/l, pH 7,4) + estabilizantes proteicos e químicos + azida sódica 0,9 g/l (400 µl).
10	Cuvete de leitura com substrato : 4-Metil-umbeliferil fosfato + dietanolamina (DEA*) (0,62 mol/l, ou seja, 6,6 %, pH 9,2) + azida sódica 1 g/l (300 µl).

***Reagente IRRITANTE :**

- **R 36** : irritante para os olhos.
 - **S 26** : em caso de contacto com os olhos, lavar imediata e abundantemente com água e consultar um especialista.
- Para informações complementares, consultar a ficha de dados segurança disponível sob pedido.

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Pipeta de ponta descartável que permite a distribuição de 10 µl, 50 µl, 100 µl, e 1000 µl.
- Luvas de látex sem pó de talco de utilização única.

PRECAUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

- **Somente para uso em diagnóstico *in vitro*.**
- **Unicamente para uso profissional.**
- **Este dispositivo contém componentes de origem humana. Nenhum dos métodos de análise actualmente conhecidos pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível. É aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (consultar o manual : Laboratory biosafety manual - WHO - Geneva - última edição).**
- Este dispositivo contém componentes de origem animal. O controlo da origem e/ou do estado sanitário dos animais não pode garantir de maneira absoluta que estes produtos não contenham nenhum agente patogénico transmissível, é aconselhável manipulá-los com as precauções de utilização relativas aos produtos potencialmente infecciosos (não ingerir; não inalar).
- Não utilizar os cones se a saqueta/sachet estiver danificada.
- Não utilizar as barretes visivelmente alteradas (folha de alumínio ou de plástico danificada).
- Não utilizar os reagentes após a data de validade indicada na etiqueta da embalagem.
- Não misturar os reagentes (ou consumíveis) provenientes de números de lotes diferentes.
- Não utilizar **luvas com pó de talco**, o talco pode levar a falsos resultados para alguns testes imunoenzimáticos.
- Os reagentes da embalagem contêm um conservante (azida sódica), susceptível de reagir com a canalizações de chumbo ou de cobre dos lavatórios formando azidas metálicas explosivas. É aconselhável passar por água qualquer produto de rejeição.
- O substrato (poço nº 10 da barrete) contém um agente irritante (dietanolamina 6,6 %). Ter em atenção as frases de risco "R" e os conselhos de prudência "S" supra citados.
- As projecções devem ser tratadas com um líquido detergente ou com uma solução de água de Javel/água sanitária contendo, pelo menos 0,5 % de hipoclorito de sódio. Consultar o Manual de Utilização para eliminar as projecções sobre ou no interior do aparelho. Não autoclavar produtos que contenham água de Javel/água sanitária.
- Os elementos do módulo analítico VIDAS e mini VIDAS devem ser regularmente limpos e descontaminados (consultar o Manual de Utilização).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

- Conservar a embalagem VIDAS Toxo IgG Avidity a 2°-8°C.
- **Não congelar os reagentes.**
- **Deixar a 2°-8°C os reagentes não utilizados.**
- Na abertura da embalagem, verificar se a(s) saqueta(s)/sachet(s) dos cones está(estão) bem fechada(s) e se não está(ão) danificada(s). Se não for o caso, não utilizar os cones.
- **Após cada utilização, fechar bem a saqueta/sachet com o desidratante para manter a estabilidade dos cones e colocar novamente a embalagem a 2°-8°C.**

- Todos os componentes permanecem estáveis até à data de validade indicada na etiqueta da embalagem, se forem conservados nas condições exigidas.

AMOSTRAS**Natureza e colheita/coleta das amostras :**

Soro ou plasma (heparinato de lítio, EDTA, citrato de sódio) de sujeitos imunocompetentes. Alguns tubos de colheita/coleta podem conter substâncias que interferem com este teste, é aconselhado validá-los antes da utilização.

É aconselhado a cada laboratório validar o tipo de tubo de colheita/coleta utilizado.

Não foi observado para este doseamento influência significativa de :

- hemólise (após sobrecarga de amostras com hemoglobina de 0 a 300 µmol/l),
- lipémia (após sobrecarga de amostras com lípidos de 0 a 10 mg/ml de equivalente em triglicéridos),
- bilirrubinémia (após sobrecarga de amostras com bilirrubina de 0 a 510 µmol/l).

