

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA
E SAÚDE DA CRIANÇA

ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

Eleonor Gastal Lago

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, Faculdade de Medicina, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, para obtenção do título de Doutor em Pediatria.

Orientador: Dr. Renato Machado Fiori

Porto Alegre, janeiro de 2006

L177e Lago, Eleonor Gastal

Estratégias de controle da toxoplasmose congênita / Eleonor Gastal Lago; orient. Renato Machado Fiori. Porto Alegre: PUCRS, 2006.
168 f.: il. tab.

Tese (Doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança.

1. TOXOPLASMOSE CONGÊNITA/prevenção e controle. 2. COMPLICAÇÕES INFECCIOSAS NA GRAVIDEZ. 3. DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. 4. CONTAMINAÇÃO DE ALIMENTOS. 5. VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA. 6. VIGILÂNCIA DE PRODUTOS COMERCIALIZADOS. 7. CUIDADO PRÉ-NATAL. 8. RECÉM-NASCIDO. 9. TRIAGEM NEONATAL. 10. SAÚDE PÚBLICA. 11. TRANSMISSÃO VERTICAL DE DOENÇA. 12. ANÁLISE TRANSVERSAL. I. Fiori, Renato Machado. II. Título.

C.D.D. 616.96
C.D.U. 616.9-053.31:631.467(043.2)
N.L.M. WC 725



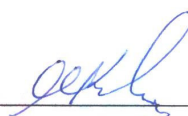
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA e SAÚDE DA CRIANÇA

ATA DE DEFESA DE TESE Nº 002-P

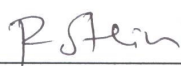
1
2
3
4 Ao vigésimo quinto dia do mês de janeiro do ano de dois mil e seis, no Programa de Pós-
5 graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança (Mestrado) da Pontifícia Universida-
6 de Católica do Rio Grande do Sul a doutoranda **Eleonor Gastal Lago** apresentou a tese
7 de doutorado intitulada **"ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DA TOXOPLASMOSE CON-**
8 **GÊNITA"**, sob a orientação do Professor Doutor Renato Machado Fiori, em sessão públi-
9 ca, na Sala de Aula do Pós-graduação em Medicina, 3º andar do Hospital São Lucas da
10 PUCRS. A Comissão Examinadora foi presidida pelo Professor Doutor Renato Machado Fiori
11 e constituída pelos Professores: Profª. Drª. Lílian Maria Garcia Bahia de Oliveira (UENF),
12 Prof. Dr. Cláudio Krahe(PUCRS) e Prof. Dr. Renato Stein(PUCRS). A sessão foi aberta pelo
13 Professor Doutor Renato Machado Fiori, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em
14 Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, que saudou os presentes e, inicialmente, deu a
15 doutoranda as orientações sobre o processo de defesa de tese concedendo-lhe cinquenta
16 minutos para expor o trabalho. Após a exposição, a doutoranda foi argüida pelos compo-
17 nentes da Comissão Examinadora, respondendo a cada examinador. Encerrada a argüição
18 os examinadores conferiram **nota 10,0 (Dez) com voto de louvor** o presidente
19 da banca comunicou a aprovação da doutoranda, encerrando a sessão pública de apre-
20 sentação para constar, lavrou-se esta ata que será assinada pelos integrantes da Comis-
21 são Examinadora, pelo professor orientador, pelo Coordenador do Programa de Pós-
22 graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, pela doutoranda e por mim, Carla
23 Carmo de Melo Rothmann, secretária que a redigi.
24 Porto Alegre, 25 de janeiro de 2006.

25
26 
27 _____

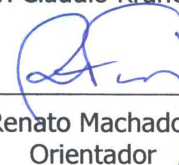
28 Drª. Lílian Maria Garcia Bahia de Oliveira



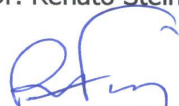
Dr. Cláudio Krahe

29
30 
31 _____

Dr. Renato Stein



Dr. Renato Machado Fiori
Orientador

32
33 
34 _____

Dr. Renato Machado Fiori
Coordenador



Eleonor Gastal Lago
Doutoranda

35
36
37
38 
39 _____

Srª. Carla Carmo de Melo Rothmann
Secretária

DEDICATÓRIA

Às crianças com toxoplasmose congênita, que infelizmente não puderam escapar deste desfecho adverso, mas poderão ser beneficiadas por tratamentos adequados e oportunos, e por novas descobertas da Medicina;

e às crianças que virão a nascer sem toxoplasmose, graças a programas de controle bem estruturados e bem conduzidos, para os quais esperamos dar uma contribuição relevante.

AGRADECIMENTOS

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul**, à **Faculdade de Medicina** e ao **Programa de Pós-Graduação em Medicina/ Pediatria e Saúde da Criança**, nas pessoas de seus dirigentes, por proporcionarem-me a oportunidade de alcançar este grau acadêmico.

Ao Dr. **Renato Machado Fiori**, pela orientação, apoio e confiança.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. **Eurico Camargo Neto**, que orientou os aspectos técnicos da triagem neonatal, disponibilizou instalações e equipamentos do Centro de Triagem Neonatal e do Laboratório Nobel para a realização dos testes e intercedeu junto ao laboratório LabSystems pela doação dos reagentes para o trabalho de triagem neonatal.

Ao Dr. **Jacobo Melamed**, que conduziu os aspectos clínicos oftalmológicos dos pacientes, colaborou na estrutura metodológica do trabalho e realizou, no Ambulatório de Oftalmologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, as avaliações dos pacientes com diagnóstico confirmado ou suspeito de toxoplasmose congênita.

À Dra. **Ana Stella Golbeck**, por ter facilitado o acesso aos cartões de papel filtro processados no Laboratório de Referência para Rastreamento Neonatal e ter colaborado com aspectos operacionais do trabalho.

À Dra. **Paula Vargas**, que coordenou a estratégia de trabalho na rede de coleta de triagem neonatal da Secretaria da Saúde do Município de Porto Alegre.

Às ex-alunas da FAMED-PUCRS, **Ana Paula Ribeiro Rucks**, **Carolina Presotto** e **Jaqueline Coelho**, e à acadêmica da UFRGS **Cassiana Parise**, pela coleta e organização dos dados da triagem neonatal e participação na assistência dos pacientes.

Às ex-alunas e alunas da FAMED-PUCRS, **Christina Oppermann**, **Denise Martins de Carvalho**, **Francine Seibt**, **Maria Carolina Torrens**, **Paula Tabbal da Costa**, **Rosana Jungblut**, **Vanessa Beatriz da Silva**, ao ex-aluno **Lucas Schreiner**, e às ex-médicas residentes do HSL-PUCRS **Guísella de Latorre** e **Maria Paula Heck Mariano da Rocha**, que colaboraram na coleta e digitação de dados para o trabalho de levantamento do Alojamento Conjunto.

À Dra. **Ana Lígia Bender**, pelo empenho em manter as melhores técnicas sorológicas no Laboratório de Patologia Clínica do HSL-PUCRS e orientações sobre o diagnóstico sorológico da toxoplasmose.

À Dra. **Denise Aerts** e à Dra. **Lucia Pellanda**, que orientaram aspectos metodológicos do trabalho de triagem neonatal.

Ao Dr. **Mário B. Wagner** pela assessoria estatística e epidemiológica.

Ao Dr. **Rui Lara de Carvalho**, por compartilhar o empenho em buscar as melhores estratégias de controle da toxoplasmose gestacional e congênita e colaborar com o projeto no Alojamento Conjunto e no Ambulatório de Infecções Obstétricas.

Ao Dr. **Plínio Medaglia** e demais colegas obstetras do HSL-PUCRS, pelo apoio na implementação e na manutenção das rotinas do Alojamento Conjunto.

À bibliotecária **Rosária Maria Lucia Prena Geremia** e funcionárias da biblioteca da Faculdade de Medicina, pela assistência nas pesquisas bibliográficas.

À secretária **Carla Carmo de Melo Rothmann**, do Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança, pelo apoio administrativo.

À Dra. **Elizabeth Wartchow**, na época coordenadora da Política de Saúde da Mulher, Criança e Adolescente da Secretaria da Saúde do Município de Porto Alegre, pelo incentivo.

Aos colegas Dr. **Alexander Sapiro** e Dra. **Beatriz Lago**, e aos demais colegas do Serviço de Neonatologia e do Departamento de Pediatria, pelo apoio e incentivo.

A meu esposo, **Léo Roberto Lago**, e a minha filha, **Ângela Gastal Lago**, pelo carinho e compreensão.

APOIO FINANCEIRO – AGRADECIMENTOS

Ao **Laboratório Ani Labsystems** (anteriormente Thermo Labsystems), de Helsinque, Finlândia, pela doação de 10.000 kits para pesquisa de IgM anti-*T. gondii* à Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

À **FAPERGS** – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul, por financiar o tratamento medicamentoso dos pacientes com toxoplasmose congênita e alguns materiais utilizados no estudo sobre triagem neonatal.

Ao **CNPq** – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pela bolsa de iniciação científica da acadêmica Ana Paula R. Rucks, para o projeto de triagem neonatal.

Ao **Hospital São Lucas da PUCRS**, nas pessoas de seus diretores e administradores do setor de compras, e ao Dr. **Délio Kipper**, na época Supervisor Pediátrico, pelo apoio financeiro e administrativo nos trâmites burocráticos necessários para receber a doação internacional.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
1.1 INTRODUÇÃO	1
1.2 REFERENCIAL TEÓRICO	2
1.2.1 <i>Toxoplasma gondii</i> e doença humana	2
1.2.2 Biologia do <i>Toxoplasma gondii</i>	2
1.2.2.1 Ciclo vital e fases da infecção	2
1.2.2.2 Resposta imune do hospedeiro	6
1.2.2.3 Cepas e sua importância clínica	8
1.2.3 Epidemiologia da toxoplasmose	13
1.2.3.1 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo <i>T. gondii</i>	13
1.2.3.2 Fatores de risco	14
1.2.3.3 Prevalência de toxoplasmose gestacional e congênita	21
1.2.4 Toxoplasmose e gestação	28
1.2.4.1 Transmissão vertical do <i>T. gondii</i>	28
1.2.4.2 Gestação e imunidade celular	31
1.2.4.3 Resposta humoral e diagnóstico na gestante	32
1.2.4.4 Diagnóstico fetal	34
1.2.4.5 Tratamento na gestação	37
1.2.5 Toxoplasmose congênita	45
1.2.5.1 Quadro clínico	45
1.2.5.2 Diagnóstico	46
1.2.5.3 Tratamento	47
1.2.5.4 Prognóstico e acompanhamento	49
1.2.6 Estratégias de controle da toxoplasmose congênita	49
1.2.6.1 Prevenção da toxoplasmose congênita: estratégias	49
1.2.6.2 Programas de prevenção primária	50
1.2.6.3 Programas de triagem pré-natal	52
1.2.6.4 Programas de triagem neonatal	57
1.2.6.5 Escolha da estratégia	59
1.2.7 Referências bibliográficas	62
1.3 JUSTIFICATIVA	90
1.4 OBJETIVOS	91
1.4.1 Objetivos gerais	91
1.4.2 Objetivos específicos – Trabalho 1	92
1.4.3 Objetivos específicos – Trabalho 2	92

CAPÍTULO 2 – TRABALHO 1	94
TRIAGEM NEONATAL PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM 10.000 RECÉM-NASCIDOS NA REDE PÚBLICA DE SAÚDE DE PORTO ALEGRE	
2.1 Introdução	94
2.2 Metodologia	95
2.3 Resultados	97
2.4 Discussão	102
2.5 Referências bibliográficas	109
CAPÍTULO 3 – TRABALHO 2	114
SOROLOGIA PARA <i>TOXOPLASMA GONDII</i> NA GESTAÇÃO E NO MOMENTO DO PARTO EM 2513 PACIENTES CONSECUTIVAS E AVALIAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS COM RISCO DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA	
3.1 Introdução	114
3.2 Metodologia	116
3.3 Resultados	119
3.4 Discussão	129
3.5 Referências bibliográficas	139
CAPÍTULO 4 – CONCLUSÕES DETALHADAS	147
4.1 Conclusões do trabalho 1	147
4.2 Conclusões do trabalho 2	147
CAPÍTULO 5 – DISCUSSÃO FINAL E SUGESTÕES	149
ANEXOS	154

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Fatores de risco para toxoplasmose	20
TABELA 2: Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes ou mulheres em idade reprodutiva - Brasil	24
TABELA 3: Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes ou mulheres em idade reprodutiva – outros países	25
TABELA 4: Prevalência de toxoplasmose congênita avaliada através da pesquisa de IgM anti- <i>T. gondii</i> em recém-nascidos	27
TABELA 5: Dados dos pacientes com toxoplasmose congênita (trabalho 1)	100
TABELA 6: Sorologia para <i>T. gondii</i> em 2.513 parturientes consecutivas	120
TABELA 7: Comparação da proporção de parturientes imunes e suscetíveis encontrada: A) na classificação final (incluindo as sorologias da gestação e do parto); B) na sorologia do parto incluindo somente as pacientes cuja sorologia era desconhecida previamente; e C) na sorologia do parto incluindo as que eram suscetíveis na gestação.	124
TABELA 8: Dados dos pacientes com toxoplasmose congênita (trabalho 2)	127

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Ciclo vital do <i>Toxoplasma gondii</i>	4
FIGURA 2: Resultados da triagem neonatal e dos testes confirmatórios	98
FIGURA 3: Resultados dos pacientes com IgM anti- <i>T. gondii</i> indeterminada no papel filtro	101
FIGURA 4: Representação gráfica da tabela 7 – Comparação da proporção de parturientes imunes e suscetíveis encontrada: A) na classificação final (incluindo as sorologias da gestação e do parto); B) na sorologia do parto incluindo somente as pacientes cuja sorologia era desconhecida previamente; e C) na sorologia do parto incluindo as que eram suscetíveis na gestação.	124
FIGURA 5: Aumento da prevalência de imunidade para <i>T. gondii</i> conforme a faixa etária das parturientes.	128

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

<i>T. gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
Ig	Imunoglobulina
IFN	<i>Interferon</i>
TNF	Fator de necrose tumoral
TGF	Fator de crescimento tumoral
NK	<i>Natural killer</i>
IL	Interleucina
Th	<i>T helper</i>
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorfism</i>
ISAGA	<i>Immunosorbent Agglutination Assay</i>
MEIA	<i>Microparticle Enzyme Immuno Assay</i>
ELFA	<i>Enzyme Linked Fluorescent Assay</i>
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i>
FEIA	<i>Fluorimetric Enzyme Immuno Assay</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
EMSCOT	<i>European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis</i>
SYROCOT	<i>Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis</i>

RESUMO (1)

(TRIAGEM NEONATAL PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM 10.000 RECÉM-NASCIDOS NA REDE PÚBLICA DE SAÚDE DE PORTO ALEGRE)

Objetivos – O primeiro objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência de toxoplasmose congênita em recém-nascidos atendidos na rede pública de saúde de Porto Alegre, cidade de cerca de 1.500.000 habitantes, localizada no sul do Brasil, através da triagem neonatal para IgM anti-*T. gondii*. O segundo objetivo foi verificar se os casos de toxoplasmose congênita identificados por esta metodologia teriam sido detectados pelo programa de triagem pré-natal já implantado na mesma população.

Métodos – Foi utilizado um teste fluorimétrico para pesquisar a IgM anti-*Toxoplasma gondii* em amostras de sangue absorvidas em papel filtro, aproveitando as mesmas amostras rotineiramente obtidas de todos os recém-nascidos para triagem de doenças metabólicas. Quando a triagem era positiva para IgM anti-*Toxoplasma gondii*, eram solicitadas amostras séricas do lactente e da mãe para sorologia confirmatória, e o lactente era submetido a uma completa investigação clínica.

Resultados – Durante o ano de 2002 o teste para IgM foi realizado em 10.000 recém-nascidos consecutivos. Em sete pacientes o teste foi positivo, e em seis foi confirmada a toxoplasmose congênita. Três casos já haviam sido identificados ao nascimento, pois suas mães haviam sido testadas para toxoplasmose no momento do parto, e um caso havia sido identificado na maternidade, um pouco antes do nascimento. Dois casos de toxoplasmose congênita foram identificados somente pela triagem neonatal.

Conclusões – A prevalência de toxoplasmose congênita foi de 6/10.000 (IC 95%: 2/10.000-13/10.000). A triagem neonatal identificou casos de toxoplasmose congênita não detectados pela triagem pré-natal, quando a sorologia materna não havia sido feita no momento do parto. Se não complementada por um teste na hora do parto ou logo após o mesmo, a triagem pré-natal pode ser ineficiente em detectar a toxoplasmose adquirida e transmitida nas últimas semanas da gestação. Adicionalmente, a triagem neonatal e a sorologia materna no momento do parto identificaram casos de toxoplasmose congênita em que a mãe não havia realizado acompanhamento pré-natal.

DESCRITORES (1)

Toxoplasmose congênita

Infecções congênitas

Triagem neonatal

ABSTRACT (1)

(NEONATAL SCREENING FOR CONGENITAL TOXOPLASMOSIS IN 10,000 NEWBORN INFANTS IN THE PUBLIC HEALTH SYSTEM OF PORTO ALEGRE/RS, BRAZIL)

Objectives – The first aim of this study was to determine the prevalence of congenital toxoplasmosis in infants treated by the public health system in Porto Alegre, a city of about 1,500,000 inhabitants in Southern Brazil, through neonatal screening for *Toxoplasma gondii*-specific IgM. The second aim was to investigate whether the cases of congenital toxoplasmosis detected by this approach would have been identified by the prenatal screening program for toxoplasmosis that had already been implemented for the same population.

Methods – A fluorimetric assay was used to analyze *Toxoplasma gondii*-specific IgM in the same dried blood filter paper specimens obtained from all newborns for routine metabolic diseases screening. When the screening was positive, serum samples from the infant and the mother were requested for confirmatory *Toxoplasma gondii* serology, and the infant underwent complete clinical investigation.

Results – Throughout 2002, 14,398 out of ~20,000 liveborn infants were screened for metabolic diseases in the public health system in Porto Alegre, and 10,000 cards from consecutive infants were examined for *Toxoplasma gondii*-specific IgM. Seven infants tested positive in filter paper, and congenital toxoplasmosis was confirmed in six of them. Three cases had already been identified at birth, because the mothers were tested at the time of delivery, and one case had already been identified in the maternity ward, before birth. Two cases have been identified solely by the neonatal screening.

Conclusions – The prevalence of congenital toxoplasmosis was 6/10,000 (95% CI 2/10,000, 13/10,000). Neonatal screening identified cases of congenital toxoplasmosis undetected by prenatal screening, when maternal serology had not been done at delivery. If not complemented by additional testing at delivery or in the post-delivery period, prenatal screening may be inefficient in detecting toxoplasmosis acquired and transmitted in late pregnancy. Additionally, neonatal screening and maternal serology at delivery were useful in identifying congenital toxoplasmosis when the mother did not receive prenatal care.

KEY WORDS (1)

Congenital toxoplasmosis

Congenital infections

Neonatal screening

RESUMO (2)

(SOROLOGIA PARA TOXOPLASMA GONDII NA GESTAÇÃO E NO MOMENTO DO PARTO EM 2513 PACIENTES CONSECUTIVAS E AVALIAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS COM RISCO DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA)

Objetivos – No Hospital São Lucas da PUCRS é rotina realizar testes sorológicos para *Toxoplasma gondii* nas parturientes com sorologia negativa para toxoplasmose na gestação, ou sem testes anteriores para toxoplasmose, ou com evidências de infecção toxoplásmica recente. O primeiro objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência desta rotina em identificar casos de toxoplasmose congênita que de outra forma não seriam detectados ao nascer. Adicionalmente, o estudo visou avaliar a prevalência de anticorpos para toxoplasmose nas gestantes/parturientes, identificar problemas que podem ocorrer na triagem pré-natal, avaliar a prevalência de toxoplasmose congênita e descrever a evolução clínica e sorológica dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita.

Métodos – Realizamos um levantamento prospectivo da situação sorológica em relação à toxoplasmose, em todas as parturientes atendidas na maternidade do hospital pelo Sistema Único de Saúde, de 01/05/2002 a 30/04/2003 (12 meses).

Resultados – No período estudado registramos 2513 partos de recém-nascidos vivos no setor previdenciário do hospital. Conseguimos determinar a situação sorológica em relação à toxoplasmose em 2477 parturientes (98,5%). Destas, 810 (32,7%; IC 95% 30,9 - 34,6%) eram suscetíveis e 1667 (67,3%; IC 95% 65,4 - 69,1 %) eram imunes. Foram diagnosticados 3 casos de toxoplasmose congênita apenas pela sorologia materna na hora

do parto. A prevalência de toxoplasmose congênita foi de 12/10.000 (IC 95%: 6/10.000-21/10.000).

Conclusões – A rotina em análise foi útil na identificação precoce de casos de toxoplasmose congênita, mostrando que a triagem pré-natal precisa ser complementada por um teste na parturiente ou no recém-nascido, para detectar as infecções do final da gestação. A prevalência de soropositividade para toxoplasmose associou-se significativamente com a idade das pacientes, apresentando tendência linear de aumento diretamente proporcional à faixa etária. A associação da prevalência de toxoplasmose com o município de procedência não foi estatisticamente significativa. A alta prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* nas gestantes justifica a triagem pré-natal, porém vários problemas ainda precisam ser resolvidos para que o programa possa atingir o máximo de eficiência. Foi encontrada uma alta prevalência de toxoplasmose congênita e todos os recém-nascidos apresentaram manifestações clínicas, descobertas em dois pacientes somente após a investigação complementar. A detecção da infecção congênita logo após o nascimento possibilitou o início precoce do tratamento.

DESCRITORES (2)

Toxoplasmose congênita

Infecções perinatais

Toxoplasmose na gestação

ABSTRACT (2)

**(SEROLOGY FOR TOXOPLASMA GONDII
IN PREGNANCY AND AT DELIVERY
IN 2513 CONSECUTIVE PATIENTS AND
EVALUATION OF THE NEWBORN INFANTS AT RISK
FOR CONGENITAL TOXOPLASMOSIS)**

Objectives – In São Lucas Hospital, serological tests for *Toxoplasma gondii* infection are routinely requested for parturient women with negative serology for toxoplasmosis during pregnancy, or without previous tests for toxoplasmosis, or with suspected recent infection. The first objective of this study was to evaluate the efficiency of this routine in identifying cases of congenital toxoplasmosis that otherwise could not be detected at birth. Additionally, the study aimed to determine the prevalence of seropositivity for *Toxoplasma gondii* in the pregnant/parturient women, to identify problems that may arise with prenatal screening for toxoplasmosis, to determine the prevalence of congenital toxoplasmosis in the study population, and to describe the clinical and serological outcome of the infants with congenital toxoplasmosis.

Methods – We made a prospective survey on *Toxoplasma gondii* antibodies in all parturient women that attend the public maternity ward in São Lucas Hospital, in the period between May 2002 and April 2003 (12 months).

Results – During this period there have been 2,513 liveborn deliveries in the public health setting of São Lucas Hospital. We were able to determine the serological status for toxoplasmosis in 2,477 parturient women (98.5%), of whom 810 (32.7%; CI 95% 30.9 - 34.6%) were susceptible and 1,667 (67.3%; CI 95% 65.4 - 69.1%) were immune. Three

newborns were diagnosed with congenital toxoplasmosis only as a result of the maternal serology at delivery. Prevalence of congenital toxoplasmosis was 12/10,000 (95% CI: 6/10,000-21/10,000).

Conclusions – The routine was useful in the early identification of congenital toxoplasmosis, which otherwise could not be detected at birth. Prenatal screening needs to be complemented by a test in the parturient woman or in the newborn, in order to detect late pregnancy infections. Seropositivity for toxoplasmosis had significant association with age, but not with place of origin. The prevalence of seropositivity for toxoplasmosis in the study population is high, and justifies a prenatal screening program, but some problems need to be solved, in order to get the greatest efficiency. Prevalence of congenital toxoplasmosis was high, and all infants had clinical manifestations discovered by detailed examinations.

KEY WORDS (2)

Congenital toxoplasmosis

Perinatal infections

Toxoplasmosis in pregnancy

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUÇÃO

Esta tese é composta por dois estudos, realizados quase simultaneamente, que abordaram estratégias de controle da toxoplasmose gestacional e congênita: 1) "Triagem neonatal para toxoplasmose congênita em 10.000 recém-nascidos atendidos na rede pública de saúde de Porto Alegre"; e 2) "Sorologia para *Toxoplasma gondii* na gestação e no momento do parto em 2.513 pacientes consecutivas e avaliação dos recém-nascidos com risco de toxoplasmose congênita".

Em virtude desta peculiaridade e com o objetivo de conferir continuidade aos textos de cada trabalho, foi necessário modificar a organização dos capítulos recomendada pela Comissão Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança da PUCRS.

O primeiro capítulo contém, além da introdução, o referencial teórico com suas referências bibliográficas, a justificativa, os objetivos gerais (comuns aos dois trabalhos) e os objetivos específicos (de cada trabalho).

O segundo e o terceiro capítulos contêm os trabalhos, incluindo introdução, metodologia, resultados, discussão e referências bibliográficas de cada um. Optamos por esta forma pois, do contrário, a fragmentação dificultaria a leitura. O manuscrito enviado para publicação constitui o **anexo 1**.

O quarto capítulo contém as conclusões detalhadas de cada trabalho e o quinto capítulo consta de uma discussão final que procura integrá-los.

1.2 REFERENCIAL TEÓRICO

1.2.1 TOXOPLASMA GONDII E DOENÇA HUMANA

A infecção humana pelo *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), em sua forma adquirida em pacientes imunocompetentes, é geralmente auto-limitada e assintomática, passando clinicamente despercebida ou ocasionando uma síndrome semelhante à mononucleose.¹ Em algumas situações, a toxoplasmose adquirida ocasiona lesões oculares, revestindo-se de um caráter mais preocupante.²

Duas formas da doença, entretanto, apresentam alta morbidade, suscitando grandes esforços em sua prevenção e tratamento:

- a toxoplasmose nos imunodeprimidos, em geral conseqüente à reativação de uma infecção latente, que freqüentemente apresenta um quadro clínico grave, com encefalite, lesões oculares ou acometimento generalizado;¹ e
- a toxoplasmose congênita, que ocorre quando a mãe adquire a infecção durante a gestação, podendo causar grave acometimento fetal ou resultar em recém-nascidos assintomáticos, mas ainda com risco de seqüelas tardias.³

1.2.2 BIOLOGIA DO *TOXOPLASMA GONDII*

1.2.2.1 Ciclo vital do *T.gondii* e fases da infecção

O *T. gondii* é um protozoário da família *Sarcocystidae*, filo *Apicomplexa*, ao qual pertencem também os patógenos humanos *Plasmodium* e *Cryptosporidium*. Parasita obrigatório, necessita do meio intracelular para sua sobrevivência e multiplicação, embora seu ciclo vital complexo inclua também fases extracelulares.^{4, 5} O *T. gondii* desenvolveu capacidades que permitem com que sobreviva sem destruir seus hospedeiros, dessa forma

perpetuando a espécie. Acredita-se que seu sucesso como patógeno intracelular deva-se a adaptações morfológicas e funcionais especializadas que o tornam apto a invadir, residir e replicar-se em praticamente todos os tipos de células dos animais de sangue quente.⁵⁻⁷

A reprodução sexuada ocorre no aparelho gastrointestinal dos hospedeiros definitivos, os membros da família *Felidae* (gatos domésticos e felinos selvagens). Através dos excrementos desses animais, o *T. gondii* contamina o solo sob a forma de **oocistos**, que contêm oito **esporozoítos** no seu interior. O processo de esporulação, necessário para que os oocistos se tornem contaminantes, ocorre após 1 a 21 dias no solo, onde permanecem viáveis por até 18 meses, principalmente em solos úmidos das regiões de clima temperado. Durante a infecção aguda no gato, milhões de oocistos são excretados pelas fezes durante 7 a 21 dias. O ser humano e os animais podem contaminar-se com oocistos ingerindo alimentos crus, que tiveram contato com o solo; em atividades que incluam manuseio direto da terra; consumindo ou tendo algum tipo de contato com água contaminada; ou por contato direto com gatos infectados.^{4, 6, 7-11}

Ingeridos pelos hospedeiros intermediários (inclusive o ser humano), os oocistos resistem à digestão gástrica e, no intestino delgado, liberam os esporozoítos, que penetram ativamente nas células da mucosa intestinal. Transformados em **taquizoítos**, disseminam-se rapidamente no sangue, sob a forma livre ou através de células circulantes, como monócitos, macrófagos e neutrófilos, para vários tecidos.¹²⁻¹⁵

A **figura 1** ilustra o ciclo vital do *T. gondii*.

sabe-se que a placenta, uma vez infectada, pode representar uma fonte potencial de infecção para o feto, mesmo após ter cessado a parasitemia materna.^{6, 12, 13} Talvez diferentes cepas do *T. gondii* possuam capacidades diversas em atravessar as barreiras biológicas, e este fato talvez contribua para seu grau de patogenicidade (ver seção 1.2.2.3). Isso pode ser particularmente importante na toxoplasmose congênita, já que não existe migração rotineira de células maternas para a circulação fetal.¹¹

Com o controle da infecção pelo hospedeiro, cessa a multiplicação e a invasão dos taquizoítos. As formas intracelulares transformam-se em **bradizoítos**, que se reproduzem mais lentamente e vão formando estruturas cada vez maiores, os **cistos teciduais**, que contêm centenas a milhares de microorganismos. Esta transformação marca o início da fase crônica da infecção.^{7, 13} Os bradizoítos permanecem viáveis dentro dos cistos teciduais por toda a vida do indivíduo, mantendo a capacidade de transmitir a infecção quando ingeridos. São morfológicamente quase iguais aos taquizoítos, mas multiplicam-se lentamente, expressam antígenos específicos e são funcionalmente diferentes.⁷ Quando presentes nos músculos dos animais de corte, os cistos teciduais podem contaminar o ser humano pelo *T. gondii*, se a carne for ingerida crua ou mal cozida. Também contaminam os felinos, quando estes comem pequenos animais infectados, principalmente roedores, recomeçando o ciclo vital.⁸ Os bradizoítos presentes nos cistos teciduais são as únicas formas capazes de originar imediatamente a fase sexuada no intestino do gato.^{6, 7} Este é um dos motivos da grande importância dos roedores na manutenção do ciclo vital do *T. gondii*. Acresce-se que as fêmeas de camundongos transmitem a infecção congênita mesmo na fase crônica, perpetuando a infecção nos seus descendentes.¹⁷ Demonstrou-se também que ratos com infecção pelo *T. gondii*, que possuem cistos teciduais no cérebro, apresentam comportamento mais ativo e audacioso, que os torna mais suscetíveis à predação pelos gatos domésticos.¹⁸

Os cistos teciduais localizam-se preferentemente nos músculos, cérebro e retina. Parecem estar protegidos da resposta imune do hospedeiro e, quando intactos, provavelmente não causam nenhum dano, podendo passar despercebidos pelo resto da vida.⁷ A ruptura ocasional provavelmente ocorra periodicamente, sendo a disseminação da infecção controlada pela resposta imunológica nas pessoas imunocompetentes. Alguns bradizoítos individuais podem escapar dos cistos sem que haja ruptura na sua parede, invadindo células contíguas e resultando em cistos secundários. Tanto a ruptura dos cistos, quanto o escape individual dos bradizoítos, parecem ser responsáveis pela persistência dos títulos de anticorpos e pela manutenção da imunidade, observadas nas pessoas com infecção crônica.⁶ Entretanto, em algumas situações, como nos pacientes imunocomprometidos, os bradizoítos podem transformar-se novamente em taquizoítos e causar necrose tecidual. Se esta reação ocorrer no sistema nervoso central ou na retina, pode causar graves efeitos patológicos.^{10, 19}

É possível que entre a fase aguda e a crônica, nos casos de infecção subclínica, aconteça uma fase intermediária, sub-aguda, de duração incerta, na qual os cistos teciduais já formados coexistem com taquizoítos, que se multiplicam mais lentamente do que na fase aguda. Este processo explicaria a patogênese de algumas lesões observadas na toxoplasmose congênita.³

1.2.2.2 Resposta imune do hospedeiro

Os linfócitos T auxiliares, CD4+ (*T helper*: TH) podem ser classificados em TH1 e TH2, com base no perfil de citocinas. Os linfócitos TH1 produzem interferon gama (IFN- γ), interleucina (IL)-2 e fator de necrose tumoral beta (TNF- β), promovem a produção de anticorpos opsonizantes e fixadores do complemento, ativam os macrófagos e promovem a citotoxicidade e a hipersensibilidade retardada. Ao serem estimulados pelos vírus, bactérias intracelulares e protozoários, os macrófagos e as células *natural killer* (NK) produzem IL-

12 e IFN- γ , que induzem à diferenciação dos linfócitos no fenótipo TH1. Já os linfócitos TH2, desenvolvidos em resposta a infestação por helmintos, alérgenos, toxinas e bactérias extra-celulares, produzem IL-4 e IL-10 entre outras, induzem a proliferação de mastócitos e eosinófilos e favorecem a maturação dos linfócitos B e, conseqüentemente, a produção de anticorpos. Algumas citocinas do tipo TH2 também inibem várias funções dos macrófagos.²⁰ Este modelo dicotômico de polarização dos linfócitos T está começando a mostrar-se por demais simplista; respostas extremamente polarizadas são observadas geralmente sob condições planejadas de protocolos de pesquisa. Apesar disso, evidências da existência de perfis de citocinas que definem os linfócitos TH1 e TH2 são indiscutíveis e representam um esquema útil para compreender certos mecanismos imunológicos.²¹

Na toxoplasmose, como em outras infecções por parasitas intracelulares, a proteção é assegurada principalmente pela imunidade celular, cabendo aos anticorpos um papel secundário.^{4, 5} A infecção pelo *T. gondii* provoca intensa resposta de imunidade inata e após adaptativa, caracterizada pelo perfil de citocinas do tipo TH1. Apesar dessa resposta, a infecção aguda pode causar danos consideráveis.^{19, 22}

Na fase inicial da infecção, a imunidade inata tem papel importante na resistência ao *T. gondii*. Esta resposta não específica inibe também a co-infecção do hospedeiro por microorganismos como *Listeria monocytogenes*, *Schistosoma mansoni* e certos vírus, e limita o desenvolvimento de alguns tumores. Nesta fase, o parasita ativa algumas células como macrófagos, células NK, células dendríticas e neutrófilos. Essa ativação tem duas principais conseqüências: limita a replicação dos taquizoítos e dirige o desenvolvimento dos linfócitos TH1, ao iniciar a liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-12, IFN- γ e TNF- α .^{19, 23}

A IL-12, citocina importante no desenvolvimento da resposta imune adaptativa, ativa os macrófagos e suas funções microbicidas, aumenta a produção de IFN- γ pelas

células NK e dirige a proliferação dos linfócitos T CD4+ e CD8+, que produzem mais IFN- γ , assumindo o perfil TH1 característico. O IFN- γ tem grande importância no controle da infecção pelo *T. gondii*, tanto na fase aguda como na crônica. Sua produção pelos CD4+ estimulados pela IL-12 ocorre já a partir do quinto dia de infecção.^{19, 24, 25}

As respostas associadas às citocinas pró-inflamatórias podem ser altamente tóxicas para o hospedeiro, mas ao mesmo tempo o *T. gondii* estimula mecanismos de controle que modulam a resposta imunológica, diminuindo os danos e prevenindo a morte do hospedeiro, através da produção de citocinas anti-inflamatórias (como IL-10, IL-4 e TGF- β) e substâncias como óxido nítrico, que diminuem a replicação dos taquizoítos e limitam a proliferação dos linfócitos.¹⁹ Apesar de serem de certa forma protetores, estes mecanismos subvertem a resposta imune e permitem a evolução da infecção para a fase crônica, que predispõe a reativações e serve como reservatório para eventual transmissão a outros hospedeiros. As citocinas anti-inflamatórias podem também predispor à encefalite toxoplásmica por diminuir o papel protetor do IFN- γ , que tem grande importância na manutenção da fase latente. Em sinergia com o TNF- α , o IFN- γ media a morte dos taquizoítos e promove sua transformação em bradizoítos, tendo também papel protetor sobre a ruptura dos cistos. Tanto os linfócitos CD8+ como os CD4+ são importantes na manutenção da latência da infecção toxoplásmica, atuando sinergicamente.²⁶

Embora com papel secundário, a imunidade humoral também colabora no controle da infecção pelo *T. gondii*, facilitando os mecanismos de destruição do parasita.^{19, 23, 24} A ação das imunoglobulinas é dirigida especialmente ao taquizoíto, aderindo à sua membrana e dificultando sua adesão aos receptores da célula hospedeira.²⁶

1.2.2.3 Cepas e sua importância clínica

A classificação baseada no polimorfismo de fragmentos do DNA gerados com enzimas de restrição (*Restriction Fragment Length Polymorphism* ou *RFLP*) distingue três principais genótipos, ou linhagens clonais, conhecidas como cepas, designadas tipos I, II e III, que podem infectar tanto os animais como o ser humano. Cepas diferentes destas podem pertencer a duas categorias: recombinantes (mistura dos genes das cepas dominantes) ou exóticas (com estrutura genética diversa), e causam somente 1 a 5% das infecções. As três cepas dominantes diferem em virulência e padrões epidemiológicos, assim como na estrutura proteica: as principais proteínas são comuns a todas elas, mas existem proteínas que são específicas para cada uma.^{6, 27-31} Foi desenvolvida uma técnica de PCR aninhada, capaz de tipificar polimorfismos do locus SAG2, que codifica o antígeno de superfície do taquizoíto p22. Este método pode ser usado diretamente em amostras clínicas, pois requer ínfimas quantidades de DNA, permitindo identificar mais facilmente as cepas presentes nos pacientes com toxoplasmose.³²

Apesar da oportunidade de cruzamento genético durante o ciclo sexuado nos felinos, a estrutura o *T. gondii* é altamente clonal (genótipos em pequeno número e estáveis no tempo e no espaço), o que pode ser explicado por dois aspectos principais: primeiro, a possibilidade de transmissão entre os hospedeiros intermediários através do carnivorismo, dispensando o ciclo sexuado que ocorre nos felinos; segundo, o fato do *T. gondii* ser haplóide, permitindo que um felino infectado por uma única cepa excrete oocistos que darão origem a microorganismos geneticamente idênticos à cepa original.^{27, 30} Estudos em seqüenciamento gênico sugerem que as cepas exóticas de *T. gondii* teriam surgido na terra há mais de um milhão de anos, enquanto as cepas I, II e III originaram-se, provavelmente de um único ancestral, em época mais recente (10.000 anos). Como resultado disso, existem apenas dois alelos para a maioria dos genes dessas cepas.^{11, 29}

A capacidade de transmissão via oral é característica das linhagens clonais predominantes e está ausente ou somente parcialmente expressa nas linhagens exóticas. A expansão das cepas de alta patogenicidade resultou provavelmente da aquisição da capacidade de infectividade oral combinada com a herança da virulência. A época de origem da transmissão oral do *T. gondii* é concomitante com a época do surgimento da agricultura e da adaptação do gato como animal doméstico, fatos que criaram concentração inédita de hospedeiros e oportunidades de novas rotas de transmissão, mostrando como as mudanças no comportamento humano podem proporcionar forte pressão seletiva nos modos de transmissão parasitária.²⁹ Isolados de *T. gondii* na Amazônia da Guiana Francesa mostraram alta frequência de cepas atípicas e grande polimorfismo genético, talvez relacionados ao fato de no ambiente selvagem a reprodução sexuada ser mais frequente do que a reprodução clonal.³³

Howe e colaboradores³² conseguiram determinar os genótipos de 68 entre 72 espécimes de *T. gondii* previamente isolados de pacientes com toxoplasmose congênita, cerebral e disseminada. Encontraram a cepa do tipo II na maioria das amostras (81%). As cepas do tipo I e III foram encontradas em respectivamente 10% e 9% dos casos. Os resultados mostraram a concordância com estudos prévios, que já evidenciavam predominância da cepa tipo II na toxoplasmose humana, enquanto as cepas isoladas de animais eram igualmente distribuídas entre os tipos II e III.

