



## \_\_Toxoplasmose: diagnóstico laboratorial de casos clínicos suspeitos de infeção entre 2009 e 2013

Anabela Vilares, Idalina Ferreira, Susana Martins, Tania Reis, Maria João Gargate

m.joao.gargate@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas.  
Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

### \_Introdução

O parasita *Toxoplasma gondii* é o agente etiológico responsável pela toxoplasmose, que pode infetar a grande maioria dos vertebrados, incluindo o Homem. A infeção por este parasita apresenta uma distribuição geográfica à escala mundial, sendo a sua prevenção, diagnóstico e tratamento de grande importância clínica e veterinária (1,2).

A transmissão da infeção toxoplásmica ocorre por ingestão de qualquer uma das formas de resistência, sejam os quistos contidos nas carnes de animais infetados ou os oocistos expelidos nas fezes dos felinos que, no solo e após esporulação, tornam-se infetantes e contaminam alimentos e águas. A transmissão por via placentária, através da passagem dos taquizoitos da mãe para o feto, é também uma realidade (1).

Nos indivíduos imunocompetentes, esta parasitose é na sua maioria assintomática, contudo a retinite por toxoplasmose é frequentemente uma causa de doença ocular grave em adultos saudáveis (3). Nos indivíduos imunocomprometidos, a infeção pode ser grave ou mesmo levar à morte quando associada à reativação dos quistos em situações de infeção congénita e adquirida (4). Durante a gestação esta infeção pode causar aborto espontâneo ou doenças congénitas graves (encefalites, coriorretinites, linfadenopatias, entre outras (5). Apesar de na maioria dos recém-nascidos a infeção seja assintomática, estas crianças quando privadas de tratamento podem desenvolver sintomatologia mais tarde, com recidiva de toxoplasmose ocular, que pode levar à cegueira e a problemas neuro-

lógicos durante a infância e adolescência (6,7), nomeadamente esquizofrenia (8-10), transtorno bipolar (11) depressão e tentativas de suicídio (12).

A toxoplasmose é uma importante causa de coriorretinite nos EUA e na Europa, normalmente como consequência de uma infeção congénita (13). Nos EUA registam-se anualmente 750 mortes por toxoplasmose e cerca de 50% destas infeções são de origem alimentar, fazendo da toxoplasmose a terceira causa de morte por esta origem e a primeira causa de infeção por ingestão de águas contaminadas e carnes infetadas (14).

Em Portugal, e de acordo com diferentes estudos, a prevalência desta parasitose na população variou entre 35% na região sul e 60% no norte do país (15). Em 2005, num estudo realizado em hospitais e centros de saúde de todo o país verificou-se que a prevalência tem vindo a diminuir (16). A informação sobre a prevalência da toxoplasmose no nosso país é escassa. No entanto, os últimos dados datados de 1979/80 (ano em que foi realizado o primeiro inquérito serológico nacional em Portugal continental) apresentavam um valor de 47%. Em breve será publicado um estudo com a evolução da prevalência dos anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* na população portuguesa desde 1979 até 2013, encontrando-se neste momento o artigo em submissão numa revista científica.

### \_Objetivo

Este estudo tem como objetivo descrever as características demográficas de doentes com quadro clínico suspeito de toxoplasmose, cujo diagnóstico laboratorial foi confirmado no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre janeiro de 2009 e dezembro de 2013.

### \_Métodos

Foi realizada uma análise retrospectiva dos resultados laboratoriais de todos os casos com suspeita clínica de toxoplasmose congénita e adquirida, que recorreram ao INSA para confirmação ou exclusão do diagnóstico entre 2009 e 2013.

artigos breves\_ n. 3

Para o diagnóstico laboratorial da infeção congénita (pré e pós-natal) foram utilizados métodos serológicos (Aglutinação Directa (AD), *Enzyme-Linked Fluorescent Assay* (ELFA), *Immunoglobulin Immunosorbent Agglutination Assay* (ISAGA), e *Imunoblot* (IB)), métodos moleculares (PCR em tempo real) para amplificação da região repetida REP-529bp (17) e, ainda, inoculação em ratinhos utilizando diferentes produtos biológicos, nomeadamente sangue (mãe e filho), líquido amniótico e placenta. Para o diagnóstico laboratorial da infeção adquirida foram efetuadas os mesmos métodos serológicos e moleculares descritos no parágrafo anterior.

