

ESTUDO BIBLIOGRÁFICO COMPARATIVO DOS MÉTODOS DE DETECÇÃO DE ANTICORPOS anti-*T. gondii* EM SALIVA

Caroline Guedes Pereira da Silva (PIBIC-AF-IS/FA/UEM)¹, Maria Carolina Gobbi dos Santos Lolli (Co-orientadora)², Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana (Orientadora)³.
E-mail: dmgsana@uem.br.

¹Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

²Programa de Pós Graduação em Biociências e Fisiopatologia, Maringá, PR.

³Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/ Parasitologia

Palavras-chave: Toxoplasmose; Detecção de anticorpos; Saliva.

RESUMO

A Toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, o diagnóstico é realizado através de técnicas sorológicas, principalmente para a detecção de anticorpos, e podem ser utilizadas diversas amostras biológicas. O parasito infecta aproximadamente um terço da população mundial. Diante disso, urge a necessidade da detecção da presença de anticorpos anti-*T.gondii* para um diagnóstico preciso, evitar agravos de sintomatologia relacionados a outras patologias e possibilitar administração de um tratamento adequado. Dessa forma, a saliva é um material biológico de fácil coleta e obtenção e tem quantidade considerável de anticorpos específicos anti-*T. gondii*. Todavia ainda não tem consenso na metodologia a ser empregada. Este estudo fez a comparação de 16 artigos científicos, encontrados em duas bases de dados mostrando diferentes formas de detecção de imunoglobulinas, demonstrando sensibilidades e especificidades notáveis para serem consideradas parte de um teste relevante.

INTRODUÇÃO

Os métodos de diagnóstico da infecção por *T. gondii* são peças chave para estudos que buscam a presença dos anticorpos anti-*T.gondii* e os diferentes materiais biológicos onde podem ser encontrados (Márquez-Mauricio, 2023). A detecção de anticorpos contra o parasito geralmente é realizada com amostras de soro ou líquido cefalorraquidiano do indivíduo infectado, porém, estudos recentes demonstraram o potencial diagnóstico da saliva como um material biológico para tal detecção (Augustine, 2021). Tais anticorpos normalmente são distinguíveis em suas classes, sendo os mais comuns IgG e IgM (Nadia, 2023).

Atualmente, os procedimentos de diagnóstico para a infecção por *T. gondii* acontecem exclusivamente através de metodologias imunológicas, com o objetivo

principal de detectar interações antígeno-anticorpo. O objetivo das técnicas, em amostras como a saliva, é conferir maior sensibilidade e especificidade em sua detecção, devido aos baixos níveis de anticorpos encontrados neste material biológico (Sampaio, 2014). Muitos estudos retratam diferentes métodos para a detecção de anticorpos anti-*T.gondii*, como: ELISA, dot-ELISA, western blotting, aglutinação, imunofluorescência indireta, entre outros (Nayeri, 2022).

MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada foi um levantamento bibliográfico livre sobre o tema, através das bases de dados PubMed e Web Of Science, utilizando os termos “*Toxoplasmosis*”, “*Diagnosis*” e “*Spit*”. Através do levantamento, analisou-se dados como: técnicas, processamento, coleta e anticorpos detectados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram dispostos em duas tabelas, retratando as principais técnicas utilizadas, as classes de anticorpos obtidas, além da forma de realização da coleta da amostra, e do processamento dela. Ademais, averiguou-se a sensibilidade alcançada nos 16 estudos analisados, que é um importante fator para determinar se a técnica e o processamento realizado foram pertinentes e se podem ser considerados métodos confiáveis de detecção de anticorpos anti-*T.gondii* na saliva.

Estudos, de diferentes autores dos anos de 1994 até 2022, embasam as principais técnicas imunológicas utilizadas que foram Western blotting, Dye Test (ou Sabin-Feldman), ISAGA (ensaio de aglutinação), aglutinação direta, ELISA (incluindo Index, indireto e dot-ELISA), Architect Toxo IgG, teste de imunofluorescência, e o método molecular nested-PCR, sendo o ELISA o mais aproveitado, em 11 de 16 estudos (Tabela 1). Com relação à coleta da saliva, observou-se a utilização de dispositivos comerciais, enxaguantes bucais, lavagem com água, soro fisiológico ou inibidores de protease (Tabela 2). Da mesma forma, o processamento da saliva foi diverso, com maior frequência a centrifugação, o banho de gelo, a agitação em vórtex, a utilização de PBS, o armazenamento a -20°C, entre outros (Tabela 2). Consoante às informações bibliográficas, considera-se tecnicamente a sensibilidade de maior relevância, encontrando-se valores de até 99% em grande parte deles (Tabela 2).

Tabela 1. Tabela de autores principais, ano, técnicas utilizadas e anticorpos

	Autores	Ano	Técnica utilizada	Anticorpos
1	HAJEER e BALFOUR	1994	Western blotting, imunoensaio, Dye Test, aglutinação	IgA, IgG e IgM
2	DAVE e JOHNSON	1997	Aglutinação direta e aglutinação	IgG e IgM
3	LOYOLA e SILVA	1997	ELISA Index	IgA e IgG

