

## INTERFERÊNCIA DE REAÇÕES CRUZADAS NO DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE

*Clarissa Zanoni Kera Arantes*

**RESUMO:** O grande número de casos positivos para pesquisa de anticorpos da classe IGM para toxoplasmose e mononucleose num curto período abriu a discussão sobre a possibilidade de uma possível reação cruzada para esses resultados, uma vez que, a avaliação do quadro clínico juntamente com outros exames, não era patognomônico de uma ou outra doença. Frente a uma positividade de anticorpos da classe IGM para toxoplasmose que passou de uma média de 3,7% para 16% e as evidências de reação cruzada com mononucleose (75% dos pacientes testados para as duas patologias), foram realizados exames complementares que confirmaram a infecção para toxoplasmose.

*Palavras chaves: reações cruzadas, toxoplasmose, mononucleose*

### INTRODUÇÃO

A mononucleose infecciosa e a toxoplasmose são patologias que podem apresentar sintomas e sinais clínicos muito parecidos. Assim, o aumento na positividade para esses dois exames frente a uma reação cruzada devido à infecção aguda, preocupou o Laboratório de Análises Clínicas Pompéia, uma vez que o tratamento para cada patologia é distinto.

A reação cruzada acontece devido à presença de anticorpos heterófilos (anticorpos da classe IgM), capazes de reconhecer um antígeno contra o qual este não foi especificamente gerado, mas que por apresentar estruturas antígenicamente análogas mimetiza o antígeno que evocou a resposta. É importante ressaltar que a resposta imune adaptativa tem como característica primordial a especificidade. Para qualquer técnica, resultados indeterminados ou positivos devem ser confirmados por testes sorológicos adicionais, incluindo a avidéz de IgG ou a IgA específica, antes que procedimentos diagnósticos invasivos e de alto custo sejam solicitados.

### Mononucleose

A mononucleose infecciosa é causada por um herpesvírus ubíquo, o vírus Epstein-Barr (EBV). O Monoteste é indicado como teste inicial, pois se trata de um teste de aglutinação rápida para pesquisa anticorpos heterófilos, que apresenta sensibilidade semelhante ou ligeiramente superior à reação de Paul Bunnell. O Monoteste apresenta sensibilidade de 63 a 84% com especificidade de 84 a 100%. Falso-positivos para anticorpos heterófilos tem sido reportados em pacientes com linfoma, hepatite viral e doenças auto-imunes. Como crianças, adolescentes e até pacientes imunodeprimidos não produzem anticorpos heterófilos, o teste mais indicado para auxiliar no diagnóstico é a pesquisa de anticorpos específicos contra o antígeno do capsídeo do vírus (VCA). O diagnóstico clínico de infecção aguda é confirmado quando a pesquisa de anticorpos IgG e IgM é positiva. Anticorpos da classe IgG e IGM podem ser detectados 7 dias do início da infecção, mas em alguns casos a positividade é detectada somente após 10 dias. Por esta

razão, na vigência de quadro clínico e evidente atipia linfocitária, uma sorologia negativa não afasta a infecção e nova sorologia é recomendável para esclarecer o diagnóstico. A positividade isolada para anticorpos IgM, sem que se observe soroconversão de IgG entre duas amostras, pode ser indicativo de outra infecção como citomegalia ou toxoplasmose. Anticorpos IgM podem persistir por até quatro meses do início da infecção e não guardam relação com a evolução clínica. Pesquisa positiva somente para anticorpos IgG, independente de qualquer título, indica infecção pregressa.

Dos anticorpos contra antígenos específicos do EBV, os que agregam maior valor diagnóstico são os contra o capsídeo viral (VCA), com sensibilidade de 95% a 100% e especificidade de 86% a 100% nos episódios de mononucleose aguda. Anticorpos anti-VCA IgM e IgG tornam-se rapidamente positivos em 1 a 2 semanas de infecção. A presença de IgM anti-VCA usualmente indica infecção aguda pelo EBV, entretanto, infecções agudas por outros herpesvírus, podem causar produção de IgM anti-VCA por células que apresentam infecção latente pelo EBV. Falso-positivos de IgM anti-VCA também são citados em outras infecções recentes (toxoplasmose, adenovírus) e na presença de auto-anticorpos. Nos quadros de reativação do vírus a IgM anti-VCA pode ser negativa. Falso-negativos podem ocorrer devido à natureza transitória do IgM. O IgM anti-VCA persiste por 4 a 8 semanas. Anticorpos IgG anti-VCA surgem na fase aguda, tem pico em 2 a 4 semanas, persistindo por toda a vida.