A relação das cepas de *T. gondii* com a clínica da toxoplasmose, entretanto, é sujeita a vários vieses. Como o DNA inicialmente era isolado mais dos casos sintomáticos, o genótipo mais associado aos casos assintomáticos não era determinado, causando viés de seleção. Também ocorrem vieses geográficos e o efeito "centro de referência": até recentemente, a quase totalidade das cepas isoladas provinham da Europa e dos Estados Unidos, e principalmente de formas atípicas da doença, mais frequentemente enviadas aos

centros de referência. Mais recentemente, com o diagnóstico fetal através da PCR no líquido amniótico tornando-se mais freqüente, tem sido possível determinar as cepas responsáveis pela toxoplasmose congênita em todas as formas clínicas.^{27, 30, 34}

Em estudo realizado na Espanha, onde não é feita de rotina a triagem pré-natal, foi encontrado o tipo I do *T. gondii* em seis dos oito casos (75%) de toxoplasmose congênita que puderam ser completamente identificados.³⁵ Já um estudo realizado na França encontrou 82% do tipo II entre 86 isolados de infecções fetais provenientes de países europeus. O tipo II associou-se tanto a casos graves como a infecções subclínicas, enquanto tipo I só foi encontrado em associação a casos graves de toxoplasmose congênita ou a casos de toxoplasmose gestacional em que não houve infecção fetal. Os autores sugerem que o fato de não ter sido isolado nenhum tipo I do grupo de pacientes com infecção subclínica ou leve possa ser devido a dois fatores: 1) os taquizoítos do tipo I tem menor propensão a se transformar em bradizoítos, e quando ocorre a transformação, os bradizoítos contidos nos cistos do tipo I são mais imaturos e mais sensíveis ao tratamento e à resposta imunológica do hospedeiro, levando em alguns casos à eliminação do parasita; 2) por outro lado, quando a barreira placentária é vencida e o parasita não é eliminado pelo tratamento ou pela imunidade, o tipo I apresenta maior patogenicidade para o feto. Os autores comentam que a relação entre os genótipos e a clínica nos casos estudados na França deve ser analisada no contexto do manejo da toxoplasmose gestacional naquele país (tratamento da gestante e interrupção da gestação nos casos graves), o qual pode ser diferente em outros países.³⁴

No País de Gales, em 19 pacientes com toxoplasmose congênita, foi encontrado o tipo I em seis casos (31%), o tipo II em sete casos (36%), a mistura dos tipos I e II em seis casos e nenhum tipo III. Os autores não souberam como explicar a presença de duas cepas de *T. gondii* no mesmo paciente.³⁶

No modelo murino foi demonstrado que a cepa I do *T. gondii* é a mais virulenta: dissemina-se mais rapidamente e atinge carga parasitária mais alta, mesmo com inóculo inicial pequeno, e também apresenta maior capacidade para migrar e atravessar barreiras. As cepas II e III são menos virulentas para os camundongos.^{11, 27} Lehmann e colaboradores⁹ recomendam cautela em predizer características fenotípicas com base em gens que não estão diretamente ligados a essas características, e exemplificam com o fato de terem sido isoladas, na América do Sul, cepas do tipo I não virulentas e cepas do tipo III virulentas para o camundongo. Estes autores encontraram diferenças na composição genotípica entre *T. gondii* isolados de animais domésticos no Brasil e nos Estados Unidos, e comentam que essas variações genéticas podem contribuir para a alta frequência de toxoplasmose ocular encontrada em algumas regiões do Brasil.⁹ Em galinhas caipiras de uma área endêmica para toxoplasmose, no estado do Rio de Janeiro, foram isoladas 70% de cepas do tipo I, as quais provocaram alta mortalidade quando inoculadas em camundongos, embora alguns tenham sobrevivido. Nenhum isolado foi do tipo II.³¹ Um estudo recente encontrou somente o tipo I em casos de toxoplasmose ocular humana em São Paulo/SP e Erechim/RS.³⁷ Estudos realizados nos Estados Unidos também encontraram somente a presença do tipo I em casos de toxoplasmose ocular grave.³⁰

Um estudo em camundongos infectados cronicamente demonstrou que, quando reinfectados por uma cepa diferente daquela que havia causado a infecção primária, os animais desenvolveram doença e morreram por toxoplasmose aguda, apesar da presença de marcantes respostas de imunidade celular e anticorpo-gênese. Cistos teciduais da cepa reinfectante foram encontrados nos cérebros dos camundongos.³⁸

A genotipagem do *T. gondii* isolado de seres humanos tem sido feita em geral a partir de infecções graves. É importante que futuros estudos determinem quais são os tipos prevalentes nas infecções assintomáticas ou benignas dos indivíduos imunocompetentes.

Será importante, também, conseguir determinar a forma contaminante (se oocisto ou cisto tecidual) de uma dada infecção, além de características genéticas do hospedeiro que possam influenciar a progressão da doença. Essas informações serão úteis nas decisões sobre as formas e os momentos das intervenções terapêuticas.³⁰ Pode ser, por exemplo, que a doença nos aidéticos ou a transmissão vertical na gestação sejam em grande parte influenciadas pela capacidade de determinadas cepas em atravessar cada tipo de barreira biológica, assim como por outras características que determinam sua patogenicidade.¹¹

1.2.3 EPIDEMIOLOGIA DA TOXOPLASMOSE

1.2.3.1 Aspectos epidemiológicos da infecção pelo *T. gondii*

Parasitas bem sucedidos compartilham algumas características, como vasta cadeia de possíveis hospedeiros, alto poder de infectividade e coexistência pacífica com o hospedeiro. O *T. gondii* consegue infectar milhares de espécies animais, incluindo aéreas, aquáticas e terrestres (carnívoras ou herbívoras). Além disso, ao contrário de muitos parasitas limitados às regiões tropicais ou sub-tropicais, o *T. gondii* pode habitar as mais diversas regiões do globo, desde o solo gelado do Alasca até a floresta amazônica, embora os fatores climáticos tenham influência sobre a prevalência da infecção, que é menor nos climas muito frios com ciclos de degelo, nas áreas áridas e nas grandes altitudes.^{9, 13, 39} A prevalência da infecção pelo *T. gondii* no ser humano não varia entre os sexos, a não ser que os hábitos culturais sejam muito diferentes entre os mesmos, e geralmente aumenta proporcionalmente à idade. Outros fatores ambientais são importantes na epidemiologia da toxoplasmose, como hábitos alimentares e outras características culturais.^{13, 40}

Devido a essas influências, a prevalência da infecção pelo *T. gondii* pode variar muito entre diferentes países, diferentes regiões no mesmo país e diferentes grupos populacionais dentro da mesma região.³ Inquéritos sorológicos tem mostrado prevalências

entre 0 e 100% em várias populações, e de 4 a 100% em mulheres em idade fértil. Ao todo, foi estimado que um terço da população mundial foi exposta ao parasita.⁴¹ As estimativas de prevalência podem depender parcialmente dos métodos sorológicos utilizados, e existem variações ao longo do tempo.^{2, 10, 42, 43} O Brasil possui áreas endêmicas, com alta prevalência de soropositividade na população em geral e nas gestantes, e alguns levantamentos evidenciaram alta prevalência de toxoplasmose congênita e toxoplasmose ocular.⁴⁴⁻⁵³ Na seção 1.2.3.3 serão revisados alguns dados sobre a prevalência da toxoplasmose gestacional e congênita.

Uma situação especial é o surto, definido como ocorrência epidêmica onde todos os casos estão relacionados entre si, atingindo uma área pequena e delimitada.⁵⁴ Os dois maiores surtos de toxoplasmose conhecidos, causados pela contaminação de reservatórios municipais de água com oocistos, um no Canadá em 1995 e outro na cidade de Santa Isabel do Ivaí, no Paraná, em 2001/2002, causaram centenas de casos de toxoplasmose aguda e muitos casos de toxoplasmose congênita.⁵⁵⁻⁵⁷ Também podem ocorrer surtos por transmissão de cistos teciduais, contidos em alimentos compostos por carne crua ou pouco cozida.⁵⁸⁻⁵⁹

1.2.3.2 Fatores de risco para infecção pelo *T. gondii*

A toxoplasmose humana é considerada uma doença de origem alimentar.⁴⁰ Mesmo quando não relacionada diretamente à alimentação, a via de infecção é sempre a oral, excetuando-se a infecção congênita e casos raros de transplantes de órgãos. Muitos estudos transversais e de caso-controle tem sido realizados com objetivo de identificar fatores de exposição que representem risco de contaminação pelo *T. gondii*. As formas de selecionar o grupo de casos diferem: podem ser crianças ou adultos com imunidade antiga ou recente;⁶⁰⁻⁶⁴ gestantes imunes;^{42-45, 48, 65} gestantes com infecção recente;^{46, 66-69} gestantes com soroconversão durante a gestação;⁷⁰ mães de recém-nascidos com toxoplasmose

congênita.⁷¹ Os controles geralmente foram constituídos por indivíduos do mesmo grupo populacional, porém soronegativos para toxoplasmose. Os fatores de exposição pesquisados foram baseados nos conhecimentos sobre o ciclo biológico do *T. gondii*, ou seja, nas possíveis formas de ingerir os oocistos presentes no ambiente, ou os cistos teciduais contidos na carne dos animais de corte. Hábitos, comportamentos, características e procedimentos que propiciam essa contaminação são considerados fatores de risco.

Um estudo de caso-controle realizado na França evidenciou o consumo de carne bovina e suína pouco cozidas como fator de risco mais importante. Por outro lado, o contato com um gato doméstico foi menos significativo como fator de risco do que o manuseio da terra e de vegetais crus. Este achado foi importante para desfazer o mito de que a gestante apenas precisava evitar contato com gatos e estaria bem protegida da contaminação pelo *T. gondii*.⁷⁰

Uma das maneiras mais apropriadas de classificar a importância do fator de risco é através do cálculo do risco atribuível, que indica a redução proporcional dos casos de infecção que seria conseguida se os indivíduos fossem totalmente isolados da exposição. Por exemplo, em um estudo de caso-controle envolvendo quatro países europeus, demonstrou-se que ingestão de carne crua, mal cozida ou curada (carne salgada e conservada com nitratos ou nitritos para conferir sabor e conservar a cor avermelhada) contribuiu com 30 a 63% das infecções por *T. gondii* nas gestantes, enquanto que o contato com o solo contribuiu com 17% das infecções.⁶⁶ A carne de porco é mais contaminante que as outras carnes pela maior infectividade dos cistos teciduais quando presentes na mesma. Além disso, produtos à base de carne suína crua ou curada são comuns e muito apreciados.⁴¹

Foi demonstrado que o decréscimo da soroprevalência para *T. gondii* que vem ocorrendo nas últimas décadas em vários países da Europa deve-se em parte aos métodos

modernos de criação de porcos, em que os animais são mantidos confinados e alimentados exclusivamente com ração industrializada, o que diminui sua contaminação. Entretanto, o modo confinado não é considerado favorável ao bem-estar dos animais e, devido à pressão de organizações sociais, a bio-indústria vem reintroduzindo o modo de criação tradicional, o que pode levar à re-emergência das infecções por *T. gondii* nos países industrializados.⁷² No Rio Grande do Sul e outros estados do sul do Brasil, principalmente em zonas de colonização italiana, é muito disseminado o costume de consumir embutidos de carne suína, tanto produzidos de forma industrial quanto artesanal, e já foram encontrados embutidos contaminados com *T. gondii*.^{59, 62, 73}

Entretanto, embora sejam necessários mais estudos, parece que no Brasil os principais fatores de risco são relacionados ao maior contato com solo e água contaminados, propiciando a infecção através de oocistos de *T. gondii*.^{46, 48, 64} É recomendável que cada região tenha o seu levantamento, pois algumas características ou situações podem representar risco para determinadas populações e não para outras.⁶⁶

Um exemplo da complexidade da identificação dos fatores de risco é a residência em zona rural ou urbana. A residência em zona rural pode aumentar^{46, 60, 65, 74} ou diminuir^{48, 64, 75, 76} o risco de soropositividade para o *T. gondii*. Esta aparente contradição pode ser devida às diferentes condições de vida rural e de vida urbana existentes em determinada região, ou a certas características da população urbana, como, por exemplo, na Noruega, em que a maior prevalência nas gestantes da capital, Oslo, foi atribuída ao maior número de pessoas provenientes de outros países, com costumes diferentes dos da população nativa.⁷⁶ Talvez também ocorra interação do tipo de zona com a idade, porque alguns dados da literatura sugerem maior risco da zona rural ou suburbana para as crianças (e conseqüentemente este risco aparece nos trabalhos que investigaram não só a residência atual, mas também onde a pessoa residiu na infância).^{42, 46, 63-65} A explicação seria que as

crianças têm contato mais freqüente com o solo nas brincadeiras ao ar livre, além de menos cuidados de higiene.⁶⁵ No entanto, dois estudos encontraram maior prevalência nas áreas urbanas somente relacionada à faixa etária abaixo de 20 anos.^{48, 77} Esses dados mostram como é variável a epidemiologia da toxoplasmose. Outra peculiaridade da infância é o contato direto com gatos, que aparece como fator de risco para toxoplasmose mais freqüentemente nas crianças do que nos adultos.^{42, 60, 63}

O grande foco de interesse atual, em relação aos fatores de risco para toxoplasmose, é a descoberta da água como fonte de contaminação endêmica, e não apenas sob forma de surto, como já havia sido descrito, embora raramente.^{55, 78} Esta descoberta deve-se ao estudo realizado por Bahia-Oliveira e colaboradores⁵¹ em Campos dos Goytacazes/RJ, publicado pela primeira vez em 2001. Em uma população pobre desta cidade, que mantém estreito contato com água fluvial, e onde a prevalência de toxoplasmose mostrou-se altíssima, o consumo de água não tratada foi o principal fator de exposição encontrado.⁶⁴ Esta descoberta chamou muita atenção para a água como fonte de contaminação endêmica pelo *T. gondii*. Coincidentemente logo após, em 2001/2002, ocorreu em Santa Isabel do Ivaí/PR o maior surto de toxoplasmose transmitida por água conhecido até hoje no mundo,^{56, 57} o que colocou a questão da água como foco de interesse na literatura científica.^{40, 43, 69, 79} É interessante notar que em 1990 Silveira⁸⁰ já identificara como fator de risco para toxoplasmose o consumo de água durante as lides campeiras, em trabalhadores rurais de Erechim/RS, mas a importância do achado passou despercebida. Um inquérito sorológico em ameríndios isolados, no estado de Mato Grosso, evidenciou alta prevalência de soropositividade para *T. gondii*, que foi atribuída à contaminação das águas dos rios e do solo das matas ciliares por felinos silvestres.⁴⁹

Ao contrário do que acontece com outras enfermidades, em que escores baseados nos fatores de exposição podem assinalar grupos de risco a serem escolhidos como alvo de

procedimentos diagnósticos e terapêuticos, no caso da toxoplasmose congênita isto não é possível, pois não se consegue identificar todas as gestantes que estão em risco de transmitir a toxoplasmose apenas com base nos fatores de exposição identificados; os comportamentos que levam à contaminação da gestante também podem ser encontrados em muitas mulheres que não se contaminaram ou, ao contrário, às vezes não é possível identificar claramente um fator de risco em uma gestante contaminada. Segundo Boyer e colaboradores,⁸¹ se a pesquisa sobre os fatores de risco a que as gestantes estiveram expostas, ou os dados clínicos da gestação, pudessem identificar todos os bebês em risco de toxoplasmose congênita, não seria necessário nenhum tipo de triagem sorológica: simplesmente uma cuidadosa anamnese conduziria ao diagnóstico e ao manejo apropriado do recém-nascido. Entretanto, quando estes autores realizaram um estudo descritivo com mães de bebês com toxoplasmose congênita, verificaram que uma anamnese cuidadosa identificaria no máximo 48% das mães que haviam adquirido toxoplasmose durante a gestação, e que somente a triagem sorológica teria identificado as restantes. Também no estudo europeu multicêntrico de Cook e colaboradores, 14 a 49% dos casos de infecção pelo *T. gondii* em gestantes não puderam ser explicados pelas variáveis incluídas no modelo de análise multivariada.⁶⁶

Entretanto, a importância de identificar os fatores de risco para toxoplasmose é inquestionável, para medidas de saneamento e cuidados na produção de alimentos, e porque permite orientar as pessoas que se encontram em situações especiais (gestantes suscetíveis, pacientes imunodeprimidos) sobre cuidados de prevenção primária.⁴¹ Os conhecimentos adquiridos nos últimos anos ampliaram a gama dos fatores de risco para toxoplasmose: sabe-se agora que não basta a gestante evitar o contato direto com gatos e o consumo de carne crua ou mal-cozida. Ações aparentemente inocentes, como praticar jardinagem, varrer o pátio ou tomar banho de rio ou de açude (costume bastante difundido

em zonas rurais do Brasil⁸²) podem representar risco de contrair toxoplasmose. As pessoas em geral não reconhecem que o solo, os alimentos ou a água podem estar contaminados com oocistos, mesmo sem a presença conspícua de gatos. É importante que os obstetras tenham conhecimento da ampla gama de exposições que as gestantes devem evitar, e que as instruções sobre prevenção façam parte integrante do acompanhamento pré-natal. Como as condições são variáveis entre as diversas populações, é importante que cada comunidade investigue os principais fatores de risco a que suas gestantes estão expostas. Com dados locais, os programas de prevenção primária no pré-natal poderão tornar-se mais dirigidos e, conseqüentemente, mais eficazes.^{66, 67} Na seção 1.2.6.2 abordaremos os programas de prevenção primária como uma das estratégias de controle da toxoplasmose congênita.

Na **tabela 1** estão listados os principais fatores de risco para infecção por *T. gondii* e os lugares onde foram identificados como estatisticamente significativos após controle para fatores de confusão (exceto no estudo de Goiânia⁴⁶ no qual os dados foram submetidos a análise de variância e a amostra foi estatisticamente balanceada em relação aos fatores socioeconômicos). Além dos costumes e comportamentos teoricamente evitáveis, certas características sociodemográficas também são consideradas fatores de risco para infecção pelo *T. gondii*.

TABELA 1 – FATORES DE RISCO PARA TOXOPLASMOSE

FATOR DE RISCO	LOCAIS ONDE FOI SIGNIFICATIVO E REFERÊNCIA
Baixo nível socioeconômico	Campos dos Goytacazes/RJ ⁶⁴ ; Goiânia/GO ⁴⁶ ; Uberlândia/MG ⁸³ ; Espanha ⁸⁴
Baixa escolaridade	Porto Alegre/RS ⁴⁵ ; Goiânia/GO ⁴⁶
Residir ou ter residido em zona rural	Goiânia/GO; ⁴⁶ Cuba ⁸⁵ ; Canadá ⁶⁰ ; Inglaterra(1) ⁶⁵
Residir em zona suburbana	Campos dos Goytacazes/RJ; ⁶⁴ Bolívia (crianças) ⁶³ ; Holanda ⁷⁷
Residir em zona urbana	Alto Uruguai/RS ⁴⁸ ; Inglaterra(2) ⁷⁵ ; Noruega(1) ⁷⁶
Idade acima dos 30 ou 35 anos	Porto Alegre/RS; ⁴⁵ Campos dos Goytacazes/RJ; ⁶⁴ Jaguapitã/PR ⁶¹ ; Londrina/PR ⁸⁶ ; Inglaterra(1); ⁶⁵ Iugoslávia ⁴² ; Suécia ⁸⁷ ; Turquia ⁴³
Gestação ou maior paridade	Goiânia/GO; ⁴⁶ Noruega(1) ⁷⁶
Consumo de carne crua ou mal-cozida ou contato com carne crua	Alto Uruguai/RS; ⁴⁸ Goiânia/GO; ⁴⁶ França ⁷⁰ ; Itália ⁶⁸ ; Inglaterra(1); ⁶⁵ Iugoslávia; ⁴² Noruega(2) ⁶⁷ ; Europa (estudo multicêntrico) ⁶⁶ ; Sudão ⁸⁸
Consumo de produtos de carne suína	Alto Uruguai/RS; ⁴⁸ Erechim/RS ⁶² ; Itália; ⁶⁸ Noruega(2) ⁶⁷
Consumo de vegetais mal higienizados	Goiânia/GO; ⁴⁶ Noruega(2) ⁶⁷
Consumo freqüente de vegetais crus fora de casa	França ⁷⁰
Consumo de ovos crus ou mal-cozidos	Goiânia/GO ⁴⁶
Higiene inadequada das mãos e/ou utensílios de cozinha ao preparar os alimentos	França; ⁷⁰ Noruega(2) ⁶⁷
Utilizar os mesmos utensílios no preparo da carne e das saladas	Noruega(2) ⁶⁷
Manuseio do solo (jardim, horta, limpeza do pátio)	Alto Uruguai/RS; ⁴⁸ Goiânia/GO; ⁴⁶ Iugoslávia; ⁴² Europa (estudo multicêntrico) ⁶⁶
Beber água não fervida, ou não filtrada	Campos dos Goytacazes/RJ(2); ⁶⁴ Erechim/RS; ⁶² Colômbia; ⁶⁹ Turquia ⁴³
Contato com rio, lago, água de poço	Campos dos Goytacazes/RJ; ⁶⁴ Erechim/RS ⁶²
Contato com gatos	Alto Uruguai/RS; ⁴⁸ Campos dos Goytacazes/RJ; ⁶⁴ Fortaleza/CE ⁴⁴ ; Bolívia (crianças); ⁶³ Canadá; ⁶⁰ Cuba; ⁸⁵ Noruega(2) ⁶⁷
Contato com filhotes de gatos	Colômbia ⁶⁹ ; França ⁷⁰
Presença de roedores no domicílio	Alto Uruguai/RS ⁴⁸
Contato profissional com animais	Erechim/RS; ⁶² Holanda ⁷⁷
Ausência de coleta pública de lixo	Goiânia/GO ⁴⁶
Geofagia	Goiânia/GO ⁴⁶

1.2.3.3 Prevalência de toxoplasmose gestacional e congênita

O conhecimento sobre a prevalência de toxoplasmose nas mulheres em idade reprodutiva é essencial para o planejamento de programas de controle da toxoplasmose congênita, por dois aspectos principais: 1) como forma de avaliar a proporção de gestantes suscetíveis e 2) como uma das formas de estimar a incidência de toxoplasmose gestacional e de toxoplasmose congênita, dados necessários para avaliar o impacto da doença.⁸⁹

Em primeiro lugar, a alta prevalência de toxoplasmose nas mulheres em idade fértil torna mais favorável a relação custo-benefício de um programa de triagem pré-natal porque menos gestantes suscetíveis terão necessidade de repetir periodicamente os exames sorológicos durante a gestação. Por outro lado, se a prevalência de toxoplasmose é alta na população, o ambiente deve ser propício à contaminação, portanto, as gestantes suscetíveis apresentam maior risco de contrair a toxoplasmose, sendo a triagem uma forma de selecioná-las para receber um treinamento especial sobre prevenção primária. Em regiões de muito baixa prevalência, o grande número de gestantes suscetíveis – que necessitariam repetição periódica dos exames – tornaria economicamente inviável um programa de triagem pré-natal.⁹⁰⁻⁹⁴

Em segundo lugar, os dados sobre prevalência são úteis para estimar a incidência de toxoplasmose gestacional e, conseqüentemente, de toxoplasmose congênita, com a vantagem de poderem ser obtidos através de estudos transversais, mais fáceis de realizar que os estudos de coorte. Estas informações servem para avaliar o impacto da toxoplasmose congênita em determinada população, o que é importante nas decisões estratégicas.⁹²

Nem sempre o risco de toxoplasmose congênita é perfeitamente proporcional à prevalência de infecção por *T. gondii* na população, podendo sofrer um efeito paradoxal. Nas gestantes, o risco de adquirir a doença depende de vários fatores, como prevalência e

incidência na comunidade, oportunidades de contato com fontes de infecção nas diversas faixas etárias e número de mulheres em idade reprodutiva que ainda não adquiriu anticorpos. Se a prevalência é relativamente baixa, geralmente há grande quantidade de mulheres em risco, o que pode resultar em maior número de infecções durante a idade reprodutiva, a não ser em situações em que o risco de infecção seja extremamente baixo. Assim, considerando que a toxoplasmose só é transmitida verticalmente quando a infecção é adquirida durante a gestação, a incidência de toxoplasmose congênita pode ser similar em locais com epidemiologia totalmente diferente. Deve ser considerado, também, que o risco de infecção adquirida aumenta em mulheres que emigram de um local com frequência baixa de toxoplasmose para um lugar com alta frequência.³

Foram desenvolvidos modelos matemáticos que calculam a possível incidência de toxoplasmose gestacional a partir de dados como a prevalência de toxoplasmose na população, a quantidade de mulheres em idade reprodutiva ainda suscetíveis e os riscos de contaminação. Estes modelos requerem algumas condições, por exemplo, que os períodos de risco sejam sempre os mesmos para toda a população, que a IgG anti-*T. gondii* não se torne indetectável após longo tempo e que as populações não tenham alto índice de migração, entre outras.^{89, 95} Alguns trabalhos calcularam que a incidência de toxoplasmose congênita pode aumentar em períodos de transição, em que a prevalência na população está diminuindo ou aumentando no decorrer do tempo, e pode ser maior em lugares com prevalência média do que em lugares com prevalência tão alta que não haja praticamente nenhuma gestante suscetível.^{42, 96} Naoi e Yano⁹⁷ imaginaram duas situações hipotéticas: na primeira, em uma área onde não existisse o *T. gondii* a prevalência seria 0% e nenhum feto teria toxoplasmose. Na segunda, em uma área onde a contaminação do ambiente fosse tão intensa que a prevalência atingisse 100% antes da idade reprodutiva, também não haveria toxoplasmose congênita. As prevalências médias, em geral entre 25 e 80%, na prática são

as consideradas altas, pois são as que potencialmente trazem maior risco de toxoplasmose congênita.

O aumento da prevalência de imunidade em relação ao aumento da idade geralmente é interpretado como resultado do acréscimo de tempo necessário para que a pessoa tenha mais oportunidades de contaminação. Entretanto, principalmente em períodos de transição, em que as taxas de soroconversão estão aumentando ou diminuindo ao longo do tempo, esta situação pode ser modificada pelo efeito coorte, que reflete a mudança nas condições epidemiológicas da população, e não no risco individual ao longo da vida.^{76, 77, 98} De qualquer forma, além de avaliar a taxa geral de prevalência da soropositividade para toxoplasmose, é importante determinar sua distribuição nas diversas faixas etárias, e é imprescindível que cada região tenha o seu levantamento, pela grande variabilidade na epidemiologia da toxoplasmose.⁹⁹

Pelos motivos expostos, é importante realizar inquéritos sorológicos entre as mulheres em idade reprodutiva. Facilitados pela rotina dos exames de sangue durante o acompanhamento pré-natal, inúmeros estudos de soroprevalência tem sido realizados em gestantes, seja através de pesquisas no sangue coletado para outras finalidades, seja através de levantamentos em localidades onde a sorologia para toxoplasmose já é rotina no pré-natal.

As **tabelas 2 e 3** apresentam as prevalências de infecção pelo *T. gondii* em gestantes ou mulheres em idade reprodutiva de várias partes do Brasil e do mundo.

Não é um levantamento completo, pois a quantidade de trabalhos publicados é muito grande, mas pode ser útil comparar os dados locais com os de outras cidades, estados e países. Somente é apresentada a frequência da positividade para IgG anti-*T. gondii*, sem discriminar entre a imunidade remota e a infecção recente. Alguns dos trabalhos consultados trazem este dado, porém para comparar prevalências de infecções gestacionais

recentes, seria necessário conhecer a dinâmica da IgM nas pacientes estudadas e os métodos sorológicos que foram utilizados. A estimativa da prevalência a partir da positividade da IgG é mais fidedigna, devido à permanência desta resposta humoral e devido à menor variabilidade da sensibilidade e especificidade dos métodos em relação a esta imunoglobulina específica.¹⁰⁰

TABELA 2 – PREVALÊNCIA DE SOROPOSITIVIDADE PARA TOXOPLASMOSE EM GESTANTES OU MULHERES EM IDADE REPRODUTIVA - BRASIL

LOCAL	PREVALÊNCIA (%)	TAMANHO DA AMOSTRA	PERÍODO	REFERÊNCIA
Porto Alegre/RS	54,3	812	1992	NEVES ¹⁰¹
Porto Alegre/RS	61,1	10.468	1998-2003	REIS ¹⁰²
Porto Alegre/RS	59,8	1.261	2000	VARELLA ⁴⁵
Região do Alto Uruguai/RS	74,5	1.583	1997	SPALDING ¹⁰³
Estado de Alagoas	85,0	200	1993	SANTOS ¹⁰⁴
São Paulo/SP	67,6	481	1989	VAZ ¹⁰⁵
São Paulo/SP	68,8	1.246	1990	GUIMARÃES ⁷⁴
Campinas/SP	60,4	2.199	2001	STELLA ¹⁰⁶
Goiânia/GO	65,8	3.564	1997-1999	AVELINO ¹⁰⁷
Fortaleza/CE	71,5	186	1997	REY ⁴⁴
Cuiabá/MT	70,7	205	2000	LEÃO ⁴⁷
Londrina/PR	67,0	1.559	1996-1998	REICHE ⁸⁶
Uberlândia/MG	51,5	805	2002	SEGUNDO ⁸³

TABELA 3 – PREVALÊNCIA DE SOROPOSITIVIDADE PARA TOXOPLASMOSE EM GESTANTES OU MULHERES EM IDADE REPRODUTIVA – OUTROS PAÍSES

LOCAL	PREVALÊNCIA (%)	TAMANHO DA AMOSTRA	PERÍODO OU DATA DE PUBLICAÇÃO	REFERÊNCIA
Iugoslávia	77,4	1157	1988-1991	BOBIC ⁴²
Cuba	71,0	362	1991	MARTINEZ-SANCHEZ ⁸⁵
França	54,3	13.459	1995	ANCELLE ¹⁰⁸
Bélgica	53	2.986	1979-1982	FOULON ¹⁰⁹
Bélgica	49	8.492	1991-2001	BREUGELMANS ¹¹⁰
Polônia	43,7	2.656	1998-2000	PAUL ¹¹¹
Croácia	38,1	1.109	1999	PUNDA-POLIC ¹¹²
Áustria	36	---	2002	ASPOCK ¹¹³
Sudão	34,1	487	2000	ELNAHAS ⁸⁸
Eslovênia	34	21.270	1996-1999	LOGAR ¹¹⁴
Nova Zelândia	33,0	500	2000	MORRIS ¹¹⁵
Turquia	30,1	389	2004	ERTUG ⁴³
Espanha	28,6	16.362	1999	MUNOZ-BATET ¹¹⁶
Suécia (região sul)	25,7	14.093	1998	EVENGARD ¹¹⁷
Suécia (Estocolmo)	14,0	26.885	1998	EVENGARD ¹¹⁷
Itália (Lácio)	24,3	5.235	2000	PENTIMALLI ¹¹⁸
Austrália	23,0	308	2000	KARUNAJEEWA ¹¹⁹
Finlândia	20,3	16.733	1990-1991	LAPPALAINEN ¹²⁰
Singapura	17,2	120	1999	WONG ¹²¹
Estados Unidos (geral)	14,9	2.221	1999-2000	JONES ¹²²
Noruega	10,9	35.940	1992	JENUM ⁷⁶
Inglaterra	9,1	1.897	1999-2001	NASH ⁶⁵
Inglaterra	7,7	13.000	1997	ALLAIN ¹²³
Estados Unidos (Colorado)	3,0	120	1986	HERSHEY ¹²⁴

Além dos estudos de prevalência nas gestantes e/ou mulheres em idade reprodutiva, outros tipos de pesquisa podem ser utilizados para estimar a incidência de toxoplasmose gestacional e congênita.

Gras e colaboradores¹²⁵ propuseram uma forma de estimar a incidência de toxoplasmose gestacional também a partir do delineamento transversal, que consiste em analisar a IgM anti-*T. gondii* nas gestantes, procurando precisar a data da contaminação. Para isso é necessário conhecer bem a cinética da IgM com cada método sorológico utilizado, além de levar em conta situações especiais que possam alterar a duração da positividade da IgM anti-*T. gondii*, como a presença ou não de tratamento específico.

Estudos de coorte, com avaliação direta da taxa de soroconversão e da taxa de transmissão vertical, podem ser realizados a partir de programas de triagem pré-natal organizados de forma a possibilitar a coleta e a análise dos dados. Alguns estudos de coorte e muitos conhecimentos sobre os riscos de transmissão vertical provêm de programas europeus de triagem pré-natal, que serão abordados na seção 1.2.6.3.

Por último, estudos de triagem neonatal podem dar uma estimativa bem aproximada da incidência de toxoplasmose congênita. Esses estudos transversais avaliam a prevalência de toxoplasmose congênita nos recém-nascidos vivos, porém não detectam os casos de perdas fetais decorrentes da toxoplasmose. Com raras exceções, baseiam-se no achado da IgM anti-*T. gondii* no sangue capilar do recém-nascido e, embora as técnicas sorológicas sejam muito sensíveis, alguns casos em que o recém-nascido infectado apresenta IgM negativa não são detectados.¹²⁶⁻¹²⁸ Assim, a prevalência de toxoplasmose congênita nos recém-nascidos vivos também pode ser subestimada por esses estudos, que entretanto são muito úteis para avaliar o impacto da doença na população. Programas de triagem neonatal serão abordados na seção 1.2.6.4.

Na **tabela 4** listamos os resultados de alguns estudos que mediram a prevalência de toxoplasmose congênita pela pesquisa de IgM anti-*T. gondii*.

TABELA 4 – PREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA AVALIADA ATRAVÉS DA PESQUISA DE IGM ANTI- *T. GONDII* EM RECÉM-NASCIDOS

LOCAL	PREVALÊNCIA POR 10.000 RECÉM-NASCIDOS PESQUISADOS	CASOS / AMOSTRA	PERÍODO OU ANO DE PUBLICAÇÃO	PROCEDIMENTO	REFERÊNCIA
Uberlândia/MG	49	4 / 805	2002	Sangue do cordão	SEGUNDO ⁸³
Campos dos Goytacazes/RJ	20	5 / 2.550	1998	Papel filtro	BAHIA-OLIVEIRA ⁵¹
Alto Uruguai/RS	14	3 / 2.126	1998	Sangue periférico*	SPALDING ¹⁰³
Passo Fundo/RS	8	1 / 1.250	2002	Sangue do cordão	MOZZATTO ¹²⁹
Belo Horizonte/MG	6	20 / 30.000	2004	Papel filtro	QUEIROZ-ANDRADE**
Mato Grosso do Sul	6	85/138.978	2002-2005	Papel filtro	BOTELHO ¹³⁰
Brasil (vários estados)	5	195 / 364.130	1995-2002	Papel filtro	NETO ¹³¹
Poznan/Polônia	4,7	13 / 27.516	1996-1998	Papel filtro	PAUL ¹³²
Eslovênia	4	9 / 21.270	1996-1999	Sangue periférico*	LOGAR ¹¹³
Roma/Itália	4	4 / 9.730	1996-2000	Sangue do cordão	RICCI ¹³⁴
Ribeirão Preto/SP	3	5 / 15.162	2001	Papel filtro	CARVALHEIRO ¹³⁵
Barcelona/Espanha	3	5 / 16.362	1999	Sangue periférico*	MUÑOZ-BATET ¹¹⁶
Dinamarca	3	27 / 89.873	1992-1996	Papel filtro	LEBECH ¹²⁷
Nova Inglaterra/ EEUU	0,8	50 / 635.000	1986-1992	Papel filtro	GUERINA ¹²⁶
Suécia	0,7	3 / 40.978	1998	Papel filtro	EVENGARD ¹¹⁷
França	0,01	estimado	2001	Sangue periférico*	AMBROISE-THOMAS ¹³⁶

* Recém-nascidos de mães com toxoplasmose gestacional, identificadas por triagem pré-natal

** Comunicação pessoal

1.2.4 TOXOPLASMOSE E GESTAÇÃO

1.2.4.1 Transmissão vertical do *T. gondii*

Os estudos de Desmonts e Couvreur¹³⁷ na década de 70 do século XX estabeleceram as bases do que se conhece até hoje sobre a transmissão transplacentária do *T. gondii* na gestação humana. A toxoplasmose é transmitida ao conceito por via hematogênica, principalmente durante um período de parasitemia materna, sendo a infecção placentária uma etapa obrigatória entre a infecção materna e a fetal: o parasita invadindo primeiro o tecido placentário, multiplicando-se neste local, e eventualmente ganhando acesso à circulação fetal.³

Refletindo o papel da barreira placentária, existe um intervalo, que pode ser de dias ou semanas, entre a infecção placentária e a infecção fetal. É esta defasagem que permite a ação do tratamento, dificultando ou impedindo a transmissão vertical do *T. gondii*, mesmo tendo transcorrido certo tempo entre o início da infecção e o início do tratamento. A duração do período de defasagem não é completamente conhecida, mas supõe-se que seja maior no início da gestação e menor no final.^{3, 138} Apesar de alguns estudos não conseguirem mostrar que o tempo transcorrido entre a infecção materna e a realização da amniocentese exerça algum efeito sobre a taxa de positividade do diagnóstico fetal,¹³⁹⁻¹⁴¹ na prática a recomendação é de que não deve ser tentado o diagnóstico fetal antes de 4 semanas da infecção gestacional, pela possibilidade de diminuir a sensibilidade.^{142, 143}

Embora seja mais comum a passagem transplacentária do *T. gondii* ainda durante a fase aguda de parasitemia materna, pode acontecer que os focos placentários liberem parasitas na circulação fetal em uma fase mais tardia da infecção. Esta constatação é a base da recomendação de manter o tratamento durante toda a gestação, mesmo quando o diagnóstico fetal é negativo.^{3, 142}

O risco de transmissão vertical da toxoplasmose é de virtualmente zero quando a infecção ocorre algum tempo (não bem determinado) antes da gestação, e de 2% ou menos na época da concepção, permanecendo baixo até a 10^a semana, quando então sobe abruptamente, acompanhando o desenvolvimento da placenta, para atingir um risco de praticamente 100% quando a soroconversão materna ocorre após as 36 semanas.^{3, 144}

Entretanto, as infecções fetais nas primeiras semanas de gestação tendem a ser mais graves, como acontece em quase todas as infecções congênicas, sendo o grau de acometimento fetal decorrente em sua maior parte do estágio do desenvolvimento ontogênico.¹⁴⁵ Assim, mortes intrauterinas e lesões graves do sistema nervoso central são muito mais freqüentes quando a infecção fetal pelo *T. gondii* ocorre no primeiro trimestre.^{144, 146-148} O risco de retinocoroidite, no entanto, não sofre influência da idade gestacional, podendo haver acometimento retiniano severo nas infecções de final de gestação.¹⁴⁸

Um estudo em 603 pacientes com toxoplasmose adquirida na gestação estimou um risco de transmissão vertical de 6% no primeiro trimestre, 40% no segundo trimestre e 72% com 36 semanas de gestação. Considerando apenas as crianças com infecção congênita, o risco da criança apresentar alguma manifestação clínica até os 3 anos foi maior nas infecções de primeiro trimestre (61%), diminuiu no segundo trimestre (25%) e foi menor nas infecções de último trimestre (9%). Entretanto, fazendo o cálculo sem levar previamente em conta o resultado do diagnóstico fetal (ou seja, utilizando como denominador a taxa de soroconversão e não o número de infecções fetais confirmadas), o maior risco de manifestações clínicas (10%) ocorreu nas crianças cuja soroconversão materna foi entre 24 e 30 semanas. Isto porque neste período da gestação coincidem um risco de transmissão vertical já alto com um risco de manifestações clínicas ainda expressivo ($40\% \times 25\% = 10\%$), informação que pode ser útil para o aconselhamento. Os

autores comentam que, como 94% das gestantes haviam recebido tratamento, os resultados talvez não possam ser extrapolados para gestantes não tratadas. As manifestações clínicas (que incluíam calcificações intracranianas isoladas) não necessariamente resultaram em alterações funcionais.¹⁴⁴

Os clássicos trabalhos de Desmonts e Couvreur demonstraram que a toxoplasmose só é transmitida ao feto quando a infecção é adquirida pela mãe durante a gestação, e estudos posteriores confirmaram este fato.³ Entretanto, pode haver algumas exceções, tendo sido descritas raramente as seguintes situações: 1) transmissão vertical do *T. gondii* na gestante com infecção recente, mas adquirida antes da concepção;¹⁴⁹ 2) transmissão vertical da infecção já na fase crônica, em gestantes imunodeprimidas;¹⁵⁰ 3) a mesma situação, porém em gestantes imunocompetentes;¹⁵¹ e 4) transmissão na fase crônica, mas com evidências de reativação ou reinfeção.¹⁵² As hipóteses levantadas são de diferentes tipos de inóculo (ocistos x cistos teciduais), diferentes cepas, ou queda da imunidade. Couvreur¹⁵³ recomenda empiricamente que a mulher aguarde seis meses para engravidar após uma soroconversão toxoplásmica, e Desmonts³ recomendava que, quando os testes diagnósticos na gestante não puderem afastar a ocorrência da infecção no período periconcepcional, a mesma deve ser manejada como infecção gestacional.