4	STROEHLE e SCHMID	2005	Western blotting e ELISA (imunoensaio)	IgG e IgM
5	GRIFFIN e CHEN	2010	ELISA	IgG e IgA
6	BEL-OCHI e BOURATBINE	2013	ELISA	IgG
7	SAMPAIO e MACRE	2013	ELISA e dot-ELISA	IgG
8	CHAPEY e MERONI	2015	ELISA	IgG
9	SAMPAIO e MEIRELES	2015	dot-ELISA de alta sensibilidade	IgG
10	SINGH e DUBEY	2016	ELISA	IgM e IgG
11	CANEDO-SOLARES e GOMÉZ-CHÁVEZ	2017	ELISA indireto	IgA, IgG (e subclasses)
12	LI e POMARES	2018	Architect Toxo IgG assay	IgM e IgG
13	MACRE e MEIRELES	2019	ELISA	IgG
14	TEIXEIRA e TOZATO	2020	nested PCR (Polymerase Chain Reaction)	IgG
15	SAMPAIO e RODRIGUES	2020	ELISA	IgG
16	AUGUSTINE e EASON	2021	multiplex Luminex	IgG

Tabela 2. Tabela de coleta, quantidade, processamento, sensibilidade e DOI

	Coleta (quantidade em mL)	Processamento	Resultados foram sensíveis?	DOI
1	Com soro fisiológico (2 mL)	Diluído com PBS e centrifugado	Sim, para IgG e IgA na infecção recente	10.1111/j.1365-3024.1994.tb00303.x.
2	Dispositivo Omni-Sal e saliva pura (1 mL)	Agitado, centrifugado, armazenado a -20°C	Sim, 99%	10.1016/S0888-0786(96)01079-7
3	Dispositivo de estímulo mecânico (2-3 mL)	4°C para transporte, -20°C para armazenar, mantidos a 56°C, centrifugado, sobrenadante retirado	Sim, somente para IgG	10.1111/j.1600-0714.1997.tb00456.x.
4	Tubos Salivette com rolo absorvente (1-3 mL)	Centrifugado e armazenado a -20°C	Sim, 98%	10.1645/GE-423R
5	Amostrador de esponja Oracol contra as gengivas por 1 minuto	Microesferas Luminex centrifugadas e lavadas, ressuspensão em fosfato de sódio e N-hidroxi-sulfosuccinimida	Sim, sensível e específico	10.1016/j.jim.2010.11.005
6	Dispositivo Oracol	Adicionou PBS, centrifugado, dividido em alíquotas e armazenado a 20°C	Sim, 100%	10.1128/0967-0512-12
7	Após lavagem (5-10 mL)	Resfriado com gelo, retirado o sobrenadante, etanol + borato de sódio	Sim, foram confirmados	10.1111/1469-0691.12295
8	Microesponjas na gengiva inferior e na bochecha por 2 minutos	Centrifugado e armazenado a 20°C	Sim	10.1128/0967-0512-14.
9	Após lavagem com enxaguante bucal (5 mL)	Banho de gelo	Sim, mesma taxa de positividade do soro (100%)	10.53393/rial.2015.v74.33485
10	Não estimulada (1 mL)	Adicionado inibidores de protease, aprotinina e pepstatina A, banho de gelo, centrifugado	Sim, 20 e 25%	10.1080/09674845.2005.11732690
11	Saliva com inibidores de protease (3 mL)	Centrifugado, sobrenadante coletado e armazenado a -20°C. Diluído no PBS e HRP-estreptavidina	Sim, na maioria dos casos de IgG 2, 3 e 4	10.1111/pim.12526
12	Duas microesponjas	Diluído em soro fetal bovino, submetidos a placas com biochips e lavados com PBS	Sim, em 96,1%	10.1007/s10096-019-03487-1
13	Saliva após lavagens com enxaguante bucal e água (5 mL)	Banho de gelo, tampão salino, centrifugado, etanol absoluto, agitado em, armazenado a -12°C, pellet com tampão	Sim, detectado em 50%	10.1590/S1678-9946201961048

14	Saliva aspirada com pipeta diretamente na cavidade bucal (1 mL)	Separação em alíquotas, uma em temperatura ambiente e outra a -20°C, mantidos a 56°C, centrifugação e sobrenadante coletado	Não foram detectados	10.33448/rsd-v9i7.5143
15	Tubos Salivette sem adstringente, com rolo absorvente (1-3 mL)	Adição de etanol absoluto, agitação em vórtex, armazenamento a -12°C, centrifugação, precipitado coletado e dissolvido com borato salino	Sim, mas com baixos níveis de IgG	10.1016/j.bjid.2019.11.005
16	Esponja Oracol contra a gengiva e os dentes	Armazenada a -80°C, centrifugada, diluída em tampão fosfato e PBS BSA	Sim	10.3390/ijerph18115797

CONCLUSÕES

Conclui-se que a saliva apresenta ótimos resultados quanto à detecção de anticorpos anti-*T. gondii*. Ela pode ser uma oportunidade de evolução no diagnóstico de doenças infecciosas, como a Toxoplasmose e pode auxiliar no aproveitamento da coleta de grupos mais vulneráveis, como, o público infantil.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação Araucária pelo financiamento da bolsa.

REFERÊNCIAS

AUGUSTINE S. A. J.; Salivary Antibodies against Multiple Environmental Pathogens Found in Individuals Recreating at an Iowa Beach. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 18, 5797. 2021.

MÁRQUEZ-MAURICIO, A. Congenital Toxoplasmosis Diagnosis: Current Approaches and New Insights. **Acta Parasitol.**, 68(3):473-480, set. 2023.

NADIA, N. A. C.; Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* IgG and IgM antibodies and associated risk factors among pregnant women consulted in three health centers in Dschang, Cameroon. **Parasite Epidemiol. Control.**, maio. 2023.

NAYERI, T.; Saliva and tear as useful tools for the diagnosis of *Toxoplasma gondii* in human specimens: a systematic review. **An. Parasitol.**, 68(2), 201-213. 2022.

SAMPAIO, B. F. C. Padronização da metodologia dot-ELISA para detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em saliva. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, 74(4): 310-9. 2015.