Para a análise descritiva dos dados demográficos dos casos confirmados recorreu-se ao cálculo de frequências absolutas e relativas.

**\_Resultados**

Durante o período em estudo foram confirmados 695 casos suspeitos de toxoplasmose num total de 3255 analisados. Dos 695 casos confirmados, 681 (97,9%) eram doentes com infeção toxoplásmica adquirida e 14 (2,0%) eram doentes com infeção congénita (gráfico 1).

Na infeção adquirida verificou-se que 90,5% (616/681) pertenciam ao sexo feminino, 7,2% (49/681) ao masculino e em 2,3% (16/681) dos casos o género não foi conhecido (gráfico 2).

Gráfico 1: Distribuição anual da infeção toxoplásmica adquirida e congénita, 2009-2013.

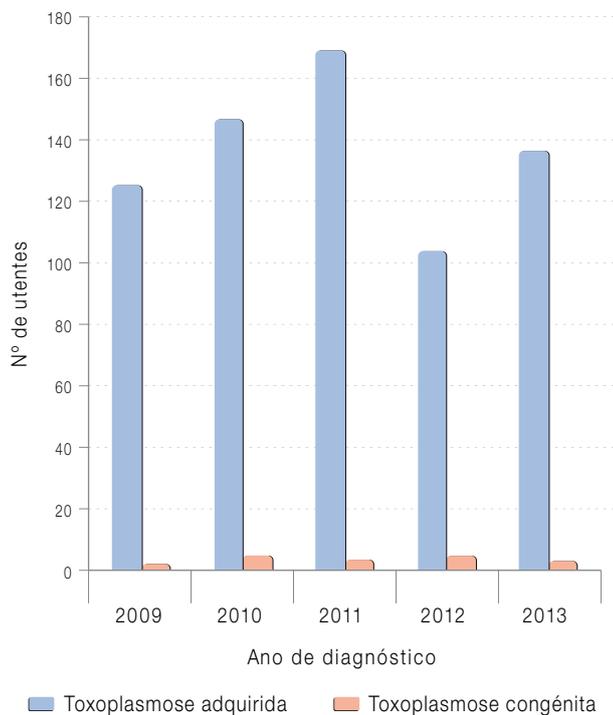
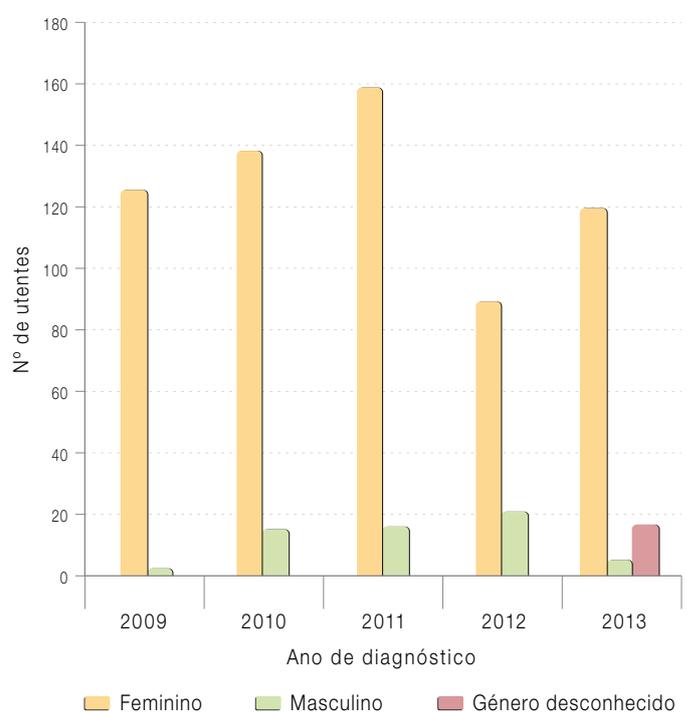


Gráfico 2: Distribuição anual da infeção toxoplásmica adquirida por género, 2009-2013.



artigos breves\_ n. 3

Em relação à distribuição dos casos de infeção toxoplásmica adquirida por grupo etário observou-se que a maioria das mulheres pertencia ao grupo 25-44 anos de idade (429/616; 70%), seguido do grupo etário 15-24 anos (129/616; 20%), sendo a maioria dos homens pertencentes ao grupo etário entre o 25 e os 64 anos (gráfico 3).