### **Toxoplasmose**

A Toxoplasmose é uma doença causada por um protozoário intracelular obrigatório, o *Toxoplasma gondii*, que pode infectar o homem e diversas espécies animais, como cães, gatos, aves, porcos,

carneiros e bovinos. A infecção é causada pela ingestão de carne crua ou mal cozida, verduras frescas ou água contaminada com cistos. Na maioria dos casos a infecção é assintomática; em alguns, o paciente apresenta um quadro clínico semelhante ao da mononucleose.

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose é baseado na pesquisa de anticorpos dirigidos contra algumas proteínas estruturais do parasita *Toxoplasma gondii*. Conforme as características imunoquímicas destes anticorpos, diferentes marcadores sorológicos têm sido descritos com a finalidade de distinguir infecções latentes, progressas, muito comuns na população em geral, de infecção aguda recente.

Como regra geral, anticorpos da classe IgM tendem a desaparecer em poucas semanas ou meses após a infecção, enquanto os da classe IgG permanecem elevados por períodos variáveis, com os títulos reduzindo-se lentamente. A interpretação de casos duvidosos pode ser auxiliada pela medida da avidéz dos anticorpos da classe IgG. Nos três primeiros meses após a infecção, estes anticorpos apresentam, caracteristicamente, avidéz abaixo de 30%, sendo que avidéz acima de 60% é fortemente associada à infecção pregressa.

A sorologia para Toxoplasmose é o método mais utilizado no diagnóstico, entretanto, não existe nenhum teste, que de forma única, suporte ou afaste o diagnóstico de infecção recente ou tardia. Assim, a análise do resultado deve ser cautelosa.

Para qualquer técnica, resultados indeterminados ou positivos devem ser confirmados por testes sorológicos adicionais, incluindo a avidéz de IgG ou a IgA específica, antes que procedimentos diagnósticos invasivos e de alto custo sejam solicitados.

### **Interpretação dos anticorpos na Toxoplasmose**

**IgG:** Surgem em 1 a 2 semanas com pico em 1 a 2 meses. Caem variavelmente, podendo persistir por toda vida. Valores elevados de anticorpos IgG com anticorpos IgM negativo não significam maior probabilidade de infecção recente.

**IgM:** Anticorpos IgM surgem em 5 dias, diminuindo em poucas semanas ou meses. Podem persistir por até 18 meses, não significando necessariamente infecção recente. Um resultado de IgM negativo ou positivo na gravidez não diagnostica ou afasta infecção aguda, sendo necessário repetição do exame e complementação diagnóstica. Os anticorpos IgM não ultrapassam a placenta, sendo útil no diagnóstico da infecção congênita em recém-nascido.

**IgA:** Podem ser detectados em infecções agudas e na doença congênita. Podem persistir por meses, até mais de 1 ano. Possui maior sensibilidade que IgM na infecção congênita.

**Teste de Hemaglutinação:** Útil para indicar prevalência, mas não para o diagnóstico de infecção neonatal ou quadro recente em gestante, devido à possibilidade de falso-positivos. Detecta anticorpos mais tardiamente que a imunofluorescência e que os testes imunoenzimáticos.

**Teste de imunofluorescência indireta para anticorpos IgM:** detecta anticorpos IgM nas primeiras semanas, desaparecendo em alguns meses. Títulos baixos podem persistir por mais de um ano em 20% dos casos. Podem ocorrer falso-positivos pela interferência do fator reumatóide e fator antinuclear. Devido à possibilidade de resultados falso-positivos é aconselhável a repetição do teste em 3 semanas e a sua confirmação com um outro método mais específico, com ELFA.

### **Teste de imunofluorescência indireta para anticorpos IgG:**

O título dos anticorpos IgG começa a subir entre 4 e 7 dias após o aparecimento dos anticorpos IgM com pico em 8 semanas e início de queda no sexto mês, sendo que títulos baixos podem persistir por anos. Podem ocorrer resultados falso-positivos pela interferência do fator antinuclear e falso-negativos pela competição dos anticorpos da classe IgG.

### **Imunoensaio enzimático para anticorpos**

**IgA:** detectada na infecção recente, permanecendo elevada por no mínimo 26 semanas. Os anticorpos IgA não atravessam a placenta e não são absorvidos pelo leite materno, tendo, assim, utilidade no diagnóstico da Toxoplasmose congênita. Apresenta sensibilidade de 83,3% e especificidade de 94% em crianças com toxoplasmose congênita durante os doze primeiros meses de vida. No primeiro mês de vida, a combinação de IgA e IgM melhora o desempenho dos ensaios em relação aos mesmos de forma isolada.