Apesar dessas exceções, é importante ressaltar que, como regra geral, a presença de infecção por *T. gondii* prévia à gestação significa que a gestante não está em risco de dar à luz uma criança com toxoplasmose congênita. Esta observação fornece a base para as medidas preventivas que vem sendo adotadas há décadas na Áustria e na França, e que provaram ser efetivas.^{3, 136}

1.2.4.2 Gestação e imunidade celular

Conhecida como "paradoxo imunológico da gestação" é a observação de que o desenvolvimento do feto não é afetado, embora seus antígenos sejam reconhecidos com estranhos pela mãe. Há evidências de que o predomínio do perfil de imunidade TH2 seja o que assegura a manutenção da gestação, pois sendo o feto um tecido estranho ao organismo materno, a atividade citotóxica dos linfócitos TH1 poderia comprometer sua viabilidade. Efetivamente, foi demonstrado que na interface materno-fetal há produção de citocinas do perfil TH2.¹⁵⁴ A progesterona promove a produção de IL-4 e IL-5, sendo essencial para a implantação do embrião, exercendo também um papel na inibição da atividade das células NK, que na gestação normal encontram-se diminuídas na circulação periférica, embora concentradas no local onde o trofoblasto fetal invade a decídua. A dinâmica das células NK uterinas sugere que elas controlam a invasão placentária, mas sua regulação pela progesterona e pelas citocinas do perfil TH2 impede seu potencial efeito abortivo.^{155, 156}

As respostas TH2 inibem as respostas TH1 e permitem a sobrevivência fetal, mas também tornam as gestantes mais suscetíveis a infecções intracelulares.¹⁵⁷ Utilizando um modelo murino de toxoplasmose congênita, Thouvenin e colaboradores¹⁵⁸ demonstraram que a resposta TH2 tem importante papel no aumento da suscetibilidade à infecção por *T. gondii* na gestação, e que a IL-4 e outras substâncias presentes durante a gestação aumentam a passagem transplacentária do parasita.

Para alguns autores, também o fato de existir um aumento acelerado da prevalência de soropositividade para toxoplasmose nas mulheres em idade reprodutiva sugere que a gestação em si possa aumentar a suscetibilidade à infecção pelo *T. gondii*.¹⁰⁷ Esta situação ocorre em relação à listeriose, em que as gestantes apresentam risco 20 vezes maior de infecção do que a população em geral.¹⁵⁹ Avelino e colaboradores¹⁰⁷ realizaram um estudo

de coorte que incluiu 1114 mulheres inicialmente soronegativas para toxoplasmose, sendo 522 gestantes e 592 não gestantes, e ao final de 2 anos demonstraram que a gestação potencializou a soroconversão toxoplásmica na presença de outros fatores de risco. Em um estudo norueguês, a análise multivariada enfraqueceu a associação da prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* com a idade, mas manteve associação significativa entre a prevalência e o número de gestações. Os autores comentam, porém, que o fato poderia ser devido ao maior número de crianças na família, propiciando mais contato das mães com os fatores de risco.⁷⁶

1.2.4.3 Resposta humoral e diagnóstico na gestante

Em face da grande maioria das infecções por *T. gondii* serem assintomáticas, a identificação da toxoplasmose gestacional depende fundamentalmente de testes sorológicos realizados de forma sistemática.^{1, 3, 100} As respostas de imunoglobulinas específicas são observadas normalmente nas gestantes, pois, ao contrário do que ocorre com os linfócitos T, há muito pouca alteração nos linfócitos B durante a gestação.¹⁶⁰

Os anticorpos IgG surgem geralmente após uma a duas semanas da infecção pelo *T. gondii*, atingem um pico (normalmente em quatro a oito semanas, mas há casos em que o pico pode ser postergado até 36 semanas¹⁶¹), declinam de forma variável e permanecem positivos por toda a vida.¹⁰⁰ O teste de Sabin-Feldman, ou *dye test*, ainda é considerado o padrão ouro de sensibilidade e especificidade para a pesquisa de IgG anti-*T. gondii*, mas não é disponível comercialmente e não é automatizado.³ A imunofluorescência indireta pode ser usada para pesquisa da IgG anti-*T. gondii*, com boa sensibilidade e razoável especificidade (embora menor que a dos testes imunoenzimáticos), mas a titulação é errática e, portanto, não deve ser usada como método quantitativo.³ É preferível utilizar métodos que permitam a quantificação em unidades internacionais, podendo ser comparados entre si, como é o caso dos imunoenzimáticos, mais amplamente utilizados,

com boa sensibilidade e especificidade e disponíveis comercialmente, como MEIA, ELISA, ELFA e outros.³ O ideal é manter o mesmo método sorológico quando se está acompanhando a evolução sorológica em uma gestante ou em um lactente.¹⁶² Métodos como hemaglutinação indireta e fixação do complemento estão ultrapassados e não devem ser utilizados nem na gestante nem no recém-nascido.³

Os anticorpos IgM anti-*T. gondii* geralmente aparecem antes da IgG e declinam mais rapidamente, por isso, sua detecção é muito útil para determinar a presença de infecção recente. Em algumas pacientes, entretanto, esses anticorpos permanecem positivos por muito tempo, podendo prejudicar a estimativa da duração da infecção.¹⁰⁰ Em um estudo recente, 30% de 446 gestantes com toxoplasmose apresentaram IgM positiva por mais de dois anos pelo método ISAGA.¹²⁵ A resposta de IgM pode estar ausente em pacientes imunodeprimidas e raramente em pacientes imunocompetentes.¹⁰⁰ O método considerado padrão ouro é o IgM-ISAGA, por sua alta sensibilidade e especificidade, mas, apesar de disponível comercialmente, é utilizado apenas em alguns serviços de referência ou trabalhos de pesquisa, provavelmente por não ser automatizado.³ A imunofluorescência indireta para IgM anti-*T. gondii* está ultrapassada, devido à baixa sensibilidade e especificidade.^{3, 100} O método escolhido deve ser de captura, para evitar os falsos positivos causados pelo fator reumatóide.¹⁶³ Várias técnicas de enzimaensaio com captura, disponíveis comercialmente, apresentam boa sensibilidade e especificidade e são muito úteis no diagnóstico da toxoplasmose na gestante e no recém-nascido.¹⁶⁴

A IgA anti-*T. gondii* apresenta o mesmo padrão de fase aguda da IgM, geralmente com duração mais breve. Mas em muitos casos também pode persistir por mais de um ano, por isso não contribui mais do que a IgM para confirmar ou excluir uma infecção recente na gestação.^{100, 165}

O teste de avidéz de IgG anti-*T. gondii* pode discriminar uma infecção antiga de uma recente. O resultado é baseado na medida da avidéz (afinidade funcional) dos anticorpos pelos antígenos, que é baixa (ou fraca) logo após a infecção. No curso da resposta imune, a avidéz aumenta gradualmente por semanas ou meses. Dependendo do método, a avidéz alta (ou forte) significa que a infecção ocorreu há mais de 4 ou 5 meses, sendo assim particularmente útil nos primeiros meses da gestação, quando existe positividade de IgG e IgM anti-*T. gondii*, pois significará que a gestante adquiriu a infecção antes da gestação e, portanto, o feto não está em risco (a chance de haver transmissão vertical como resultado de infecção adquirida antes da gestação é praticamente nula – ver seção 1.2.4.1). Não haverá necessidade, portanto, de diagnóstico fetal nem de tratamento para a gestante, e esta poderá ser tranqüilizada. Uma baixa avidéz, entretanto, não significa necessariamente infecção recente, pois em alguns casos a avidéz pode permanecer baixa por mais de 12 meses. Nesses casos, a decisão terá de ser baseada em outros indicadores sorológicos.¹⁶⁶

O **anexo 2** contém o algoritmo utilizado no Serviço de Obstetrícia do Hospital São Lucas da PUCRS para a interpretação dos testes sorológicos na gestação.

1.2.4.4 Diagnóstico fetal

A reação em cadeia da polimerase (PCR – *polymerase chain reaction*), feita no líquido amniótico obtido por amniocentese, revolucionou o diagnóstico pré-natal da toxoplasmose, dispensando o uso de procedimentos mais invasivos no feto e evitando, nos países onde é permitido o aborto terapêutico, interrupções desnecessárias da gestação.¹¹ Até então, o diagnóstico fetal incluía, além da ecografia, exames do líquido amniótico e do sangue fetal obtido por cordocentese, e os métodos de isolamento do *T. gondii* eram a cultura de fibroblastos e a inoculação em camundongos, que levam de 3 a 6 semanas para dar o resultado.^{147, 167}

A primeira aplicação da PCR para detecção do *T. gondii* foi realizada no laboratório de Microbiologia e Imunologia da Universidade de Stanford, na Califórnia, Estados Unidos, em lisado celular preparado com material de pacientes com AIDS.¹⁶⁸ Logo após, no mesmo laboratório, a técnica foi realizada no líquido amniótico, incluindo material proveniente de pacientes que estavam sendo acompanhadas no Serviço de Medicina e Biologia Fetais do Instituto de Puericultura de Paris.¹⁶⁹

Em 1994, Hohlfeld e colaboradores,¹⁴² do Instituto de Puericultura de Paris, publicaram o primeiro trabalho em que foram comparadas as técnicas tradicionais de diagnóstico fetal com a PCR no líquido amniótico, obtendo resultados melhores (sensibilidade 97,4%, especificidade 100%) do que com os testes tradicionais. Romand e colaboradores¹³⁹ realizaram o seguimento deste trabalho e, com a mesma técnica, obtiveram sensibilidade de 64% e especificidade de 100%. A menor sensibilidade no último estudo deve-se provavelmente ao fato de que a mesma foi avaliada em comparação ao diagnóstico definitivo obtido pelo seguimento dos lactentes, que é o parâmetro mais fidedigno nos casos de toxoplasmose congênita subclínica.

Muitos trabalhos confirmaram a utilidade da PCR no diagnóstico fetal, ficando claro, entretanto, que a especificidade nem sempre atinge 100% e a sensibilidade nem sempre alcança cifras tão elevadas como nas casuísticas do Instituto de Puericultura de Paris.¹⁷⁰⁻¹⁷³ Como não existe uma técnica comercial padronizada de PCR, cada centro deve validar as etapas de sua técnica. As estatísticas de sensibilidade e especificidade são muito dependentes das condições técnicas e ainda é difícil fazer comparações.^{173, 174} A sensibilidade da PCR não parece ser afetada pelo tratamento prévio da gestante com espiramicina,^{139, 172, 175} mas a associação pirimetamina e sulfadiazina pode diminuir a positividade do *T. gondii* no líquido amniótico.¹⁷⁶ Romand e colaboradores¹³⁹ salientam a

importância da especificidade absoluta do diagnóstico pré-natal, a fim de evitar um tratamento potencialmente tóxico ou uma interrupção da gestação desnecessários.

No Brasil, já existem alguns centros com experiência em diagnóstico fetal da toxoplasmose.¹⁷⁷ Como a interrupção terapêutica da gestação é proibida por lei, a conduta após o diagnóstico de infecção fetal será sempre o tratamento, independentemente da idade gestacional. A literatura mostra bom prognóstico das infecções toxoplásmicas de início de gestação, na presença de tratamento e na ausência de alterações morfológicas fetais.¹⁷⁷⁻¹⁷⁹ (Ver a seção 1.2.4.5 a seguir.)

A ecografia fetal tem um papel muito importante no diagnóstico pré-natal. Excetuando-se a retinocoroidite, as manifestações de acometimento fetal geralmente são detectáveis, como dilatação ventricular, calcificações cerebrais, calcificações hepáticas, hepatomegalia, ascite, poliidrânio, espessamento pericárdico, entre outras. É indicada sua realização pelo menos mensal, nos casos de diagnóstico fetal negativo em que a gestante está recebendo apenas espiramicina. A hidrocefalia pode desenvolver-se em curto período de tempo, por vezes em menos de duas semanas.^{180, 181} A ressonância magnética fetal não contribui para a visualização das calcificações nem da dilatação ventricular, mas pode ser indicada em certos casos para afastar a presença de outra malformação neurológica.¹⁸⁰ A inoculação em camundongos ainda é considerada padrão ouro de especificidade (100%), mas só é realizada em alguns centros, geralmente em protocolos de pesquisa; o resultado é dado em seis semanas.¹⁷⁴

Considerando todas as técnicas e os diferentes estudos realizados, a sensibilidade do diagnóstico pré-natal varia entre 60 e 100% e a especificidade é superior a 90%. As indicações da amniocentese devem ser bem precisas. Na França, apesar de algumas diferenças entre os centros, os requisitos são basicamente: 1) soroconversão comprovada

durante a gestação; 2) pelo menos 14 semanas de amenorréia (18 segundo alguns centros); e 3) pelo menos quatro semanas após a data presumida da soroconversão.¹⁷⁴

Está sendo comercializado um método de PCR quantitativa em tempo real (LightCycler® – Roche Diagnostics) que permite a quantificação da carga parasitária. Utilizando esta técnica, um recente estudo francês em gestantes com infecção por *T. gondii* encontrou correlação da carga parasitária com a gravidade das lesões fetais, mesmo após controlar para idade gestacional. Os autores concluíram que o método é útil para avaliar a gravidade do acometimento fetal. A sensibilidade foi um pouco menor do que a da PCR qualitativa.¹⁸²

Provavelmente, o futuro próximo do diagnóstico das infecções por *T. gondii* repousará no desenvolvimento dos testes baseados na PCR em tempo real, que além de serem quantitativos, requerem menos manuseio e conseqüentemente menor risco de contaminação. Infelizmente, o uso dessas técnicas é atualmente limitado pelo alto custo do equipamento necessário.¹⁸³

1.2.4.5 Tratamento na gestação

Os objetivos do tratamento da infecção pelo *T. gondii* na gestação são evitar a transmissão vertical após a soroconversão materna ou, se já ocorreu a infecção fetal, limitar o dano causado pelo parasita.^{3, 139} Sendo detectada a soroconversão da gestante, é recomendado iniciar imediatamente o tratamento com espiramicina. A amniocentese é indicada entre a 18^a e 36^a semanas de gestação. Se o diagnóstico fetal for positivo, a espiramicina é substituída por pirimetamina e sulfadiazina. Se for negativo, a espiramicina é mantida até o final da gestação. Se a soroconversão for da 36^a semana em diante, o tratamento já é iniciado diretamente com pirimetamina e sulfadiazina, sendo dispensado o diagnóstico fetal, pela alta probabilidade de transmissão vertical quando a infecção materna é adquirida neste período.^{142, 143} Na Áustria, ao contrário, a conduta é sempre

iniciar com pirimetamina e sulfadiazina – após a 16^a semana – só trocando para espiramicina se o diagnóstico fetal for negativo.¹¹⁴

As bases do que se conhece hoje sobre o tratamento da toxoplasmose na gestação, como a ação da espiramicina na placenta diminuindo o risco de transmissão vertical, a ausência de seu efeito direto sobre a infecção fetal já estabelecida e o efeito da associação pirimetamina e sulfadiazina sobre as seqüelas da toxoplasmose congênita, foram fornecidas pelos estudos de Desmonts e Couvreur.¹⁴⁶ Seu trabalho publicado em 1984 incluiu uma coorte de 542 gestantes com soroconversão confirmada durante a gestação. O diagnóstico de infecção fetal era feito após o nascimento ou perda fetal, por inoculação da placenta em camundongo. No período do estudo, que incluiu casos anteriores às medidas legais sobre triagem pré-natal na França, ainda eram relativamente comuns pacientes com toxoplasmose gestacional não tratada. Em 321 gestantes foi possível determinar o trimestre da soroconversão. As taxas de transmissão vertical foram calculadas para cada trimestre, conforme a ausência ou presença do tratamento com espiramicina durante a gestação, e foram as seguintes, para gestantes não tratadas e tratadas, respectivamente: primeiro trimestre, 25% e 8%; segundo trimestre 54% e 19%; terceiro trimestre 65% e 44%. Considerando toda a gestação, as gestantes não tratadas apresentaram taxa de transmissão vertical de 50% e as tratadas de 19%, sendo esta diferença estatisticamente significativa. Entretanto, quando a amostra foi estratificada, os números em cada casela tornaram-se pequenos, perdendo a significância estatística quando o efeito do tratamento foi controlado para o efeito da idade gestacional. Neste mesmo estudo, os autores observaram que a espiramicina não exercia nenhuma proteção sobre as manifestações clínicas dos recém-nascidos já infectados. Só posteriormente surgiram os primeiros estudos sobre o emprego da associação pirimetamina e sulfadiazina.^{184, 185}

Esta coorte continuou a ser estudada no Instituto de Puericultura de Paris, com ampliação do grupo de gestantes tratadas, à medida em que o diagnóstico fetal tornava-se mais rotineiro. Os clássicos trabalhos de Hohlfeld e Daffos sobre diagnóstico fetal e tratamento na gestação, os dois primeiros antes do advento da PCR^{147, 167} e o terceiro após o advento da PCR¹⁴², embora sejam até hoje referência para o tratamento da toxoplasmose na gestante, não incluíram um grupo expressivo de gestantes não tratadas para comparação, além de conterem basicamente as gestantes encaminhadas a um serviço de referência para diagnóstico fetal – talvez excluindo gestantes que optaram previamente pela interrupção da gestação e gestantes que soroconverteram muito no final da gestação, e talvez incluindo gestantes que foram encaminhadas porque apresentavam manifestações clínicas ou devido a anormalidades detectadas na ecografia fetal. Assim, à medida que se tornava cada vez mais evidente que o tratamento na gestação diminuía a transmissão vertical e o acometimento fetal, ficava cada vez mais difícil realizar um ensaio clínico randomizado com grupo controle sem tratamento, em número suficiente para comprovar estatisticamente a eficácia do tratamento pré-natal.

Nas casuísticas de diagnóstico fetal e tratamento pré-natal, as infecções detectadas no primeiro trimestre perfazem 80% de todas as gestantes tratadas¹⁴¹. A maior parte das gestantes não tratadas pertencem ao grupo das que se soroconverteram no último trimestre, não tendo tido tempo de iniciar o tratamento, muitas vezes tendo sido identificadas apenas no momento do parto. Este fato pode causar vieses de confundimento para os dois lados: se o trimestre de soroconversão não for levado em conta, o resultado pode tender para o lado da eficiência do tratamento na diminuição da transmissão vertical, pois as infecções de último trimestre, que possuem risco muito mais alto de transmissão vertical, estarão associadas à ausência de tratamento. Por outro lado, quando a análise é ajustada pela idade gestacional na soroconversão, o fato de que uma minoria de gestantes que se infectaram no

primeiro e segundo trimestres não receberam tratamento pode fazer com que a análise dependa praticamente apenas do efeito do tratamento no último trimestre, o que talvez não possa ser generalizado para toda a gestação.¹⁸⁶

Além dos vieses de seleção e confundimento descritos acima, outros vieses inerentes aos estudos observacionais que procuram avaliar o efeito do tratamento pré-natal na toxoplasmose congênita foram descritos por Rodolphe Thiébaud.^{187, 188} Um viés de confundimento por indicação pode ocorrer quando o tratamento é prescrito por motivos associados ao desfecho de interesse; por exemplo, é mais provável que seja prescrito tratamento para as gestantes com maior risco de transmissão vertical ou com maior risco de anormalidades fetais. Podem ocorrer também vieses de classificação (relacionados à exatidão do diagnóstico de toxoplasmose congênita), vieses de perda seletiva (gestantes ou lactentes que não completam o seguimento), e outros.

Um estudo multicêntrico publicado em 1999, incluindo quatro países europeus, não conseguiu comprovar o efeito do tratamento da toxoplasmose na gestação na diminuição da transmissão vertical, mas encontrou um efeito estatisticamente significativo sobre a redução das gravidade das seqüelas da toxoplasmose congênita observadas nas crianças com um ano de idade. Para este cálculo, os autores utilizaram como denominador não o número de casos de toxoplasmose congênita, mas o número de casos de soroconversão materna comprovada, provavelmente para aumentar o poder estatístico. Assim, o efeito encontrado pode ter sido uma combinação da diminuição de soroconversão com a diminuição de seqüelas graves, mas de qualquer forma o resultado é relevante, por demonstrar o efeito benéfico do tratamento.¹⁸⁹

Publicada também em 1999, uma revisão sistemática da Colaboração Cochrane teve ampla repercussão na comunidade médica, provocando grande perplexidade; os autores revisaram 2.591 trabalhos sobre tratamento da toxoplasmose na gestação e

selecionaram nove que atendiam aos critérios de inclusão, sendo que em nenhum deles havia grupos randomizados para comparação entre tratadas e não tratadas. Cinco desses estudos mostraram efeito estatisticamente significativo do tratamento, enquanto os outros quatro não mostraram redução da infecção fetal nos grupos tratados. A conclusão foi que não estava claro se o tratamento da toxoplasmose na gestação reduziria o risco de toxoplasmose congênita, e visto que a triagem pré-natal é dispendiosa, não deveria ser introduzida nos países que ainda não a realizavam, a não ser através de estudos randomizados. Entretanto os autores acrescentavam: "não estamos afirmando que não há benefícios, mas que os estudos até o momento são insuficientes para avaliar se os possíveis benefícios sobrepujam os riscos potenciais das drogas para o feto".^{190, 191}

Interessantemente, os mesmos autores desta revisão sistemática, em trabalho publicado em 2002,¹⁷⁹ revisaram as condutas na toxoplasmose gestacional do início da gestação, motivados pelo fato de que na França estas divergiam muito entre a interrupção imediata da gestação e a tentativa de diagnóstico fetal e tratamento. As conclusões deste trabalho são muito interessantes para o Brasil e outros países onde seja proibido por lei o aborto terapêutico. Estudando 360 casos de soroconversão toxoplásmica nas primeiras 8 semanas de gestação, os autores observaram que houve 15 abortamentos espontâneos, 9 interrupções (6 por decisão dos pais sem lesões observadas, 2 por trissomia e cardiopatia e um por hidrocefalia com etiologia toxoplásmica confirmada) e 336 resultaram em recém-nascidos vivos, 7 deles com toxoplasmose congênita, sendo 4 com infecção subclínica, 2 com retinocoroidite periférica e um com calcificações cerebrais, todos com desenvolvimento normal ao seguimento médio de 70 meses. Duas mães haviam recebido pirimetamina e sulfadiazina e cinco haviam recebido espiramicina durante toda a gestação. Os autores frisaram que é importante esclarecer os pais sobre o baixo risco de infecção fetal nesta fase da gestação e sobre o bom prognóstico dos casos de infecção na ausência

de anomalias fetais à ecografia, concluindo com a recomendação de não interromper a gestação a não ser na presença de anormalidades ecográficas, e manejar as soroconversões toxoplásmicas das primeiras semanas da mesma forma que as infecções mais tardias (ou seja, com tratamento, diagnóstico fetal e seguimento ecográfico).

A dificuldade de demonstração estatística tem sido o argumento utilizado pelos autores que questionam a eficácia do tratamento pré-natal da toxoplasmose. Vários estudos colaborativos incluindo diferentes países europeus não foram conclusivos. Um estudo com 554 gestantes em Lyon não detectou efeito significativo do tratamento pré-natal, mas os autores reconheceram que o tamanho da amostra foi insuficiente para excluir um efeito clinicamente importante, assim como a diferença entre o efeito do tratamento iniciado antes e após quatro semanas de infecção.¹⁴⁰ Outros estudos de coorte retrospectiva¹⁴⁸ e um de coorte prospectiva que utilizou uma ampla base de dados (EMSCOT – *European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis*),¹⁴¹ embora incluindo diversos centros, o que aumentou a amostra e possibilitou avaliar diferentes tipos de condutas com as gestantes (inclusive ausência de tratamento na gestação, nos países que realizam programas de triagem neonatal), não conseguiram comprovar nem excluir o efeito do tipo ou do tempo de início do tratamento da toxoplasmose gestacional sobre a taxa de transmissão ou sobre as manifestações clínicas da toxoplasmose congênita.

Thulliez¹⁸⁶ assinala que a demora em iniciar com a pirimetamina e sulfadiazina em alguns casos talvez seja um dos fatores para a ausência de significância estatística dos estudos sobre o efeito do tratamento na toxoplasmose gestacional. Este autor comenta que a maioria dos trabalhos incluem casos atendidos antes do advento da PCR no líquido amniótico, quando o resultado do diagnóstico fetal era muito demorado. Na presença de infecção fetal, recomenda o tratamento contínuo com pirimetamina e sulfadiazina, pois os intervalos intercalados com espiramicina utilizados anteriormente poderiam levar a

reativação dos parasitas nos tecidos fetais. Conclui afirmando não há dados convincentes que contra-indiquem o tratamento na gestação.

Observa-se assim o grande dilema atual em torno do tratamento pré-natal da toxoplasmose, embora o mesmo seja utilizado há mais de 30 anos. Importante sobretudo para países que estão estudando a conveniência de introduzir uma estratégia oficial de controle da toxoplasmose congênita, pois a eficácia do tratamento na gestação é parte fundamental da justificativa para os programas de triagem pré-natal. Embora não existam ensaios randomizados que mostrem com evidências indiscutíveis os benefícios do tratamento pré-natal, questões éticas impedem este tipo de estudo, porque as evidências existentes já tornam eticamente incorreta a criação de um grupo controle sem tratamento. Estes motivos, e o fato da toxoplasmose congênita ser um evento raro sob o ponto de vista estatístico, motivam estudos observacionais multicêntricos.¹⁹³

Atualmente está em curso o projeto SYROCOT (*Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis*),^{193, 194} uma revisão sistemática do tipo análise individual, com objetivo de determinar o efeito do tempo e do tipo de tratamento pré-natal no risco de transmissão vertical e nas manifestações clínicas da toxoplasmose congênita. Neste tipo de revisão sistemática os pacientes são recrutados de coortes já existentes, mas os dados de cada paciente são reunidos em um mesmo banco para a análise, o que permite estandardizar as variáveis e aplicar o mesmo método de análise a todos os casos incluídos. O estudo busca identificar fatores que expliquem a variabilidade do efeito do tratamento da toxoplasmose gestacional. Onze países europeus e três americanos (Brasil, Colômbia e Estados Unidos) estão participando deste estudo.

É possível que estudos com modelos animais adequados, mais semelhantes ao ser humano do que os camundongos, aliadas a técnicas avançadas de detecção do *T. gondii*, também contribuam para esclarecer algumas dúvidas sobre o tratamento da toxoplasmose

gestacional. Duas publicações recentes descreveram estudos com macacas Rhesus. As macacas foram infectadas no segundo trimestre da gestação (equivalente ao da gestação humana), e as infecções fetais foram detectadas por PCR e inoculação em camundongos. No primeiro estudo o tratamento das macacas foi realizado com espiramicina, e concentrações desta foram encontradas na placenta, no líquido amniótico e nos tecidos fetais exceto no cerebral, comprovando que a espiramicina atinge níveis terapêuticos na placenta e no feto mas não atravessa a barreira hemato-encefálica, pelo menos no cérebro sem grande reação inflamatória.¹⁷⁵ No segundo estudo o tratamento foi feito com pirimetamina e sulfadiazina, e foram detectadas altas concentrações de pirimetamina no tecido cerebral dos fetos, assim como em outros tecidos.¹⁷⁶ Nos dois estudos, o *T. gondii* não mais foi detectado nas placentas nem nos recém-nascidos após o tratamento durante a gestação, o que leva à conclusão de que tanto a espiramicina como a associação pirimetamina-sulfadiazina são altamente eficazes no tratamento pré-natal da toxoplasmose congênita.

A conclusão desta seção pode ser feita com as palavras de Walter Foulon:¹⁹⁵ "a investigação do efeito do tratamento pré-natal da toxoplasmose não foi baseada em ensaios clínicos randomizados, assim, teremos de confiar em estudos observacionais de alta qualidade. São necessários um ceticismo saudável e a avaliação cuidadosa de todos os estudos. Enquanto esperamos pelos resultados de futuras pesquisas, recomendamos o tratamento com espiramicina logo após a infecção materna e o tratamento com pirimetamina e sulfadiazina quando for detectada a infecção fetal."

1.2.5 TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

1.2.5.1 Quadro clínico

Ao nascimento, menos de 10% dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita apresentam anormalidades ao exame físico. Destes, 1/3 mostram um quadro clínico generalizado, comum a outras infecções congênitas, que inclui hepatomegalia, esplenomegalia, icterícia, lesões purpúricas, síndrome nefrótica e outras alterações sistêmicas. Na grande maioria dos casos, associam-se as anormalidades neurológicas e oculares típicas. Em 2/3 dos bebês sintomáticos, o quadro é mais localizado no sistema nervoso central e na retina, com microcefalia ou hidrocefalia, convulsões, calcificações cerebrais, retinocoroidite, microftalmia e catarata. Quando não eram tratados, quase todos os pacientes sintomáticos no período neonatal evoluíam para retardo mental e perda visual. Era também descrita deficiência auditiva.^{3, 196-198}

A grande maioria (mais de 90%) dos recém-nascidos infectados pelo *T. gondii*, entretanto, apresenta exame físico normal logo ao nascer. Porém, quando submetidos a investigação clínica mais completa, em torno de 40% deles mostram alguma alteração: retinocoroidite, calcificações intracranianas, dilatação dos ventrículos cerebrais, alterações liquóricas.^{3, 126, 196, 199} Na seção 1.2.4.1 foi abordada a relação da gravidade das manifestações clínicas com a época da infecção materna. Os 60% que não apresentam alterações à investigação diagnóstica (a não ser sorologia positiva) são considerados como tendo infecção subclínica.^{3, 126, 198, 199} Como visto na seção 1.2.4.1, na maior parte dos casos de infecção subclínica ou de retinocoroidite isolada, a infecção materna ocorreu nas últimas semanas de gestação. Raramente, bebês infectados em final de gestação podem apresentar quadros graves, fulminantes, de infecção generalizada.^{3, 200}

Entretanto, mesmo os lactentes com toxoplasmose subclínica, se não tratados precocemente, poderão desenvolver manifestações neurológicas ou oculares, no decorrer de meses ou anos, que podem levar a sérias deficiências visuais e neurológicas.^{196, 197, 201-203} Na série de Wilson e colaboradores,²⁰¹ 11 entre 13 recém-nascidos com infecção subclínica desenvolveram seqüelas tardias.

1.2.5.2 Diagnóstico

O diagnóstico sorológico no recém-nascido é feito pela presença de IgM ou IgA anti-*T. gondii*, que não atravessam a barreira placentária. É essencial utilizar um método sensível, mas mesmo assim a IgM e IgA podem ser negativas em uma pequena proporção de recém-nascidos. Na seção 1.2.4.3 foram feitas considerações sobre sensibilidade e especificidade dos métodos sorológicos, que são válidas para o recém-nascido. O papel da IgA anti-*T. gondii* no diagnóstico do recém-nascido é controverso, alguns autores indicando sua pesquisa, outros considerando que a mesma não acrescenta sensibilidade à pesquisa da IgM anti-*T. gondii*.^{100, 204} Quando essas imunoglobulinas são negativas no recém-nascido, o diagnóstico sorológico pode ser feito pelo aumento gradual da concentração de IgG anti-*T. gondii* após a diminuição dos anticorpos maternos presentes no soro do lactente, ou por um método que permita distinguir entre os anticorpos maternos e os do lactente. Uma técnica de *western-blot* com esta finalidade já é disponível comercialmente.²⁰⁵ Logo após o nascimento, o recém-nascido não infectado pode apresentar IgG anti-*T. gondii* de origem materna em concentração maior do que a da própria mãe, devido à transmissão placentária ativa, por isto, a mesma não deve ser encarada como confirmação de infecção congênita.²⁰⁶ A persistência da IgG anti-*T. gondii* após os 11 ou 12 meses de idade confirma a presença da infecção no lactente, sendo considerada como padrão ouro para o diagnóstico da toxoplasmose congênita.^{3, 207}

A PCR no líquido amniótico e as outras formas de diagnóstico fetal, quando foram positivas, são consideradas como diagnóstico de toxoplasmose congênita. A PCR no líquido, urina e sangue já vem sendo testada, podendo ser incluída na avaliação do recém-nascido, mas ainda não existem referências sobre sensibilidade e especificidade do método nessas aplicações.¹⁶⁶ A avaliação completa inclui ainda um exame de imagem (tomografia computadorizada ou ecografia cerebral), exame oftalmológico completo (idealmente com oftalmoscopia indireta), hematologia e enzimas hepáticas. O exame de líquido geralmente é indicado somente quando existe alteração ao exame de imagem ou alguma anormalidade neurológica, mas alguns autores o indicam em qualquer circunstância. A investigação complementar é importantíssima e tem dupla função: diagnóstico e avaliação do grau de acometimento clínico.^{3, 208-210}

1.2.5.3 Tratamento

Desde a década de 50 do século XX é utilizada a associação pirimetamina e sulfadiazina para o tratamento da toxoplasmose, incluindo a forma congênita. Alguns centros da Europa utilizam a sulfadoxina em lugar da sulfadiazina.²¹⁰⁻²¹² Para minimizar os efeitos anti-fólicos da pirimetamina é acrescentado o ácido fólico, que, ao contrário do ácido fólico, não anula o efeito dos medicamentos sobre o parasita.²¹³ O tratamento deve ser mantido por um ano no mínimo (alguns centros na França testam o tratamento por dois anos). Devido à ocorrência freqüente de neutropenia e eventual plaquetopenia, é necessário controlar periodicamente o hemograma, e os efeitos colaterais da sulfadiazina também devem ser monitorizados clinicamente e com exames de urina.^{214, 215} Na presença de retinocoroidite ativa ou proteinorraquia acima de 1g/dl é recomendada a corticoterapia.^{3, 213}

Atualmente é inquestionável que todos os recém-nascidos com toxoplasmose congênita devem ser tratados, mesmo aqueles com infecção subclínica.^{3, 143, 209-217} Esta indicação baseia-se no fato de que os medicamentos reduzem o risco de reativação da

doença em épocas posteriores da vida. Há evidências de que os cistos se rompem e os parasitas transformam-se em taquizoítos a intervalos regulares e transitórios, podendo causar principalmente lesões oculares (novas, ou reativação das já existentes).^{211, 218}

O tratamento deve ser iniciado o mais precocemente possível, assim que confirmado o diagnóstico. Atualmente esta opinião também é unânime entre os especialistas no assunto.^{3, 143, 209-217} Tendo em vista a grande proporção de recém-nascidos com exame físico normal, evidencia-se a necessidade de algum tipo de triagem sorológica para que seja possível o diagnóstico e o tratamento precoce.^{3, 143, 209}

Uma controvérsia que ainda existe na literatura especializada é sobre o início do tratamento nos casos em que o diagnóstico sorológico ainda é duvidoso e o recém-nascido é totalmente assintomático. Alguns autores recomendam aguardar a evolução da curva de IgG anti-*T. gondii* ou utilizar um método que diferencie os anticorpos do lactente dos maternos e somente iniciar o tratamento nos casos confirmados.^{143, 210, 212, 216, 219} Outros recomendam iniciar o tratamento empiricamente e suspendê-lo se o diagnóstico for negativo.^{209, 211, 213, 217} Esta última conduta é complicada pela possibilidade de ser feito desnecessariamente um tratamento muito tóxico, que requer freqüentes coletas de sangue para controle, a também pelo fato de que a associação pirimetamina e sulfadiazina reduz a produção de IgG específica pelo lactente, anulando o parâmetro diagnóstico, que seria a elevação da curva de IgG específica. Villena²¹², utilizando uma técnica que permite distinguir os anticorpos maternos e do lactente, consegue determinar o diagnóstico da toxoplasmose congênita dentro dos três primeiros meses de vida, em 96% a 98% dos casos.