É aconselhado, no entanto, não utilizar amostras visivelmente hemolisadas, lipémicas ou ictericas e, efectuar se possível, uma nova colheita/coleta.

Os soros inactivados a 56°C durante 30 minutos podem ser analisados com VIDAS Toxo IgG Avidity.

Estabilidade das amostras :

As amostras podem ser conservadas durante 5 dias a 2°-8°C, no máximo. Para além desse período, congelá-las a -25° ± 6°C.

Evitar as congelações e descongelações sucessivas.

As amostras com impurezas deverão ser centrifugadas antes da análise.

Um estudo realizado com amostras congeladas durante dois meses, não demonstrou nenhuma alteração na qualidade dos resultados.

PROCEDIMENTO

Para instruções completas, consultar o Manual de Utilização do VIDAS ou do mini VIDAS.

Introdução dos dados do cartão MLE

Na recepção de um novo lote, as especificações (ou dados de fabrico) devem ser introduzidas no aparelho (VIDAS ou mini VIDAS) usando o cartão MLE (ficha de especificações) incluído em cada embalagem. Se esta operação não for efectuada **antes de começar os testes**, o aparelho não poderá editar os resultados. Estas especificações introduzem-se uma única vez para cada lote.

É possível introduzir as especificações manual ou automaticamente com o cartão MLE.

Realização do teste

Qualquer amostra a dosear em VIDAS Toxo IgG Avidity deve ser testada previamente em VIDAS Toxo IgG II (ref. 30 210) e deve ser positiva (Título ≥ 8 IU/ml).

As amostras superiores a 300 IU/ml devem ser diluídas, em conformidade com o folheto informativo do dispositivo VIDAS Toxo IgG II, de forma a obter um título dentro do intervalo de leitura.

Só o título de IgG determinado por esta técnica poderá entrar no cálculo do factor de diluição a utilizar para que o título se aproxime de 15 IU/ml.

1. **Importante – Cálculo do factor de diluição : para analisar a amostra VIDAS Toxo IgG Avidity, é necessário obter um título próximo de 15 IU/ml diluindo-a a um factor d, assim calculado :**

$$d = \frac{\text{título em IU/ml VIDAS Toxo IgG II}}{15}$$

Exemplo : título VIDAS Toxo IgG II = 150 IU/ml

$$d = \frac{150}{15} = 10$$

Para este exemplo, a amostra seria diluída a 1/10 no diluente do dispositivo com a ref. 30 222, e depois analisada com VIDAS Toxo IgG Avidity.

Qualquer amostra positiva ≤ 15 IU/ml deverá ser testada pura.

2. Tirar do frigorífico apenas os reagentes necessários, deixá-los 30 minutos à temperatura ambiente antes de os utilizar.
3. Utilizar uma barrete dupla " TXGA " e dois cones " TXGA " para cada amostra ou controlo a testar. Verificar se a saqueta/sachet de cones está bem fechada após cada utilização.
4. Digitar ou seleccionar " TXGA " no aparelho para introduzir o código do teste. Se o controlo de forte avidéz tiver de ser testado, será identificado por "C1". Se o controlo de fraca avidéz tiver de ser testado, será identificado por C2.
5. Homogeneizar em vortex as amostras e os controlos.
6. Pipetar 100 µl de amostra previamente diluída ou de controlo (pronto a usar) em cada poço-amostra da barrete dupla.
7. Colocar no aparelho os cones e as barretes. Verificar a concordância dos códigos (cores e letras) entre os cones e a barrete dupla.
8. Começar a análise (Consultar Manual de Utilização). Todas as etapas do teste são geridas automaticamente pelo aparelho. A duração do teste é de cerca de 40 minutos.
9. Terminada a análise, retirar os cones e as barretes do aparelho.
10. Eliminar os cones e as barretes utilizados num recipiente apropriado.

RESULTADOS E INTERPRETAÇÃO

Terminado o teste, os resultados são analisados automaticamente pelo sistema informático. O aparelho efectua duas medidas de fluorescência na cuvete de leitura para cada uma das barretes.