**Imunoensaio enzimático IgM:** trata-se de método totalmente automatizado, preciso, rápido e de alta reprodutibilidade. Apresenta especificidade de 98% e sensibilidade de 95%. Por tratar-se de método sensível pode permanecer detectável até dois anos após a infecção aguda. Um único resultado positivo não pode ser considerado patognomônico de toxoplasmose recente. Conforme orientação norte-americana do FDA, resultados positivos requerem confirmação por uma forma alternativa de ensaio, como ELFA, e coleta de nova amostra após 3 semanas.

**Imunoensaio enzimático IgG:** esse método apresenta especificidade de 98% e sensibilidade de 96%. Independente do

nível de anticorpos, não pode prever se a infecção é recente ou tardia. Alto índice de positividade na população brasileira.

**Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) IgM - captura:** método automatizado, de grande reprodutibilidade, que elimina as interferências do fator reumatóide. Devido a sua alta sensibilidade, pode detectar níveis baixos de anticorpos por longos períodos após fase aguda (18 meses). Útil para confirmação de IgM positivos em outros ensaios. Apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 98,6%. Em pacientes imunocomprometidos resultado negativo desse teste não exclui o diagnóstico de toxoplasmose.

**Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA) IgG:** títulos altos não predizem, de forma isolada, infecção recente. Apresenta sensibilidade de 98,1% e especificidade próxima a 100%.

**Teste de Avidéz IgG (Imunoensaio enzimático):** na fase aguda anticorpos IgG ligam-se fracamente ao antígeno (baixa avidéz). Na fase crônica (> 4 meses) tem-se elevada avidéz. É indicado para mulheres grávidas, principalmente no primeiro trimestre, que apresentam IgG e IgM positivos. A detecção de anticorpos de alta avidéz em pacientes com IgM positivo indica infecção adquirida há mais de 4 meses. Tratamento antiparasitário pode manter a baixa avidéz por mais de 4 meses. Estudo em amostra brasileira evidenciou

ser o teste de IgG avidéz o melhor marcador de infecção aguda em pacientes com IgM positivo.

## OBEJETIVO

Este trabalho tem como objetivo relatar o estudo de casos de reações cruzadas para pesquisa de anticorpos para toxoplasmose e para mononucleose.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os dados para as análises comparativas foram recolhidos no período de 01/10/2006 a 30/03/2007 no Laboratório de Análises Clínicas Pompéia (LAC Pompéia). Os testes foram realizados em soros de pacientes provenientes da cidade de Pompéia/SP e região segundo solicitação médica de forma que os pacientes se apresentaram voluntariamente ao laboratório. No laboratório acima citado foram realizados os testes de ELISA para pesquisa de anticorpos da classe IGM para toxoplasmose com o kit da marca DSL lote 9361005306-A, validade 29/05/2007, teste ELISA para pesquisa de anticorpos da classe IGG para toxoplasmose com o kit da marca DSL lote 8424906276 validade 07/09/2007 e o teste de aglutinação em látex para mononucleose com o kit Monotest<sup>®</sup> da marca WAMA Diagnósticos, lote 704003, validade 07/2009; os demais testes foram realizados pelo Instituto Hermes Pardini o qual o LAC Pompéia o tem como laboratório de apoio.

## DADOS OBTIDOS

Quadro 1: Número de testes realizados para pesquisa de anticorpos da classe IGM para toxoplasmose e número de testes positivos para o teste

Outubro/06		Novembro/06		Dezembro/06		Janeiro/07		Fevereiro/07		Março/07	
IgM⊕	Total	IgM⊕	Total	IgM⊕	Total	IgM⊕	Total	IgM⊕	Total	IgM⊕	Total
0	28	3	46	1	26	8	57	9	50	1	35
0%	100%	6,5%	100%	3,8%	100%	14%	100%	18%	100%	2,8%	100%

Quadro 2: Número de Monotest<sup>®</sup> realizados, número de Monotest<sup>®</sup> positivos e número de pacientes com positividade dupla para Monoteste e anticorpos da classe IgM para toxoplasmose

Janeiro/07			Fevereiro/07		
Mono⊕	Total	Duplo positivo	Mono⊕	Total	Duplo positivo
6	11	5	2	10	1