Após a suspensão do tratamento, ocorre o chamado "rebote sorológico", em que a IgG anti-*T. gondii* apresenta elevação geralmente muito acentuada, por vezes acompanhada de positividade da IgM anti-*T. gondii*. Não há indicação de recomeçar o tratamento, a não ser que haja sinais de reativação clínica. Eventualmente, coincidem um rebote sorológico e

uma reativação de retinocoroidite, mas não foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre os dois eventos.²²⁰⁻²²³

1.2.5.4 Prognóstico e acompanhamento

À medida em que foram surgindo os relatos de melhor evolução dos lactentes tratados, principalmente com início precoce e cursos mais prolongados de pirimetamina e sulfato, tornou-se evidente o melhor prognóstico desses pacientes em relação aos controles históricos. Assim, embora nunca tenha sido realizado um ensaio clínico randomizado, foi demonstrado o efeito benéfico do tratamento comparando pacientes com toxoplasmose congênita tratados e controles históricos não tratados.^{3, 198, 199, 214, 116, 224} Várias séries de pacientes foram descritas demonstrando particularmente a evolução favorável de aspectos neurológicos,^{225, 226} oftalmológicos,^{217, 227-229} e auditivos.²³⁰ Em Chicago, está em andamento um estudo colaborativo sobre o tratamento da toxoplasmose congênita, que tem fornecido importantes informações sobre o assunto.^{214, 225-227, 230}

O tratamento não elimina completamente a possibilidade do surgimento de novas lesões de retinocoroidite ou reativação das já existentes, ao longo da vida. Por isso, todas as crianças com toxoplasmose congênita devem ser acompanhadas com avaliações oftalmológicas periódicas.²²⁷ Além disso, o seguimento deve incluir avaliações clínicas e laboratoriais minuciosas, incluindo todos os aspectos que possam estar relacionados à evolução da toxoplasmose congênita.^{210, 214}

1.2.6 ESTRATÉGIAS DE CONTROLE DA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

1.2.6.1 Prevenção da toxoplasmose congênita: estratégias

A prevenção da toxoplasmose congênita, ou de suas seqüelas, é possível através de quatro etapas, que podem ser utilizadas isoladamente ou combinadas: 1) identificar as mulheres suscetíveis e limitar o risco de contaminação durante a gestação (prevenção

primária); 2) identificar o mais precocemente possível a toxoplasmose gestacional, evitando ou limitando a transmissão placentária do *T. gondii*, pelo tratamento da gestante (prevenção secundária); 3) sendo detectada a soroconversão materna, realizar o diagnóstico da infecção fetal e tratar o feto; e 4) identificar, diagnosticar e tratar os recém-nascidos com toxoplasmose congênita, mesmo os assintomáticos, para prevenir as seqüelas tardias (as duas últimas etapas consideradas por alguns como "prevenção terciária"). Portanto, a prevenção da toxoplasmose pode ser feita antes, durante e depois da gestação.²³¹

1.2.6.2 Programas de prevenção primária

Sendo a prevenção da toxoplasmose congênita um processo em etapas, a primeira delas é a redução do risco de contaminação das gestantes através de medidas educativas, que devem ser aplicadas antes e durante a gestação.⁹¹ O programa de prevenção primária deve ser adaptado a cada região, levando-se em conta os índices de prevalência, hábitos de vida da população, principais fatores de risco locais, prioridades, custos, recursos disponíveis e outras características regionais.²³²

Levantamentos feitos na França mostram notável redução de soropositividade em gestantes nas últimas décadas, embora permaneçam diferenças marcantes entre diversas regiões. Essa redução tem sido atribuída principalmente ao programa de prevenção implantado por lei em 1978, que tornou obrigatórios a triagem sorológica sistemática das mulheres não imunes por ocasião do exame pré-nupcial e pré-natal e o seguimento sorológico das gestantes, e recomenda informar todas as gestantes soronegativas sobre as medidas de prevenção da infecção.²³³ O ideal seria ministrar a educação antes da primeira gestação, pois a mudança no comportamento deve ocorrer desde a concepção até o nascimento.²³⁴ Um estudo de caso-controle mostrou que o risco de soroconversão durante a gestação era nove vezes menor nas mulheres que haviam recebido informações corretas.⁷⁰

A prevenção primária não requer necessariamente que se disponha da sorologia, pois pode ser aplicada indiscriminadamente a todas as gestantes, em locais ou situações onde não seja possível realizar os testes sorológicos.²³⁵ Entretanto, a triagem sorológica antes ou durante a gestação pode identificar o grupo de mulheres suscetíveis, permitindo que estas sejam expostas a um programa educativo mais intenso de prevenção primária.²³⁶ Alguns autores sugerem identificar as mulheres imunes antes de qualquer gestação. Sobretudo em regiões de alta endemicidade, esta estratégia permitiria evitar a repetição inútil de exames, além de concentrar posteriormente as medidas preventivas nas mulheres suscetíveis, potencialmente em risco.²³¹

Alguns trabalhos identificaram melhor qualidade de comportamentos preventivos nas gestantes quando a informação era fornecida com suporte escrito.^{70, 233, 234} Foulon e colaboradores,²³⁶ em um período de 7 anos, encontraram redução de 63% nos casos de soroconversão durante a gestação como consequência de um programa de prevenção primária na Bélgica, junto com a triagem sorológica pré-natal. Observaram, entretanto, que a soroconversão pode ocorrer a despeito da aplicação das recomendações; portanto, as pacientes devem ser informadas de que as medidas preventivas reduzem, mas não eliminam completamente, o risco de infecção por *T. gondii* durante a gestação. Na última publicação sobre esta mesma coorte, Breugelmans e colaboradores¹¹⁰ atribuem o grande decréscimo na taxa de soroconversão durante a gestação, de 1,43 % em 1982 para 0,09 % em 2001, ao fato de realizarem a prevenção primária junto com a triagem sorológica nas gestantes. Segundo estes autores, o fato de realizar a sorologia periódica estimula as gestantes a seguirem as medidas de prevenção recomendadas.

Embora a prevenção primária seja teoricamente a maneira mais simples e econômica de prevenir a toxoplasmose congênita, existem dificuldades em sua operacionalização. Wallon e colaboradores²³⁷ encontraram associação significativa entre a

qualidade dos comportamentos preventivos da gestante e o seu nível de instrução. Houve tendência nas gestantes de categorias sociais mais baixas de recorrerem mais tardiamente ao acompanhamento pré-natal, quando resta menos tempo para fazer a prevenção primária e torna-se mais difícil a interpretação dos resultados sorológicos, dificultando também as decisões quanto à prevenção secundária. Mostraram também que, apesar dos programas instituídos por lei, ainda havia muitas falhas na educação das gestantes. Enfatizaram que os médicos, que são a principal fonte de informação, devem ser sensibilizados quanto ao seu papel primordial na educação de suas pacientes em risco, e devem cuidar para que a informação seja bem compreendida e fornecida de modo repetido durante a gestação.

Alguns estudos mostram que frequentemente as gestantes não são aconselhadas de forma completa e adequada.^{47, 238, 239} Além disso, por melhor que seja a forma de fornecer as instruções, não é fácil reduzir o risco de contaminação da gestante, pois isto demanda mudança no estilo de vida a fim de evitar os múltiplos meios de transmissão do *T. gondii*.⁹¹

Os casos de toxoplasmose congênita entre gestantes previamente soropositivas para toxoplasmose levanta a possibilidade de recontaminação, talvez com outra cepa de *T. gondii*, por isso é aconselhável que todas as gestantes, independentemente do seu estado imune, recebam orientações de prevenção primária.¹⁵¹ Entretanto, sob o ponto de vista de saúde pública, o risco encontra-se nas gestantes suscetíveis, e são estas que devem ser escolhidas como alvo dos programas preventivos mais intensivos.^{3, 153}

1.2.6.3 Programas de triagem pré-natal

A Áustria foi o primeiro país a tornar a triagem sorológica pré-natal para toxoplasmose uma obrigação legal, em 1974, seguida pela França, em 1978.^{108, 114, 143, 153,}

²⁴⁰ Essas decisões foram baseadas na situação então existente naqueles países, cujas populações apresentavam alta prevalência de toxoplasmose (na França >80%) mas um

número ainda substancial de mulheres em idade reprodutiva suscetíveis, resultando em incidência elevada de toxoplasmose congênita. Outros países europeus, como Bélgica¹³⁸ e Eslovênia (este com triagem compulsória desde 1995)¹³³ também mantêm programas de triagem pré-natal. Na França, um decreto de 1992 determinou algumas medidas que ainda não eram realizadas: sorologia para *T. gondii* em todas as mulheres em consulta pré-nupcial; realização da sorologia no início do acompanhamento pré-natal para todas as gestantes, a não ser na presença de um documento escrito que identifique a gestante como previamente imune; e repetição mensal da sorologia até o final da gestação nas gestantes soronegativas.^{136, 241} A repetição da sorologia é feita mensalmente apenas na França, enquanto outros países realizam a sorologia a intervalos de 2 meses, como na Áustria,¹¹⁴ ou trimestralmente.^{133, 138, 242}

Em muitos países, inclusive no Brasil, existem iniciativas pontuais em triagem pré-natal para toxoplasmose, ou sob forma de projetos de pesquisa, ou como programas piloto, geralmente com base municipal, ou em alguma instituição, ou em clínicas e consultórios privados.^{42-47, 69, 88, 117, 133, 138, 242, 243} Segundo alguns autores, não é fácil organizar e manter o bom funcionamento desses programas, sem dispor de alguns recursos indispensáveis que por vezes não são lembrados na hora do planejamento.

Binquet e colaboradores²⁴⁴ descreveram grande heterogeneidade nas condutas praticadas entre os vários centros médicos na França, o que revela falta de conhecimento sobre as maneiras mais fáceis e aceitáveis de prevenir e tratar a toxoplasmose congênita.

Del Castillo Martin⁹⁴ chama a atenção para a existência, na Espanha, de políticas personalistas que conduzem à desinformação.

Segundo Ângelo,²⁴⁵ em Portugal a maioria das gestantes é testada para toxoplasmose, mas freqüentemente a época dos exames não é correta, o seguimento não é

feito no mesmo laboratório e a confirmação do diagnóstico nos casos suspeitos é muito demorada.

Pedreira e colaboradores,²⁴⁶ de um grande laboratório privado de São Paulo, que atende pacientes de nível socioeconômico alto, observam que, no Brasil, muitos obstetras solicitam sorologia para toxoplasmose no início do pré-natal e depois não a repetem, e também não fornecem informações sobre prevenção primária para as gestantes. Observam ainda que, devido à falta de políticas de saúde pública, muitos pacientes estão recorrendo a serviços privados, e que os médicos, embora mais livres para decidir sobre os procedimentos, já que os pacientes podem pagar, devem munir-se de conhecimentos para racionalizar o manejo da toxoplasmose.

Amaral,²⁴⁷ em editorial da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, alerta para as conseqüências de um programa de triagem pré-natal, como custo e disponibilidade de espiramicina, disponibilidade de PCR nos serviços de referência e outros. Relata que estes são desafios que vem enfrentando na região de Campinas, onde os municípios implantaram a triagem sorológica, mas não há respaldo nos laboratórios de origem nem sequer para realização da avidéz de IgG.

Hartup e colaboradores,²⁴⁸ em Londres, relataram vários pontos de falha no seguimento após a suspeita de toxoplasmose na gestação, como falta de repetição dos testes na gestação, falha na investigação do recém-nascido e falha no seguimento do lactente (na maioria dos casos por negligência dos pais).

Queiroz-Andrade e colaboradores,²⁴⁹ em Belo Horizonte, observaram problemas na prevenção da toxoplasmose congênita devidos à morosidade e à dificuldade de acesso das pacientes ao sistema de saúde. Verificaram que os exames sorológicos eram feitos em laboratórios diferentes, impedindo o seguimento evolutivo dos títulos. Ressaltaram a necessidade de laboratórios de referência para melhor orientação ao médico e à gestante.

Nessa casuística, a PCR no líquido amniótico apresentou baixo valor preditivo devido à ocorrência de falsos positivos. Concluíram que há necessidade de maior experiência técnica e interpretação cautelosa dos resultados, e que por enquanto o exame é inacessível para grande parte da população.

Buffolano²⁵⁰ verificou que os critérios de detecção e tratamento da toxoplasmose na gestação não são adequados na Itália. Somente metade das infecções pré-natais foram identificadas, principalmente no primeiro trimestre, e somente 30% dos casos de IgM reagente realizaram teste de avidéz. Entretanto, considera que, nas condições atuais, a melhor solução é intensificar o monitoramento e aperfeiçoar as práticas de diagnóstico e tratamento, e não desencorajar a triagem pré-natal.

Em alguns países a estratégia é a triagem seletiva.^{120, 251} Na Noruega, por exemplo, as gestantes candidatas à triagem para infecção pelo *T. gondii* são as residentes em Oslo e na região sul, as viajantes para fora do país, as que possuem gatos em casa e as que apresentam qualquer sintoma semelhante a um resfriado.²⁵² Esta conduta é questionável, e os motivos para tanto foram abordados por Boyer e colaboradores,⁸¹ como descrito na seção 1.2.3.2.

As várias etapas de um programa de triagem pré-natal – instruções de prevenção primária, tratamento para as gestantes que apresentam soroconversão, diagnóstico fetal e mudança do tratamento conforme o resultado do mesmo,^{139, 143} já foram abordadas em seções anteriores. Nos países onde é permitida a interrupção da gestação, a mesma também faz parte do programa. As indicações são polêmicas, mas o assunto não será abordado neste trabalho tendo em vista que no Brasil o aborto terapêutico é ilícito, além de proibido pela religião católica.

Para Jacques Couvreur¹⁵³ não há dúvida de que o grande decréscimo do impacto da toxoplasmose congênita na França, nas últimas quatro décadas do século XX, deveu-se a

cinco medidas: a) demonstração da grande prevalência através de inquéritos sorológicos na população; b) triagem sorológica periódica nas gestantes suscetíveis; c) prevenção da contaminação fetal pela espiramicina; d) possibilidade de diagnóstico fetal; e) tratamento *in utero* da fetopatia toxoplásmica. Em 2001, um extenso trabalho de Ambroise-Thomas e colaboradores¹³⁶ revisou detalhadamente o programa francês, colocando em evidência os bons resultados do programa de triagem pré-natal e a raridade das formas graves de toxoplasmose congênita atualmente. Estes autores acreditam que, embora esta diminuição possa resultar em parte das interrupções da gestação, a maior influência é das medidas preventivas.

O decreto francês não prevê a repetição da sorologia no momento do parto, mas publicações alertaram para o grande risco de passarem despercebidas as soroconversões do final da gestação se a sorologia não for repetida na parturiente ou na puérpera. Vários serviços adotaram essa rotina após verificarem o surgimento de casos de toxoplasmose congênita que não haviam sido detectados pela triagem durante a gestação.^{241, 253-256} A sorologia deve ser feita no sangue materno, e não no sangue do cordão: Wallon e colaboradores²⁴¹ descreveram 66 casos de soroconversão materna descoberta no momento do parto, que resultaram em 47 casos de toxoplasmose congênita. Em 37 casos foi feita sorologia do cordão, que foi negativa em 18 casos, embora em 10 destes recém-nascidos tenha sido comprovada a toxoplasmose congênita. Em um dos casos de toxoplasmose congênita descritos por Wirlden e colaboradores²⁵⁴ a sorologia do cordão também era negativa.

1.2.6.4 Programas de triagem neonatal

A triagem neonatal é tida como alternativa válida para o controle da toxoplasmose congênita, dependendo da situação epidemiológica da população. Baseia-se na pesquisa de IgM anti-*T. gondii* no sangue capilar dos recém-nascidos, absorvido em cartões de papel

filtro (*Guthrie cards*). Foram desenvolvidas técnicas laboratoriais especialmente para este tipo de metodologia.^{257, 258} Quando o teste é positivo, deve ser confirmado pela sorologia no sangue periférico do recém-nascido. Na mesma oportunidade, o laboratório realiza também a sorologia materna, para investigar a presença de infecção recente.^{50, 126, 127, 132}

O primeiro programa oficial de triagem neonatal, que incluía somente a fenilcetonúria, foi instituído em 1962 no estado de Massachusetts, Estados Unidos. Em 1978 já eram pesquisadas mais de 30 doenças, e o teste para toxoplasmose foi acrescentado em 1986.²⁵⁹ Em 1994, no trabalho publicado por Guerina e colaboradores,¹²⁶ já haviam sido realizados 635.000 testes para IgM anti-*T. gondii* em recém-nascidos da região da Nova Inglaterra (pois outros estados da região juntaram-se ao programa), e haviam sido descobertos 50 casos de toxoplasmose congênita.

Como a sensibilidade da IgM anti-*T. gondii* no recém-nascido não é de 100% (não apenas pela sensibilidade das técnicas, mas porque nem todos os recém-nascidos com toxoplasmose congênita apresentam IgM específica positiva), reconhece-se que alguns casos de infecção subclínica podem passar despercebidos pelos programas de triagem neonatal.^{127, 128, 259} Guerina e colaboradores¹²⁶ descrevem que no seu período de estudo foram identificados, independentemente da triagem neonatal, três recém-nascidos com toxoplasmose congênita que apresentavam IgM negativa, todos com quadro clínico exuberante, sugerindo que a infecção materna tivesse ocorrido em fase precoce da gestação. A época da infecção materna influencia o resultado da sorologia neonatal: quanto mais precoce a infecção, maior a probabilidade da IgM e IgA anti-*T. gondii* serem negativas no recém-nascido.¹²⁸ Um estudo dinamarquês¹²⁷ realizou simultaneamente triagem neonatal e avaliação da soroconversão materna em 24.217 casos. O sangue era coletado no primeiro trimestre da gestação e o soro ficava armazenado. Na triagem neonatal eram pesquisadas a IgM e a IgG anti-*T. gondii* e, se uma delas fosse positiva, o

soro da mãe era testado para IgG anti-*T. gondii*. Se tivesse ocorrido soroconversão, a mãe e o recém-nascido eram investigados. Neste estudo, em que 27 recém-nascidos foram diagnosticados com toxoplasmose, a sensibilidade da IgM no papel filtro foi igual à da IgM sérica.

Paul e colaboradores¹¹¹ utilizaram uma técnica de enzimaímunensaio com captura adaptada para detectar ao mesmo tempo anticorpos IgM e IgA anti-*T. gondii*. Aplicando esta técnica em amostras em papel filtro de 17.653 recém-nascidos entre 1998 e 2000, em Poznan, na Polônia, obtiveram maior prevalência de toxoplasmose congênita do que em sua casuística anterior (1996-1998),¹³² quando era pesquisada somente a IgM. Os autores atribuem o fato à maior sensibilidade do método combinado; entretanto, observa-se que nos resultados dos testes confirmatórios somente um paciente foi positivo apenas para a IgA anti-*T. gondii*, portanto, a diferença de prevalência pode ser devida a outros fatores.

Enquanto alguns países ou regiões, como Dinamarca,¹²⁷ Polônia^{111, 132} e Nova Inglaterra/Estados Unidos¹²⁶ já incluíram a toxoplasmose nos programas oficiais de triagem neonatal, outros estão em fase de projetos piloto, cujos resultados irão ajudar na decisão de implantar ou não esta ou outra estratégia, como é o caso da Suécia,¹¹⁷ Irlanda²⁶⁰ e Itália¹³⁴.

O caso do Brasil é peculiar, pois, apesar de não incluir a toxoplasmose no programa nacional de triagem neonatal, possui uma das maiores experiências mundiais em termos de triagem neonatal para esta infecção. Este fato deve-se à existência de laboratórios que disponibilizam o teste comercialmente, aliada às dimensões continentais e à numerosa população do país. O Centro de Triagem Neonatal, em Porto Alegre, inclui desde 1995 a pesquisa de IgM anti-*T. gondii* entre os testes de triagem neonatal, quando solicitada pelos pediatras ou pelos pais, sendo paga pela família ou por planos de saúde.⁵⁰ Este laboratório realiza testes para todos os estados do Brasil, e o último levantamento de sua casuística,

publicado por Neto e colaboradores,¹³¹ revelou uma prevalência de toxoplasmose congênita de 5/10.000 nesta população.

Recentemente, alguns estados ou municípios brasileiros estão realizando triagem neonatal para toxoplasmose na rede pública de saúde, alguns em programas oficiais, como em Mato Grosso do Sul¹³⁰ (prevalência 6/10.000); outros em projetos de pesquisa, como em Ribeirão Preto/SP¹³⁵ (prevalência de 3/10.000) e Belo Horizonte/MG (prevalência de 6/10.000; comunicação pessoal da Dra. Gláucia Queiroz-Andrade).

1.2.6.5 Escolha da estratégia

A escolha da estratégia de controle da toxoplasmose congênita deverá recair basicamente sobre uma das seguintes situações: 1) somente prevenção primária; 2) prevenção primária mais triagem neonatal; 3) prevenção primária mais triagem pré-natal.

Estudos da Inglaterra^{261, 262} e dos Estados Unidos^{238, 263, 264} recomendam apenas a prevenção primária, contra-indicando qualquer programa de triagem. Os argumentos são a incerteza do efeito do tratamento ou a baixa prevalência de toxoplasmose nesses países, diminuindo o valor preditivo dos testes de triagem e aumentando muito o custo dos programas. Entretanto, admitem a necessidade de cada localidade levantar seus próprios dados epidemiológicos antes da decisão. Na tabela 3 (seção 1.2.3.3) podemos ver que esses países apresentam as mais baixas prevalências de toxoplasmose. Apesar disso, a toxoplasmose congênita é um problema preocupante nos Estados Unidos.^{15, 264-266}

Efetivamente, as condutas divergem naquele país, hajam vistas o programa de triagem neonatal desenvolvido na Nova Inglaterra e a opinião de alguns autores^{10, 214, 227, 265} que defendem um programa nacional de triagem pré-natal, como Remington e Wong,²⁶⁷ que comentam: "enquanto muitas páginas são escritas sobre o assunto, centenas de crianças estão nascendo com esta incapacitante doença. Por que fazer o diagnóstico após o

acontecido? Toxoplasmose congênita é uma doença prevenível; é chegada a hora de preveni-la. Quando irão os detentores do poder dar o primeiro passo?" Mittendorf e colaboradores²⁶⁸ realizam uma análise muito objetiva enfocando os valores preditivos dos testes diagnósticos e concluem que nos Estados Unidos a triagem neonatal (acompanhada por prevenção primária) é a alternativa mais válida, pelos motivos citados acima. Já Boyer²⁶⁹ considera que a triagem neonatal é menos desejável do que a pré-natal, porque ao nascimento já podem ter ocorrido seqüelas oculares ou cerebrais irreversíveis que poderiam ter sido evitadas ou minimizadas. Este autor é um dos que propõem a estratégia pré-natal mesmo em um contexto de baixa prevalência.

Estudos de custo-benefício utilizam técnicas de construção de árvores decisórias, com levantamento de todos os custos, a partir das quais é feita a análise decisória.^{90, 91, 263, 270} São estudos complicados, e não podem ser generalizados: cada local tem peculiaridades que influem no resultado, é o que salientam bem seus próprios autores.^{90, 271} Além disso, na opinião de Lappalainen e colaboradores,²⁷⁰ análises decisórias não podem resolver questões de ética, justiça social ou valores sociais conflitantes; elas apenas embasam as decisões relacionadas à relação custo-benefício da triagem. Henderson e colaboradores⁹⁰ observam: "nós não incluímos os custos intangíveis de prevenir as mortes neonatais ou as deficiências, ou o que os pais estariam dispostos a pagar para não ter, por exemplo, uma criança com retardo mental". Em 1997, dois estudos de custo-benefício tiveram resultados opostos, revelando a particularidade de cada região: na Hungria, Szénási e colaboradores⁹¹ recomendando um programa de triagem pré-natal e, nos Estados Unidos, Bader e colaboradores²⁶³ contra-indicando qualquer programa de triagem. Mesmo considerando que a partir do início do século surgiram novas técnicas sorológicas que facilitaram o diagnóstico pré-natal, nenhuma teve o impacto da PCR no líquido amniótico, já em uso

desde 1995. Por isso, neste aspecto, há cerca de uma década não há grandes mudanças nas argumentações.¹⁰⁰

Na verdade, a grande maioria dos estudiosos considera a toxoplasmose congênita, por suas características, uma doença que deve ser objeto de algum tipo de triagem, ficando a discussão entre a estratégia neonatal ou a pré-natal. Os argumentos a favor da triagem neonatal são vários: controvérsias sobre o tratamento na gestação e evidências sobre a eficácia do tratamento iniciado precocemente no lactente; dificuldades (referidas acima) relacionadas ao grande número de gestantes suscetíveis; riscos do diagnóstico fetal; dificuldades operacionais dos programas pré-natais; angústia gerada nos pais nos casos de dúvida diagnóstica na gestação.^{127, 259}

Os argumentos a favor da triagem pré-natal são de não privar o feto de um tratamento potencialmente preventivo e, na presença da infecção já instalada, poder iniciar o tratamento precocemente, ainda na vida fetal, com maior probabilidade de evitar ou minimizar as seqüelas. Foulon e colaboradores²³⁶ consideram importantes tanto a prevenção secundária como a terciária, e defendem que sendo o valor preditivo de um teste de triagem dependente da prevalência da doença, o impacto da prevenção secundária será maior nas áreas de maior prevalência, portanto, os programas de prevenção secundária devem ser encorajados nessas regiões. Segundo Foulon,⁹³ no futuro não haverá um protocolo uniforme de prevenção da toxoplasmose congênita, mas diferentes algoritmos serão usados em diferentes áreas geográficas.

Para Ambroise-Thomas e colaboradores,¹³⁶ por questão de conseqüências não só médicas, mas também sociais e humanas, é necessário excluir todo o dogmatismo, pois não existe uma solução inequívoca. Em países nos quais o risco de toxoplasmose congênita é muito baixo, pode-se eventualmente discutir a necessidade de programas nacionais de prevenção sistemática. Entretanto, esta discussão não deve pôr em dúvida os resultados

obtidos por medidas preventivas que provaram ser eficazes, mesmo que ainda passíveis de aperfeiçoamento, em um país de forte endemicidade toxoplásmica como a França. É preciso não subestimar a frequência e os custos humanos de um risco que poderá ser maior do que o aparente, por causa das formas inicialmente assintomáticas da doença.¹³⁶

1.2.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Galván-Ramirez ML, Mondragón-Flores R. Toxoplasmosis humana. Guadalajara: Ediciones Cuellar; 2001.
2. Holland GN. Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease. *Am J Ophthalmol.* 2003;136:973-88.
3. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant.* Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p. 205-346.
4. Rey L. *Toxoplasma gondii* e toxoplasmose. In: *Parasitologia – Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem nas Américas e na África.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p. 274-85.
5. Sacks D, Sher A. Evasion of innate immunity by parasitic protozoa. *Nat Immunol.* 2002;3:1041-7.
6. Wong SY, Remington JS. Biology of *Toxoplasma gondii*. *AIDS.* 1993;7:299-316.
7. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:267-99.
8. Frenkel, JK. Toxoplasmosis – Mechanisms of infection, laboratory diagnosis and management. *Curr Topics Pathol.* 1971;54:28-75.
9. Lehmann T, Graham DH, Dahl ER, Bahia-Oliveira LM, Gennari SM, Dubey JP. Variation in the structure of *Toxoplasma gondii* and the roles of selfing, drift, and

- epistatic selection in maintaining linkage disequilibria. *Infect Genet Evol.* 2004;4:107-14.
10. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet.* 2004;363:1965-76.
 11. Saeij JP, Boyle JP, Boothroyd JC. Differences among the three major strains of *Toxoplasma gondii* and their specific interactions with the infected host. *Trends Parasitol.* 2005 Oct;21(10):476-81.
 12. Barragan A, Sibley LD. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. *Trends Microbiol.* 2003;11:426-30.
 13. Carruthers VB. Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. *Acta Trop.* 2002;81:111-2.
 14. Black MW, Boothroyd JC. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000;64:607-23.
 15. Jones JL, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R. Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet Gynecol Surv.* 2001;56:296-305.
 16. Schatten H, Ris H. Three-dimensional imaging of *Toxoplasma gondii*-host cell interactions within the parasitophorous vacuole. *Microsc Microanal.* 2004;10:580-5.
 17. Owen MR, Trees AJ. Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* from chronically infected house (*Mus musculus*) and field (*Apodemus sylvaticus*) mice determined by polymerase chain reaction. *Parasitology.* 1998;116:299-304.
 18. Webster JP, Brunton CF, MacDonald DW. Effect of *Toxoplasma gondii* upon neophobic behaviour in wild brown rats, *Rattus norvegicus*. *Parasitology.* 1994;109:37-43.
 19. Aliberti J. Host persistence: Exploitation of anti-inflammatory pathways by *Toxoplasma gondii*. *Nat Rev Immunol.* 2005;5:162-70.
 20. Romagnani S. Understanding the role of TH1/TH2 cells in infections. *Trends Microbiol.* 1996;4:470-3.

21. Gor DO, Rose NR, Greenspan NS. TH1-TH2: a Procrustean paradigm. *Nat Immunol.* 2003;4:503-5.
22. Sibley LD, Mordue D, Howe DK. Experimental approaches to understanding virulence in toxoplasmosis. *Immunobiology.* 1999;201:210-24.
23. Denkers EY, Gazzinelli RT. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. *Clin Microbiol Rev.* 1998;11:569-88.
24. Alexander J, Hunter CA. Immunoregulation during toxoplasmosis. *Chem Immunol.* 1998;70:81-102.
25. Seder RA, Gazzinelli RT. Cytokines are critical in linking the innate and adaptive immune responses to bacterial, fungal, and parasitic infection. *Adv Intern Med.* 1999;44:353-88.
26. Hegab SM, Al-Mutawa SA. Immunopathogenesis of toxoplasmosis. *Clin Exp Med.* 2003;3:84-105.
27. Dardé ML, Ajzenberg D. Le polymorphisme du toxoplasme et ses conséquences cliniques. *Arch Pediatr.* 2003;10[Suppl 1]:45-6.
28. Volkman SK, Hartl DL. Parasitology. A game of cat and mouse. *Science.* 2003;299:353-4.
29. Su C, Evans D, Cole RH, Kissinger JC, Ajioka JW, Sibley LD. Recent expansion of *Toxoplasma* through enhanced oral transmission. *Science.* 2003;299:414-6.
30. Boothroyd JC, Grigg ME. Population biology of *Toxoplasma gondii* and its relevance to human infection: do different strains cause different disease? *Curr Opin Microbiol.* 2002;5:438-42.
31. Dubey JP, Graham DH, da Silva DS, Lehmann T, Bahia-Oliveira LM. *Toxoplasma gondii* isolates of free-ranging chickens from Rio de Janeiro, Brazil: mouse mortality, genotype, and oocyst shedding by cats. *J Parasitol.* 2003;89:851-3.

32. Howe DK, Honore S, Derouin F, Sibley LD. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 1997;35:1411-4.
33. Ajzenberg D, Banuls AL, Su C, Dumetre A, Demar M, Carme B, Darde ML. Genetic diversity, clonality and sexuality in *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol.* 2004;34:1185-96.
34. Ajzenberg D, Cogne N, Paris L, Bessieres MH, Thulliez P, Filisetti D et al. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J Infect Dis.* 2002;186:684-9.
35. Fuentes I, Rubio JM, Ramirez C, Alvar J. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2001;39:1566-70.
36. Aspinall TV, Guy EC, Roberts KE, Joynson DH, Hyde JE, Sims PF. Molecular evidence for multiple *Toxoplasma gondii* infections in individual patients in England and Wales: public health implications. *Int J Parasitol.* 2003;33:97-103.
37. Vallochi AL, Muccioli C, Martins MC, Silveira C, Belfort R Jr, Rizzo LV. The genotype of *Toxoplasma gondii* strains causing ocular toxoplasmosis in humans in Brazil. *Am J Ophthalmol.* 2005;139:350-1.
38. Araujo F, Slifer T, Kim S. Chronic infection with *Toxoplasma gondii* does not prevent acute disease or colonization of the brain with tissue cysts following reinfection with different strains of the parasite. *J Parasitol.* 1997;83:521-2.
39. Wastling J, Heap S, Ferguson D. *Toxoplasma gondii* – keeping our guests under control. *Biologist.* 2000;47:234-8.
40. Dubey JP. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. *Vet Parasitol.* 2004;126:57-72.
41. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol.* 2000;30:1217-58.

42. Bobic B, Jevremovic I, Marinkovic J, Sibalic D, Djurkovic-Djakovic O. Risk factors for *Toxoplasma* infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. *Eur J Epidemiol.* 1998;14:605-10.
43. Ertug S, Okyay P, Turkmen M, Yuksel H. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. *BMC Public Health* [periódico na Internet]. 2005 [capturado 30 nov 2005];5:66 [6 p.]. Disponível em: <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/5/66>
44. Rey LC, Ramalho ILC. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceará, Brazil. *Rev Inst Med Trop S. Paulo.* 1999;41:171-4.
45. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Müller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. *J Pediatr (Rio J).* 2003;79:69-74.
46. Avelino MM, Campos D Jr, Parada JB, Castro AM. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of childbearing age. *Braz J Infect Dis.* 2004;8:164-74.
47. Leão PRD, Meirelles Filho J, Medeiros SF. Toxoplasmose: soroprevalência em puérperas atendidas pelo Sistema Único de Saúde. *RBGO.* 2004;26:627-32.
48. Spalding SM, Amendoeira MRR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38:173-7.
49. Amendoeira MRR, Sobral CAQ, Teva A, Lima JN, Klein CH. Inquérito sorológico para a infecção por *Toxoplasma gondii* em ameríndios isolados, Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36:671-6.
50. Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Schulte J, Becker D et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol.* 2000;29:941-7.
51. Bahia-Oliveira LMG, Abreu AMW, Azevedo-Silva J, Oréface F. Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. In: Petersen E, Pollak A, Reiter-Owona I, editors. *Recent Trends in research on congenital toxoplasmosis.* *Int J Parasitol.* 2001;31:115-44.

52. Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D, Martins MC, Burnier M, Silveira S et al. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in Southern Brazil. *Am J Ophthalmol*. 1992;114:136-44.
53. Melamed J, Sebben JC, Maestri M, Silveira S, Locatelli C. Epidemiology of ocular toxoplasmosis in Rio Grande do Sul, Brazil. In: Dernouchamps JP, Verougstraete C, Caspers-Velu L, Tassignon MJ, editors. *Proceedings of the Third International Symposium on Uveitis*, Brussels, Belgium. Amsterdam/New York: Kugler; 1993. p. 211-214.
54. Medronho RA, Perez MA. Distribuição das Doenças no Espaço e no Tempo. In: Medronho RA, Carvalho DM, Bloch KV, Luiz RR, Werneck GL, editores. *Epidemiologia*. São Paulo: Atheneu; 2004. p. 57-71.
55. Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC *Toxoplasma* Investigation Team. *Lancet*. 1997;350:173-7.
56. Moura L, Wada MY, Carmo EH, Dusi RM, Tuboi SH, Daufenbach LZ et al. Surto de toxoplasmose no Município de Santa Isabel do Ivaí – Paraná. *Boletim Eletrônico Epidemiológico da Fundação Nacional de Saúde* [periódico na Internet]. 2002 [capturado em 20/08/2002];2(3):1[3p.]. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/boletim_eletronico_03_ano02.pdf
57. Silveira CAM. A maior epidemia do mundo. In: Silveira CAM. *Toxoplasmose: dúvidas e controvérsias*. Erechim: Edifapes Livraria e Editora; 2002. p. 79-82.
58. McDonald JC, Gyorkos TW, Alberton B, MacLean JD, Richer G, Juranek D. An outbreak of toxoplasmosis in pregnant women in northern Quebec. *J Infect Dis*. 1990;161:769-74.
59. Bonametti AM, Passos JN, Silva EMK, Bortoliero AL. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através de carne crua de gado ovino. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1997;30:21-5.
60. Pereira LH, Staudt M, Tanner CE, Embil JA. Exposure to *Toxoplasma gondii* and cat ownership in Nova Scotia. *Pediatrics*. 1992;89:1169-72.

61. Garcia JL, Navarro IT, Ogawa L, Oliveira RC, Kobilka E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose na zona rural de Jaguapitã (Paraná), Brasil. *Rev Panam Salud Publica*. 1999;6:157-63.
62. Silveira CAM. Estudo dos fatores de risco. In: Silveira CAM. *Toxoplasmose: dúvidas e controvérsias*. Erechim: Edifapes Livraria e Editora; 2002. p. 57-66.
63. Del Castillo F, Herruzo R. Factores de riesgo de la toxoplasmosis en niños. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1998;16:224-9.
64. Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2003;9:55-62.
65. Nash JQ, Chissel S, Jones J, Warburton F, Verlander NQ. Risk factors for toxoplasmosis in pregnant women in Kent, United Kingdom. *Epidemiol Infect*. 2005;133:475-83.
66. Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, Foulon W, Semprini AE, Dunn DT. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *BMJ*. 2000;321:142-7.
67. Kapperud G, Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Results of a prospective case-control study in Norway. *Am J Epidemiol*. 1996;144:405-12.
68. Buffolano W, Gilbert RE, Holland FJ, Fratta D, Palumbo F, Ades AE. Risk factors for recent toxoplasma infection in pregnant women in Naples. *Epidemiol Infect*. 1996;116:347-51.
69. López-Castillo CA, Diaz-Ramírez J, Gómez-Marin JE. Factores de riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por *Toxoplasma gondii* en Armenia-Colombia. *Rev Salud Pública*. 2005;7:180-90.
70. Baril L, Ancelle T, Thulliez P, Goulet V, Tirard-Fleury V, Carme B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case-control study in France. *Scand J Infect Dis*. 1999;31:305-9.

71. Jara M, Hsu HW, Eaton RB, Demaria A Jr. Epidemiology of congenital toxoplasmosis identified by population-based newborn screening in Massachusetts. *Pediatr Infect Dis J.* 2001;20:1132-5.
72. Kijlstra A, Eissen OA, Cornelissen J, Munniksmma K, Eijck I, Kortbeek T. *Toxoplasma gondii* infection in animal-friendly pig production systems. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2004;45:3165-9.
73. Dias RAF, Navarro IT, Ruffolo BB, Bugni FM, Castro MV, Freire RL. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. *Rev Inst Med Trop S. Paulo.* 2005;47:185-189.
74. Guimarães ACS, Kawarabayashi M, Borges MM, Tolezano JE, Andrade Jr. ILF. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo Metropolitan region. *Rev Soc Bras Med Trop São Paulo.* 1993;35:479-83.
75. Ades AE, Parker S, Gilbert R, Tookey PA, Berry T, Hjelm M et al. Maternal prevalence of *Toxoplasma* antibody based on anonymous neonatal serosurvey: a geographical analysis. *Epidemiol Infect.* 1993;110:127-33.
76. Jennum PA, Kapperud G, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. *Epidemiol Infect.* 1998;120:87-92.
77. Kortbeek LM, De Melker HE, Veldhuijzen IK, Conyn-Van Spaendonck MA. Population-based *Toxoplasma* seroprevalence study in The Netherlands. *Epidemiol Infect.* 2004;132:839-45.
78. Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Sulzer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med.* 1982;307:666-9.
79. Villena I, Aubert D, Gomis P, Ferte H, Ingland JC, Denis-Bisiaux Het al. Evaluation of a strategy for *Toxoplasma gondii* oocyst detection in water. *Appl Environ Microbiol.* 2004;70:4035-9.

80. Silveira CAM. O papel da água na transmissão da toxoplasmose. In: Silveira CAM. Toxoplasmose: dúvidas e controvérsias. Erechim: Edifapes Livraria e Editora; 2002. p. 77-78.
81. Boyer KM, Holfels E, Roizen N, Swisher C, Mack D, Remington J et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: Implications for prenatal management and screening. Am J Obstet Gynecol. 2005;192:564-71.
82. Sousa EL. A literatura regional e a representação da infância rural. Par'a'iwa – Revista dos Pós-graduandos de Sociologia da UFPB. [Periódico na Internet]. Março de 2004 [capturado em dez 2005];5:[16 p.].Disponível em: <http://chip.cchla.ufpb.br/paraiwa/05-emilene.html>
83. Segundo GR, Silva DA, Mineo JR, Ferreira MS. A comparative study of congenital toxoplasmosis between public and private hospitals from Uberlandia, MG, Brazil. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2004;99:13-7.
84. Guerra Garcia C, Fernandez Sampedro J. Seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en gestantes. Aten Primaria. 1995;16:151-3.
85. Martinez Sanchez R, Bacallao Gordo R, Alberti Amador E, Alfonso Berrio L. Prevalencia de infeccion toxoplasmica en gestantes de la provincia La Habana. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1994;36:445-50.
86. Reiche EMV, Morimoto HK, Farias GN, Hiosatsugu KR, Geller L, Gomes ACLF et al. Prevalência de tripanosomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). Rev Soc Bras Med Trop. 2000;33:519-27.
87. Forsgren M, Gille E, Ljungström I, Nokes DJ. *Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women in Stockholm in 1969, 1979, and 1987. Lancet. 1991;337:1413-4.
88. Elnahas A, Gerais AS, Elbashir MI, Eldien ES, Adam I. Toxoplasmosis in pregnant Sudanese women. Saudi Med J. 2003;24:868-70.

89. Ho-Yen DO. Epidemiology of toxoplasmosis. Arch Pédiatr. 2003;10[Suppl 1]:3-4.
90. Henderson JB, Beattie CP, Hale EG, Wright T. The evaluation of new services: possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. Int J Epidemiol. 1984;13:65-72.
91. Szenasi Z, Ozsvar Z, Nagy E, Jeszenszky M, Szabo J, Gellen J et al. Prevention of congenital toxoplasmosis in Szeged, Hungary. Int J Epidemiol. 1997;26:428-35.
92. Lynfield R, Hsu HW, Guerina NG. Screening methods for congenital toxoplasmosis and risk of disease. Lancet. 1999;353:1899-900.
93. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. J Perinat Med. 2000;28:337-45.
94. Del Castillo Martín F. Toxoplasmosis congénita. Una enfermedad con demasiados interrogantes [editorial]. An Pediatr (Barc). 2004;61:115-7.
95. Ades AE, Nokes DJ. Modeling age-specific and time-specific incidence from seroprevalence – Toxoplasmosis. Am J Epidemiol. 1993;137:1022-34.
96. Larsen SO, Lebech M. Models for prediction of the frequency of toxoplasmosis in pregnancy in situations of changing infection rates. Int J Epidemiol. 1994;23:1309-14.
97. Naoi K, Yano A. A theoretical analysis of the relations between the risk of congenital toxoplasmosis and the annual infection rates with a convincing argument for better public intervention. Parasitol Int. 2002;51:187-94.
98. Moolgavkar SH, Lee JAH, Stevens RG. Analysis of vital statistics data. In: Rothman KJ, Greenland S, editors. Modern Epidemiology. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998. p. 481-97.
99. Jeannel D, Niel G, Costagliola D, Danis M, Traore BM, Gentilini M. Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in the Paris area. Int J Epidemiol. 1988;17:595-602.
100. Montoya JG. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. J Infect Dis. 2002;185[Suppl 1]:S73-82.