A primeira leitura corresponde ao branco da cuvete antes do substrato entrar em contacto com o cone. A segunda leitura é efectuada após incubação do substrato com a enzima presente no cone. O cálculo do RFV (Relative Fluorescence Value) é o resultado da diferença das duas medidas. Os RFV das duas barretes (referência e teste) aparecem na folha de resultados.

Se os RFV do ensaio estiverem fora dos valores esperados, o aparelho dá uma mensagem de alarme.

Se os RFV forem inferiores aos limites, o resultado não é interpretável se a amostra tiver sido testada pura, ou se a amostra tiver sido muito diluída. Neste último caso, proceder a uma nova determinação com uma diluição apropriada.

Se os RFV forem superiores aos limites, a amostra foi pouco diluída. Proceder a nova determinação com uma diluição apropriada.

Para interpretar o resultado, o aparelho calcula automaticamente o seguinte índice :

$$\text{Índice} = \frac{\text{RFV teste (lavagem com agente dissociante)}}{\text{RFV referência (lavagem sem agente dissociante)}}$$

A interpretação do índice de avidéz é a seguinte :

Avidéz	Interpretação
Índice < 0,200	IgG de fraca avidéz
$0,200 \leq \text{Índice} < 0,300$	Avidéz intermédia
Índice $\geq 0,300$	IgG de forte avidéz

Um índice de avidéz superior ou igual a 0,300 indica uma primo-infecção com mais de 4 meses. Este resultado deve ser sistematicamente confirmado com uma segunda colheita/coleta efectuada duas ou três semanas mais tarde.

Um índice inferior a 0,300 não permite distinguir uma infecção recente de uma antiga. Para estas amostras deve recorrer-se a outros marcadores ou outros métodos.

Em qualquer dos casos, consultar a legislação em vigor, se existente, no que diz respeito a repetição da colheita/coleta no seguimento da mulher grávida.

A interpretação dos resultados do teste deve ser feita tendo em conta o contexto clínico e eventualmente, os resultados de outros testes.

CONTROLO DE QUALIDADE

Estão incluídos dois controlos em cada embalagem VIDAS Toxo IgG Avidity.

Estes controlos devem ser utilizados na abertura de cada nova embalagem para confirmar a ausência de alteração de reagentes. O utilizador deverá verificar se o valor de fluorescência relativa (RFV) do controlo de forte avidéz C1 (barrete referência) está compreendido no intervalo indicado no cartão MLE. Para que o aparelho possa verificar o índice de avidéz dos controlos, é necessário identificá-los por C1 e C2.

Se um dos valores dos controlos se afastar dos valores esperados, os resultados não podem ser validados.

Nota

É da responsabilidade do utilizador garantir que o controlo da qualidade é efectuada em conformidade com a legislação local em vigor.

LIMITE DO TESTE

Pode ser detectada uma interferência em alguns soros contendo anticorpos dirigidos contra componentes do reagente, por isso, os resultados deste teste devem ser interpretados tendo em conta o contexto clínico e, eventualmente, os resultados de outros testes.

Este teste não deve ser utilizado como teste de screening para o despiste de toxoplasmose nas mulheres grávidas, nem em substituição de um teste de confirmação da presença de IgG e de IgM anti-toxoplásmicas.

Este teste não foi validado para :

- recém nascidos,
- pacientes com toxoplasmose crónica (com linfadenopatia persistente sintomática),
- pacientes imunodeprimidos,
- no âmbito de reinfeções endógenas ou exógenas por *Toxoplasma gondii*.

Os resultados não podem ser validados por pessoas que tenham recebido transfusões sanguíneas ou outros produtos derivados do sangue durante os últimos meses. A interpretação do teste pode ser falsa se o paciente tiver recebido previamente um tratamento anti-parasitário porque este pode afectar a cinética de maturação das IgG anti-toxoplásmicas no decurso da infecção (7).

COMPORTAMENTO FUNCIONAL

Os estudos realizados com o VIDAS Toxo IgG Avidity deram os seguintes resultados :

PrecisãoReprodutibilidade intra-ensaio :

Foram doseados o controlo de forte avididade C1 e três amostras 30 vezes na mesma série.