Dos 14 casos de toxoplasmose congénita diagnosticados durante os 5 anos em análise constatou-se que todos eram crianças com menos de um ano de idade (tabela 1).

Gráfico 3: Distribuição anual da infeção toxoplásmica adquirida por género e grupo etário, 2009-2013.

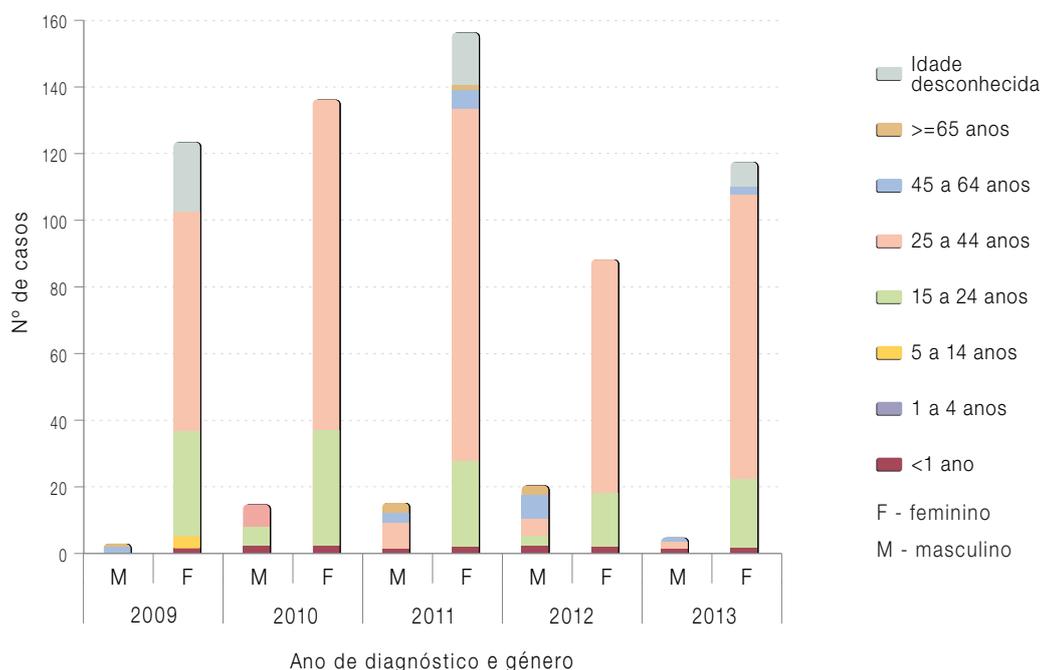


Tabela 1: Distribuição anual da infeção toxoplásmica por grupo etário, 2009-2013.

Grupo etário	Ano de diagnóstico					Total
	2009	2010	2011	2012	2013	
< 1 ano	1	4	3	4	2	14
1 a 4 anos	0	0	0	0	0	0
5 a 14 anos	4	0	0	0	0	4
15 a 24 anos	32	41	25	19	21	138
25 a 44 anos	66	106	115	75	88	450
45 a 64 anos	1	0	9	7	3	20
>65 anos	1	0	4	3	0	8
Idade desconhecida	21	0	16	0	24	61
<b>Total</b>	<b>126</b>	<b>151</b>	<b>172</b>	<b>108</b>	<b>138</b>	<b>695</b>

**\_Discussão e conclusão**

O diagnóstico pré e pós-natal integrado da toxoplasmose (Serologia, PCR e Inoculação no murganho) é realizado em Portugal exclusivamente no INSA, contudo o diagnóstico da toxoplasmose adquirida é realizado em todo país, sendo recorrentemente enviados produtos biológicos para laboratório do INSA para confirmação desta parasitose.