101. Neves JM, Nascimento LB, Ramos JGL, Martins-Costa SH. Toxoplasmose na gestação. RBGO. 1994;16:197-202.
102. Reis MM, Tessaro MM, D'Azevedo PA. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de Porto Alegre. RBGO (aceito para publicação, protocolo 2518)
103. Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em municípios do Rio grande do Sul. Rev soc Bras Med Trop. 2003;36:483-91.
104. Santos MCP, Zaidan AE, Costa AAL, Cardoso ES. Toxoplasmose e gravidez – Inquérito sorológico em gestantes do Hospital Universitário – Ufal. Rev Hosp Univ UFAL. 1994;1:7-12.
105. Vaz AJ, Guerra EM, Ferratto LCC, Toledo LAS, Neto RSA. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em centros de saúde de área metropolitana, Brasil. Rev Saúde Públ S. Paulo. 1990;24:373-9.
106. Stella JH. Rastreamento pré-natal para toxoplasmose na rede básica de saúde em Campinas – Prevalência dos diferentes perfis sorológicos e comparação da rotina vigente com uma nova proposta. [Dissertação de mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2004. 83 p.
107. Avelino MM, Campos D Jr, do Carmo Barbosa de Parada J, de Castro AM. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2003;108:19-24.
108. Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Mazaubrun C, Thulliez P et al. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Resultats d'une enquete nationale perinatale. Bull Epidemiologique Hebdomadaire. [Periódico na Internet]. 1996 [Capturado em janeiro 1997]; 51: [5 p.]. Disponível em: <http://www.invs.sante.fr/beh/1996/9651/index.html>
109. Foulon W, Naessens A, Volckaert M, Lauwers S, Amy JJ. Congenital toxoplasmosis: a prospective survey in Brussels. Br J Obstet Gynaecol. 1984;91:419-23.

110. Breugelmans M, Naessens A, Foulon W. Prevention of toxoplasmosis during pregnancy – an epidemiologic survey over 22 consecutive years. *J Perinat Med.* 2004;32:211-4.
111. Paul M, Petersen E, Szczapa J. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznań region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. *J Clin Microbiol.* 2001;39:1912-6.
112. Punda-Polic V, Tonkic M, Capkun V. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in the female population of the County of Split Dalmatia, Croatia. *Eur J Epidemiol.* 2000;16:875-7.
113. Aspöck H. Prevention of congenital toxoplasmosis in Austria. *Arch Pediatr.* 2003;10[Suppl 1]:16-7.
114. Logar J, Novak-Antolic Z, Zore A. Serological screening for toxoplasmosis in pregnancy in Slovenia. *Scand J Infect Dis.* 1995;27:163-4.
115. Morris A, Croxson M. Serological evidence of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Auckland. *N Z Med J.* [Periódico na Internet]. 2004 [Capturado em agosto 2005];117:[5p.]. Disponível em: <http://www.nzma.org.nz/journal/117-1189/770/>
116. Muñoz Batet C, Guardia Llobet C, Juncosa Morros T, Viñas Domenech L, Sierra Soler M, Sanfeliu Sala I. Toxoplasmosis y embarazo. Estudio multicentrico realizado en 16.362 gestantes en Barcelona. *Med Clin (Barc).* 2004;123:12-6.
117. Evengard B, Petersson K, Engman ML, Wiklund S, Ivarsson SA, Tear-Fahnehjelm K et al. Low incidence of *Toxoplasma* infection during pregnancy and in newborns in Sweden. *Epidemiol Infect.* 2001;127:121-7.
118. Pentimalli H, Thaller R, Di Serio S, Grillo R, Speziale D, Recchia G et al. Toxoplasmosis prevalence among roman fertile women: years 1990 to 2000. In: *Proceedings of the International Conference on Toxoplasmosis; 2003 June 23-25; Copenhagen, DK.* Copenhagen: The Panum Institute; 2003.

119. Karunajeewa H, Siebert D, Hammond R, Garland S, Kelly H. Seroprevalence of varicella zoster virus, parvovirus B19 and *Toxoplasma gondii* in a Melbourne obstetric population: implications for management. *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2001;41:23-8.
120. Lappalainen M. Current situation regarding toxoplasmosis in Finland. *Arch Pédiatr.* 2003;10[Suppl 1]:19.
121. Wong A, Tan KH, Tee CS, Yeo GS. Seroprevalence of *cytomegalovirus*, *toxoplasma* and *parvovirus* in pregnancy. *Singapore Med J.* 2000;41:151-5.
122. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol.* 2001;154:357-65.
123. Allain JP, Palmer CR, Pearson G. Epidemiological study of latent and recent infection by *Toxoplasma gondii* in pregnant women from a regional population in the U.K. *J Infect.* 1998;36:189-96.
124. Hershey DW, McGregor JA. Low prevalence of *Toxoplasma* infection in a Rocky Mountain prenatal population. *Obstet Gynecol.* 1987;70:900-2.
125. Gras L, Gilbert RE, Wallon M, Peyron F, Cortina-Borja M. Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies. *Epidemiol Infect.* 2004;132:541-8.
126. Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Engl J Med.* 1994;330:1858-63.
127. Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B et al. Feasibility of neonatal screening for *Toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. *Lancet.* 1999;353:1834-7.
128. Naessens A, Jenum PA, Pollak A, Decoster A, Lappalainen M, Villena I et al. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period: A multicenter evaluation. *J Pediatr.* 1999;135:714-9.

129. Mozzatto L, Procianoy RS. Incidence of congenital toxoplasmosis in Southern Brazil: a prospective study. *Rev Inst Med Trop S. Paulo.* 2003;45:147-51.
130. Botelho CAO, Botelho MA. Programa de triagem neonatal de Mato Grosso do Sul [resumo]. In: *Anais do III Congresso Brasileiro de Triagem Neonatal*; 16 a 19 de novembro de 2005; São Paulo/SP. *Rev Med Minas Gerais.* 2005;15[Supl.1]:S107. PO 120.
131. Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R. Newborn screening for congenital infectious diseases. *Emerg Infect Dis.* 2004;10:1068-73.
132. Paul M, Petersen E, Pawlowski ZS, Szczapa J. Neonatal screening for *Toxoplasma gondii* in Poznań region of Poland by analysis of *Toxoplasma gondii*-specific IgM antibodies eluted from filter paper blood spots. *Pediatr Infect Dis J.* 2000;19:30-6.
133. Logar J, Petrovec M, Novak-Antolic Z, Premru-Srsen T, Cizman M, Arnez M, Kraut A. Prevention of congenital toxoplasmosis in Slovenia by serological screening of pregnant women. *Scand J Infect Dis.* 2002;34:201-4.
134. Ricci M, Pentimalli H, Thaller R, Rava L, Di Ciommo V. Screening and prevention of congenital toxoplasmosis: an effectiveness study in a population with a high infection rate. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;14:398-403.
135. Carneiro CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, De Souza CBS, Maciel LMZ. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect.* 2005;133:485-91.
136. Ambroise-Thomas P, Schweitzer M, Pinon JM, Thiebaugeorges O. La prévention de la toxoplasmose congénitale en France. Evaluation des risques. Résultats et perspectives du dépistage anténatal et du suivi du nouveau-né. *Bull Acad Natl Med.* 2001;185:665-83.
137. Desmonts G, Couvreur J. Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. *Bull N Y Acad Med.* 1974;50:146-59. Apud Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious*

- diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p. 205-346.
138. Naessens A. Screening for toxoplasmosis during pregnancy: the situation in Belgium. *Arch Pédiatr.* 2003;10[Suppl 1]:18.
139. Romand S, Wallon M, Franck J, Thulliez P, Peyron F, Dumon H. Prenatal diagnosis using polymerase chain reaction on amniotic fluid for congenital toxoplasmosis. *Obstet Gynecol.* 2001;97:296-300.
140. Gilbert RE, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, Dunn DT. Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: retrospective cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. *Int J Epidemiol.* 2001;30:1303-8.
141. Gilbert R, Gras L, European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*. *BJOG.* 2003;110:112-20.
142. Hohlfeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med.* 1994;331:695-9.
143. Pelloux H, Fricker-Hidalgo H, Pons JC, Bost-Bru C, Brenier-Pinchart MP, Jouk PS et al. Toxoplasmose congénitale: prévention chez la femme enceinte et prise en charge du nouveau-né. *Arch Pédiatr.* 2002;9:206-12.
144. 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.
145. Wicher V, Wicher K. Pathogenesis of maternal-fetal syphilis revisited. *Clin Infect Dis.* 2001;33:354-63.
146. 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. *Ann Pédiatr (Paris).* 1984;31:805-9.

147. Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M, Thulliez P, Aufrant C, Valenti D et al. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N Engl J Med.* 1988;318:271-5.
148. Gras L, Gilbert RE, Ades AE, Dunn DT. Effect of prenatal treatment on the risk of intracranial and ocular lesions in children with congenital toxoplasmosis. *Int J Epidemiol.* 2001;30:1309-13.
149. Vogel N, Kirisits M, Michael E, Bach H, Hostetter M, Boyer K. Congenital toxoplasmosis transmitted from an immunologically competent mother infected before conception. *Clin Infect Dis.* 1996;23:1055-60.
150. Minkoff H, Remington JS, Holman S, Ramirez R, Goodwin S, Landesman S. Vertical transmission of *toxoplasma* by human immunodeficiency virus-infected women. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;176:555-9.
151. Silveira C, Ferreira R, Muccioli C, Nussenblatt R, Belfort R Jr. Toxoplasmosis transmitted to a newborn from the mother infected 20 years earlier. *Am J Ophthalmol.* 2003;136:370-1.
152. Gavinet MF, Robert F, Firtion G, Delouvrier E, Hennequin C, Maurin JR et al. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *Clin Microbiol.* 1997;35:1276-7.
153. Couvreur J. Le problème de la toxoplasmose congénitale. L'évolution sur quatre décennies. *Presse Med.* 1999;28:753-7.
154. Piccinni MP, Scaletti C, Maggi E, Romagnani S. Role of hormone-controlled Th1- and Th2-type cytokines in successful pregnancy. *J Neuroimmunol.* 2000;109:30-3.
155. Szekeres-Bartho J, Barakonyi A, Par G, Polgar B, Palkovics T, Szereday L. Progesterone as an immunomodulatory molecule. *Int Immunopharmacol.* 2001;1:1037-48.
156. Szekeres-Bartho J. Immunological relationship between the mother and the fetus. *Int Rev Immunol.* 2002;21:471-95.

157. Wegmann TG, Lin H, Guilbert L, Mosmann TR. Bidirectional cytokine interactions in the maternal-fetal relationship: is successful pregnancy a TH2 phenomenon? *Immunol Today*. 1993;14:353-6.
158. Thouvenin M, Candolfi E, Villard O, Klein JP, Kien T. Immune response in a murine model of congenital toxoplasmosis: increased susceptibility of pregnant mice and transplacental passage of *Toxoplasma gondii* are type 2-dependent. *Parassitologia*. 1997;39:279-83.
159. CDC – Centers for Disease Control and Prevention. Update: Foodborne Listeriosis – United States, 1988-1990. *MMWR*. 1992;41:257-8.
160. Weinberg ED. Pregnancy-associated depression of cell-mediated immunity. *Rev Infect Dis*. 1984;6:814-31.
161. Jenum PA, Stray-Pedersen B. Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol*. 1998;36:2907-13.
162. Hofgartner WT, Swanzy SR, Bacina RM, Condon J, Gupta M, Matlock PE. Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: evaluation of four commercial immunoassay systems. *J Clin Microbiol*. 1997;35:3313-5.
163. Tuuminen T, Seppanen H, Pitkanen EM, Palomaki P, Kapyaho K. Improvement of immunoglobulin M capture immunoassay specificity: *toxoplasma* antibody detection method as a model. *J Clin Microbiol*. 1999;37:270-3.
164. Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Ware D. Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. *J Clin Microbiol*. 1997;35:3112-5.
165. Wallon (2) M, Loup N, Girardi C, Bocquet M, Muyard B, Bourret P et al. Value of anti-*toxoplasma* IgA to estimate the timing of maternal infection. In: Proceedings of the International Conference on Toxoplasmosis; 2003 June 23-25; Copenhagen, DK. Copenhagen: The Panum Institute; 2003.

166. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2004;42:941-5.
167. Hohlfeld P, Daffos F, Thulliez P, Aufrant C, Couvreur J, MacAleese J et al. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *J Pediatr.* 1989;115:765-9.
168. Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1989;27:1787-92.
169. Grover CM, Thulliez P, Remington JS, Boothroyd JC. Rapid prenatal diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. *J Clin Microbiol.* 1990;28:2297-301.
170. Pratlong F, Boulot P, Villena I, Issert E, Tamby I, Cazenave J, Dedet JP. Antenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of the biological parameters in a cohort of 286 patients. *Br J Obstet Gynaecol.* 1996;103:552-7.
171. Jenum PA, Holberg-Petersen M, Melby KK, Stray-Pedersen B. Diagnosis of congenital *Toxoplasma gondii* infection by polymerase chain reaction (PCR) on amniotic fluid samples. The Norwegian experience. *APMIS.* 1998;106:680-6.
172. Foulon W, Pinon JM, Stray-Pedersen B, Pollak A, Lappalainen M, Decoster A et al. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: a multicenter evaluation of different diagnostic parameters. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181:843-7.
173. Thalib L, Gras L, Romand S, Prusa A, Bessieres MH, Petersen E. Prediction of congenital toxoplasmosis by polymerase chain reaction analysis of amniotic fluid. *BJOG.* 2005;112:567-74.
174. Pelloux H. Diagnostic biologique prénatal de la toxoplasmose congénitale: intérêt et limites. *Arch Pediatr.* 2003;10[Suppl 1]:33-4.
175. Schoondermark-Van de Ven E, Melchers W, Camps W, Eskes T, Meuwissen J, Galama J. Effectiveness of spiramycin for treatment of congenital *Toxoplasma gondii* infection in rhesus monkeys. *Antimicrob Agents Chemother.* 1994;38:1930-6.

176. Schoondermark-Van de Ven E, Galama J, Vree T, Camps W, Baars I, Eskes T et al. Study of treatment of congenital *Toxoplasma gondii* infection in rhesus monkeys with pyrimethamine and sulfadiazine. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995;39:137-44.
177. Vidigal PV, Santos DV, Castro FC, Couto JC, Vitor RW, Brasileiro Filho G. Prenatal toxoplasmosis diagnosis from amniotic fluid by PCR. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002;35:1-6.
178. Abboud P, Villena I, Chemla C, Leroux B, Talmud M, Bednarczyk L et al. Dépistage de la toxoplasmose congénitale: devenir des grossesses après le diagnostic anténatal. A propos de 211 cas. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 1997;26:40-6.
179. Wallon M, Gaucherand P, Al Kurdi M, Peyron F. Infection toxoplasmique de début de grossesse: conséquences et conduite à tenir. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2002;31:378-84.
180. Jacquemard F. Signes échographiques de la toxoplasmose congénitale. *Arch Pediatr.* 2003;10[Suppl 1]:35-8.
181. Couto JCF, Leite JM. Sinais ultra-sonográficos em fetos portadores de toxoplasmose congênita. *RBGO.* 2004;26:377-82.
182. Romand S, Chosson M, Franck J, Wallon M, Kieffer F, Kaiser K et al Usefulness of quantitative polymerase chain reaction in amniotic fluid as early prognostic marker of fetal infection with *Toxoplasma gondii*. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Mar;190(3):797-802.
183. Switaj K, Master A, Skrzypczak M, Zaborowski P. Recent trends in molecular diagnostics for *Toxoplasma gondii* infections. *Clin Microbiol Infect.* 2005;11:170-6.
184. Couvreur J, Thulliez P, Daffos F, Aufrant C, Bompard Y, Gesquiere A, Desmonts G. Foetopathie toxoplasmique. Traitement in utero par l'association pyrimethamine-sulfamides. *Arch Fr Pediatr.* 1991;48:397-403.
185. Couvreur J, Thulliez P, Daffos F, Aufrant C, Bompard Y, Gesquiere A, Desmonts G. In utero treatment of toxoplasmic fetopathy with the combination pyrimethamine-sulfadiazine. *Fetal Diagn Ther.* 1993;8:45-50.

186. Thulliez P. Efficacy of prenatal treatment for toxoplasmosis: a possibility that cannot be ruled out. *Int J Epidemiol.* 2001;30:1315-6.
187. Thiébaud R, Binquet C, Leroy V, Salmi LR, Gilbert R, Chêne G et al. Methodological issues arising when assessing prenatal treatment effect in congenital toxoplasmosis from observational data. In: *Proceedings of the International Conference on Toxoplasmosis; 2003 June 23-25; Copenhagen, DK. Copenhagen: The Panum Institute; 2003.*
188. Thiébaud R, Leroy V, Alioum A, Binquet C, Poizat G, Salmi LR et al. Biases in observational studies of the effect of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005; Epub setembro 2005.
189. Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B, Decoster A, Lappalainen M, Pinon JM et al. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180:410-5.
190. Peyron F, Wallon M, Liou C, Garner P. Treatments for toxoplasmosis in pregnancy. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005 (4) [página na Internet]. The Cochrane Collaboration; 2005 [capturado em dezembro 2005]. Disponível em: <http://www.cochrane.org/reviews/en/ab001684.html>
191. Wallon M, Liou C, Garner P, Peyron F. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. *BMJ.* 1999;318:1511-4.
192. Gilbert R, Dunn D, Wallon M, Hayde M, Prusa A, Lebech M et al. Ecological comparison of the risks of mother-to-child transmission and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis according to prenatal treatment *Epidemiol Infect.* 2001;127:113-20.
193. Thiébaud R, Gilbert RE, Gras L, Chêne G. Timing and type of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis. (Protocol for a Cochrane Review). In: *The Cochrane library, Issue 3. Oxford: Update Software; 2003.* Disponível em: <http://www.isped.u-bordeaux2.fr/RECHERCHE/SYROCOT/SYROCOT-Protocol.pdf>

194. SYROCOT – Systematic review on Congenital Toxoplasmosis [página na Internet]. Bordeaux: Institut de Santé Publique, d'Épidémiologie et de Développement; c2002-2005 [atualizado agosto 2005; capturado dezembro 2005]. Disponível em: http://www.isped.u-bordeaux2.fr/RECHERCHE/SYROCOT/UK_ISPED-SYROCOT.htm
195. Foulon W. Congenital toxoplasmosis: therapeutic strategies. Arch Pediatr. 2003;10[Suppl 1]:10-11.
196. Alford CA, Stagno S, Reynolds DW. Congenital toxoplasmosis: clinical, laboratory and therapeutic considerations, with special reference to subclinical disease. Bull N Y Acad Med. 1974;50:160-81.
197. Stagno S, Reynolds D W, Amos C S, Dahle A J, McCollister F P, Mohincra I, Ermocilla R. Auditory and visual defects resulting from symptomatic and subclinical congenital cytomegaloviral and *Toxoplasma* infections. Pediatrics. 1977;59:669-78.
198. Guerina, N G. Congenital infection with *Toxoplasma gondii*. Ped Ann. 1994;23:138-51.
199. Couvreur J, Desmonts G, Tournier G, Szusterkac M. Étude d'une série homogène de 210 cas de toxoplasmose congénitale chez des nourrissons âgés de 0 à 11 mois et dépistés de façon prospective. Ann Pediatr 1984;31:815-9.
200. Cneude F, Deliege R, Barbier C, Durand-Joly I, Bourlet A, Sonna M. Toxoplasmose congénitale disséminée responsable d'un choc septique? Arch Pediatr. 2003;10:326-8.
201. Wilson C B, Remington J S, Stagno S, Reynolds D W. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. Pediatrics. 1980;66:767-74.
202. Koppe J G, Loewer-Sieger D H, Roeber-Bonnet H. Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. Lancet. 1986;1:254-5.
203. Meenken C, Assies J, Nieuwenhuizen O, Maat WGH, Schooneveld MJ, Delleman WJ et al. Long term ocular and neurological involvement in severe congenital toxoplasmosis. Br J Ophthalmol. 1995;79:581-4.

204. Faure AK, Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Bost-Bru C, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Lack of value of specific IgA detection in the postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Lab Anal.* 1999;13:27-30.
205. Rilling V, Dietz K, Krczal D, Knotek F, Enders G. Evaluation of a commercial IgG/IgM Western blot assay for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22:174-80.
206. Lago EG, Bender AL, Glock L, Carvalho RL, Presotto C, Coelho JC et al. Comparação entre as concentrações de IgG anti-*Toxoplasma gondii* em recém-nascidos não infectados e suas mães no período pós-parto imediato. *Scientia Medica.* 2004;14:121-7.
207. Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, Ovlisen B, Petersen E. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1996;15:799-805.
208. Melamed J, Dornelles F, Eckert G. Alterações tomográficas cerebrais em crianças com lesões oculares por toxoplasmose congênita. *J Pediatr (Rio J).* 2001;77:475-80.
209. Freij BJ, Sever JL. Viral and protozoal infections. In: MacDonald MG, Seshia MMK, Mullett MD, editors. *Avery's Neonatology – Pathophysiology & Management of the Newborn.* Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. p. 1274-356.
210. Ferret N, Marty P, Le Fichoux Y. Prise en charge clinique de la toxoplasmose congénitale. *Arch Ped.* 2003[suppl 1];10:42-44.
211. Petersen E, Eaton RB. Control of congenital infection with *Toxoplasma gondii* by neonatal screening based on detection of specific immunoglobulin M antibodies eluted from phenylketonuria filter-paper blood-spot samples. *Acta Paediatr Suppl.* 1999;88:36-9.
212. Villena I, Chemla C, Aubert D, Foudrinier F, Pinon JM. Toxoplasmose congénitale: diagnostic biologique néonatal et surveillance. *Arch Ped.* 2003[suppl 1];10:39-41.

213. Stray-Pedersen B. Treatment of toxoplasmosis in the pregnant mother and newborn child. *Scand J Infect Dis* 1992; 84[suppl]:23-31
214. McAuley J, Boyer K M , Patel D, Mets M, Suvsher C, Roizen N et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago collaborative treatment trial. *Clin Infect Dis*. 1994;18:38-72.
215. Lago EG, Dresch, F. Toxicidade do tratamento para toxoplasmose congênita nos pacientes do Ambulatório de Infecções Congênicas do HSL-PUCRS [resumo]. *Revista de Medicina da PUCRS/RS*. 2002;12:321.
216. Kieffer f, Thulliez P, Brézin A, Nobre R, Romand S, Yi-Gallimard E. Traitment de la toxoplasmose congénitale non sevère par sulfadiazine et pyriméthamine en continu pendant un an: à propos de 46 cas. *Arch Pédiatr*. 2002;9:7-13.
217. Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 2004;113:1567-72.
218. Roberts F, McLeod R. Pathogenesis of toxoplasmic retinochoroiditis. *Parasitol Today*. 1999;15:51-7.
219. Mombro M, Perathoner C, Leone A, Buttafuoco V, Zotti C, Lievre MA et al. Congenital toxoplasmosis: assessment of risk to newborns in confirmed and uncertain maternal infection. *Eur J Pediatr*. 2003;162:703-6.
220. Fortier B, Coignard-Chatain C, Dao A, Rouland V, Valat AS, Vinatier D et al. Etude des poussees cliniques evolutives et des rebonds serologiques d'enfants atteints de toxoplasmose congenitale et suivis durant les 2 premieres annees de vie. *Arch Pediatr*. 1997;4:940-6.
221. Djurkovic-Djakovic O, Romand S, Nobrè R, Couvreur J, Thulliez P. Serologic rebounds after one-year-long treatment for congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19:81-3.

222. Wallon M, Cozon G, Ecochard R, Lewin P, Peyron F. Serological rebound in congenital toxoplasmosis: long-term follow-up of 133 children. *Eur J Pediatr.* 2001;160:534-40.
223. Lago EG, Silveira CAM. Serological rebound: case report and proposal for classification In: *Proceedings of the International Conference on Toxoplasmosis; 2003 June 23-25; Copenhagen, DK. Copenhagen: The Panum Institute; 2003.*
224. Gratzl R, Hayde M, Kohlhauser C, Hermon M, Burda G, Strobl W et al. Follow-up of infants with congenital toxoplasmosis detected by polymerase chain reaction analysis of amniotic fluid. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17:853-8.
225. Roizen N, Suvisher C N, Stein M A, Hopkins J, Boyer K M, Holfels E et al. Neurologic and developmental outcome in treated congenital toxoplasmosis. *Pediatrics.* 1995;95:11-20.
226. Patel DV, Holfels EM, Vogel NP, Boyer KM, Mets MB, Swisher CN et al. Resolution of Intracranial Calcifications in Infants with Treated Congenital Toxoplasmosis. *Radiol.* 1996;199:433-40.
227. Mets MB, Holfels E, Boyer KM, Swisher CN, Roizen N, Stein L et al. Eye manifestations of congenital toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol.* 1997;123:1-16.
228. Binquet C, Wallon M, Quantin C, Kodjikian L, Garweg J, Fleury J et al. Prognostic factors for the long-term development of ocular lesions in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Epidemiol Infect.* 2003;131:1157-68.
229. Brézin AP, Thulliez P, Couvreur J, Nobré R, McLeod R, Mets M. Ophthalmic outcomes after prenatal and postnatal treatment of congenital toxoplasmosis. *Am J ophthalmol.* 2003;135:779-784.
230. McGee T, Wolters C, Stein L, Kraus N, Johnson D, Boyer K et al. Absence of sensorineural hearing loss in treated infants and children with congenital toxoplasmosis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992;106:75-80.
231. Ambroise-Thomas P. Toxoplasmose congénitale: les différentes stratégies préventives. *Arch Pédiatr.* 2003;10:12-14

232. Pekham C, Logan S. Screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Arch Dis Child*. 1993;68:3-5.
233. Matsui D. Prevention, diagnosis, and treatment of fetal toxoplasmosis. *Clin Perinatol*. 1994;21:675-89.
234. Carter AO, Gelmon SB, Wells GA, Toepell AP. The effectiveness of a prenatal education programme for the prevention of congenital toxoplasmosis. *Epidemiol Infect*. 1989;103:539-45.
235. Frenkel JK [Letter]. Prevention of *Toxoplasma* infection in Pregnant women and their fetuses. *Clin Infect Dis*. 1995;20:727-9.
236. Foulon W, Naessens A, Derde MP. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *Am J Perinatol*. 1994;11:57-62.
237. Wallon M, Mallaret MR, Mojon M, Peyron F. Toxoplasmose congénitale, évaluation de la politique de prévention. *Presse Med*. 1994;23:1467-70.
238. Kravetz JD, Federman DG. Toxoplasmosis in pregnancy. *Am J Med*. 2005;118:212-6.
239. Lösch R, Lago EG. Avaliação da prevenção primária da toxoplasmose congênita realizada em serviços de pré-natal de Porto Alegre e arredores. *Rev Med PUC/RS*. 2001;11:314-5.
240. Thiebaugeorges O, Schweitzer M. Prévention de la toxoplasmose congénitale: recommandations officielles et approche en France. *Arch Pediatr*. 2003;10[Suppl 1]:20.
241. Wallon M, Franck J, Romand S, Peyron S, Dumon H, Thulliez P. Intérêt de la sérologie toxoplasmique à l'accouchement chez les femmes séronégatives pendant la grossesse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod*. 2001;30:697-9.
242. Muñoz C, Izquierdo C, Parra J, Ginovart G, Margall N. Recommendation for prenatal screening of congenital toxoplasmosis. *Eur Clin Microbiol Infect Dis*. 2000;19:324-25.

243. Angelici MC, Buffolano W, Grandolfo ME, Gramiccia M, Majori G. Il controllo della toxoplasmosis congenita in Italia: il progetto dell'Istituto Superiori di Sanità. *Ann Ist Suoper Sanità*. 1999;35:329-33.
244. Binquet C, Wallon M, Metral P, Gadreau M, Quantin C, Peyron F. Seroconversion toxoplasmique chez la femme enceinte. Les différentes attitudes Françaises. *Presse Med*. 2004;33:775-9.
245. Ângelo MH. Dispositions légales et stratégies préventives de la toxoplasmose congénitale au Portugal. *Arch Pédiatr*. 2003;10[Suppl 1]:25-6.
246. Pedreira DAL, Camargo ME, Leser PG. Toxoplasmosis: will the time ever come? [editorial]. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2001;17:459-63.
247. Amaral E. Um programa de triagem populacional para toxoplasmose. *RBGO* [editorial]. 2005;27:439-41.
248. Hartup C, Johnson JD, Holliman RE. The investigation of *toxoplasma* infection associated with pregnancy. *J Infect*. 1997;35:47-54.
249. Andrade GMQ, Carvalho AL, Carvalho IR, Mello BF, Tibúrcio FR, Castro FC. Toxoplasmose na gestante e no recém-nascido. Estudo de 86 pares de mãe-filho atendidos no período de 1996-99 no ambulatório de Infectologia Pediátrica do HC-UFMG. *Rev Med Minas Gerais*. 2001;11:202-7.
250. Buffolano W. Failure to implement a preventive strategy against congenital toxoplasmosis in Italy. *Arch Pédiatr*. 2003;10[Suppl 1]:21-2.
251. Janitschke K. Official recommendations and strategy for prevention of congenital toxoplasmosis in Germany. *Arch Pédiatr*. 2003;10[Suppl 1]:15.
252. Stray-Pedersen B. Prevention of congenital toxoplasmosis in Norway. *Arch Pédiatr*. 2003;10[Suppl 1]:23-4.
253. Marx-Chemla C, Puygautier-Toubas D, Foudrinier F et al. La surveillance immunologique d'une femme enceinte séronégative pour la toxoplasmose doit-elle s'arreter à l'accouchement? *Presse Med*. 1990;19:367-8.

254. Wirden M, Botterel F, Romand S, Ithier G, Bourée P. Intérêt du dépistage en post-partum de la toxoplasmose congénitale après primo-infection maternelle en fin de grossesse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 1999;28:566-7.
255. Luyasu V, Bauraind O, Bernard P, Bietlot Y, Brasseur C, Englebert J et al. Toxoplasmoses congénitales et séroconversions de fin de grossesse: observations cliniques. *Acta Clin Belg.* 1997;52:381-7.
256. Chemla C, Villena L, Aubert D, Hornoy P, Dupouy D, Leroux B et al. Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. *Clin Diag Lab Immunol.* 2002;9:489-90.
257. Sørensen T, Spenter J, Jaliashvili I, Christiansen M, Nørgaard-Pedersen B, Petersen E. Automated time-resolved immunofluorimetric assay for *Toxoplasma gondii*-specific IgM and IgA antibodies: study of more than 130 000 filter-paper blood-spot samples from newborns. *Clin Chem.* 2002;48: 1981-6.
258. Eaton RB, Petersen E, Seppänen H, Tuuminen T. Multicenter evaluation of a fluorimetric immunocapture assay to detect *Toxoplasma*-specific immunoglobulin M in dried blood filter paper specimens from newborns. *J Clin microbiol.* 1996; 34:3147-50.
259. Petersen E, Eaton R. Control of congenital infection with *Toxoplasma gondii* by neonatal screening based on detection of specific immunoglobulin M antibodies eluted from phenylketonuria filter-paper blood-spot samples. *Acta Paediatr.* 1999;432 [Suppl]:36-9.
260. Finnegan N, Halley M, O'Neill C, Butler K, Cafferkey M, Mayne P. Introducing congenital toxoplasmosis to the Irish Screening Programme. In: Proceedings of the International Conference on Toxoplasmosis; 2003 June 23-25; Copenhagen, DK. Copenhagen: The Panum Institute; 2003.
261. Joynson DHM. Congenital *toxoplasma* infection in the UK. *Arch Pédiatr.* 2003;10[Suppl 1]:27-8.
262. Holliman RE. Congenital toxoplasmosis: prevention, screening and treatment. *J Hosp Infect.* 1995;30[Suppl]:179-90.

263. Bader TJ, Macones GA, Asch DA. Prenatal screening for toxoplasmosis. *Obstet Gynecol.* 1997;90:457-64.
264. Centers for Disease Control and Prevention. Preventing congenital toxoplasmosis. *MMWR* 2000;49[RR02];57-75.
265. McCabe R, Remington JS. Toxoplasmosis: The time has come. *N Engl J Med.* 1988;318:313-5.
266. Montoya JG, Rosso f. Diagnosis and management of toxoplasmosis. *Clin Perinatol.* 2005;32:705-26.
267. Remington JS, Wong SY [Reply]. Resposta a: Frenkel JK [Letter]. Prevention of *Toxoplasma* infection in Pregnant women and their fetuses. *Clin Infect Dis.* 1995;20:727-9.
268. Mittendorf R, Pryde P, Herschel M, Williams MA. Is routine antenatal toxoplasmosis screening justified in the United States? Statistical considerations in the medical screening tests. *Clin Obstetr Gynecol.* 1999;42:163-73.
269. Boyer KM. Diagnostic testing for congenital toxoplasmosis. *Ped Infect Dis J.* 2001;20:59-60.
270. Lappalainen M, Sintonen H, Koskiniemi M, Hedman K, Hiilesmaa V, Ammala P et al. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Scand J Infect Dis.* 1995;27:265-72.
271. Binquet C, Wallon M, Quantin C, Gadreau M, Peyron F. Evaluation des stratégies de prévention de la toxoplasmose congénitale: revue critique des études medico-economiques. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2002;50:475-87.

1.3 JUSTIFICATIVA

No mundo inteiro, há enorme interesse em resolver o problema da toxoplasmose congênita, que, apesar de poder passar despercebida, em muitos casos resulta em cegueira e retardo mental. Os estudos abrangem desde aspectos da ciência básica até estratégias de controle da doença, que incluem prevenção primária e programas de triagem pré-natal ou neonatal, com várias alternativas de diagnóstico e tratamento da gestante, feto e lactente.

No Brasil, estão surgindo as primeiras tentativas de controle sistemático da toxoplasmose gestacional e congênita. Em alguns estados e municípios estão sendo implantados programas de triagem pré-natal ou neonatal. Por outro lado, a maioria dos obstetras, nos consultórios privados ou nos ambulatórios públicos, já solicitam sorologia para toxoplasmose no pré-natal, e a triagem neonatal para toxoplasmose congênita também já é realizada numa significativa parcela da população, que pode pagar testes de triagem mais completos do que o oferecido pela rede pública.

Os países desenvolvidos destinam muitos recursos a programas e pesquisas sobre prevenção, diagnóstico precoce e tratamento. Os estudos nos chegam de forma avassaladora, e o primeiro impulso é adotar imediatamente uma abordagem já testada. Entretanto, uma análise mais profunda nos mostra que ainda existem dúvidas quanto à escolha da melhor estratégia, pois todas tem pontos positivos e negativos.

A gravidade da doença e as possibilidades de tratamento tornam imperativo buscar algum tipo de abordagem que atinja toda a população usuária dos sistemas públicos de saúde, mas antes de implantar um programa de controle da toxoplasmose congênita, é fundamental conhecer a prevalência da doença e analisar cuidadosamente as diferentes possibilidades, para determinar qual é a estratégia mais efetiva em termos de custos humanos e financeiros. Sendo o Brasil tão grande, e sabendo-se que a epidemiologia do *T.*

gondii é tão variável, é indispensável obter informações sobre a estrutura epidemiológica e outras características locais. Adicionalmente, para maximizar o rendimento do programa dentro dos recursos disponíveis, é necessário uma visão objetiva de alguns aspectos operacionais.

A necessidade de dispor de dados locais não exclui a grande importância da troca de experiências: cada estudo, se bem realizado, mesmo em localidades distantes umas das outras, serve de base para o delineamento dos programas e para o conhecimento cada vez maior sobre o assunto, suscitando grande interesse na literatura médica. Portanto, esperamos que as conclusões dos trabalhos aqui apresentados possam não somente contribuir para o planejamento e aperfeiçoamento das ações de saúde em nossa população, mas também ser extrapoladas para outras realidades.

1.4 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVOS GERAIS

Nossos objetivos com estes dois trabalhos foram obter dados sobre prevalência de toxoplasmose gestacional e congênita na população usuária dos serviços públicos de saúde em Porto Alegre e estudar alguns aspectos de diferentes estratégias de controle da toxoplasmose congênita, colaborando para a avaliação da eficiência das mesmas no diagnóstico precoce da infecção.

1.2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS (TRABALHO 1)

(Triagem neonatal para toxoplasmose congênita em 10.000 recém-nascidos na rede pública de saúde de Porto Alegre)

- Avaliar a prevalência de toxoplasmose congênita através da pesquisa de IgM anti-*T. gondii* em amostras de sangue absorvidas em papel filtro, em recém-nascidos submetidos à triagem neonatal universal na rede pública de saúde de Porto Alegre.
- Verificar se os casos de toxoplasmose congênita identificados por esta metodologia teriam sido detectados pelo programa de triagem pré-natal já implantado na mesma população.

1.2.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS (TRABALHO 2)

(Sorologia para Toxoplasma gondii na gestação e no momento do parto em 2513 pacientes consecutivas e avaliação dos recém-nascidos com risco de toxoplasmose congênita)

- Avaliar se a rotina de triagem sorológica para toxoplasmose em parturientes, implantada no Hospital São Lucas da PUCRS, foi capaz de identificar casos de toxoplasmose congênita que de outra forma não seriam detectados ao nascimento.
- Avaliar a prevalência de anticorpos para *T. gondii* nas gestantes/parturientes atendidas na maternidade do Hospital São Lucas da PUCRS pelo Sistema Único de Saúde.
- Avaliar a associação da imunidade para toxoplasmose com a idade e com a procedência das pacientes.

- Identificar e descrever alguns problemas que podem ocorrer na triagem pré-natal para toxoplasmose.
- Avaliar a prevalência de toxoplasmose congênita na população estudada.
- Descrever a evolução clínica e sorológica dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita.

CAPÍTULO 2

TRABALHO 1: *TRIAGEM NEONATAL PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM 10.000 RECÉM-NASCIDOS NA REDE PÚBLICA DE SAÚDE DE PORTO ALEGRE*

2.1 INTRODUÇÃO

Discute-se ainda qual a melhor estratégia para a prevenção e o controle da toxoplasmose congênita: triagem pré-natal, triagem neonatal, ou somente a prevenção primária.¹ Antes de definir qual a abordagem mais adequada, é necessário conhecer as características epidemiológicas e econômicas de cada região. Buscar informações sobre prevalência e gravidade da doença, assim como analisar cuidadosamente as características de diferentes metodologias, são etapas a cumprir antes que se possa determinar qual é a estratégia mais efetiva em termos de custos humanos e financeiros para cada população.²⁻⁵

Alguns levantamentos em Porto Alegre mostraram uma prevalência de toxoplasmose bastante elevada (57 a 62%) nas gestantes atendidas na rede pública,^{6, 7} e estudos de triagem neonatal no Brasil estimam uma alta prevalência de toxoplasmose congênita.⁸⁻¹⁰ A triagem neonatal é uma estratégia bastante utilizada, não só em estudos sobre prevalência, mas também como rotina em programas de diagnóstico precoce da toxoplasmose congênita.¹¹⁻¹⁴ No Brasil, inclusive em Porto Alegre, uma parcela expressiva de recém-nascidos é submetida a triagem neonatal para toxoplasmose, através de programas de caráter privado, cujo custo já é coberto pela maioria dos planos de saúde.^{8, 11} Entretanto, não dispomos de informações locais objetivas sobre a prevalência de

toxoplasmose congênita, principalmente na população usuária da rede pública de saúde, pois o teste disponível no programa oficial não inclui a pesquisa da infecção por *T. gondii*.