	Soro 1	Soro 2	Soro 3	Controlo C1
Índice médio	0,049	0,246	0,696	0,497
Desvio-padrão	0,004	0,012	0,051	0,028
CV (%)	8,2	4,9	7,4	5,7

Reprodutibilidade inter-ensaios, intra-aparelho :

Foram doseadas três amostras em simples e foi doseado o controlo de forte avididade C1 em duplicado, em duas séries diferentes no mesmo aparelho durante 8 semanas.

	Soro 1	Soro 2	Soro 3	Controlo C1
Índice médio	0,081	0,245	0,539	0,490
Desvio-padrão	0,005	0,017	0,029	0,022
CV (%)	5,6	6,9	5,4	4,4

Reprodutibilidade (inter-aparelhos) :

Foram doseadas três amostras em simples e foi doseado o controlo de forte avididade C1 em duplicado, no mesmo dia em 8 aparelhos diferentes.

	Soro 1	Soro 2	Soro 3	Controlo C1
Índice médio	0,133	0,243	0,435	0,503
Desvio-padrão	0,010	0,011	0,006	0,020
CV (%)	7,7	4,5	1,5	3,9

Estudos clínicos

Foram testadas 373 amostras em quatro locais europeus :

Para cada um deles, a data suposta de infecção foi determinada com a maior precisão possível. Esta baseia-se essencialmente no aumento significativo do título das IgG específicas, estabelecido com soros sucessivos (Dye Test, VIDAS Toxo IgG II) associado ou não ao aparecimento das IgM (Isaga, VIDAS Toxo IgM e outras técnicas ELISA). Foi completada com o estudo do dossier clínico e a detecção das IgA (técnicas ELISA).

⇒ 190 amostras provenientes de pessoas que tiveram uma infecção toxoplásmica nos últimos 4 meses.

⇒ 183 amostras provenientes de pessoas que tiveram uma infecção toxoplásmica há 4 meses ou mais.

	< 4 meses	≥ 4 meses	Total
Fraca avididade	186	65	251
Avididade intermédia	4	26	30
Forte avididade	0	92	92
Total	190	183	373

100 % das amostras provenientes de pessoas infectadas por *Toxoplasma gondii* há menos de 4 meses têm um índice de avididade inferior a 0,300.

(Intervalo de confiança a 95 % : 98,06 % - 100 %)

ELIMINAÇÃO DOS RESÍDUOS

Eliminar os reagentes utilizados ou não utilizados e os materiais de utilização única contaminados seguindo os procedimentos relativos aos produtos infecciosos ou potencialmente infecciosos.

É da responsabilidade de cada laboratório gerir os resíduos e os efluentes que este produz consoante a sua natureza e o seu perigo, e assegurar (ou fazer assegurar) o tratamento e a eliminação em conformidade com as regulamentações aplicáveis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. HEDMAN K., LAPPALAINEN M., SEPPÄ I., MAKELA O. Recent primary toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. J. Infect. Dis., 1989, **159**, 736-740.
2. HEDMAN K., LAPPALAINEN M., SODERLUND M., HEDMAN L. Avidity of IgG in serodiagnosis of infectious diseases. Rev. Med. Microbiol., 1993, **4** : 123-129.
3. HOLLIMAN R.E., BONE G.P., JOHNSON J.D. The exclusion of recent onset toxoplasma infection in patients with prolonged IgM response by the measurement of IgA and IgG avidity. Serodiag. Immunother. Inf. Dis., Elsevier Science B.V., 1996, **8**, 57-59.
4. JOYNSON D.H.M., PAYNE R.A., RAWAL B.K. Potential role of IgG avidity for diagnosing toxoplasmosis. J. Clin. Pathol., 1990, **43** : 1032-1033.
5. LAPPALAINEN M., KOSKELA P., KOSKINIEMI M., AMMALA P., HIILESMAA V., TERAMO K., RAIVIO K.O., REMINGTON J.S., HEDMAN K. Toxoplasmosis acquired during pregnancy : improved serodiagnosis based on avidity of IgG. J. Infect. Dis., 1993, **7** : 167-691.
6. LECOLIER B., PUCHEU B. Intérêt de l'étude de l'avidité des IgG pour le diagnostic de la toxoplasmose. Path. Biol., 1993, **41** : 155-158.
7. SENSINI A. et al. IgG avidity in the serodiagnosis of acute Toxoplasma gondii infection : a multicenter study . Clin. Microbiol. Infect., 1996, **2** : 25-29.