Um caso de toxoplasmose congénita é confirmado pela existência de pelo menos um dos quatro critérios seguintes: a) confirmação da presença de *Toxoplasma gondii* em tecidos ou fluidos corporais (recém-nascido); b) deteção de ácido nucleico de *Toxoplasma gondii* numa amostra biológica (fluidos corporais do recém-nascido); c) resposta de anticorpos específicos para *Toxoplasma gondii* (Ig M, IgG e IgA) num recém-nascido; d) títulos sempre estáveis de IgG de *Toxoplasma gondii* em crianças com menos de 12 meses (18).



De acordo com os critérios laboratoriais aplicados ao diagnóstico de toxoplasmose congénita, os 14 casos de infeção obtidos neste estudo foram positivos por pesquisa de anticorpos IgG e IgM, por inoculação no murganho e por deteção molecular.

À semelhança de outros países europeus, este estudo mostrou que o maior número de casos ocorreu na faixa etária dos 25 aos 44 anos de idade e predominantemente em mulheres, o que seria de esperar uma vez que Portugal é um dos países da União Europeia onde é preconizado realizar o diagnóstico laboratorial sistemático da toxoplasmose a todas as mulheres grávidas (19).

Apesar da frequência de casos de infeção congénita ser baixa ao longo dos cinco anos do estudo (2%; 14/695), é importante referir que 42,7% das infeções adquiridas ocorreram em grávidas, que posteriormente poderão ter originado infeções congénitas, passando o parasita ao filho através da placenta. Este facto demonstra, só por si, a importância da vigilância da toxoplasmose laboratorial no período pré-concepcional e, mais ainda, durante a gravidez.

A nível mundial, a incidência anual da toxoplasmose congénita é de 190 100 casos (20). Nos países europeus, a infeção materna tem uma incidência de 1 a 14 por 1000 mulheres, sendo França o país europeu com maior incidência da infeção por *T. gondii* na gravidez (2/1000 grávidas) (21), o que poderá estar relacionado com as práticas alimentares existentes nestes países.

Entre 2004 e 2007, foi realizado um estudo na Grande Lisboa, onde foram estudadas 3126 mulheres e onde foi registada uma taxa de anticorpos anti-*T. gondii* de 25,7%. Neste mesmo estudo, a taxa de positividade na população estrangeira foi superior em relação às grávidas com nacionalidade portuguesa (30,6% vs 23,8%). A taxa de seroconversão estimada foi de 1,7/1000 seronegativas. Em nenhum grupo etário a percentagem de mulheres com IgG positiva foi superior a 50%, sendo que nas mulheres com idade inferior a 30 anos a taxa de seropositividade foi de 23% e nas mulheres com mais de 30 anos foi de 30%. Neste estudo não foi diagnosticado nenhum caso de toxoplasmose congénita (22). Num outro estudo, realizado recentemente na região Norte do País, foi verificada uma seroprevalência de 24,4% em mulheres com idades compreendi-

das entre os 16 e os 45 anos de idade. Esta realidade, indica que 75,6% das mulheres em idade fértil no Norte do País correm o risco de se infetar com este parasita (23).

Assim, e em conclusão, a identificação dos casos de toxoplasmose no estudo aqui apresentado corrobora os resultados referenciados nos estudos anteriores e demonstra, a importância da vigilância ativa e sistemática desta infeção, em particular na mulher grávida e nos indivíduos imunocomprometidos, por serem grupos populacionais onde esta parasitose é responsável por taxas de morbilidade e letalidade elevadas.