No ano 2000 foi implantado na rede pública de saúde do Município de Porto Alegre um programa de triagem pré-natal para toxoplasmose, o qual prevê a realização de sorologia para *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) pelo menos uma vez durante a gestação. Vários aspectos de um programa de triagem contribuem para sua eficiência, desde adequação dos testes empregados e disponibilidade de tratamento, até aderência dos pacientes aos programas de seguimento.¹⁵ Um dos aspectos que deve ser levado em conta é a capacidade do programa em detectar todos, ou pelo menos a grande maioria, dos casos da doença. No caso específico da toxoplasmose congênita, é importante que a metodologia empregada seja eficiente na detecção precoce dos casos de infecção intrauterina por *T. gondii*, condição essencial para que possa ser instituído o tratamento ainda na gestação, ou logo após o nascimento.¹²

Assim, buscamos com este trabalho atingir dois objetivos: avaliar a prevalência de toxoplasmose congênita em recém nascidos vivos de Porto Alegre, usuários da rede pública de saúde, através da triagem neonatal para IgM anti-*T. gondii*, e verificar se os casos identificados por esta metodologia teriam sido detectados pelo programa de triagem pré-natal para toxoplasmose já implantado, colaborando desta forma para a avaliação da eficiência do mesmo no diagnóstico precoce da infecção congênita.

2.2 METODOLOGIA

Em Porto Alegre, a triagem neonatal para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito e hemoglobinopatias é realizada de rotina em todos os recém-nascidos atendidos nos postos de saúde ou nas unidades neonatais, até o final do primeiro mês de vida. Este estudo transversal, realizado no ano de 2002, consistiu na pesquisa de IgM anti-*T. gondii* em 10.000 pacientes consecutivos desta população, realizada nas mesmas amostras de sangue

coletadas para os testes de rotina. O cálculo do tamanho amostral baseou-se no número anual médio de testes de triagem neonatal feitos nos últimos 3 anos pela rede de saúde pública de Porto Alegre, que era de 14.000, considerando um intervalo de confiança de 95%, frequência esperada de 0,10% e precisão de 0,04%. Todos os pacientes submetidos à triagem neonatal na rede pública foram elegíveis para o estudo, tendo sido excluídos apenas aqueles cujos cartões de coleta continham material insuficiente para a pesquisa de IgM anti-*T. gondii*.

As amostras de sangue foram obtidas conforme a rotina, entre o terceiro e o trigésimo dia de vida, nos postos de saúde ou nas unidades neonatais (no caso de recém-nascidos ainda internados), por punção do calcanhar, sendo absorvidas em cartões de papel filtro (903[®] - Schleicher & Schuell BioScience), devidamente identificadas e encaminhadas ao Laboratório de Rastreamento Neonatal na Faculdade de Farmácia da UFRGS. Nesta técnica, as amostras devem secar à temperatura ambiente por pelo menos duas horas e podem ser conservadas em 4-8^o C por até 6 meses. Quando corretamente coletadas, preenchendo com sangue capilar os três campos marcados no cartão de papel filtro, permitem a realização dos testes de rotina e ainda sobra material suficiente para outros testes. Durante o período de estudo os cartões foram sendo transferidos semanalmente, após o processamento dos testes de rotina, do laboratório da Faculdade de Farmácia para o do Centro de Triagem Neonatal e Laboratório Nobel, onde foi feita a pesquisa da IgM anti-*T. gondii*. Se o cartão contivesse material insuficiente era substituído pelo do próximo paciente, até completar-se a execução dos 10.000 testes disponíveis.

O método utilizado para pesquisa de IgM anti-*T. gondii* no papel filtro foi um imunoenzimático-fluorimétrico (FEIA) (NeoToxo-IgM[®], AniLabsystems), processado de acordo com as instruções do fabricante. Cada bateria de testes é acompanhada de controles identificados como negativo, ponto de corte (indeterminado) e positivo. Para evitar a perda

de casos positivos com baixos títulos de IgM específica, definiu-se que, além dos pacientes com teste positivo, todos aqueles cujas amostras apresentassem fluorescência até 20% inferior à do controle do ponto de corte seriam convocados para testes sorológicos confirmatórios (IgG e IgM anti-*T. gondii*) em sangue venoso, no lactente e na mãe. Para estes foi utilizada a técnica de enzimaímunensaio por micropartículas (MEIA – Imx® Abbott) ou a de enzimaímunensaio por fluorescência (ELFA – VIDAS® bioMérieux), disponíveis comercialmente.

Os recém-nascidos ou lactentes nos quais foi confirmada a presença de IgM anti-*T. gondii* no soro obtido por coleta de sangue venoso foram submetidos a avaliação completa (incluindo exame físico, avaliação oftalmológica e tomografia computadorizada de crânio), receberam tratamento e estão sendo acompanhados no Ambulatório de Infecções Congênitas do Hospital São Lucas da PUCRS e no Serviço de Oftalmologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os casos de toxoplasmose congênita foram definidos pelos critérios de Lebech (**anexo 3**).¹⁶

Para a prevalência foi utilizado o intervalo de confiança de 95% para proporções, calculado pela distribuição binomial. A taxa percentual de falsos positivos foi calculada pela fórmula [falsos positivos X 100 / (total de testes – verdadeiros positivos)].

O estudo foi aprovado pelos Comitês de Ética da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul e da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os pais ou responsáveis pelos pacientes diagnosticados com toxoplasmose congênita, cujos casos são descritos no trabalho, assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (**anexo 4**).

2.3 RESULTADOS

Durante o ano de 2002, 14.398 recém-nascidos, que constituíram nossa população de estudo, foram submetidos à triagem neonatal de rotina na rede pública de saúde de Porto

Alegre (no período houve aproximadamente 20.000 nascimentos vivos no município). Não foram incluídos no estudo recém-nascidos que realizaram a triagem em laboratório privado ou em outro município (**figura 2**).

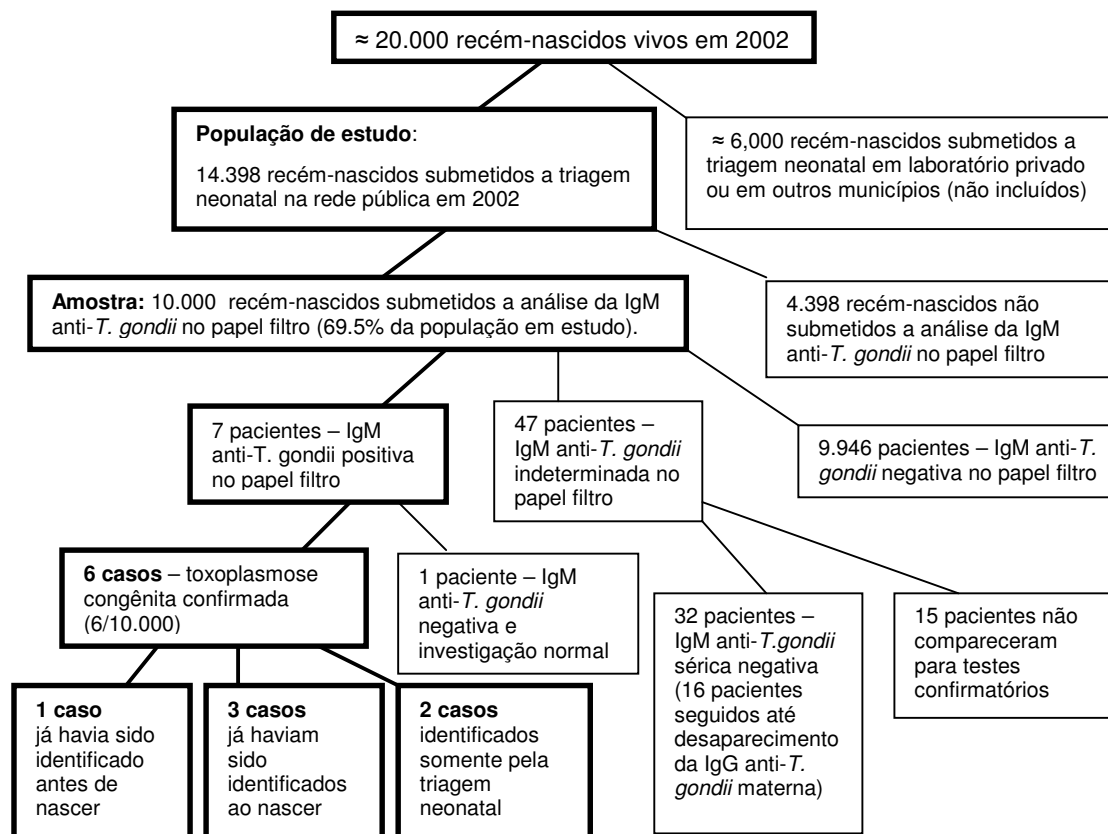


FIGURA 2 – RESULTADOS DA TRIAGEM NEONATAL E DOS TESTES CONFIRMATÓRIOS

Os 10.000 pacientes nos quais realizamos a pesquisa de IgM anti-*T. gondii* representaram 69,5% da população de estudo. Cento e sessenta e sete cartões foram excluídos por não conterem material suficiente para o teste da IgM anti-*T. gondii*, mas foram substituídos pelos imediatamente seguintes, não sendo subtraídos dos 10.000 testes disponíveis.

Sete pacientes apresentaram pesquisa de IgM anti-*T. gondii* positiva no papel filtro, entre os quais foram confirmados seis casos de toxoplasmose congênita. Assim, a prevalência de toxoplasmose congênita na população estudada foi de 6/10.000 recém-nascidos vivos (IC 95%: 2/10.000-13/10.000). A taxa de falsos positivos foi de 0,010%.

Os seis pacientes com toxoplasmose congênita confirmada, cujas coletas para a triagem foram realizadas entre 7 e 30 dias de vida, apresentaram IgM anti-*T. gondii* positiva no soro. Cinco recém-nascidos apresentavam manifestações clínicas, dentre os quais três com exame físico normal. Três pacientes tinham calcificações cerebrais e retinocoroidite (em dois casos com lesões ativas); um apresentava apenas hepatoesplenomegalia; em um caso a infecção era subclínica (exame físico e investigação normais); e um recém-nascido apresentava quadro clínico gravíssimo, incluindo hidranencefalia e microftalmia. Todos os pacientes mantiveram a IgG anti-*T. gondii* positiva após os 12 meses de idade. (**Tabela 5**)

Um caso já havia sido identificado antes do nascimento, na maternidade (paciente número 1). A mãe não havia feito acompanhamento pré-natal, mas a ecografia fetal realizada dias antes do parto mostrou alterações compatíveis com toxoplasmose congênita, confirmada pela sorologia materna e do recém-nascido. Três casos também já haviam sido descobertos na maternidade, logo após o nascimento (pacientes 2 a 4), pois nos hospitais onde esses pacientes nasceram era rotina repetir os testes sorológicos nas parturientes previamente soronegativas para toxoplasmose ou sem testes sorológicos na gestação. As três mães haviam feito acompanhamento pré-natal: uma com um teste negativo, outra com dois testes negativos e a terceira sem sorologia para toxoplasmose na gestação. Dois casos de toxoplasmose congênita foram detectados somente pela triagem neonatal, após a alta da maternidade (pacientes 5 e 6). Nos hospitais onde os mesmos nasceram não era realizada sorologia para toxoplasmose no momento do parto. A mãe do paciente 5 era soropositiva para HIV e não havia realizado acompanhamento pré-natal. A mãe do paciente 6 tinha mais de seis consultas pré-natais e dois testes negativos para anticorpos anti-*T. gondii*, um no primeiro e um no terceiro trimestre da gestação. Nenhum caso de toxoplasmose congênita foi identificado pela triagem sorológica durante a gestação.

TABELA 5 – DADOS DOS PACIENTES COM TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

Paciente	1	2	3	4	5	6
Sexo	Feminino	Feminino	Masculino	Feminino	Masculino	Masculino
Peso de nascimento (g)	2.980	3.200	3.055	2.980	3.120	2.270
Momento da identificação	Maternidade (ecografia fetal)	Maternidade (sorologia materna de rotina)	Maternidade (sorologia materna de rotina)	Maternidade (sorologia materna de rotina)	Triagem neonatal	Triagem neonatal
Dados maternos	Sem pré-natal Ecografia fetal: hidrocefalia	Sorologia negativa p/ <i>T. gondii</i> no primeiro e terceiro trimestres	Pré-natal presente mas sem sorologias	Sorologia negativa p/ <i>T. gondii</i> no primeiro trimestre	Sem pré-natal HIV positiva (d)	Sorologia negativa p/ <i>T. gondii</i> no segundo e terceiro trimestres (d)
Idade da primeira sorologia (a)	1 dia	1 dia	4 dias	5 dias		
Resultado da primeira sorologia (b)	IgG>3000 UI/mL IgM positiva	IgG >3000 UI/mL IgM positiva	IgG 40 UI/mL IgM 7,69	IgG 740 UI/mL IgM 2,51		
Idade da amostra para triagem (a)	30 dias	12 dias	16 dias	16 dias	10 dias	7 dias
Idade da confirmação (a)	58 dias	41 dias	45 dias	87 dias	80 dias	50 dias
Resultados dos testes confirmatórios (b)	IgG>3000 UI/mL IgM 2,31	IgG 2596 UI/mL IgM 7,84	IgG 1040 UI/mL IgM 13,04	IgG 796 UI/mL IgM 0,39	IgG 440 UI/mL IgM 1,54	IgG>3000 UI/mL IgM 8,47
Exame físico ao nascimento	Macrocefalia Microftalmia	Normal	Normal (com 3 semanas hepatoesplenomegalia)	Hepatomegalia Esplenomegalia	Normal	Normal (com 7 semanas hepatoesplenomegalia)
Avaliação oftalmológica	Microftalmia Leucocoria	Retinocoroidite cicatrizada em ambos os olhos	Retinocoroidite ativa em ambos os olhos, vitrite, necrose retiniana	Normal	Normal	Retinocoroidite ativa em ambos os olhos, vitrite
Tomografia computadorizada de crânio	Hidranencefalia Microftalmia Calcificações	Calcificações	Calcificações	Normal	Normal	Dilatação ventricular Calcificações
Idade do início do tratamento	20 dias	14 dias	11 dias	90 dias (c)	83 dias	55 dias
Tipo de tratamento	Pirimetamina Sulfadiazina Ácido folínico	Pirimetamina Sulfadiazina Ácido folínico	Pirimetamina Sulfadiazina Ácido folínico Prednisona	Pirimetamina Sulfadiazina Ácido folínico	Pirimetamina Sulfadiazina Ácido folínico Zidovudina	Pirimetamina Sulfadiazina Ácido folínico Prednisona
Seguimento com 1-2 anos	Deficiência visual severa Retardo mental	Estrabismo Desenvolvimento normal	Estrabismo Deficiência visual leve Desenvolvimento normal	Normal	Normal HIV positivo	Estrabismo Deficiência visual leve Desenvolvimento normal

^a Os pacientes 1 a 4, embora identificados com toxoplasmose congênita na maternidade, foram submetidos rotineiramente à triagem neonatal após a alta, sendo aleatoriamente incluídos no estudo, assim como todos os pacientes da amostra. Os dados sobre a primeira sorologia e o exame físico ao nascer foram obtidos retrospectivamente.

^b IgG <4UI/mL=negativa, > 8 UI/mL=positiva; IgM <0.55=negativa, > 0.65=positiva (índice). Técnicas mencionadas na seção de Métodos.

^c O paciente 4 iniciou a investigação e o tratamento somente após ter sido chamado para os testes confirmatórios, embora tivesse sorologia positiva ao nascer.

^d Os pacientes 5 e 6 foram identificados somente pela triagem neonatal.

Em um paciente, o teste de triagem foi positivo mas a toxoplasmose congênita não foi confirmada. Sua mãe havia apresentado soroconversão durante a gestação e recebido tratamento com espiramicina. No dia do nascimento o recém-nascido apresentava IgG anti-*T. gondii* alta, porém IgM específica negativa, realizada por ELFA. O exame físico e a investigação complementar eram normais. O teste de triagem foi coletado com 14 dias de vida. Não conseguimos manter o seguimento deste paciente, que pelos resultados da sorologia neonatal e da investigação, foi considerado como falso positivo na triagem.

Em 47 amostras a pesquisa de IgM anti-*T. gondii* no papel filtro ficou no ponto de corte, ou indeterminado (**figuras 2 e 3**). Destas, 32 mães (68%) compareceram com seus filhos para os testes séricos confirmatórios, que em todos os lactentes foram negativos para IgM anti-*T. gondii*. Dezesesseis lactentes foram acompanhados até a negatificação da IgG específica de origem materna. Duas mães eram soropositivas para HIV.

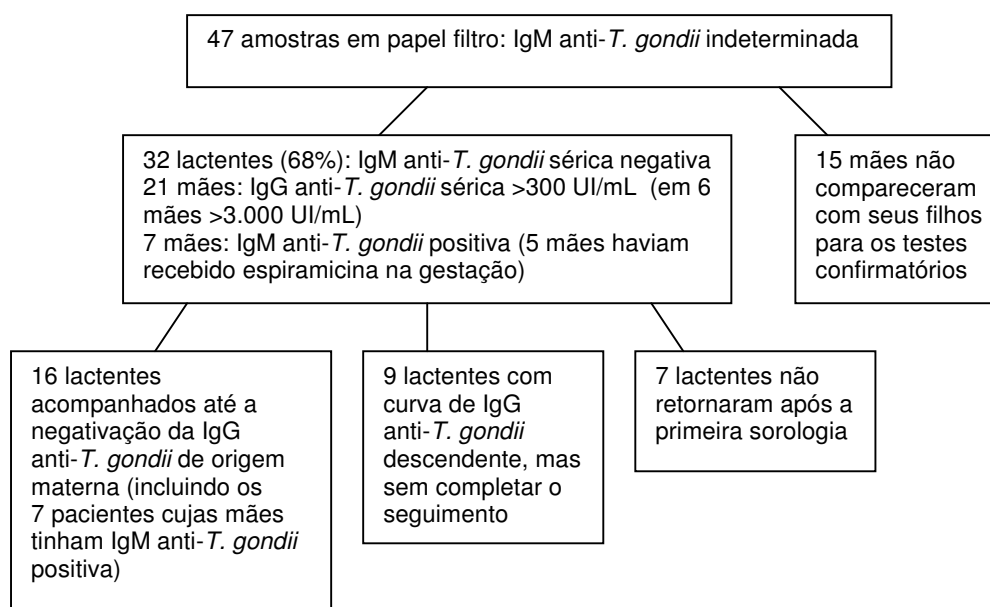


FIGURA 3 – RESULTADOS DOS PACIENTES COM IGM ANTI-*T. GONDII* INDETERMINADA NO PAPEL FILTRO

Em 21 casos com IgM anti-*T. gondii* indeterminada no papel filtro (65% dos 32 que fizeram testes confirmatórios), bem como no caso que foi considerado falso positivo, as mães e/ou os lactentes apresentavam IgG anti-*T. gondii* no soro maior do que 300 UI/ml – sendo em 12 casos maior do que 1000 UI/ml (incluindo o caso falso positivo) e em seis casos maior do que 3000 UI/ml. Sete mães dos casos com resultados indeterminados apresentavam IgM anti-*T. gondii* positiva, sendo que os sete lactentes foram acompanhados até a negatificação completa dos anticorpos maternos. Entre estas, cinco haviam recebido espiramicina durante a gestação, por períodos que variaram de um a seis meses, sendo que duas, ambas com soroconversão durante a gestação, haviam sido submetidas à pesquisa do *T. gondii* no líquido amniótico (por reação em cadeia da polimerase), as duas negativas.

2.4 DISCUSSÃO

Além de fornecer dados objetivos sobre prevalência, este estudo sobre triagem neonatal universal para toxoplasmose congênita, conduzido na mesma população e simultaneamente a um programa de triagem pré-natal, representou uma oportunidade de avaliar alguns aspectos dessas duas estratégias.

Apesar do Rio Grande do Sul apresentar uma das maiores prevalências mundiais de toxoplasmose,^{17, 18} e em Porto Alegre mais de 60% das gestantes atendidas nos hospitais públicos possuem anticorpos anti-*T. gondii*,^{6, 7} este estudo é o primeiro a avaliar diretamente a prevalência de toxoplasmose congênita em recém-nascidos atendidos na rede pública de saúde do município. A prevalência de toxoplasmose congênita (6/10.000) foi mais alta do que as de todas as doenças incluídas no programa oficial de triagem neonatal, no mesmo período e na mesma população, conforme dados da Secretaria da Saúde do

Município de Porto Alegre: hipotireoidismo congênito 4/10.000, hemoglobinopatias 2/10.000 e fenilcetonúria 0,7/10.000.

A prevalência de toxoplasmose congênita encontrada é também das mais altas quando comparada a outras regiões do país e do mundo onde foi avaliada pelo mesmo processo, ou seja, através da pesquisa de IgM em papel filtro na triagem neonatal: 0,7/10.000 na Suécia,¹⁹ 0,8/10.000 na Nova Inglaterra (Estados Unidos),¹² 3/10.000 na Dinamarca,¹³ 4,7/10.000 na Polônia,¹⁴ 3/10.000 em Ribeirão Preto/SP¹⁰ e 5/10.000 em recém-nascidos de todo o Brasil¹¹, ficando abaixo apenas da prevalência de 19/10.000, encontrada em uma população ribeirinha muito pobre em Campos dos Goytacazes/RJ.⁹ Pesquisando, além da IgM, a IgA anti-*T. gondii*, foi encontrada uma prevalência maior do que a anterior na Polônia: 10/10.000.²⁰ Os estudos estrangeiros utilizaram técnicas laboratoriais diferentes da usada em nosso estudo, enquanto que os estudos brasileiros citados também utilizaram o FEIA.

Apesar de considerada alta, é possível que a prevalência encontrada em nosso estudo ainda esteja subestimada, porque a rotina da triagem neonatal na rede pública de Porto Alegre permite a coleta até o final do primeiro mês de vida, e dentro deste período pode ocorrer, em alguns casos, a negatificação da IgM anti-*T. gondii*, cuja presença na toxoplasmose congênita é por vezes muito fugaz.^{14, 21} Quando a triagem neonatal inclui de rotina a toxoplasmose, a recomendação é de que a coleta não ultrapasse a primeira semana de vida. Adicionalmente, como o tratamento pré-natal pode influir na sensibilidade da IgM anti-*T. gondii* no recém-nascido¹⁴, é possível que em nossa população, ao contrário dos lugares onde é realizada apenas triagem neonatal, possa ter ocorrido algum caso de tratamento materno causando a negatificação IgM em um recém-nascido infectado. Esta situação não ocorreu em nenhum dos pacientes com resultado indeterminado que foram acompanhados até a negatificação dos anticorpos maternos. Entretanto, no caso que foi

considerado falso negativo, em que a mãe havia recebido tratamento, poderia ter acontecido que a IgM anti-*T. gondii*, que foi negativa logo após o nascimento, tenha positivado (caso o recém-nascido tivesse infecção congênita) nas duas semanas que transcorreram entre o nascimento – e, conseqüentemente, a cessação do efeito do tratamento materno – e a coleta do teste de triagem. Infelizmente, este paciente foi perdido ao seguimento; a mãe não compareceu para os testes confirmatórios, sendo os exames do nascimento obtidos através do hospital onde ocorreu o parto. Independentemente de todos os fatores citados, alguns recém-nascidos com toxoplasmose congênita podem ter IgM específica negativa ao nascer, não sendo detectados por triagem neonatal.^{12-14, 21} Esta situação não pôde ser avaliada no presente estudo.

Outra situação que pode ocorrer na triagem neonatal é a negatificação da IgM anti-*T. gondii* no intervalo de tempo transcorrido entre o teste de triagem e o comparecimento para a confirmação, deixando em dúvida se o caso corresponde a um falso positivo da triagem ou ao desaparecimento da IgM específica nesse intervalo. Por exemplo, nosso paciente de número 4, que somente compareceu para os testes confirmatórios com 87 dias de vida, já apresentava na ocasião a IgM anti-*T. gondii* negativa no soro, o que, especificamente neste caso, não interferiu com o diagnóstico, que havia sido feito ainda na maternidade. Temos de lembrar que em nosso estudo houve uma demora adicional no chamamento dos pacientes, em razão do tempo transcorrido no transporte dos cartões entre os laboratórios, o que não acontece quando todos os testes são feitos no mesmo laboratório. Mas é sempre prudente realizar a investigação completa para toxoplasmose congênita nos pacientes com IgM anti-*T. gondii* positiva no papel filtro e negativa no soro. Nos assintomáticos, deve-se fazer o seguimento mensal da curva de IgG, que pode fornecer o diagnóstico, ou utilizar um método que permita distinguir a IgG do lactente da materna.^{22, 23} Em todos os nossos pacientes, além da sorologia inicial ter confirmado o diagnóstico, a IgG anti-*T. gondii*

manteve-se positiva até os 12 meses de idade, critério considerado padrão-ouro para confirmação diagnóstica em trabalhos sobre toxoplasmose congênita.^{16, 24}

A grande proporção de casos com manifestações clínicas (descobertas pela investigação complementar) está em desacordo com a preponderância de toxoplasmose congênita subclínica encontrada na Europa e nos Estados Unidos. Este fato merecerá estudos adicionais para comprovação e investigação da causa. É interessante lembrar que no Rio Grande do Sul a toxoplasmose ocular costuma apresentar uma evolução mais complicada do que em outros países, o que tem sido atribuído a fatores epidemiológicos peculiares ou predominância de cepas de *T. gondii* mais agressivas.^{25, 26} Foi confirmado o risco, já relatado, de retinocoroidite severa em infecções que são adquiridas pela mãe nas últimas semanas de gestação.²⁷

Sabe-se que em mais de 90% dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita, e particularmente naqueles cuja mãe adquiriu a toxoplasmose nas últimas semanas de gestação, o exame físico é normal. Alguns desses pacientes, entretanto, apresentam lesões oculares e/ou do sistema nervoso central identificadas por exames complementares, e mesmo aqueles com investigação inicialmente normal poderão apresentar seqüelas tardias, as quais podem ser evitadas ou limitadas pelo tratamento precoce.^{12, 24, 28} Também na sua forma adquirida a toxoplasmose é quase sempre assintomática, podendo passar despercebida na gestante com infecção aguda.²⁴ Destes fatos deriva a grande importância da triagem sorológica, seja pré-natal, seja neonatal, cujo objetivo é identificar precocemente a maioria dos casos, principalmente os que passariam despercebidos no período neonatal. Representaria desperdício de recursos um programa de triagem que por sua natureza intrínseca deixasse de identificar muitos recém-nascidos infectados. Isto pode estar acontecendo em Porto Alegre, onde, apesar de estar em andamento a triagem pré-natal para toxoplasmose, muitos serviços realizam apenas um teste no início da gestação,

mesmo nas gestantes soronegativas para *T. gondii*, e a maioria dos hospitais que mantêm maternidades públicas não repetem os testes nas parturientes suscetíveis ou naquelas sem testes durante a gestação. Embora quatro das mães de nossos pacientes com toxoplasmose congênita tenham realizado acompanhamento pré-natal, em nenhuma delas a toxoplasmose havia sido diagnosticada pela sorologia realizada durante a gestação.

O último trimestre é a época de maior risco de transmissão vertical da toxoplasmose²⁴ e justamente a que fica a descoberto da triagem pré-natal, se não forem repetidos os testes nas parturientes ou nos recém-nascidos. Nossos resultados mostram claramente a necessidade da testagem na hora do parto ou posteriormente (na mãe ou no recém-nascido), do contrário a triagem pré-natal pode ser ineficiente na identificação da toxoplasmose congênita. Esta situação já foi percebida em outras regiões, principalmente na França, onde é maior a experiência com triagem pré-natal para toxoplasmose. Naquele país não era rotina a repetição dos testes nas parturientes, mas a partir da década passada, vários estudos mostraram a necessidade de testar as gestantes ainda suscetíveis no momento do parto ou, como defendem alguns autores, até um mês após o mesmo, pela possibilidade da infecção muito recente não ter se manifestado ainda na sorologia da parturiente, mas já ter causado a infecção fetal.²⁹⁻³²

O estudo não levantou o número de casos de toxoplasmose gestacional que foram identificados e tratados durante o período de estudo e eventualmente não resultaram em infecção congênita, ou casos de toxoplasmose congênita que não tenham sido detectados pela triagem neonatal, como foi discutido acima, embora nenhum tenha chegado a nosso conhecimento. Assim, nossos resultados, se mostram falhas no programa de triagem pré-natal, não excluem seus prováveis e importantes benefícios.

Em dois casos, as mães não haviam realizado acompanhamento pré-natal. Este é mais um motivo para que a detecção da toxoplasmose congênita não dependa apenas da

triagem pré-natal, principalmente em uma população como a nossa, na qual mais de 10% das gestantes em geral, e em torno de 30% daquelas com maior risco social, não buscam cuidado pré-natal regular.³³

Em nenhum dos pacientes que foram testados por apresentar resultado indeterminado na triagem foi detectada a toxoplasmose congênita, e em grande parte dos casos a mesma foi descartada com certeza, confirmando, em nossa população, que o ponto de corte da técnica utilizada para pesquisa da IgM anti-*T. gondii* em papel filtro é adequado e o seu desempenho foi de acordo com o descrito na literatura.^{34, 35} A taxa de falsos positivos, se comparada com as dos principais estudos,¹¹⁻¹⁴ que descrevem taxas de 0,008% a 0,100%, mostrou-se semelhante ou bem menor.

Foi um achado curioso a grande proporção de mães com altas concentrações de IgG anti-*T. gondii* entre aquelas cujos lactentes apresentaram valores indeterminados de IgM anti-*T. gondii* no papel filtro, bem acima da proporção encontrada habitualmente nas gestantes. Esses recém-nascidos apresentavam alta concentração de IgG anti-*T. gondii*, como seria de esperar pela transferência placentária de anticorpos maternos,³⁶ mas em nenhum foi diagnosticada infecção congênita. Sete dessas mães apresentavam infecção recente (IgM anti-*T. gondii* positiva), sendo duas com soroconversão confirmada durante a gestação. Nos sete casos, a possibilidade de infecção congênita foi completamente descartada pelo seguimento dos lactentes, com o desaparecimento completo da IgG anti-*T. gondii*. Esta situação é semelhante à descrita por Guerina e colaboradores:¹² entre os 100 casos positivos na triagem neonatal, 50 não foram confirmados, sendo que entres estes havia 19 mães com IgM positiva. Provavelmente o ponto de corte da técnica utilizada no programa da Nova Inglaterra resultava em frequências mais baixas de valores indeterminados e mais altas de falsos-positivos, mas o encontro de uma grande proporção de mães com infecção recente entre os positivos pode ser interpretado da mesma maneira.

Este achado merece estudos adicionais, pois ainda não temos explicações para o mesmo. Não há nenhum dado técnico que sugira interferência da presença de IgG de origem materna na pesquisa de IgM anti-*T. gondii* no recém-nascido.

Interessantemente, a maioria das mães com sorologia de toxoplasmose recente, em cujos filhos a possibilidade de infecção congênita foi descartada, haviam recebido tratamento durante a gestação, enquanto que nenhuma das mães dos pacientes com toxoplasmose congênita confirmada o haviam recebido. Naturalmente este estudo não foi desenhado com a finalidade de avaliar a eficácia do tratamento durante a gestação, assunto que tem sido objeto de grandes controvérsias e de grande interesse. Mas, sem dúvida, o achado é intrigante, pois poderia sugerir o efeito do tratamento na diminuição da transmissão vertical do *T. gondii*. Talvez populações como a nossa, onde muitas gestantes fazem tratamento para toxoplasmose e muitas não o fazem, possam ser, no presente momento, adequadas para estudos projetados especificamente com objetivo de avaliar a eficácia do tratamento pré-natal. Ambos os grupos (tratadas e não tratadas) poderiam pertencer à mesma população e mesma época, ao contrário do que acontece nos principais estudos observacionais em andamento, nos quais, para se conseguir gestantes conduzidas com diferentes protocolos, as mesmas precisam ser selecionadas de regiões ou de épocas diferentes, criando vieses inevitáveis.³⁷⁻³⁹ Por outro lado, esperamos que à medida em que se definam as conclusões, possamos estabelecer uma estratégia uniforme que seja a melhor para atender todas as nossas gestantes. De qualquer forma, os vários casos de gestantes que foram manejadas corretamente representam um lado positivo do programa de triagem pré-natal, que apesar de ter sido ineficiente na detecção de alguns casos de toxoplasmose congênita, pode ter sido de grande benefício para alguns pacientes, como já foi comentado acima.

Outros aspectos que devem ser examinados para que se possa avaliar a eficiência do programa de triagem pré-natal fogem ao escopo deste trabalho, como, por exemplo, o acompanhamento dos casos diagnosticados, a existência de serviços de referência, a disponibilidade de medicamentos e procedimentos diagnósticos e a aderência ao tratamento. São aspectos muito importantes, que merecem estudos delineados especialmente para abordá-los.

Concluimos que a prevalência de toxoplasmose congênita, de seis casos para cada 10.000 recém-nascidos submetidos à triagem neonatal na rede pública de saúde do município de Porto Alegre, é preocupantemente alta. A triagem neonatal identificou casos de toxoplasmose congênita não detectados pela triagem pré-natal, quando a sorologia materna não foi feita no momento do parto; se não complementada por um teste na hora do parto ou logo após o mesmo, a triagem pré-natal pode ser ineficiente em detectar a toxoplasmose adquirida e transmitida nas últimas semanas da gestação. Adicionalmente, a triagem neonatal e a sorologia materna no momento do parto identificaram casos de toxoplasmose congênita em que a mãe não havia realizado acompanhamento pré-natal.

2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ambroise-Thomas P. Toxoplasmose congénitale: les différentes stratégies préventives. Arch Pédiatr. 2003;10:12-14
2. Ambroise-Thomas P, Schweitzer M, Pinon JM, Thiebaugeorges O. La prévention de la toxoplasmose congénitale en France. Évaluation des risques. Résultats et perspectives du dépistage anténatal et du suivi du nouveau-né. Bull Acad Natle Méd. 2001;185:665-88.
3. Lynfield R, Hsu HW, Guerina NG. Screening methods for congenital toxoplasmosis and risk of disease. Lancet. 1999;353:1899-900.

4. Lappalainen M, Sintonen H, Koskiniemi M et al. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Scand J Infect Dis.* 1995;27:265-272.
5. Binquet C, Wallon M, Quantin C, Gadreau M, Peyron F. Evaluation de strategies de prévention de la toxoplasmose congénitale: revue critique des études medico-economiques. *Rev Epidemiol Sante publique.* 2002;50:475-87.
6. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Müller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. *J Pediatr (Rio J).* 2003;79:69-74.
7. Neves J, Nascimento LB, Ramos JGL, Martins-Costa SH. Toxoplasmose na gestação. *RBGO.* 1994;16:197-202.
8. Neto EC, Anele E, Rubin R et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol.* 2000; 9: 41-7.
9. Bahia-Oliveira LMG, Abreu AMW, Azevedo-Silva J, Oréface F. Toxoplasmosis in southwestern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. In: Petersen E, Pollak A, Reiter-Owona I. Recent trends in research on congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol.* 2001;31:115-44.
10. Carvalheiro CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, De Souza CBS, Maciel LMZ. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect.* 2005;133:485-91.
11. Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R. Newborn screening for congenital infectious diseases. *Emerging Infect Dis.* 2004;10:1069-73.
12. Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Engl J Med.* 1994;330:1858-63.
13. Lebech M, Andersen O, Christensen NC et al. Feasibility of neonatal screening for *toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. *Lancet.* 1999;353:1834-7.

14. Paul M, Petersen E, Pawlowski Z, Szczapa J. Neonatal screening for *Toxoplasma gondii* in Poznań region of Poland by analysis of *Toxoplasma gondii*-specific IgM antibodies eluted from filter paper blood spots. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19:30-6.
15. Hartup C, Johnson JD, Holliman RE. The investigation of *Toxoplasma* infection associated with pregnancy. *J Infect*. 1997;35:47-54.
16. Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, Ovlisen B, Petersen E. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996;15:799-805.
17. Melamed J, Sebben JC, Maestri M, Silveira S, Locatelli C. Epidemiology of ocular toxoplasmosis in Rio Grande do Sul, Brazil. In: Dernouchamps JP, Verougstraete C, Caspers-Velu L, Tassignon MJ (ed.). *Proceedings of the Third International Symposium on Uveitis*, Brussels, Belgium. Amsterdam: Kugler, 1992. p. 211-214.
18. Silveira C, Belfort Jr R, Muccioli C et al. A follow-up study of *Toxoplasma gondii* infection in Southern Brazil. *Am J Ophthalmol*. 2001;131:351-4.
19. Evengard B, Petersson K, Engman ML, Wiklund S, Ivarsson SA, Tear-Fahnehjelm K et al. Low incidence of *toxoplasma* infection during pregnancy and in newborns in Sweden. *Epidemiol Infect*. 2001;127:121-7.
20. Paul M, Petersen E, Szczapa J. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznań region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. *J Clin Microbiol*. 2001;39:1912-6.
21. Naessens A, Jenum PA, Pollak A, Decoster A, Lappalainen M, Villena I et al. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period: A multicenter evaluation. *J Pediatr*. 1999;135:714-9.
22. Zufferey J, Hohlfeld P, Bille J et al. Value of the comparative enzyme-linked immunofiltration assay for early neonatal diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection. *Pediatr Infect Dis J*. 1999;18:971-5.

23. Tissot-Dupont D, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchard MP, Bost-Bru C, Ambroise-Thomas P, Pelloux H. Usefulness of Western Blot in serological follow-up of newborns suspected of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22:122-5.
24. Remington JS, Mcleod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington, JS, Klein, JO: *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* Philadelphia, 2000: WB Saunders, p. 205-346.
25. Melamed J. Peculiarities of ocular toxoplasmosis in Rio Grande do Sul, Brazil. In: Belfort Jr. R, Petrilli AMN, Nussenblatt R, editors. *World Uveitis Symposium.* São Paulo: Livraria Roca; 1988. p. 340-8.
26. Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D, Martins MC, Burnier M, Silveira S et al. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in Southern Brazil. *Am J Ophthalmol.* 1992;114:136-44.
27. Gras (2) L, Gilbert RE, Ades AE, Dunn DT. Effect of prenatal treatment on the risk of intracranial and ocular lesions in children with congenital toxoplasmosis. *Int J Epidemiol.* 2001;30:1309-13.
28. Mc Auley J, Boyer K M, Patel D, Mets M, Suvsher C, Roizen N et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago collaborative treatment trial. *Clin Infect Dis.* 1994;18:38-72.
29. Marx-Chemla C, Puygautier-Toubas D, Foudrinier F et al. La surveillance immunologique d'une femme enceinte séronégative pour la toxoplasmose doit-elle s'arrêter à l'accouchement? *Presse Med.* 1990;19:367-8.
30. Wirden M, Botterel F, Romand S, Ithier G, Bourée P. Intérêt du dépistage en post-partum de la toxoplasmose congénitale après primo-infection maternelle en fin de grossesse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 1999;28:566-7.
31. Wallon M, Franck J, Romand S, Peyron S, Dumon H, Thulliez P. Intérêt de la sérologie toxoplasmique à l'accouchement chez les femmes séronégatives pendant la grossesse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2001;30:697-9.