Quadro 3: Testes complementares realizados e suas considerações

EXAME	PACIENTE 1	PACIENTE 2	PACIENTE 3	METODOLOGIA E VALOR DE REFERÊNCIA
Anticorpos IgM para Epstein Barr	160 U/mL	160 U/mL	29,2 U/mL Rep. e conf.	Método: Quimioluminescência Valores de referência: ▪ Menor que 20 U/mL: NEGATIVO ▪ Entre 20 e 40 U/mL: INDETERMINADO ▪ Maior ou igual a 40 U/mL: REAGENTE
Anticorpos IgM para toxoplasmose (Imunofluorescência)	Reagente 1:256 Rep. e conf.			Método: Imunofluorescência indireta Valor de referência: NEGATIVO
Anticorpos IgM para toxoplasmose (Quimioluminescência)		160 AU/mL		Método: Quimioluminescência Valores de referência: ▪ Menor que 10,0 AU/mL: NEGATIVO ▪ De 10,0 a 20,0 AU/mL: INDETERMINADO ▪ Maior que 20,0 AU/mL: REAGENTE
Anticorpos IgM para toxoplasmose (ELFA)		10,45	9,65	Método: ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) Valores de referência: ▪ NEGATIVO: Menor que 0,55 ▪ INDETERMINADO: Maior ou igual a 0,55 e menor que 0,65 ▪ REAGENTE: Maior ou igual a 0,65

EXAME	PACIENTE 1	PACIENTE 2	PACIENTE 3	METODOLOGIA E VALOR DE REFERÊNCIA
Anticorpos IgM para toxoplasmose (ELISA)	9,1	8,8	8,8	Método: ELISA (Enzyme Linked Imuno Sorbente Assay) Valores de referência: ▪ Índice menor que 0,90: NEGATIVO ▪ Índice maior ou igual a 0,90: REAGENTE
Avidez IgG para toxoplasmose	0,269	0,193	0,175	Método: Quimioluminescência Valores de referência: - Baixa avides: Inferior a 0,30 Sugere infecção ocorrida nos últimos 4 meses  - Moderada: Entre 0,30 e 0,35 Não permite definir o período da infecção  - Alta avides: Igual ou superior a 0,35 Sugere que a infecção tenha ocorrido há mais de 4 meses  Nota: Este teste baseia-se na intensidade ou avides com que anticorpos IgG específicos permanecem ligados ao antígeno de Toxoplasma. Anticorpos de alta avides são característicos de infecção passada. Anticorpos de baixa avides são indicativos de infecção aguda ou recente.
Anticorpos IgG para toxoplasmose (ELISA)	73 UI/mL	80 UI/mL	142 UI/mL	Método: ELISA (Enzyme Linked Imuno Sorbente Assay) Valores de referência: ▪ Menor que 32 UI/mL: NEGATIVO ▪ Maior ou igual a 32 UI/mL: POSITIVO

## CONCLUSÃO

A análise dos dados dos casos clínicos apresentados, com base na sintomatologia, resultados de exames solicitados, bem como os resultados de exames com diferentes metodologias, permitiu-nos concluir que os pacientes adquiriram toxoplasmose e não mononucleose infecciosa como pensávamos. Realizamos exames com metodologias distintas para pesquisa de anticorpos da classe IgM para toxoplasmose, uma vez que em alguns casos houve reação cruzada entre anticorpos da classe IgM para toxoplasmose e mononucleose, mas foi através da pesquisa da avidéz dos anticorpos IgG que confirmamos a patologia.

*Artigo de conclusão de curso de pós-graduação em Patologia Clínica (setembro/2006 a fevereiro/2008). Endereço para correspondência: AC&T Rua Bonfá Natale, 1860 – CEP 15020-130*

São José do Rio Preto/SP. E-mail:  
[a.c.t@terra.com.br](mailto:a.c.t@terra.com.br)

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

KONEMAN, E.W. et al. Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001. 1456p.

ANDRIOLO, A. (Org.) . Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar UNIFESP/EPM MEDICINA LABORATORIAL. 1ª. ed. São Paulo: Editora Manole, 2005. v. 1. 255 p.

FERREIRA, A. W., ÁVILA, S. L. M. Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan – 2001. 456p.

ROBBINS & COTRAN, Patologia - Bases Patológicas das Doenças - 7ª Ed. São Paulo: ELSEVIER, 2005. 1504p.

GOLDMAN, L. et al. Cecil: Tratado de Medicina Interna. 22 ed. Rio de Janeiro: ELSEVIER, 2005. 3000p.

Help de exames, Instituto Hermes Pardini. Disponível em: <http://www.hermespardini.com.br> Último acesso em 05/03/2007

Manual de exames laboratoriais, Instituto Fleury. Disponível em: [http://www.fleury.com.br/site/calandra.nsf/weHP/HPTsite\\_fleury-0000](http://www.fleury.com.br/site/calandra.nsf/weHP/HPTsite_fleury-0000) Último acesso em 05/03/2007