

2.11.04 – Imunologia / Imunologia aplicada

AValiação Sorológica para Toxoplasmose em Pacientes com Doenças Autoimunes sem uso de Imunobiológicos

Renata de Souza Resende^{1*}, Paula Tatiana Mutão Ferreira², Cristhianne Molinero Andrade Ratkevicius³, Aline Caroline de Lima Marques⁴, Virmondes Rodrigues Junior⁵, Ana Carolina de Moraes Oliveira^{2,6}

1. Bacharel em Biomedicina - UFTM
2. Doutoranda em Medicina Tropical e Infectologia - UFTM
3. Doutoranda em Ciências da Saúde - UFTM
4. Mestre em Ciências da Saúde - UFTM
5. Professor titular da disciplina de Imunologia - UFTM
6. Biomédica do Instituto de Ciências da Saúde - UFTM / Orientadora

Resumo

A toxoplasmose é causada pelo parasito intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*. Em indivíduos imunocomprometidos, pode haver reativação da infecção latente e até ser letal. Assim, o objetivo do trabalho foi analisar a resposta imune humoral (IgM, IgG total, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 anti-*T. gondii*), bem como hábitos comportamentais e alimentares de pacientes com doenças autoimunes que não fazem o uso de imunobiológicos. Participaram 61 pacientes, sendo 29 com doenças autoimunes sem fazer uso de imunobiológicos e 32 controles (sem doença autoimune), dos quais foram coletados dados epidemiológicos e amostras de soro para realização de ELISA. Houve uma alta prevalência de IgG total e IgG1 anti-*T.gondii*, porém, as doenças autoimunes e/ou a terapia imunossupressora modularam negativamente de forma significativa a resposta humoral (IgG total anti-*T. gondii*) dos pacientes. Além disso, o principal fator de risco associado à infecção de toxoplasmose foi a má higienização de frutas e/ou verduras.

Autorização legal: Aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFTM, sob o parecer: 1.870.741

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*; imunidade humoral; hospedeiro imunocomprometido.

Apoio financeiro: FAPEMIG

Trabalho selecionado para a JNIC: UFTM

Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose de abrangência global, causada pelo parasito intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, e tem os felinos como hospedeiros definitivos, sendo estes os únicos capazes de eliminar oocistos em suas fezes [1; 2]. Essa doença tem alta prevalência, acometendo cerca de um terço de toda população do mundo [2]. A forma mais comum de transmissão é por meio da ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos do parasito e de carne crua ou mal passada contendo cistos [3].

O diagnóstico é feito principalmente a partir da pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* por ensaios imunoenzimáticos. A presença de altos níveis de IgM e IgA concomitante a baixos níveis de IgG, indicam fase aguda da doença. Enquanto que ausência de IgM e IgA associado a presença de IgG, indicam fase crônica [4]. Visto que a toxoplasmose não apresenta eliminação completa do parasito, o indivíduo permanece sorologicamente positivo (IgG+), mas geralmente a infecção é assintomática em imunocompetentes, podendo passar despercebida ou, quando apresenta sintomatologia, pode ser confundida com uma gripe [5]. Porém, necessita de uma atenção especial em casos de gestantes, em que há chances de transmissão congênita e, em indivíduos imunocomprometidos, como por exemplo, no caso de pacientes transplantados, portadores de HIV ou com doenças autoimunes, podendo haver reativação da infecção latente, além do desenvolvimento de formas mais graves e até mesmo ser letal [6].

Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi analisar a resposta imunológica humoral de pacientes com doenças autoimunes que não fazem o uso de imunobiológicos, por meio da detecção de isótipos (IgM e IgG) e subtipos (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) de anticorpos específicos para *T. gondii*; bem como observar hábitos comportamentais e alimentares dos pacientes com e sem doença autoimune.

Metodologia

O trabalho envolveu 61 pacientes, sendo 29 portadores de doenças autoimunes sem o uso de imunobiológicos atendidos no ambulatório Maria da Glória da UFTM, e 32 controles (sem doença autoimune), que assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram coletados dados e amostras de soro, para realização dos testes sorológicos. Foi mantida em cultura formas taquizoítas da cepa RH do *T. gondii*, que posteriormente foram utilizadas para preparação do antígeno solúvel de *T. gondii* (STAg), como

descrito anteriormente [7], com modificações. O STAg foi utilizado nos ensaios imunoenzimáticos (ELISA) indireto para detecção de IgG total e seus subtipos anti-*T. gondii*. Para detecção de IgM foi realizado ELISA captura por meio do kit “Anti TOXO IgM SYM” (Symbiosys Diagnóstica Ltda., Leme, Brasil). Os resultados dos testes de ELISA foram expressos em índice ELISA. A análise estatística dos dados foi feita usando o *software GraphPad Prism* versão 5.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, EUA). Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados e Discussão

Foi realizada a sorologia dos pacientes em relação a cada isótipo (IgM e IgG) e subtipos de IgG, sendo possível perceber que dos 29 indivíduos com doenças autoimunes, 75,9% apresentaram IgG positivo para toxoplasmose; e no grupo controle, dos 32 pacientes estudados, 56,2% foram sororreagentes. Considerando os dois grupos, apenas 1 paciente, sendo este portador de doença autoimune, apresentou IgM positivo. Esses resultados reafirmam o que está descrito na literatura, que a soroprevalência para a doença, predominando-se a fase crônica, é grande na população brasileira, variando de 40 a 80% [8; 9].