QUADRO DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
 ou REF	Referência de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Fabricante
	Limites de temperatura
	Prazo de validade
	Código do lote
	Consulte as instruções de utilização
	Conteúdo suficiente para "n" ensaios

Brasil: Distribuído por biolab-Mérieux, S.A. - Estrada do Mapuá, 491 - Jacarepaguá - R.J. - CEP 22710-261

CNPJ: 33.040.635/0001-71

Atendimento ao Consumidor Tel.: 0800-264848

Prazo de Validade, N° de Lote, N° de Registro de Ministério da Saúde e Responsável Técnico:
VIDE EMBALAGEM



B I O M É R I E U X



bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON

69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>



Impresso em França

O logotipo é uma marca registada e protegida, propriedade exclusiva da bioMérieux sa ou de uma das suas filiais.

Anexo 5 – Inquérito LIV

INQUÉRITO / COLHEITA

Nº tubo: _____

Sexo feminino e masculino

- ☐ É diabético(a).
- ☐ Sofre de dislipidémias (colesterol / triglicerídeos).
- ☐ Toma medicação para colesterol / triglicerídeos.
- ☐ Sofre de doenças reumáticas (Lupus / Artrite reumatóide, etc.)
- ☐ Tem febre, diarreia ou vômitos (se R. Widal, W. Felix ou Wright)
- ☐ Teve contacto com cabras/ovelhas ou come queijo fresco? (se R. Wright ou Rosa Bengala)
- ☐ É vacinado contra HBV.
- ☐ Tem problemas de tiróide. (se T3, T4, TSH, tiroglobulina, acs. antitiroideos, TRab)
- ☐ Costuma ter anemia.
- ☐ Faz tratamento para a anemia.
- ☐ Tem ardência ao urinar.
- ☐ Está a tomar antibiótico (se ex. bacteriológico). Qual? _____
Desde quando? _____
- ☐ Tem problemas gastrointestinais (se H.pylori, diarreia, obstipação).
Vai fazer exame complementar? Qual? _____
- ☐ Tem problemas hepáticos.
- ☐ Tem problemas renais.
- ☐ Tem histórico de DST's (Doenças sexualmente transmissíveis).
- ☐ É toxicodependente (HIV+ / HCV+ / HBV+).
- ☐ Pratica desporto.

Só sexo feminino

- ☐ Está grávida. Tempo de gestação: _____ 1º Filho? _____ Grupo Sanguíneo: _____
Tomou vacina anti-D? _____
Fez amniocentese? _____
Teve algum aborto espontâneo? _____
- ☐ É vacinada contra a rubéola.
- ☐ Tem alterações do ciclo menstrual. (se análises hormonais)
- ☐ Encontra-se na (pré) / menopausa. (se análises hormonais)
- ☐ Toma anticoncepcionais orais.
- ☐ Tem infecções vaginais recorrentes. (se ex. vaginal)
- ☐ Tem corrimento abundante e com mau odor. (se ex. vaginal)

Só sexo masculino

- ☐ Tem problemas de próstata.
- ☐ Faz tratamento / medicação para próstata.
- ☐ Fez ecografia ou toque rectal nos últimos 30 dias. Quando? _____
- ☐ Tem problemas de infertilidade. (se espermograma/cultura)
- ☐ Exame após vasectomia. (se espermograma)

Só Hipocoagulados

- ☐ Teve hemorragias: Sim ☐ Não ☐
- ☐ Esteve no hospital: Sim ☐ Não ☐
- ☐ Iniciou um novo medicamento: Sim ☐ Não ☐
Qual? _____
- ☐ Deixou de tomar algum medicamento: Sim ☐ Não ☐
Qual? _____
- ☐ Tomou sempre o Varfine/Sintrom de acordo com o cartão? Sim ☐ Não ☐
Se não, como tomou: _____

Observações:

Referências Bibliográficas

1. Dubey JP. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. Int J Parasitol. 1998;28: 1019-24
2. Disponível em: <http://www.prodivesa.com/toxnov1.htm>
3. Disponível em: Centers for Disease Control: Toxoplasmosis Image Library [http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Toxoplasmosis_il.htm].
4. Disponível em: <http://www-ermm.cbcu.cam.ac.uk/01002216h.htm> (21/02/2003)
5. Sheffield, H.G. and Melton, M.L. (1968). The fine structure and reproduction of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol. 54, 209–226.
6. Jacobs, L., Remington, J.S. and Melton, M.L. (1960a). The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. J. Parasitol. 46, 11–21.
7. Evans R. Life cycle and animal infection. In: Human toxoplasmosis. Ho-Yen DO, Joss AWL, eds. Oxford. Oxford University. 1992: 26-55
8. Giordano LF, Lasmar EP, Tavora ER, Lasmar MF. Toxoplasmosis transmitted via kidney allograft: case report and review. Transplant Proc. 2002;34:498-9.
9. Dubey JP. Sources of toxoplasma gondii infection in pregnancy. BMJ 2000;231:127-128

10. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia, WB Saunders, 2001:205-346.
11. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. Lancet. 1999;353:1829-33.
12. Chemla C, Villena I, Aubert D, Hornoy P, Dupouy D, Leroux B, Bory JP, Pinon JM. Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. Clin Diagn Lab Immunol. 2002;9: 489-90.
13. Gavinet MF, Robert F, Firtion G, Delouvrier E, Hennequin C, Maurin R, Tourte Schaefer C, Dupouy-Camet J. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. J Clin Microbiol. 1997;35:1276-7.
14. Kotula AW, Dubey JP, Sharar AK, Andrews CD, Shen SK, Lindsay DS. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. J Food Protection. 1991;54:687-90.
15. Soete M, Camus D, Dubremetz JF. Experimental induction of bradyzoite-specific antigen expression and cyst formation by the RH strain of *Toxoplasma gondii* in vitro. Exp Parasitol. 1994;78:361-70.
16. Dubey JP. *Toxoplasma gondii* oocysts survival under defined temperatures. J Parasitol. 1998;84:862-5.
17. Zardi O, Soubotian B. Biology of *Toxoplasma gondii*, its survival in body tissues and liquids, risks for the pregnant woman. Bioch Exp Biol. 1979;15:355-60.
18. McCabe RE, Brooks RG, Dorfman, Remington JS. Clinical spectrum in 107 cases of toxoplasmic lymphadenopathy. Rev Infect Dis. 1987;9:754-774.

19. Brézin AP, Delair-Briffod E. Toxoplasmose oculaire. *Encycl Méd Chir, Ophtalmologie*. 2003a, 21-230-B-15, 14pp.
20. Carne B, Bissuel F, Ajzenberg D, Bouyne R, Aznar C, Demar M, Bichat S, Louvel D, Bourbigot AM, Peneau C, Neron P, Darde ML. Severe acquired toxoplasmosis in immunocompetent adult patients in French Guiana. *J Clin Microbiol*. 2002;40:4037-44.
21. Rabaud C, May T, Lucet JC, Leport C, Ambroise-Thomas P, Canton P. Pulmonary toxoplasmosis in patients infected with human immunodeficiency virus: a French National Survey. *Clin Infect Dis*. 1996;23:1249-54.
22. Luft BJ, Hafner R, Korzun AH, Leport C, Antoniskis D, Bosler EM, Bourland DD 3rd, Uttamchandani R, Fuhrer J, Jacobson J, et coll. Toxoplasmic encephalitis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Members of the ACTG 077p/ANRS 009 Study Team. *N Engl J Med*. 1993;329:995-1000.
23. *Collection F. Peyron, Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Lyon*
24. Dunn D, Wallon M., Peyron F., Pertersen E., Peckham C., Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet* 1999;353:1829-1833.
25. Desmonts G, Couvreur J. Toxoplasmose congénitale. Etude prospective de l'issue de la grossesse chez 542 femmes atteintes de toxoplasmose acquise en cours de gestation. *Sem Hôp Paris* 1986 ;62:1418-1422.
26. DGS – Saúde reprodutiva e infecções maternas
27. Remington, J.S., Thulliez, P. and Montoya, J.G. (2004). Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 941–945.