#### Agradecimento

À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

#### Referências bibliográficas:

- (1) Tenter AM, Heckerth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. Int J Parasitol. 2000;30(12-13):1217-58. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3109627/>
- (2) Su C, Evans D, Cole RH, et al. Recent expansion of *Toxoplasma* through enhanced oral transmission. Science. 2003;299(5605):414-6.
- (3) Gilbert RE, Dunn DT, Lightman S, et al. Incidence of symptomatic toxoplasma eye disease: aetiology and public health implications. Epidemiol Infect. 1999;123(2):283-9. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2810761/>
- (4) Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmic encephalitis in AIDS. Clin Infect Dis. 1992;15(2):211-22.
- (5) McLeod R, Boyer K, Roizen N, et al. The child with congenital toxoplasmosis. Curr Clin Top Infect Dis. 2000;20:189-208.
- (6) Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. Lancet. 2004;363(9425):1965-76.
- (7) Zhou P, Chen Z, Li HL, et al. *Toxoplasma gondii* infection in humans in China. Parasit Vectors. 2011 Aug;4:165. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3174123/>
- (8) Torrey EF, Yolken RH. *Toxoplasma gondii* and Schizophrenia. Emerg Infect Dis. 2003;9(11):1375-80. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3035534/>
- (9) Yolken RH, Torrey EF. Are some cases of psychosis caused by microbial agents? A review of the evidence. Mol Psychiatry. 2008;13(5):470-9. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100B/mono100B.pdf>
- (10) Horacek J, Flegr J, Tintera J, et al. Latent toxoplasmosis reduces gray matter density in schizophrenia but not in controls: voxel-based-morphometry (VBM) study. World J Biol Psychiatry. 2012;13(7):501-9. Epub 2011 May 23.
- (11) Tedla Y, Shibre T, Ali O, et al. Serum antibodies to *Toxoplasma gondii* and Herpesviridae family viruses in individuals with schizophrenia and bipolar disorder: a case-control study. Ethiop Med J. 2011;49(3):211-20.
- (12) Groër MW, Yolken RH, Xiao JC, et al. Prenatal depression and anxiety in *Toxoplasma gondii*-positive women. Am J Obstet Gynecol. 2011;204(5):433.e1-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3144318/>
- (13) Montoya JG, Remington JS. Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis. Clin Infect Dis. 1996;23(2):277-82. <http://cid.oxfordjournals.org/content/23/2/277.long>
- (14) Hedberg C. Food-related illness and death in the United States. Emerg Infect Dis. 1999;5(6):840-2 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2640792/>; Mead PS, Slutsker L, Griffin PM, et al. Food-related illness and death in the United States reply to dr. hedberg. Emerg Infect Dis. 1999;5(6):841-2. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2640798/>



artigos breves\_ n. 3

- (15) Angelo MH. [Legal dispositions and preventive strategies in congenital toxoplasmosis in Portugal]. Arch Pediatr. 2003;10 Suppl 1:25-6.
- (16) Machado M. Conhecimento e prevenção da toxoplasmose na grávida: contribuição para o estudo da toxoplasmose em Portugal. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 2005.
- (17) Kasper DC, Sadeghi K, Prusa AR, et al. Quantitative real-time polymerase chain reaction for the accurate detection of Toxoplasma gondii in amniotic fluid. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009;63(1):10-5. Epub 2008 Nov 6.
- (18) Direção-Geral da Saúde. Despacho n.º 5681-A/2014, 21 de abril. DR 2ª série (1º supl.), n.º 82, de 29 de abril de 2014:11374-(2-20). Notificação obrigatória de doenças transmissíveis e outros riscos em saúde pública. <https://dre.pt/application/file/25697650>
- (19) Direção-Geral da Saúde. Norma n.º 037/2011 de 30/09/2011, atualizada a 20/12/2013. Exames laboratoriais na Gravidez de Baixo Risco. <http://www.saude-reprodutiva.dgs.pt/normas-e-orientacoes/gravidez/norma-n-0372011-de-30092011.aspx>
- (20) Torgerson PR, Mastroiacovo P. The global burden of congenital toxoplasmosis: a systematic review. Bull World Health Organ. 2013;91(7):501-8. <http://www.who.int/bulletin/volumes/91/7/12-111732.pdf?ua=1>
- (21) McDonald SA, Devleeschauwer B, Speybroeck N, et al. Data-driven methods for imputing national-level incidence in global burden of disease studies. Bull World Health Organ. 2015;93(4):228-36. <http://www.who.int/bulletin/volumes/93/4/14-139972.pdf?ua=1>
- (22) Lito D, Francisco T, Salva I. Serologia TORCH e rastreio para streptococcus do grupo b em grávidas. Acta Med Port. 2013;26(5): 549-54. <http://www.actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/viewFile/564/3789>
- (23) Lopes AP, Dubey JP, Moutinho O, et al. Seroepidemiology of Toxoplasma gondii infection in women from the North of Portugal in their childbearing years. Epidemiol Infect. 2012;140(5):872-7. Epub 2011 Aug 31.