Analisando os níveis de anticorpos entre o grupo com doença autoimune e o grupo controle, não houve diferença estatística entre os níveis de IgM; além disso ambos os grupos apresentaram altos níveis de IgG, não havendo diferença estatística, porém no grupo controle foi observado uma melhor delimitação entre pacientes positivos e negativos para esse anticorpo (Figura 1A). Por esse motivo foi feita uma análise apenas dos pacientes positivos para IgG total de cada grupo, na qual é possível notar que aqueles com doenças autoimunes apresentaram níveis de IgG total menores, enquanto que para os controles, os valores foram maiores e distantes do *cut off*. Assim, comparando os soropositivos para IgG total entre os grupos, há diferença estatística ($p=0,0006$) (Figura 1B). Isso pode ser devido ao fato de que esses pacientes portadores de doenças autoimunes, apesar de não utilizarem imunobiológicos, apresentam uma imunomodulação por conta da própria doença. Além disso, a maioria deles faz uso de medicamentos, como por exemplo, corticoides, o que acarreta também a um grau de imunossupressão, favorecendo o surgimento de infecções oportunistas.

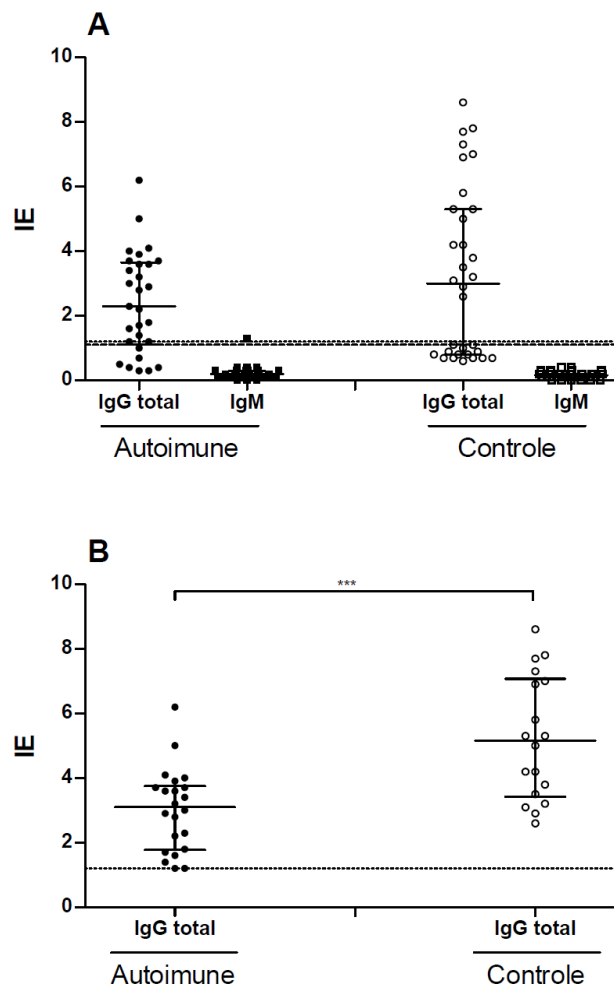


Figura 1. (A) Determinação dos níveis de anticorpos IgG total e IgM anti-*T. gondii*, expressos por índice ELISA (IE), em amostras de soro de 61 pacientes (29 autoimunes e 32 controles).(B) Determinação dos níveis de anticorpos IgG total, expressos por índice ELISA (IE), em amostras de soro de 40 pacientes positivos para IgG total (22 autoimunes e 18 controles). A linha pontilhada representa o valor do *cut-off* para IgG total (IE: 1,2) e a linha tracejada representa o valor de *cut-off* para IgM (IE:1,1). ***Dados estatisticamente significantes ($p = 0,0006$, Mann-Whitney).

Em relação aos subtipos de IgG, tanto nos pacientes com doenças autoimunes quanto nos controles houve diferença estatística entre IgG1 vs IgG2 ($p < 0,0001$ e $p = 0,0002$, respectivamente), IgG1 vs IgG3 ($p < 0,0001$ e $p = 0,0002$, respectivamente) e IgG1 vs IgG4 ($p < 0,0001$ e $p = 0,0003$, respectivamente), pois em ambos os grupos, a maioria dos pacientes apresentou altos níveis de IgG1 em relação aos demais subtipos, corroborando com o que descreve Correa e colaboradores [10], em que esse tipo de imunoglobulina é predominante em uma infecção por *T. gondii*.