32. Chemla C, Villena I, Aubert D, Hornoy P, Dupouy D, Leroux B et al. Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9:489-90.
33. Lago EG, Rodrigues LC, Fiori RM, Stein AT. Congenital syphilis: identification of two distinct profiles of maternal characteristics associated with risk. *Sex Transm Dis.* 2004;31:33-7.
34. Eaton RB, Petersen E, Seppänen H, Tuuminen T. Multicenter evaluation of a fluorimetric immunocapture assay to detect *Toxoplasma*-specific immunoglobulin M in dried blood filter paper specimens from newborns. *J Clin microbiol.* 1996;34:3147-50.
35. Sørensen T, Spenter J, Jaliashvili I, Christiansen M, Nørgaard-Pedersen B, Petersen E. Automated time-resolved immunofluorimetric assay for *Toxoplasma gondii*-specific IgM and IgA antibodies: study of more than 130 000 filter-paper blood-spot samples from newborns. *Clin Chem.* 2002;48:1981-6.
36. Lago EG, Bender AL, Glock L, Carvalho RL, Presotto C, Coelho JC et al. Comparação entre as concentrações de IgG anti-*Toxoplasma gondii* em recém-nascidos não infectados e suas mães no período pós-parto imediato. *Scientia Medica.* 2004;14:121-7.
37. Wallon M, Liou C, Garner P, Peyron F. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. *BMJ.* 1999;318:1511-4.
38. Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B et al. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: A multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am J Obstet gynecol.* 1999;180:410-5.
39. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*. *BJOG.* 2003;110:112-20.

CAPÍTULO 3

TRABALHO 2: SOROLOGIA PARA TOXOPLASMA GONDII NA GESTAÇÃO E NO MOMENTO DO PARTO EM 2513 PACIENTES CONSECUTIVAS E AVALIAÇÃO DOS RECÉM-NASCIDOS COM RISCO DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

3.1 INTRODUÇÃO

A transmissão vertical da toxoplasmose pode ocorrer quando a infecção materna pelo *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) é adquirida durante a gestação, sendo a gravidade do acometimento fetal maior nas infecções de primeiro e segundo trimestres, especialmente no que se refere às lesões de sistema nervoso central.¹ As lesões oculares, entretanto, não são influenciadas pela idade gestacional, sendo frequentes nos fetos infectados nas últimas semanas da gestação – justamente quando a taxa de transmissão vertical é maior.^{2,3} Lesões oculares podem também surgir posteriormente, até a terceira década de vida, principalmente nos pacientes não tratados.^{4,6} Assim, o tratamento da toxoplasmose congênita é indicado mesmo nos pacientes assintomáticos, pois é fato comprovado que, sendo iniciado precocemente e continuado pelo menos durante doze meses, melhora o prognóstico da toxoplasmose congênita.^{5,7-10}

Sendo a toxoplasmose assintomática na maioria das gestantes e podendo passar despercebida no recém-nascido, o diagnóstico depende principalmente da triagem sorológica, em programas que visam o controle da toxoplasmose congênita. Entretanto, a

escolha da estratégia requer informações sobre algumas características da população, sobretudo a prevalência de imunidade para *T. gondii* nas mulheres em idade reprodutiva.^{11, 12} A relação da prevalência com as faixas etárias também é um dado utilizado em modelos matemáticos, que podem estimar a incidência da infecção nas mulheres em idade reprodutiva, importante para o cálculo do impacto da toxoplasmose congênita em análises decisórias.^{13, 14}

Adicionalmente, a prevalência de toxoplasmose nas gestantes influencia diretamente a escolha da estratégia de controle da toxoplasmose congênita. Nas populações em que a prevalência de toxoplasmose nas gestantes é alta, geralmente está indicado um programa de triagem pré-natal, como os que existem em alguns países da Europa.¹⁵⁻¹⁹ A sorologia é realizada no início do acompanhamento pré-natal e repetida periodicamente nas gestantes suscetíveis, com a finalidade de detectar uma possível soroconversão durante a gestação. Um aspecto importante, que deve ser parte integrante da triagem pré-natal, é o aconselhamento das gestantes suscetíveis sobre cuidados de prevenção primária.²⁰

A periodicidade dos testes varia entre os programas de triagem pré-natal: na França os testes são repetidos mensalmente,¹⁵ mas em outros países da Europa são usados outros esquemas, bimestrais ou trimestrais.¹⁶⁻²⁰ No município de Porto Alegre, o programa piloto de triagem pré-natal, iniciado no ano 2000, prevê uma pesquisa de IgM e IgG anti-*T. gondii* no início do acompanhamento pré-natal, que poderá ser repetida, nas soronegativas, no início do terceiro trimestre. Nos serviços de assistência pré-natal das outras cidades da Região Metropolitana de Porto Alegre também vem sendo realizada de rotina a triagem para toxoplasmose nas gestantes.

Entretanto, muitos programas de triagem pré-natal não levam em conta a vulnerabilidade do terceiro trimestre da gestação, não prevendo um exame no momento do parto. Este fato foi descrito mesmo em países onde a triagem pré-natal é feita há várias

décadas de forma organizada e intensiva, como na França, onde os testes são realizados mensalmente nas gestantes suscetíveis, mas nem sempre eram repetidos no momento do parto.^{21, 22} Pode acontecer então que as infecções fetais ocorridas nas últimas semanas de gestação passem despercebidas nos primeiros meses de vida extra-uterina, até que a criança demonstre sinais de acometimento ocular ou neurológico, tendo sido perdido um tempo precioso para o tratamento. Reconhecendo este problema, alguns hospitais passaram a realizar sorologia para *T. gondii* nas parturientes que durante a gestação apresentavam testes negativos ou não os haviam realizado. No Hospital São Lucas da PUCRS (HSL-PUCRS) esta rotina foi introduzida em maio de 2002.

O primeiro objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência do programa de triagem sorológica para toxoplasmose em parturientes, verificando se esta rotina foi capaz de identificar casos de toxoplasmose congênita que de outra forma não seriam detectados ao nascer. O estudo visou também avaliar a prevalência de anticorpos para *T. gondii* nas gestantes/parturientes atendidas na maternidade do HSL-PUCRS pelo Sistema Único de Saúde (SUS), avaliar a associação da imunidade para toxoplasmose com idade e procedência, identificar problemas que podem ocorrer na triagem pré-natal para toxoplasmose, avaliar a prevalência de toxoplasmose congênita na população estudada e descrever a evolução clínica e sorológica dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita.

3.2 METODOLOGIA

O HSL-PUCRS, hospital-escola da Faculdade de Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, é um hospital geral localizado em zona urbana de Porto Alegre, cidade de aproximadamente 1.500.000 habitantes, capital do Rio Grande do Sul. As pacientes atendidas no Centro Obstétrico pelo SUS (aproximadamente 90% dos partos ocorridos no hospital) procedem, em sua maioria, de bairros próximos ao

hospital e de Viamão (cidade da Região Metropolitana, com aproximadamente 250.000 habitantes, que não possuía maternidade do SUS até 2004). Desde o início de maio de 2002, o HSL-PUCRS realiza a pesquisa de IgG e IgM anti-*T. gondii* nas parturientes, em três situações: 1) soronegativas para toxoplasmose na gestação; 2) sem sorologia prévia para toxoplasmose; e 3) com evidências de infecção recente durante a gestação (IgM anti-*T. gondii* reagente). Os recém-nascidos com risco de toxoplasmose congênita e aqueles com a infecção comprovada são investigados e tratados de acordo com as recomendações vigentes na literatura médica^{23, 24} e acompanhados no Ambulatório de Infecções Congênitas do Hospital. Os casos de toxoplasmose congênita foram definidos pelos critérios de Lebech²⁵ (**anexo 3**).

Neste estudo transversal, realizado no setor da maternidade do HSL-PUCRS que atende pacientes do SUS, incluímos todas as parturientes que deram à luz recém-nascidos vivos no período de 01/05/2002 a 30/04/2003 (primeiros 12 meses de implantação da rotina em estudo). As pacientes que realizaram acompanhamento pré-natal o fizeram em vários postos de saúde ou ambulatórios de Porto Alegre e outras cidades da Região Metropolitana, e os testes sorológicos da gestação foram feitos em laboratórios credenciados pelo SUS por diversas técnicas disponíveis comercialmente. Os testes do momento do parto foram todos realizados no Laboratório de Patologia Clínica do HSL-PUCRS, por uma técnica de enzimaímunensaio por fluorescência (ELFA), VIDAS[®] bioMérieux. Esta técnica considera os seguintes pontos de corte para anticorpos anti-*T. gondii*, conforme o manual do fabricante: IgG <4 UI/mL não reagente e >8 UI/mL reagente; IgM com índice <0,55 não reagente e >0,65 reagente. Para a IgG anti-*T. gondii*, a sensibilidade do método é de 99,6% e a especificidade de 99,9%, usando como padrão o teste de Sabin-Feldmann. Para a IgM anti-*T. gondii*, a sensibilidade é de 93,5% e a especificidade de 99,3%, usando como padrão o ISAGA (*IgM immunosorbent agglutination assay*).

Foram anotados diariamente, de forma prospectiva ao longo do período de estudo, os seguintes dados: resultados de sorologias para toxoplasmose das pacientes, feitas durante ou antes da gestação; idade e procedência das pacientes; testes sorológicos realizados no momento do parto; e demais exames diagnósticos realizados nas parturientes e seus recém-nascidos durante a estadia hospitalar. Os dados dos exames realizados durante a gestação foram obtidos pela consulta a carteiras de pré-natal, laudos fornecidos pelos laboratórios e/ou prontuários médicos.

Denominamos:

parturiente – a paciente entre 48 horas antes e 48 horas depois do parto, e

testes no momento do parto – os realizados dentro deste período.

A IgG e a IgM anti-*T. gondii* foram consideradas reagentes ou não reagentes conforme os valores de referência das técnicas utilizadas. Classificamos a paciente como:

suscetível – quando IgG e IgM anti-*T. gondii* eram não reagentes;

imune com infecção antiga – quando IgG anti-*T. gondii* era reagente e IgM anti-*T. gondii* não reagente; e

imune com infecção recente – quando IgM anti-*T. gondii* ainda era reagente no momento do parto.

Sempre que possível, a classificação foi baseada nos resultados da sorologia do momento do parto, realizada pelo ELFA no laboratório do HSL-PUCRS. Nos casos em que esta não foi realizada, a classificação foi feita com base na sorologia do pré-natal. Assim, a classificação final das pacientes foi uma combinação entre testes da gestação e do momento do parto.

Foi calculada a prevalência de imunidade para *T. gondii*, com base na classificação final, em toda a amostra. Esta foi comparada com a prevalência obtida quando considerados

apenas os testes realizados no laboratório do HSL-PUCRS no momento do parto. Avaliamos as associações entre imunidade para *T. gondii*, idade e procedência das puérperas. Identificamos alguns problemas que podem ocorrer com a triagem pré-natal para toxoplasmose. Estudamos detalhadamente os casos de pacientes com IgM anti-*T. gondii* positiva. Identificamos os recém-nascidos com risco de toxoplasmose congênita e os que tiveram o diagnóstico comprovado, e descrevemos alguns aspectos clínicos e sorológicos dos mesmos. Calculamos a prevalência de toxoplasmose congênita.

Os dados foram digitados no Epi Info 2002 e analisados neste programa ou no SPSS. Os testes estatísticos utilizados foram distribuição de frequências, qui quadrado de associação e qui quadrado para tendências lineares. Os intervalos de confiança de 95% foram calculados pela distribuição binomial.

O estudo não interferiu na rotina hospitalar nem nos procedimentos normais de investigação e tratamento das puérperas e seus recém-nascidos. O projeto foi aprovado pela Comissão Científica do HSL-PUCRS e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da PUCRS. Os pais ou responsáveis pelos pacientes diagnosticados com toxoplasmose congênita assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. (**anexo 4**).

3.3 RESULTADOS

Nos 12 meses estudados, 2.513 parturientes deram à luz recém-nascidos vivos no setor SUS do HSL-PUCRS. Em 2477 pacientes conseguimos determinar a situação sorológica para toxoplasmose. Na **tabela 6** são mostrados os resultados das sorologias para toxoplasmose da gestação e do momento do parto e a classificação final atribuída a cada paciente (com os critérios de classificação), assinalando os grupos em que ocorreram os casos de toxoplasmose congênita.

TABELA 6 – SOROLOGIA PARA *T. GONDII* EM 2.513 PARTURIENTES CONSECUTIVAS

SOROLOGIA NA GESTAÇÃO		SOROLOGIA NO MOMENTO DO PARTO				CLASSIFICAÇÃO FINAL DA PACIENTE			
						Sorologia conhecida N=2.477		Sorologia desconhecida	
						Imune N=1.667 (67,3%)			Suscetível N=810 (32,7%)
		IgG R IgM NR	IgG R IgM R	IgG NR IgM NR	Não solicitada	Infecção antiga	Infecção recente		
IgG R IgM NR	1.162	87 ^a	1 ^a	0	1074 ^b	1.161	1	0	0
IgG R IgM R	28	4 ^c	20 ^d	0	4 ^e	4	24	0	0
IgG NR IgM NR	639	29 ^f	1 ^g	582 ^h	27 ^h	29	1	609	0
Desconhecida	684	432	15 ⁱ	201 ^h	36 ^j	432	15	201	36
Total	2.513					1.626	41	810	36

R: reagente NR: não reagente

a. Testes repetidos no momento do parto, embora as pacientes já fossem previamente conhecidas como imunes (ver texto).

b. Nas pacientes consideradas imunes na gestação não havia indicação de repetir a sorologia.

c. IgM positiva no pré-natal e negativa no momento do parto. Essas 4 pacientes foram classificadas como infecção antiga.

d. Pacientes com infecção recente já conhecida no pré-natal. Neste grupo um houve caso de toxoplasmose congênita, diagnosticado durante a gestação (*caso 1*).

e. Em 4 pacientes com IgM reagente na gestação, 3 delas com imunidade já detectada em gestação anterior e uma com teste de avidéz forte no primeiro trimestre, a sorologia não foi repetida no momento do parto. Foram classificadas como infecção recente.

f. Casos de imunidade não detectada na gestação mas evidenciados como infecção antiga pelos testes realizados no momento do parto.

g. Soroconversão no último trimestre. Suscetível na gestação, na classificação final a paciente foi considerada imune com infecção recente. Um caso de toxoplasmose congênita (*caso 2*).

h. Estes 3 grupos formam as 810 pacientes consideradas suscetíveis na classificação final.

i. Dois casos de toxoplasmose congênita foram identificados neste grupo de pacientes, sem sorologia ou com testes incompletos na gestação e com IgG e IgM reagentes no momento do parto (*casos 3 e 4*).

j. Testes não solicitados no momento do parto em pacientes sem sorologia anterior. Sem possibilidade de classificação.

Pacientes cujos exames da gestação mostravam IgG anti-*T. gondii* reagente e

IgM anti-*T. gondii* não reagente – Considerando apenas a situação do pré-natal, na chegada ao hospital 1.162 pacientes já apresentavam este padrão de imunidade antiga.

Neste grupo, não havia indicação de repetir os testes no momento do parto; entretanto, em 88 pacientes os testes foram repetidos, pelos seguintes motivos: em sete casos os resultados da IgG estavam erradamente anotados como negativos na carteira de pré-natal (posteriormente teve-se acesso aos resultados fornecidos pelos laboratórios); nos restantes 81 casos, a parturiente não portava documentos no momento da internação hospitalar, sendo os exames da gestação conhecidos somente após a coleta dos novos exames. A IgG positiva foi confirmada em todos os 88 casos pelo exame feito no momento do parto; a IgM negativa foi confirmada em 87 casos e em um caso revelou-se positiva no momento do parto. Esta paciente foi acompanhada no primeiro mês após o parto, sendo repetida a sorologia no laboratório do HSL-PUCRS. Como o índice da IgM anti-*T. gondii* era baixo e decrescente e o valor da IgG anti-*T. gondii* era estável, o caso foi atribuído, não a verdadeira soroconversão, e sim a falso negativo da IgM anti-*T. gondii* no pré-natal, realizada por método pouco sensível (imunofluorescência indireta). A IgM anti-*T. gondii* do recém-nascido foi negativa e a investigação diagnóstica foi normal. Conforme os critérios estabelecidos na metodologia, a paciente foi classificada como imune com infecção recente.

Pacientes cujos exames da gestação mostravam IgG e IgM anti-*T. gondii*

reagentes – Em 28 pacientes os exames mostravam ambas as imunoglobulinas reagentes na gestação (possível infecção recente). Quatro destas pacientes apresentaram a IgM anti-*T. gondii* negativa no momento do parto, sendo então classificadas como infecção antiga (tabela 6-c); 20 tiveram a infecção recente confirmada pelo ELFA (tabela 6-d); e em quatro a sorologia não foi repetida no momento do parto, portanto também as mantivemos na classificação final como imunes com infecção recente (tabela 6-e). Cinco pacientes vinham fazendo acompanhamento no Ambulatório de Infecções Obstétricas do HSL-PUCRS, sendo que uma delas, com diagnóstico de anomalias fetais por toxoplasmose congênita, vinha sendo acompanhada também no setor de Medicina Fetal. (*caso 1* de toxoplasmose congênita).

Pacientes cujos exames da gestação mostravam ambas as imunoglobulinas anti-*T. gondii* não reagentes – Seiscentas e trinta e nove pacientes traziam registros pré-natais que mostravam ambas as imunoglobulinas específicas não reagentes (gestantes consideradas suscetíveis), havendo indicação de repetir os testes no momento do parto. Em 582 casos foi confirmada a ausência de anticorpos anti-*T. gondii*. Em 27 pacientes a sorologia, inadvertidamente, não foi solicitada no momento do parto, sendo também consideradas, para fins de classificação final, como suscetíveis. Uma paciente apresentou soroconversão, com posituação de IgG e IgM, sendo classificada como infecção recente (*caso 2* de toxoplasmose congênita). Em 29 pacientes os testes feitos no momento do parto mostraram IgG positiva e IgM negativa, sendo consideradas na classificação final como sendo imunes, com infecção antiga. Em 18 destes 29 casos, quando os resultados dos laboratórios puderam ser consultados diretamente, foram constatados métodos sorológicos inadequados (imunofluorescência indireta, aglutinação do látex) ou resultados inconsistentes (sem especificar o método, sem valores de referência, valores de referência não compatíveis com o método alegado), concluindo-se por erro de laboratório nos exames da gestação. Em 11 casos os resultados estavam anotados nas carteiras de pré-natal mas não conseguimos acessar diretamente os resultados dos laboratórios, não sendo possível esclarecer se foi erro do laboratório ou de anotação na carteira. Para descartar a possibilidade de infecção durante a gestação com soroconversão somente da IgG, foi solicitada sorologia para os recém-nascidos deste grupo. Todos tiveram IgM anti-*T. gondii* negativa e nenhum apresentou evidências de infecção congênita.

Pacientes com sorologia desconhecida na gestação – Em 684 pacientes, o estado sorológico prévio era desconhecido: em 199 pacientes (29%) por ausência de acompanhamento pré-natal; em 264 (39%) por não solicitação dos testes durante o mesmo; 179 pacientes (26%) não possuíam documentação, não sendo possível determinar se os

testes haviam sido feitos ou não; e em 42 gestantes (6%) a sorologia era incompleta – em 23 delas apenas a IgG anti-*T. gondii* havia sido solicitada e em 19 pacientes apenas a IgM anti-*T. gondii* havia sido solicitada no pré-natal. A sorologia incompleta foi considerada como desconhecida na gestação. Os exames feitos no momento do parto neste grupo mostraram 432 pacientes com infecção antiga, 15 com infecção recente (incluindo os **casos 3 e 4** de toxoplasmose congênita) e 201 suscetíveis. Em 36 pacientes não foi solicitada sorologia no momento do parto.

Como apresentado na **tabela 6**, conseguimos determinar a situação sorológica em 2.477 (98,6%) das 2.513 parturientes, sendo que 1.667 (67,3%; IC95% 65,4-69,1%) foram classificadas como imunes (1.626 com infecção antiga e 41 com infecção recente) e 810 (32,7%; IC 95% 30,9-34,6%) como suscetíveis. Em 36 pacientes, que nunca haviam realizado testes para toxoplasmose, os mesmos não foram solicitados nem na gestação nem no momento do parto, permanecendo as mesmas com estado sorológico desconhecido.

Para averiguar a validade da medida da prevalência de imunidade para *T. gondii* obtida pela classificação final (sorologia pré-natal feita por diversos métodos, combinada aos exames realizados no momento do parto), esta foi comparada à medida obtida somente com o método ELFA, realizado no laboratório do HSL-PUCRS. Para esta comparação, selecionamos apenas as 684 pacientes cuja indicação de sorologia na hora do parto era o desconhecimento prévio do estado imunológico: destas, 432 apresentaram imunidade antiga, 15 recente e 201 eram suscetíveis (um total de 648 incluídas no cálculo, pois em 36 pacientes a sorologia não foi solicitada no parto). Na **tabela 7** e na **figura 4** evidencia-se que as proporções de imunidade e suscetibilidade obtidas na classificação final foram semelhantes às deste sub-grupo, mas diferentes das proporções obtidas para todas as pacientes cuja sorologia foi realizada na hora do parto incluindo aquelas nas quais o teste foi indicado por serem soronegativas na gestação.

TABELA 7 – COMPARAÇÃO DA PROPORÇÃO DE PARTURIENTES IMUNES E SUSCETÍVEIS ENCONTRADA: A) NA CLASSIFICAÇÃO FINAL (INCLUINDO AS SOROLOGIAS DA GESTAÇÃO E DO PARTO); B) NA SOROLOGIA DO PARTO INCLUINDO SOMENTE AS PACIENTES CUJA SOROLOGIA ERA DESCONHECIDA PREVIAMENTE; E C) NA SOROLOGIA DO PARTO INCLUINDO AS QUE ERAM SUSCETÍVEIS NA GESTAÇÃO.

	A) CLASSIFICAÇÃO FINAL	B) SOROLOGIA DO PARTO (somente pacientes com sorologia desconhecida anteriormente) *	C) SOROLOGIA DO PARTO (incluindo as suscetíveis na gestação) *
	N	N	N
	% (IC 95%)	% (IC 95%)	% (IC 95%)
SUSCETÍVEL	810 32,7 (30,9-34,6)	201 31 (27,5-34,8)	783 57,1 (54,4-59,7)
IMUNE	1.667 67,3 (65,4-69,1)	447 69 (65,2-72,5)	589 42,9 (40,3-45,6)
TOTAL	2.477	648	1.372

* Testes realizados no laboratório do HSL-PUCRS pelo método ELFA

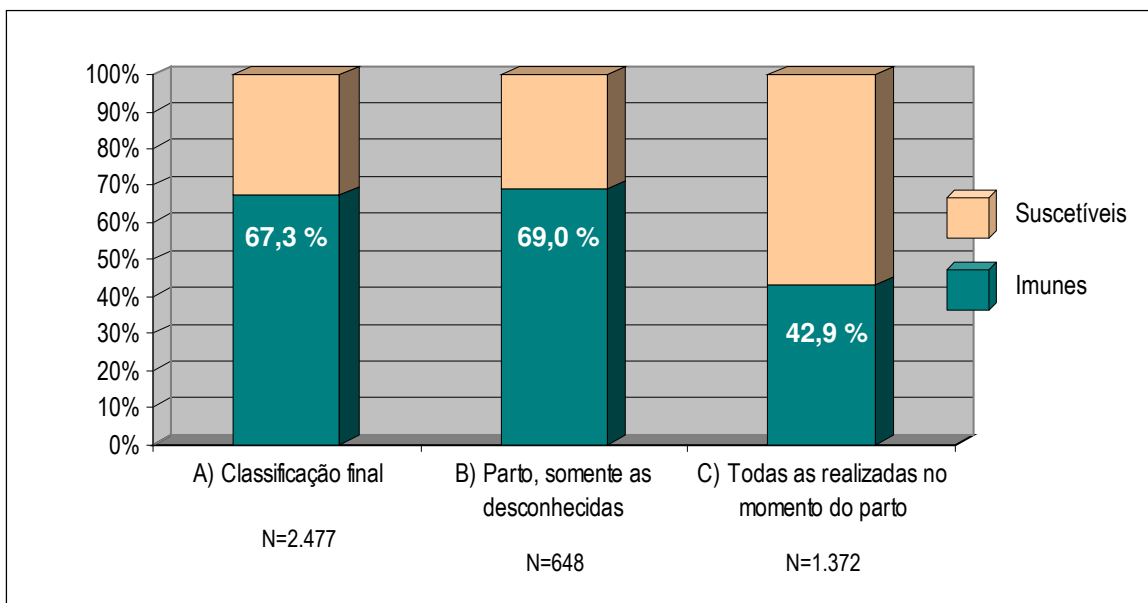


FIGURA 4 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA TABELA 7 – COMPARAÇÃO DA PROPORÇÃO DE PARTURIENTES IMUNES E SUSCETÍVEIS ENCONTRADA: A) NA CLASSIFICAÇÃO FINAL (INCLUINDO AS SOROLOGIAS DA GESTAÇÃO E DO PARTO); B) NA SOROLOGIA DO PARTO INCLUINDO SOMENTE AS PACIENTES CUJA SOROLOGIA ERA DESCONHECIDA PREVIAMENTE; E C) NA SOROLOGIA DO PARTO INCLUINDO AS QUE ERAM SUSCETÍVEIS NA GESTAÇÃO.

Após a classificação final, 41 parturientes foram consideradas como tendo infecção recente por *T. gondii* (IgM reagente), porém sete delas foram identificadas como já sendo reagentes em gestação anterior (quatro mantinham a IgM anti-*T. gondii* reagente no momento do parto e em três não foi repetida a sorologia). Assim, em 34 casos havia ou certeza, ou alguma possibilidade de soroconversão durante a gestação, com conseqüente risco de toxoplasmose congênita. Estas pacientes foram analisadas mais detalhadamente e nelas constatamos as situações descritas a seguir.

- Em um caso a infecção fetal foi detectada no segundo trimestre da gestação por ter sido diagnosticada hidrocefalia na ecografia obstétrica. A gestante foi encaminhada para acompanhamento no setor de Medicina Fetal e no Ambulatório de Infecções Obstétricas do HSL-PUCRS, onde foi solicitada sorologia para toxoplasmose, identificando uma infecção recente (*caso 1* de toxoplasmose congênita).
- Uma paciente soronegativa na gestação teve soroconversão no último trimestre, detectada apenas na hora do parto (*caso 2* de toxoplasmose congênita).
- Três pacientes com IgG e IgM anti-*T. gondii* muito altas já no primeiro exame feito na gestação (duas com diagnóstico fetal negativo e uma sem diagnóstico fetal) haviam recebido tratamento com espiramicina. Os recém-nascidos tiveram IgM anti-*T. gondii* negativa e nenhuma evidência de infecção congênita. Dois deles foram acompanhados no Ambulatório de Infecções Congênicas até a negatização dos anticorpos de origem materna.
- Duas pacientes, sem nenhum teste para toxoplasmose na gestação, apresentaram IgM anti-*T. gondii* reagente em níveis altos no momento do parto, sendo um dos recém-nascidos diagnosticado com toxoplasmose congênita (*caso 3*). O outro recém-nascido teve IgM anti-*T. gondii* negativa e investigação normal, mas não completou o acompanhamento ambulatorial.

- Em uma paciente havia sido solicitada apenas a IgG anti-*T. gondii* no pré-natal, que foi positiva no segundo trimestre. No momento do parto, ambas as imunoglobulinas eram reagentes com valores muito altos. O recém-nascido foi diagnosticado com toxoplasmose congênita (*caso 4*).

- Nas outras 26 pacientes com IgM anti-*T. gondii* positiva não foi possível determinar com certeza a época da infecção, mas, embora com alguma possibilidade de soroconversão durante a gestação, os valores de IgM sugeriam níveis residuais e a análise do perfil sorológico indicava maior probabilidade da toxoplasmose ter sido adquirida antes da gestação. Todos os recém-nascidos deste grupo tiveram IgM anti-*T. gondii* negativa e nenhum apresentou evidências de infecção congênita. Nove lactentes completaram o acompanhamento ambulatorial, com negatificação da IgG anti-*T. gondii*.

Portanto, foram diagnosticados quatro recém-nascidos com toxoplasmose congênita, sendo que em um caso a gestante havia sido encaminhada ao HSL-PUCRS pela anomalia fetal. Os outros três casos foram identificados apenas pelos testes feitos rotineiramente no momento do parto. Excluindo o primeiro paciente, a prevalência de toxoplasmose congênita na população estudada foi de três para 2.476 partos de recém-nascidos vivos, ou 12/10.000 (IC 95%: 6/10.000-21/10.000). Considerando 839 mulheres que poderiam ser suscetíveis no início da gestação (810 que continuavam suscetíveis no final, mais 34 com certeza ou possibilidade de ter tido soroconversão durante a gestação, menos 5 que haviam sido encaminhadas ao Ambulatório de Infecções Obstétricas), a frequência de toxoplasmose congênita em recém-nascidos vivos de gestantes suscetíveis foi de um caso para cada 280 partos, ou 35/10.000 (IC 95%: 24/10.000-48/10.000).

Na **tabela 8** são descritos alguns dados clínicos e sorológicos dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita.

TABELA 8 – DADOS DOS PACIENTES COM TOXOPLASMOSE CONGÊNITA *

	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4
Sexo	feminino	masculino	masculino	masculino
Peso (g)	1290	2460	3055	3150
Idade gestacional	32 semanas	36 semanas	40 semanas	39 semanas
História materna	Iniciou pré-natal com 28 semanas e foi constatada hidrocefalia na ecografia fetal. Após sorologia mostrando IgG e IgM positivas para toxoplasmose iniciou tratamento, mas cumpriu irregularmente.	Pré-natal com mais de 10 consultas. Uma sorologia negativa no primeiro trimestre. No momento do parto IgG=930 IgM=6,87	Pré-natal com 8 consultas. Não foi solicitada sorologia para <i>T. gondii</i> . No momento do parto IgG=80 IgM=7,28	Solicitada apenas a IgG anti- <i>T. gondii</i> no pré-natal, positiva no segundo trimestre. Na consulta seguinte, após um mês, foi solicitada IgM, mas o parto ocorreu antes da paciente fazer o exame. No parto IgG=2640 IgM=4,90
Procedência da mãe	Interior do Estado	Região Metropolitana	Porto Alegre	Região Metropolitana
Sorologia do recém-nascido	IgG=202 IgM=0,87	IgG=1720 IgM=8,03	IgG=40 IgM=7,69	IgG=2720 IgM=4,61
Exame físico ao nascer	Microcefalia Microftalmia Hepatomegalia Esplenomegalia	Normal	Normal ao nascer. Com 3 semanas de vida esplenomegalia e hepatomegalia.	Esplenomegalia
Avaliação oftalmológica	Microftalmia à direita. Extensa lesão de retinocoroidite ativa à esquerda.	Cicatriz de retinocoroidite periférica à esquerda. Retinocoroidite ativa paramacular à direita.	Retinocoroidite ativa macular em ambos os olhos. Lesão necrótica e vasculite à esquerda.	Retinocoroidite em atividade, macular e paramacular, bilateral. Papilite temporal. Opacidade vítrea.
Tomografia computadorizada de crânio	Dilatação do sistema ventricular. Atrofia cortical cerebral. Calcificações corticais, subependimárias e junto aos gânglios da base.	Múltiplas calcificações corticais e subependimárias. Pequena dilatação dos ventrículos cerebrais.	Calcificações puntiformes no tálamo e assoalho do ventrículo lateral esquerdo. Sistema ventricular normal.	Calcificações cerebrais puntiformes disseminadas. Sistema ventricular normal.
Seguimento	Com derivação ventrículo-peritoneal desde a segunda semana de vida. Com 2 anos apresenta importante retardo mental e neuromotor e perda visual quase total. Atrofia cerebral, microcefalia. Ausência da deglutição, com necessidade de gastrostomia.	Não necessitou derivação ventrículo-peritoneal. Com 2 anos lesões oculares cicatrizadas, leve estrabismo, pequena deficiência visual. Desenvolvimento mental e neuromotor normais. Persistem calcificações intracranianas. Ventrículos cerebrais normais.	Leve deficiência visual. Com 1 ano desenvolvimento mental e neuromotor normais. (Não retornou ao seguimento após o primeiro ano.)	Com 2 anos lesões oculares cicatrizadas. Leve deficiência visual. Desenvolvimento mental e neuromotor normais.

* Todos receberam tratamento com pirimetamina, sulfadiazina e ácido fólico por 1 ano e corticoterapia em vigência de lesões oculares ativas (4 a 8 semanas).

A idade das parturientes variou entre 12 e 45 anos (mediana 22 anos). A prevalência de imunes para *T. gondii* em cada faixa etária é mostrada na **figura 5**. O qui quadrado para tendência linear evidenciou aumento na prevalência com a idade ($P=0,015$).

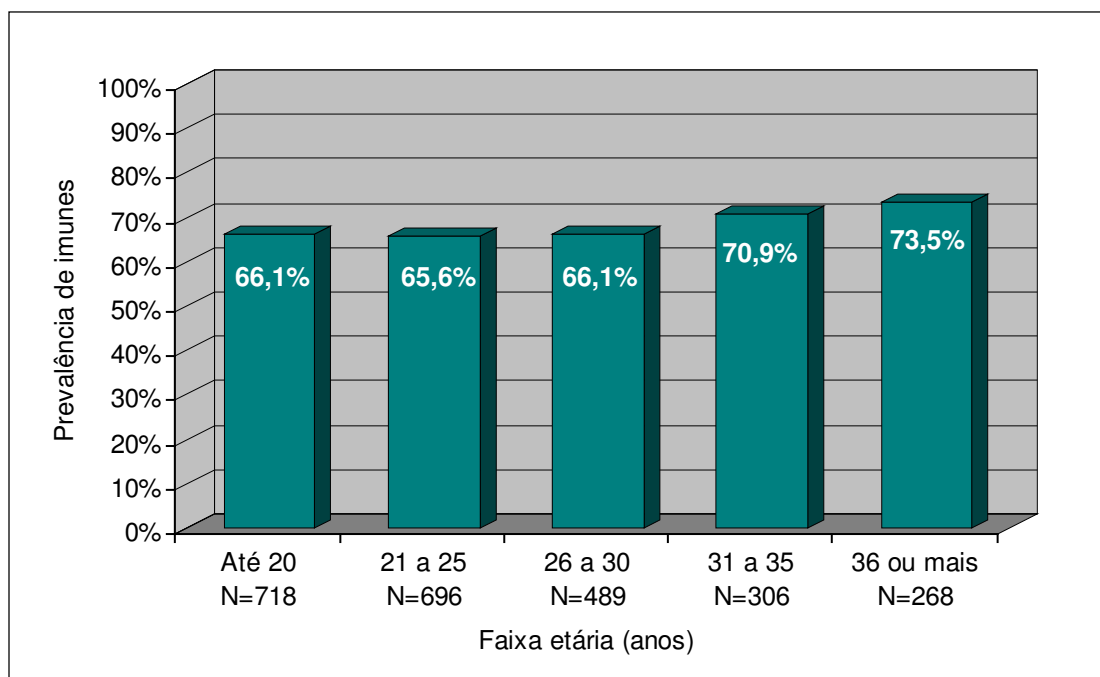


FIGURA 5 – AUMENTO DA PREVALÊNCIA DE IMUNIDADE PARA *T. GONDII* CONFORME A FAIXA ETÁRIA DAS PARTURIENTES. N=2.477 ($P=0,015$)

Considerando a procedência das pacientes, as prevalências de imunidade para toxoplasmose foram as seguintes: Porto Alegre 1507 pacientes, 67,4% imunes (CI 95% 64,9-69,7%); Viamão 733 pacientes, 67,1% imunes (CI 95% 63,6-70,5%); outros municípios da Região Metropolitana 139 pacientes, 63,3% imunes (CI 95% 54,7-71,3%); e interior do Estado 97 pacientes, 73,2% imunes (CI 95% 63,2-81,7%). Houve somente uma paciente de fora do Estado. A diferença da prevalência de soropositividade para *T. gondii* entre as diversas procedências não foi estatisticamente significativa quando aplicado o qui quadrado de associação ($P=0,47$).

3.4 DISCUSSÃO

Este levantamento detalhado proporcionou uma visão objetiva da realidade em relação à triagem para toxoplasmose gestacional. Em primeiro lugar, confirmou a conclusão de estudos estrangeiros,^{21, 22} de que é importante repetir a sorologia para *T. gondii* nas parturientes suscetíveis ou nas que não haviam realizado testes durante a gestação, sob risco de deixar passar despercebidos muitos casos de toxoplasmose congênita, principalmente aqueles em que a mãe adquiriu a infecção nas últimas semanas da gestação. Foi importante a proporção de recém-nascidos cuja infecção foi detectada apenas pelos testes feitos no momento do parto, mostrando a utilidade desta rotina no diagnóstico precoce, possibilitando o início imediato do tratamento. O levantamento avaliou também a prevalência de toxoplasmose nas parturientes e seus recém-nascidos e identificou problemas que podem ocorrer na triagem pré-natal para *T. gondii*.

Não foi possível fazer um levantamento completo dos métodos sorológicos usados na rede de laboratórios credenciados pelo SUS para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*. Os pré-natalistas não anotam nas carteiras de pré-natal o método que foi utilizado, nem o seu valor; na imensa maioria das carteiras consta apenas "negativo" ou "positivo". Entretanto, em alguns casos conseguimos consultar diretamente os resultados fornecidos pelos laboratórios, o que já foi suficiente para constatarmos que ainda é freqüentemente utilizada a imunofluorescência indireta, inclusive para IgM, considerada inadequada para triagem na gestação²⁶, por apresentar baixa sensibilidade e especificidade, embora possa ser útil em algumas situações clínicas e em inquéritos sorológicos.²⁷ Verificamos que alguns laboratórios não especificam o método utilizado, o que gera desconfiança sobre a fidedignidade do exame. A utilização de métodos sorológicos inadequados, embora aparentemente menos dispendiosos, pode representar desperdício de recursos, levando a

repetições de exames que seriam desnecessárias, além de comprometer a eficiência do programa de triagem pré-natal.

Quando comparado ao ELFA, que apresenta alta sensibilidade e especificidade, o conjunto de testes utilizados no pré-natal apresentou maior problema de sensibilidade do que de especificidade, pelo menos em relação à IgG anti-*T. gondii*. Em todos os 88 casos de sorologia repetida inadvertidamente no momento do parto, em pacientes que já eram positivas para IgG anti-*T. gondii*, a positividade da IgG foi confirmada pelo ELFA. Pelo contrário, em pelo menos 18 pacientes que eram tidas como suscetíveis na gestação, os resultados do momento do parto evidenciaram padrão de infecção antiga, mostrando que a IgG anti-*T. gondii* não havia sido detectada pelos testes anteriores. Já a sensibilidade da IgM é mais difícil de estimar, pois a negatividade desta, acompanhada de positividade da IgG, não indicava a repetição da sorologia no momento do parto, assim, não tivemos como controlar a sensibilidade da pesquisa de IgM anti-*T. gondii* realizada no pré-natal. Entretanto, houve um caso de IgM positiva entre as 88 sorologias repetidas na hora do parto em pacientes cujos exames da gestação mostravam padrão de infecção antiga, apontando para falsa negatividade do teste no pré-natal. Extrapolando esta proporção para toda a amostra, poderíamos ter 12 casos de IgM falso-negativa entre as 1074 pacientes nas quais a sorologia não foi repetida. Apesar deste número ser uma suposição, seria esperado, levando-se em conta os métodos pouco sensíveis usados por alguns laboratórios.