28. Pinon, J.M., Dumon H., Chemla C., Franck J., Petersen E., Lebech M., Zufferey J., Bessières M.H., Marty P., Holliman R., Johnson J., Luyasu V., Lecolier B., Guy E., Joynson D.H., Decoster A., Enders G., Pelloux H. et Candolfi E. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M and A antibodies. *J Clin Microbiol.* 2001;39:2267-71.
29. Wallon M, Liou C, Garner P, Peyron F. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. *BMJ* 1999;318:1511-1514.
30. Foulon W. Congenital toxoplasmosis: therapeutic strategies. *Arch Pediatr.* 2003;10[Suppl 1]:10-11.
31. Derouin F. Anti-toxoplasmosis drugs. *Curr Opin Investig Drugs.* 2001;2:1368-74.
32. Remington, J.S., McLeod, R., Thulliez, P. and Desmonts, G. (2001). Toxoplasmosis. In: Remington, J.S. and Klein, J. (eds) *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 5th edn. Philadelphia, PA: W. B. Saunders, pp. 205–346.
33. Hohlfeld P, Daffos F, Thulliez P, Aufrant C, Couvreur J, MacAleese J, Descombey D, Forestier F. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *J Pediatr.* 1989;5:765-9
34. Aspöck H. Prevention of congenital toxoplasmosis in Austria. *Arch Pédiatr.* 2003;10:6-17.
35. Janitschke K. Official recommendations and strategy for prevention of congenital toxoplasmosis in Germany. *Arch Pédiatr.* 2003;10:15
36. Naessens A. Screening for toxoplasmosis during pregnancy : the situation in Belgium. *Arch Pédiatr.* 2003;10:18.

37. Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B, Rechnitzer C, Larsen SO, Norgaard-Pedersen B, Petersen E. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group. Feasibility of neonatal screening for *Toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. *Lancet*. 1999;353:1834-7.
38. Buffolano W. Failure to implement a preventive strategy against congenital toxoplasmosis in Italy. *Arch Pédiatr*. 2003;10:21-22.
39. Lappalainen M. Current situation regarding toxoplasmosis in Finland. *Arch Pédiatr*. 2003;10(hors série 1):19.
40. Stray-Pedersen B. Prevention of congenital toxoplasmosis in Norway. *Arch Pédiatr*. 2003;10(hors série 1):23-24
41. Joynson DHM. Congenital *Toxoplasma* infection in the United Kingdom. *Arch Pédiatr*. 2003;10:27-28.
42. Ângelo MH. Dispositions légales et stratégies préventives de la toxoplasmose congénitale au Portugal. *Arch. Pédiatr*. 2003;10:25-26.
43. Desmonts, G. and Couvreur, J. (1974a). Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. *Bull. NY Acad. Med.* 50, 146–159.
44. Thalhammer, O. (1973). Prevention of congenital toxoplasmosis. *Neuropadiatrie* 4, 233–237.
45. Guerina, N.G., Hsu, H.W., Meissner, H.C. *et al.* (1994). Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N. Engl. J. Med.* 330, 1858–1863.
46. Frenkel, J.K. and Dubey, J.P. (1972). Toxoplasmosis and its prevention in cats and man. *J. Infect. Dis.* 126, 664–673.

47. Kotula, A.W., Dubey, J.P., Sharar, A.K., Andrew, C.D. Shen, S.K. and Lindsay, D.S. (1991). Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J. Food Protect.* 54, 687–690.
48. Dubey, J.P., Kotula, A.W., Sharar, A., Andrews, C.D. and Lindsay, D.S. (1990). Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. *J. Parasitol.* 76, 201–204.
49. Dubey, J.P., Brake, R.J., Murrell, K.D. and Fayer, R. (1986). Effects of irradiation on the viability of *Toxoplasma gondii* cysts in tissues of mice and pigs. *Am. J. Vet. Res.* 47, 518–522.
50. Buxton, D. and Innes, E.A. (1995). A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. *Parasitology* 110, S11–S16.
51. Disponível em: <http://alea-estp.ine.pt/html/actual/html/act16.html>