Fazendo uma análise epidemiológica, de acordo com o questionário respondido pelos indivíduos de ambos os grupos, a maioria pertence ao gênero feminino, não tem conhecimento bem definido sobre a doença, não possui gatos, não possui hábito de jardinagem e nem ingere carne crua ou mal cozida, sugerindo assim que nenhum desses fatores de risco influenciou a alta positividade de toxoplasmose encontrada nos dois grupos, e que provavelmente essa taxa se deve ao fato de que a maioria dos pacientes (58,6% autoimunes e 59,4% controles) realiza uma má higienização de frutas e/ou verduras; portanto esse foi o principal fator de risco associado à doença (Tabela 1).

Além disso, quando os dados epidemiológicos de ambos os grupos foram relacionados com a sorologia para IgG total anti-*T. gondii*, a quantidade de indivíduos infectados foi maior nos pacientes com doenças autoimunes ($n=22$; 75,9%) quando comparado com o outro grupo ($n=18$; 56,2%), isso pode ser devido, novamente, ao mau hábito de higienização de frutas e/ou verduras da maioria dos pacientes com doenças autoimune (63,6% autoimunes vs 50% controles).

Tabela 1. Número (n) e porcentagem (%) de pacientes com e sem doença autoimune de Uberaba, MG, Brasil, de acordo com diferentes variáveis.

Variável	Autoimune (%)	Controle (%)
	n = 29	n = 32
Média de Idade	52,9 anos	47,2 anos
Gênero		
Masculino	6 (20,7)	15 (46,9)
Feminino	23 (79,3)	17 (53,1)
Conhecimento sobre a toxoplasmose		
Não	12 (41,4)	16 (50)
Já ouviu falar	15 (51,7)	4 (12,5)
Sim	2 (6,9)	12 (37,5)
Presença de gatos na residência	3 (10,3)	4 (12,5)
Hábitos de jardinagem	10 (34,5)	7 (21,9)
Não higienização de frutas e/ou verduras com vinagre ou hipoclorito	17 (58,6)	19 (59,4)
Ingestão de carne crua ou mal cozida	6 (20,7)	12 (37,5)

Conclusões

Este estudo demonstrou alta prevalência de anticorpos IgG anti-*T.gondii* nesta amostra, no entanto, as doenças autoimunes e/ou a terapia com imunossupressores modularam negativamente a resposta humoral dos pacientes, uma vez que apresentaram níveis significativamente menores de anticorpos IgG total. Os dados epidemiológicos mostraram que o principal fator de risco associado à infecção de toxoplasmose foi o mau hábito de higienização de frutas e/ou verduras.

Referências bibliográficas

1. HAN, Y. et al. Protection via a ROM4 DNA vaccine and peptide against *Toxoplasma gondii* in BALB/c mice. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1–9, 2017.
2. SONG, P. et al. Vaccination with toxofilin DNA in combination with an alum-monophosphoryl lipid A mixed adjuvant induces significant protective immunity against *Toxoplasma gondii*. **BMC Infectious Diseases**, v. 17, n. 1, p. 1–11, 2017.
3. BARROS, G. B. Estudo longitudinal de marcadores sorológicos para o imunodiagnóstico da toxoplasmose aguda humana. 2009.173f. **Tese de Doutorado - Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte, 2009.
4. SANTANA, S. S. et al. Analysis of IgG subclasses (IgG1 and IgG3) to recombinant SAG2A protein from *Toxoplasma gondii* in sequential serum samples from patients with toxoplasmosis. **Immunology Letters**, v. 143, n. 2, p. 193–201, 2012.
5. TALAMONE, R.; GREPI, G. Toxoplasmose é uma doença silenciosa – **Jornal da USP**. 27 jun. 2017. Disponível em: <<http://jornal.usp.br/radio-usp/radioagencia-usp/toxoplasmose-e-uma-doenca-silenciosa/>>. Acesso em: 23 fev. 2018.
6. RADIN, J. et al. *Toxoplasma gondii*: IgG e IgM em pacientes oncológicos na região sul do Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n.3, p.271-281, 2015.
7. SCOTT, P.; PEARCE, E.; NATOVITZ, P.; SHER, A. Vaccination against cutaneous leishmaniasis in a murine model. II. Immunologic properties of protective and nonprotective subfractions of soluble promastigote extract. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 139, n. 1, p. 221-227, 1987.
8. KAWARABAYASHI, M. et al. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em mulheres , atendidas nas unidades da rede de saúde pública da região metropolitana de São Paulo (2001-2005). **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 1, p. 63–67, 2007.
9. WALCHER, D. L.; COMPARSI, B.; PEDROSO, D. Toxoplasmose gestacional: uma revisão. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 49, n. 4, p. 323-327, 2017.
10. CORREA, D. et al. Congenital and acquired toxoplasmosis: diversity and role of antibodies in different compartments of the host. **Parasite Immunology**, v. 29, n. 12, p. 651–660, dez. 2007.