Assim, nossos dados confirmam que alguns métodos de pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* disponíveis comercialmente e usados pelos laboratórios credenciados pelo SUS são inadequados para triagem e diagnóstico da toxoplasmose na gestação, embora para inquérito sorológico possam ser pertinentes. Para validar a medida da prevalência de imunidade para *T. gondii* obtida pela classificação final (sorologia pré-natal combinada aos exames realizados no momento do parto), esta foi comparada à prevalência obtida quando

selecionadas apenas as sorologias realizadas no momento do parto, nas pacientes cuja sorologia anterior era desconhecida, pelo ELFA. Como está demonstrado na **tabela 7**, as mesmas foram semelhantes. Para este cálculo, excluímos as 612 pacientes cuja indicação do teste foi ser suscetível e as 24 cuja indicação foi ter IgM anti-*T. gondii* positiva, pois sua inclusão criaria um viés de seleção, aumentando a proporção de pacientes suscetíveis e com infecção recente (**tabela 7 e figura 4**). Poderia ocorrer outro viés, no sentido inverso (aumento de imunes), se muitas pacientes cujos testes foram feitos no momento do parto não tivessem sido submetidas a testes no pré-natal porque o médico pré-natalista as sabia positivas antes da gestação. Não cremos que isto tenha acontecido, pois nunca detectamos uma situação semelhante, e em nenhuma das carteiras consultadas por nós encontramos esta justificativa para a não realização dos exames. Pelo contrário, algumas pacientes que tiveram testes solicitados na gestação foram descobertas somente em nosso levantamento terem sido positivas em gestações anteriores, como comentaremos mais adiante. De qualquer forma, este viés afetaria somente as sorologias do momento do parto, já que as pacientes seriam igualmente consideradas como imunes na classificação final.

Dois estudos realizados em Porto Alegre, um no Hospital Nossa Senhora da Conceição em 2000,²⁸ e outro no Hospital Presidente Vargas de 1998 a 2003,²⁹ mostraram prevalências de anticorpos para *T. gondii* menor do que a encontrada no HSL-PUCRS: 59,8% (IC 95% 57,0%-62,5%) no primeiro e 61,1% (IC 95% 60,2%-62,0%) no segundo. Os dois hospitais atendem populações de gestantes equivalentes à do HSL-PUCRS em nível socioeconômico e procedência, e a faixa etária das pacientes também foi semelhante. Ocorre que nesses dois estudos foram incluídas somente pacientes cuja sorologia foi realizada nos laboratórios dos respectivos hospitais, por métodos sorológicos de excelente sensibilidade e especificidade, mas sem excluir as pacientes cuja sorologia foi solicitada no momento do parto justamente por serem previamente negativas para toxoplasmose, o que

pode ocasionar viés de seleção, resultando em diminuição da frequência de imunes, como comentado acima. Assim, a diferença com o nosso estudo pode ser devida a este fato. Outra explicação seria que a prevalência na Região Metropolitana de Porto Alegre esteja aumentado com o tempo, o que teoricamente pode acontecer. Por exemplo, na Hungria foi descrito aumento na taxa de imunidade para toxoplasmose em gestantes, de 64% em 1993 para 69% em 1994, com a mesma metodologia.¹⁹ Um possível viés de seleção, que poderia ter sido causado pela existência de um ambulatório especializado em infecções obstétricas no HSL-PUCRS, foi descartado, pois apenas cinco pacientes haviam sido encaminhadas ao hospital pela suspeita de toxoplasmose, não interferindo no cálculo da prevalência de imunidade em geral. A percentagem de infecções recentes, esta sim, pode ter sido afetada, pois essas 5 pacientes estavam entre as 41 que apresentavam IgM anti-*T. gondii* reagente, representando portanto uma expressiva proporção. Apesar disso, excetuando-se o paciente 1, em todos os casos de toxoplasmose congênita as mães não se sabiam infectadas, sendo a toxoplasmose descoberta apenas no momento do parto.

A prevalência de imunidade para toxoplasmose varia muito entre as diversas regiões do mundo, por vezes sem uma explicação aparente. Sabe-se que vários fatores podem interferir, como clima da região, nível socioeconômico, hábitos alimentares e outros hábitos que possam propiciar maior contato com o *T. gondii*.^{13, 30-33} A prevalência de 67,3% de anticorpos anti-*T. gondii* encontrada neste estudo situa-se entre as consideradas altas, como as de países como França (54,3%),³⁴ Hungria (69%),¹⁹ Bélgica (49%),²⁰ e Cuba (71%),³⁵ e as de outros lugares do Brasil: São Paulo/SP (68,8%),³⁶ Fortaleza/CE (71,5%),³⁷ Cuiabá/MT (70,7%),³⁸ Londrina/PR (67%)³⁹ e região do Alto Uruguai/RS (74,5%).⁴⁰ A alta prevalência de toxoplasmose nas mulheres em idade fértil torna mais favorável a relação custo-benefício de um programa de triagem pré-natal, pois menos mulheres terão necessidade de repetir periodicamente os exames sorológicos durante a gestação.^{11, 41-43}

Além disso, num ambiente propício à contaminação, as gestantes suscetíveis, em número menor mas não desprezível, apresentam maior risco de contrair a toxoplasmose, e a triagem é uma forma de selecioná-las para receber treinamento especial sobre prevenção primária.⁴⁴⁻⁴⁷

Este trabalho não avaliou a incidência de soroconversão na gestação nem a taxa de transmissão vertical da toxoplasmose, que poderiam ser avaliadas com um estudo de coorte prospectivo, em que as gestantes fossem acompanhadas desde o início da gestação. Porém os resultados encontrados poderão ser usados na elaboração de modelos de análise decisional, em estudos de custo-benefício dos programas de controle da toxoplasmose congênita.^{13, 14} Por outro lado, as prevalências encontradas, tanto de soropositividade nas puérperas quanto de toxoplasmose congênita, já permitem justificar um programa de triagem pré-natal na população estudada, seguindo os critérios baseados na literatura.

O aumento da prevalência de imunidade para *T. gondii* com a idade concorda com a maioria dos levantamentos que incluíram esse tipo de análise, não somente nas gestantes e mulheres em idade reprodutiva, mas também na população em geral.^{28, 36, 48-54} Em nosso estudo, assim como na maioria dos estudos publicados, o aumento é mais nítido após os 30 anos de idade. Entretanto, observando nossos resultados e os trabalhos brasileiros e estrangeiros, verifica-se que as adolescentes brasileiras já apresentam prevalência elevada,^{28, 36, 54} diferentemente de populações européias e norte-americanas, em que as adolescentes apresentam prevalência bem menor, com aumento mais acentuado nas faixas etárias superiores.^{48, 49, 53} Este fato pode ser devido ao fato de a exposição ao solo e à água (principais fatores de risco nas crianças e adolescentes) serem o principal meio de contaminação em nossa população,^{51, 54} enquanto em outras populações o maior risco é representado pelos fatores alimentares, mais importantes nos adultos.³⁰⁻³² Interessantemente, em nossa casuística a curva de soroprevalência em relação à faixa etária

é muito semelhante à curva apresentada pela população de nível socioeconômico médio de Campos dos Goytacazes/RJ.⁵¹ O aumento da soropositividade para toxoplasmose com a idade é geralmente explicado pelo maior tempo de exposição aos fatores de risco,⁴⁸⁻⁵⁴ mas a interpretação de dados longitudinais em estudos transversais é problemática: este achado poderia ser devido ao efeito-coorte, ou seja, à maior exposição aos fatores de risco no passado, nas pessoas acima de 30 anos.^{49, 55} Outra possibilidade é que o aumento acelerado da soroprevalência para *T. gondii* nas mulheres em idade reprodutiva seja devido à maior suscetibilidade para infecção toxoplásmica na gestação, fato biologicamente plausível.^{56, 57} Em um estudo de coorte brasileiro, a gestação potencializou todos os fatores de risco para soroconversão.⁵⁸

Entre as 41 puérperas que classificamos como imunes com infecção recente, uma proporção significativa pode ter adquirido a toxoplasmose antes da gestação. A duração da positividade da IgM anti-*T. gondii* na toxoplasmose adquirida apresenta uma variação individual muito grande, podendo ser detectada por poucas semanas em alguns casos e por vários anos em outros.^{59, 60} O uso de testes muito sensíveis para IgM anti-*T. gondii* na gestação tem sido questionado, pois a detecção desses anticorpos por longo tempo pode induzir a erro de estimativa da época da infecção, principalmente quando o primeiro exame na gestação já mostra a IgM positiva.⁶¹ Por outro lado, uma baixa sensibilidade pode deixar passar despercebidas as infecções muito recentes, com níveis de anticorpos ainda baixos e alto risco de transmissão vertical. De qualquer forma, a presença de IgM anti-*T. gondii* levanta a possibilidade de uma infecção gestacional, com risco para o feto, e esse grupo de gestantes deve ser investigado cuidadosamente. A magnitude do índice de IgM anti-*T. gondii* pode ser levada em conta, e quem analisa o perfil sorológico da paciente deve conhecer a dinâmica do método sorológico em relação ao tempo de infecção, para poder interpretar corretamente os resultados. Quando o perfil de infecção recente é detectado no

primeiro trimestre da gestação, a determinação da avidéz da IgG pode ajudar a identificar as infecções que ocorreram antes da gestação.⁶² Mesmo feitas as considerações acima, a quantidade de mulheres em idade reprodutiva com padrão sorológico de infecção toxoplásmica recente que detectamos em nosso levantamento (excluídas as que foram encaminhadas ao HSL-PUCRS por esse motivo) alerta para o alto risco de adquirir a infecção durante a gestação a que estas mulheres estão expostas em nossa comunidade.

Identificamos vários casos de gestantes que já tinham testes positivos para toxoplasmose antes da gestação e, mesmo assim, realizaram exames durante o pré-natal e mesmo no momento do parto. Este fato demonstra a ausência de um sistema de informações entre os serviços de saúde e entre gestações sucessivas da mesma paciente. Os dados de gestações anteriores geralmente não são pesquisados ou anotados na carteira de pré-natal. Situação semelhante foi identificada na Itália, onde foi descrito que 30% dos ginecologistas-obstetras não documentavam e não pediam para suas clientes guardarem os resultados dos testes realizados para consulta em futuras gestações, e as pacientes eram novamente testadas em cada gestação.⁶³ Assim como já foi comentado em relação aos métodos sorológicos inadequados, estas situações também podem acarretar custos desnecessários.

Consideramos preocupante a ocorrência de anotações erradas na carteira de pré-natal, a qual na maioria das vezes é a única fonte de informações sobre alguns dados da gestação. As 12 situações identificadas como erro de anotação na carteira foram buscadas ativamente, em casos de incompatibilidade entre os resultados da gestação e do momento do parto (aparente soroconversão apenas de IgG, o que é improvável), ou quando a paciente trazia, junto com a carteira de pré-natal, os resultados dos exames laboratoriais. Na grande maioria, entretanto, os resultados anotados na carteira não puderam ser confrontados com os resultados dos laboratórios. Assim, é provável que outros casos de

erro de anotação na carteira possam ter ocorrido. Este assunto mereceria um estudo delineado especialmente para abordá-lo, objetivando dimensionar exatamente o problema e esclarecer os pré-natalistas dos postos de saúde sobre a importância das anotações na carteira de pré-natal.

Verificamos que 42 gestantes tiveram somente uma das classes de imunoglobulinas (IgG ou IgM) anti-*T. gondii* solicitadas na triagem pré-natal, sendo que em 23 casos foi solicitada somente a IgG e em 19 apenas a IgM. A solicitação inicial da IgG anti-*T. gondii* e, somente se esta for reagente, da IgM anti-*T. gondii*, é recomendada por alguns^{20, 64-66} por questão de economia, mas geralmente, nesses casos, a IgM é processada automaticamente pelo laboratório quando a IgG é reagente. Esta prática pode ser válida, embora possa passar despercebida uma infecção muito recente, quando só positivou a IgM; mas como este período é muito curto, esses casos serão muito raros. Para pôr em prática este procedimento, teria que haver uma ágil comunicação entre o laboratório e o médico. Sempre que a IgG fosse reagente, o laboratório automaticamente realizaria a IgM e, se esta fosse reagente, o médico e/ou a paciente seriam avisados imediatamente. Entretanto, nos casos que observamos, a IgM anti-*T. gondii* só era solicitada quando a paciente comparecia à próxima consulta com o resultado da IgG. Acresce-se que pelo sistema de saúde vigente há uma demora inaceitável entre o pedido do exame e o retorno da gestante ao posto de saúde com o resultado. A inadequação desta conduta foi exemplificada em um de nossos pacientes diagnosticados com toxoplasmose congênita (caso 4). Se ambas as frações de imunoglobulinas anti-*T. gondii* tivessem sido solicitadas desde o início, talvez houvesse tempo da gestante ter recebido tratamento, com benefício para o paciente, portador de severa retinocoroidite bilateral. A solicitação apenas de IgM é igualmente ineficiente, uma vez que quando a mesma é negativa não se consegue distinguir as pacientes imunes das suscetíveis (uma das finalidades da triagem pré-natal, para que se possa enfatizar a

prevenção primária nestas últimas). Este procedimento mostra a pouca importância conferida em geral à prevenção primária da toxoplasmose.

Em 63 pacientes os testes no momento do parto não foram solicitados, apesar de indicados (27 gestantes suscetíveis e 36 sem exames prévios). Essas falhas ocorreram mais no início da implantação da rotina, quando alguns plantonistas não estavam familiarizados com a mesma. Embora em número relativamente pequeno, não comprometendo a avaliação da prevalência, entre elas poderíamos encontrar algum caso de toxoplasmose congênita. Outros casos de toxoplasmose congênita também podem ter passado despercebidos entre as gestantes consideradas imunes com infecção antiga, mas que na verdade tivessem uma infecção recente, não detectada pelas técnicas pouco sensíveis para IgM anti-*T. gondii* utilizadas pelos laboratórios nos exames pré-natais, ou cuja anotação na carteira de pré-natal estivesse errada. Portanto, a prevalência de toxoplasmose congênita poderia ter sido ainda maior do que a encontrada.

Para calcular a prevalência de toxoplasmose congênita, tivemos o cuidado de identificar as pacientes que haviam sido encaminhadas para os ambulatórios de alto-risco do HSL-PUCRS, pois este hospital, como quase todos os serviços universitários, possui ambulatórios de sub-especialidades, como Infecções Obstétricas e Medicina Fetal, que recebem pacientes encaminhadas da rede básica de saúde. A definição exata da população em estudo é uma precaução indispensável para evitar vieses de seleção, muito comuns em pesquisas com base hospitalar. Por exemplo, um trabalho realizado em Uberlândia/MG,⁶⁷ que encontrou quatro recém-nascidos com toxoplasmose congênita em 500 amostras de sangue do cordão umbilical positivas para IgG e IgM anti-*T. gondii* (prevalência de 80/10.000, IC95%=25/10.000-190/10.000), no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, não especificou, entretanto, se alguma das mães foi encaminhada

ao hospital por diagnóstico prévio de toxoplasmose; portanto, o risco de ter havido viés de seleção não pôde ser excluído.

Para evitar este viés, identificamos as cinco mães que haviam sido encaminhadas ao ambulatório de Infecções Obstétricas ou de Medicina Fetal por causa da suspeita ou diagnóstico de toxoplasmose, e verificamos que uma delas correspondia a um dos casos de toxoplasmose congênita detectados (caso 1). Este recém-nascido foi excluído dos cálculos de prevalência da infecção congênita. Nos outros três casos de toxoplasmose congênita, as mães não se sabiam infectadas pelo *T. gondii*. Adicionalmente, para evitar que fossem incluídos casos não confirmados, todos os pacientes com toxoplasmose congênita foram acompanhados até pelo menos 1 ano de idade, tendo sido constatada a persistência da IgG anti-*T. gondii* até essa idade. A prevalência de toxoplasmose congênita encontrada no HSL-PUCRS, 12/10.000 (IC 95%: 6/10.000-21/10.000), estatisticamente é igual à encontrada no estudo sobre triagem neonatal realizado no ano de 2002 (6/10.000, IC95% 2/10.000-13/10.000) na rede pública de saúde de Porto Alegre, também apresentado nesta tese. Durante um período de oito meses os dois trabalhos correram simultaneamente, mas somente um dos pacientes foi identificado nos dois levantamentos, pois entre os outros três pacientes com toxoplasmose congênita nascidos no HSL-PUCRS, um realizou o teste de triagem neonatal em outro município da Região Metropolitana e dois o realizaram nos primeiros meses de 2003, após ter sido concluído o trabalho de triagem neonatal.

Além da prevalência elevada de toxoplasmose congênita, observamos que todos os casos apresentaram manifestações clínicas no período neonatal, diferentemente da situação registrada na literatura, a qual mostra preponderância de infecções subclínicas.^{23, 68} Mesmo excluindo o paciente cuja mãe havia sido encaminhada ao setor de Medicina Fetal, todos os recém-nascidos, dois com exame físico normal e um com esplenomegalia isolada, apresentavam calcificações cerebrais e graves lesões de retinocoroidite, sendo que um

deles apresentava dilatação do sistema ventricular. Estes achados podem ter relação com as suspeitas de outros pesquisadores, de que as cepas de *T. gondii* presentes no Rio Grande do Sul (ou no Brasil) apresentam maior potencial de morbidade do que as que ocorrem em outras partes do mundo.⁶⁹⁻⁷¹

Concluimos que a rotina em estudo foi útil por detectar casos de toxoplasmose congênita que de outra forma teriam passado despercebidos ao nascimento. A triagem pré-natal precisa ser complementada por um teste na parturiente ou no recém-nascido, para detectar as infecções do final da gestação. A prevalência de soropositividade para toxoplasmose associou-se significativamente com a idade das pacientes, apresentando tendência linear de aumento diretamente proporcional à faixa etária. A associação da prevalência de toxoplasmose com o município de procedência não foi estatisticamente significativa. A alta prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* nas gestantes justifica a triagem pré-natal, porém vários problemas ainda precisam ser resolvidos para que o programa possa atingir o máximo de eficiência. Foi encontrada alta prevalência de toxoplasmose congênita e todos os recém-nascidos apresentaram manifestações clínicas, descobertas em dois pacientes somente após a investigação complementar. A detecção da infecção congênita logo após o nascimento possibilitou o início precoce do tratamento.

3.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Desmonts G, Couvreur J. Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. Bull N Y Acad Med. 1974;50:146-59. Apud Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, editors. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia: WB Saunders Company; 2001. p. 205-346.
2. Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M et al. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. N Engl J Med. 1988;318:271-5.

3. 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.
4. Wilson CB, Remington JS, Stagno S, Reynolds DW. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. *Pediatrics*. 1980;66:767-74.
5. Couvreur J, Desmonts G, Tournier G, Szusterkac M. Étude d'une série homogène de 210 cas de toxoplasmose congénitale chez des nourrissons âgés de 0 à 11 mois et dépistés de façon prospective. *Ann Pediatr*. 1984;31:815-9.
6. Koppe J G, Loewer-Sieger D H, Roever-Bonnet H. Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. *Lancet*. 1986;1:254-5.
7. Mc Auley J, Boyer K M, Patel D, Mets M, Suvsher C, Roizen N et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago collaborative treatment trial. *Clin Infect Dis*. 1994;18:38-72.
8. Roizen N, Swisher C, Stein M et al. Neurologic and developmental outcome in treated congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 1995;95:11-20.
9. Brézin AP, Thulliez P, Couvreur J, Nobré R, McLeod R, Mets M. Ophthalmic outcomes after prenatal and postnatal treatment of congenital toxoplasmosis. *Am J ophthalmol*. 2003;135:779-784.
10. Wallon M, Kodjikian L, Binquet C et al. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics*. 2004;113:1567-72.
11. Lynfield R, Hsu HW, Guerina NG. Screening methods for congenital toxoplasmosis and risk of disease. *Lancet*. 1999;353:1899-900.
12. Ambroise-Thomas P. Toxoplasmose congénitale: les différentes stratégies préventives. *Arch Pédiatr*. 2003;10:12-14
13. Ho-Yen DO. Epidemiology of toxoplasmosis. *Arch Pediatr*. 2003;10:3-4.

14. Ades (2) AE, Nokes DJ. Modeling age-specific and time-specific incidence from seroprevalence – Toxoplasmosis. *Am J Epidemiol.* 1993;137:1022-34.
15. Thiebaugeorges O, Schweiter M. Prévention de la toxoplasmose congénitale: recommandations officielles et approche en France. *Arch Pediatr.* 2003;10:20.
16. Angelici MC, Buffolano W, Grandolfo ME, Gramiccia M, Majori G. Il controllo della toxoplasmosi congenita in Italia: il progetto dell'Istituto Superiore di Sanità. *Ann Ist Super Sanità.* 1999;35:329-33.
17. Muñoz C, Izquierdo C, Parra J, Ginovart G, Margall N. Recommendation for prenatal screening for congenital toxoplasmosis. *Eur Clin Microbiol Infect Dis.* 2000;19:324-5.
18. Aspöck H. Prevention of congenital toxoplasmosis in Austria. *Arch Pediatr.* 2003;10:16-7.
19. Szénási Z, Ozsvár Z, Nagy E et al. Prevention of congenital toxoplasmosis in Szeged, Hungary. *Int J Epidemiol.* 1997;26:428-35.
20. Breugelmans M, Naessens A, Foulon W. Prevention of toxoplasmosis during pregnancy – an epidemiologic survey over 22 consecutive years. *J Perinat Med.* 2004;32:211-4.
21. Wirlden M, Botterel F, Romand S, Ithier G, Bourée P. Intérêt du dépistage en post-partum de la toxoplasmose congénitale après primo-infection maternelle en fin de grossesse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 1999;28:566-7.
22. Wallon M, Franck J, Romand S, Peyron S, Dumon H, Thulliez P. Intérêt de la sérologie toxoplasmique à l'accouchement chez les femmes séronégatives pendant la grossesse. *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2001;30:697-9.
23. Remington JS, Mcleod R, Thulliez P, Desmots G. Toxoplasmosis. In: Remington, JS, Klein, JO, editors. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant.* Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 205-346.
24. Ferret N, Marty P, Le Fichoux Y. Prise en charge de la toxoplasmose congénitale. *Arch Pediatr.* 2003;10[Suppl]:42-4.

25. Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, Ovlisen B, Petersen E. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996;15:799-805.
26. Montoya JG. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. J Infect Dis. 2002;185[Suppl 1]:S73-82.
27. Camargo ME. Toxoplasmose. In: Ferreira AW, Ávila SLM, editores. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 278-88.
28. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Müller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. J Pediatr (Rio J). 2003;79:69-74.
29. Reis MM, Tessaro MM, d'Azevedo PA. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de Porto Alegre. RBGO. (aceito para publicação, protocolo 2518).
30. Boyer KM, Holfels E, Roizen N. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: Implications for prenatal management and screening. Am J Obstetr Gynecol. 2005;192:564-71.
31. Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carme B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case-control study in France. Scand J Infect Dis. 1999;31:305-9.
32. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W. Sources of *toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study. BMJ. 2000;321:142-7.
33. Kapperud G, Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy – Results of a case-control study in Norway. Am J Epidemiol. 1996;144:405-12.
34. Ancelle T, Goulet V, Tirard-Fleury V, Baril L, Mazaubrun C, Thulliez, P et al. La Toxoplasmose chez la femme enceinte en France en 1995. Bull Epidémiol Hebdo. 1996;51:227-9.

35. Martinez-Sanchez R, Bacallao-Gordo R, Alberti-Amador E, Alfonso-Berrio L. Prevalencia de infección toxoplásmica en gestantes de la provincia La Habana. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*. 1994;36:445-50.
36. Guimarães ACS, Kawarabayashi M, Borges MM, Tolezano JE, Andrade ILF. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo metropolitan region. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*. 1993;35:479-83.
37. Rey LC, Ramalho ILC. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceará, Brazil. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*. 1999;41:171-4.
38. Leão PRD, Meirelles Filho J, Medeiros SF. Toxoplasmose: soroprevalência em puérperas atendidas pelo Sistema Único de Saúde. *RBGO*. 2004;26:627-32.
39. Reiche EMV, Morimoto HK, Farias GN, Hisatsugu KR, Geller L, Gomes ACLF et al. Prevalência de tripanosomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). *Rev Soc Bras Med Trop*. 2000;33:519-27.
40. Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2003;36:483-91.
41. Binquet C, Wallon M, Quantin C, Gadreau M, Peyron F. Evaluation de strategies de prévention de la toxoplasmose congénitale: revue critique des études medico-economiques. *Rev Epidemiol Sante Publique*. 2002;50:475-87.
42. Greco P, Vimecarti A, Angelici MC, Carbonara S, Doria G, Nappi L et al. Toxoplasmosis in pregnancy is still an open subject. *J Perinat Med*. 2003;31:36-40.
43. Mittendorf R, Pryde P, Herschel M, Williams MA. Is routine antenatal toxoplasmosis screening justified in the United States? Statistical considerations in the medical screening tests. *Clin Obstetr Gynecol*. 1999;42:163-73.

44. Pawlowski ZS, Gromadecka-Sutkiewicz M, Skommer J et al. Impact of health education on knowledge and prevention behavior for congenital toxoplasmosis: the experience in Poznan, Poland. *Health Ed Res.* 2001;16:493-502.
45. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. *J Perinat Med.* 2000;28:337-45
46. Wallon M, Mallaret MR, Mojon M, Peyron F. Toxoplasmose congénitale, évaluation de la politique de prévention. *Presse Med.* 1994;23:1467-70.
47. Jeannel D, Costagliola D, Niel G, Hubert B, Danis M. What is known about the prevention of congenital toxoplasmosis? *Lancet.* 1990;336:359-61.
48. Jeannel D, Niel G, Costagliola D, Danis M, Traore BM, Gentilini M. Epidemiology of toxoplasmosis in the Paris area. *Int J Epidemiol.* 1988;17:595-602.
49. Jenum PA, Kapperud G, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. *Epidemiol Infect.* 1998;120:87-92.
50. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M, McQuillan G, Thomas N, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* infection in the United States: Seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol.* 2001;154:357-65.
51. Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2003;9:55-62.
52. Morris A, Croxson M. Serological evidence of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Auckland. *N Z Med J.* [Periódico na Internet]. 2004 [Capturado em agosto 2005];117:[5p.]. Disponível em: <http://www.nzma.org.nz/journal/117-1189/770/>
53. Kortbeek LM, Melker HED, Veldhuijzen IK, Conyn-Van Spaendonck MAE. population-based *toxoplasma* seroprevalence study in The Netherlands. *Epidemiol Infect.* 2004;132:839-45.

54. Spalding SM, Amendoeira MR, Klein CH, Ribeiro LC. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in South of Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2005;38:173-7.
55. Moolgavkar SH, Lee JAH, Stevens RG. Analysis of vital statistics data. In: Rothman KJ, Greenland S, editors. *Modern Epidemiology.* Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998. p. 481-97.
56. Weinberg ED. Pregnancy-associated depression of cell-mediated immunity. *Rev Infect Dis.* 1984;6:814-31.
57. Thouvenin M, Candolfi E, Villard O, Klein JP, Kien T. Immune response in a murine model of congenital toxoplasmosis: increased susceptibility of pregnant mice and transplacental passage of *Toxoplasma gondii* are Type 2-dependent. *Parassitologia.* 1997;39:279-83.
58. Avelino MM, Campos D, Parada JCB, Castro AM. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;108:19-24.
59. Jenum PA, Stray-Pedersen B. Development of specific immunoglobulins G, M, and A following primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *J Clin Microbiol.* 1998;36:2907-13.
60. Gras L, Gilbert RE, Wallon M, Peyron F, Cortina-Borja M. Duration of the IgM response in women acquiring *Toxoplasma gondii* during pregnancy: implications for clinical practice and cross-sectional incidence studies. *Epidemiol Infect.* 2004;132:541-8.
61. Liesenfeld O, Montoya JG, Tathineni NJ et al. Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma gondii* immunoglobulin M antibody titers. *Am J obstet Gynecol.* 2001;184:140-5.
62. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2004;42:941-5.

63. Buffolano W, Sagliocca L, Fratta D, Tozzi A, Cardone A, Binkin N. Prenatal toxoplasmosis screening in Campania Region, Italy. *It J Gynecol Obstet.* 1994;6:70-4.
64. Logar J, Petrovec M, Novak Z et al. Prevention of congenital toxoplasmosis in Slovenia by serological screening of pregnant women. *Scand J Infect Dis.* 2002;34:201-4.
65. López-Castillo CA, Diaz-Ramírez J, Gómez-Marin JE. Factores de riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por *Toxoplasma gondii* en Armenia-Colombia. *Rev Salud Pública.* 2005;7:180-90.
66. Stella JH. Rastreamento pré-natal para toxoplasmose na rede básica de saúde em Campinas – Prevalência dos diferentes perfis sorológicos e comparação da rotina vigente com uma nova proposta. [Dissertação de Mestrado]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2004. 83p.
67. Segundo GR, Silva DA, Mineo JR, Ferreira MS. A comparative study of congenital toxoplasmosis between public and private hospitals from Uberlandia, MG, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004;99:13-7.
68. Guerina N G, Hsu H W, Meissner H C, Maguire J H, Lynfield R, Stechenberg B, Abroms I. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Engl J Med.* 1994;330:1858-63.
69. Melamed J. Peculiarities of ocular toxoplasmosis in Rio Grande do Sul, Brazil. In: Belfort Jr. R, Petrilli AMN, Nussenblatt R, editors. *World Uveitis Symposium.* São Paulo: Livraria Roca; 1988. p. 340-8.
70. Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D, Martins MC, Burnier M, Silveira S et al. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in Southern Brazil. *Am J Ophtalm.* 1992;114:136-44.
71. Lehmann T, Graham DH, Dahl ER, Bahia-Oliveira LM, Gennari SM, Dubey JP. Variation in the structure of *Toxoplasma gondii* and the roles of selfing, drift, and epistatic selection in maintaining linkage disequilibria. *Infect Genet Evol.* 2004;4:107-14

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES DETALHADAS

4.1 CONCLUSÕES DO TRABALHO 1

(Triagem neonatal para toxoplasmose congênita em 10.000 recém-nascidos na rede pública de saúde de Porto Alegre)

- A prevalência de toxoplasmose congênita foi de 6 casos por cada 10.000 lactentes (IC 95% 2/10.000-13/10.000) submetidos à triagem neonatal na rede pública de saúde do município de Porto Alegre, no ano de 2002. Esta prevalência é considerada alta quando comparada a outras doenças incluídas no Programa Nacional de Triagem Neonatal e quando comparada às prevalências de toxoplasmose congênita em outros países.

- A triagem neonatal identificou casos de toxoplasmose congênita não detectados pela triagem pré-natal, quando a sorologia materna não havia sido feita no momento do parto. Se não complementada por um teste na hora do parto ou logo após o mesmo, a triagem pré-natal pode ser ineficiente em detectar a toxoplasmose adquirida e transmitida nas últimas semanas da gestação. Adicionalmente, a triagem neonatal e a sorologia materna no momento do parto identificaram casos de toxoplasmose congênita em que as mães não haviam realizado acompanhamento pré-natal.

4.2 CONCLUSÕES DO TRABALHO 2

(Sorologia para Toxoplasma gondii na gestação e no momento do parto em 2513 pacientes consecutivas e avaliação dos recém-nascidos com risco de toxoplasmose congênita)

- A rotina de solicitação de sorologia para toxoplasmose no momento do parto para as parturientes e/ou puérperas com sorologia previamente negativa, ou naquelas cujo estado imunológico para toxoplasmose era desconhecido, foi útil por detectar casos de toxoplasmose congênita que de outra forma teriam passado despercebidos ao nascimento. A triagem pré-natal precisa ser complementada por um teste na parturiente ou no recém-nascido, para detectar as infecções do final da gestação.

- A prevalência de soropositividade para toxoplasmose nas parturientes atendidas pelo Sistema Único de Saúde no Hospital São Lucas da PUCRS entre maio de 2002 e abril de 2003 foi de 67.3% (IC 95% 65,4 - 69,1 %). Esta prevalência é considerada alta para fins de controle da toxoplasmose congênita, justificando um programa de triagem pré-natal.

- A prevalência de soropositividade para toxoplasmose associou-se significativamente com a idade das pacientes, apresentando tendência linear de aumento diretamente proporcional à faixa etária.

- Não houve associação significativa da prevalência de soropositividade para toxoplasmose com os municípios de procedência das pacientes.

- Vários problemas que ocorrem com a triagem pré-natal para toxoplasmose precisam ser resolvidos para que o programa possa atingir o máximo de eficiência.

- A prevalência de toxoplasmose congênita nos recém-nascidos foi de 12/10.000 (IC 95%: 6/10.000-21/10.000). Esta prevalência é considerada alta para o planejamento de programas de controle da toxoplasmose congênita.

- Todos os pacientes diagnosticados apresentaram manifestações clínicas de toxoplasmose congênita, entretanto, dois apresentavam exame físico totalmente normal. O diagnóstico logo após o nascimento possibilitou o início precoce do tratamento.

CAPÍTULO 5

DISCUSSÃO FINAL E SUGESTÕES

As discussões já foram feitas nos capítulos 2 e 3, cabendo aqui apenas algumas considerações que dizem respeito à visão geral proporcionada pelas duas pesquisas.

Se examinarmos os critérios de Wilson-Jungner¹ para validade de um programa de triagem, a saber: 1) a condição triada deve ser um importante problema de saúde; 2) sua história natural deve ser bem compreendida; 3) deve haver um estágio precoce detectável; 4) o tratamento no estágio precoce deve ser mais benéfico do que em um estágio mais tardio; 5) deve haver um teste diagnóstico apropriado para o estágio precoce; 6) o teste deve ser bem aceito; 7) os intervalos para a realização do teste devem ser determinados; 8) deve haver serviços disponíveis que consigam atender a demanda adicional resultante da triagem; 9) os riscos, tanto físicos quanto psicológicos, devem ser menores do que os benefícios; e 10) os custos devem ser pesados contra os benefícios – podemos concluir, com base nos resultados desta tese e no exame minucioso da literatura, que a toxoplasmose congênita enquadra-se em quase todos eles.

Observando os resultados sobre a prevalência da infecção e a frequência e gravidade das manifestações clínicas dos pacientes identificados nas duas pesquisas, é inquestionável o grande impacto da toxoplasmose congênita em nossa população.

Em relação ao oitavo item dos critérios de Wilson-Jungner, ainda há necessidade de centros de referência melhor estruturados para o acompanhamento dos pacientes. Um dos problemas é a disponibilidade dos medicamentos. O tratamento é caro e os medicamentos são apresentados em formas inadequadas para os lactentes, dificultando a prescrição. As

famílias com poucos recursos financeiros enfrentam enormes dificuldades para conseguir realizar o tratamento. Esperamos que os resultados destas pesquisas ajudem a motivar as autoridades competentes a organizar um centro de dispensação de medicamentos que inclua a toxoplasmose congênita, à semelhança dos programas que já existem para as crianças de mães com HIV.

Seria importante também uma maior integração entre os profissionais que se dedicam ao assunto. Compartilhar protocolos e sistemas de informação, discutir os problemas, avaliar o conjunto dos fatos, pode dar uma visão mais objetiva, resultando não apenas em uma melhor assistência imediata ao paciente, mas também em novos conhecimentos que poderão contribuir para resolver o problema da toxoplasmose congênita.

Em relação ao décimo item dos critérios de Wilson-Jungner, é possível, com os dados obtidos nestas pesquisas, realizar estudos de custo-benefício em conjunto com as áreas de Administração e Economia, que sirvam como instrumento auxiliar para os órgãos públicos no planejamento dos programas. Sem deixar de levar em conta o comentário de Henderson e colaboradores,² já citado na seção 1.2.6.5 do referencial teórico, sobre os custos e benefícios intangíveis ao tratarmos da prevenção de mortes e deficiências, e sobre o significado humano contido nessas questões.

Considero importante realizar pesquisas que incluam os outros municípios da Região Metropolitana e, preferentemente, de todo o Estado. A aplicação simultânea das duas estratégias permitiu examinar algumas situações, como, por exemplo, a de um recém-nascido que, tendo sido identificado com toxoplasmose congênita na maternidade do Hospital São Lucas, não foi detectado na pesquisa de triagem neonatal. Este paciente, de fato, não foi incluído na população de estudo desta pesquisa, pois sua mãe não recorreu aos postos de saúde de Porto Alegre para a realização do Teste do Pezinho, já que sua

residência ficava localizada em Viamão, de onde procedem 30% das parturientes atendidas no Hospital São Lucas. Esta mobilidade dos pacientes entre os municípios da Região Metropolitana é uma característica de nossa população, e dificulta a obtenção de dados epidemiológicos, que melhor seriam avaliados se as pesquisas abrangessem toda a área correspondente.

Se as dimensões continentais do Brasil tornam as intervenções de âmbito nacional muitas vezes difíceis, pelas distâncias, diferenças culturais, epidemiológicas e outras, a dimensão estadual talvez seja a indicada para organizar estratégias de controle da toxoplasmose gestacional e congênita. Este aspecto é reconhecido pelo Programa Nacional de Triagem Neonatal,³ que prevê recursos federais mas divide o programa em etapas, que deverão ser cumpridas conforme as necessidades e condições de cada estado. Entretanto, iniciativas isoladas não podem ser recomendadas, e as conseqüências dos procedimentos de triagem devem ser previstas em conjunto.

Del Castillo-Martín,⁴ professor da Faculdade de Medicina da Universidade Autônoma de Madrid, em editorial sobre o problema da toxoplasmose congênita na Espanha, onde também ainda não há um consenso sobre qual a estratégia mais aconselhável, comenta: "é necessário realizar estudos epidemiológicos precisos em zonas concretas que compreendam uma população adequada, nem muito reduzida, nem demasiadamente extensa; o variável estado de ruralização da Espanha e seus diferentes hábitos alimentares desaconselham condutas generalizadas a todo o território do país. Se, após os estudos epidemiológicos, os dados encontrados em determinadas regiões forem coincidentes, as recomendações poderão ser ampliadas ou generalizadas, porém o que não é aconselhável são políticas personalistas ou de centros sanitários isolados, que somente conduzem a desinformação e desigualdade".

Os dados levantados por estes trabalhos apontam para a conveniência de uma estratégia de triagem pré-natal, mas muitos problemas ainda precisam ser abordados e resolvidos. São necessários métodos laboratoriais adequados, laboratórios e centros diagnósticos de referência, maior agilidade nos resultados. A educação para prevenção primária também deve merecer destaque. Urge organizar um sistema de monitoração que permita avaliar os resultados dos programas e corrigir as falhas. É importante também ampliar o número de gestantes que utilizam o acompanhamento pré-natal.

Neste período de transição, a solução pode ser acrescentar a triagem neonatal universal para toxoplasmose ao Teste do Pezinho disponibilizado pela rede pública de saúde, aproveitando a estrutura já existente. Se as ações forem coordenadas, será possível evitar seqüelas de toxoplasmose congênita em muitas crianças, enquanto trabalhamos no aperfeiçoamento das estratégias de atendimento pré-natal e aguardamos novos recursos tecnológicos que sejam acessíveis e eficientes no diagnóstico e na prevenção da toxoplasmose gestacional e congênita.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wilson JM, Jungner G. Principles and practice of screening for disease. Public Health Paper Number 34. Geneva: World Health Organization; 1968. Apud Brindle P, Fahey T. Primary prevention of coronary heart disease [Editorial]. *BMJ*. 2002;325:56-7.
2. Henderson JB, Beattie CP, Hale EG, Wright T. The evaluation of new services: possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *Int J Epidemiol*. 1984;13:65-72.
3. Ministério da Saúde. Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais de Triagem Neonatal. Brasília: Editora MS; 2002.
4. del Castillo Martín F. Toxoplasmosis congénita – Una enfermedad con demasiados interrogantes [Editorial]. *An Pediatr (Barc)*. 2004;61:115-7.

ARTIGO SENDO SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NO PERIÓDICO

"PAEDIATRIC AND PERINATAL EPIDEMIOLOGY"

NÚMERO DE PROTOCOLO 05-S-009

(REVISADO E RE-ENVIADO APÓS SUGESTÕES DOS REVISORES)

High prevalence of congenital toxoplasmosis with late pregnancy *T. gondii* infection detected by maternal serology at delivery or by neonatal screening

Authors:

Eleonor Gastal Lago¹

Eurico Camargo Neto²

Jacobo Melamed³

Ana Paula Rucks¹

Carolina Presotto¹

Jaqueline Costa Coelho¹

Cassiana Parise³

Paula Regla Vargas⁴

Ana Stela Goldbeck⁵

Renato Machado Fiori¹

¹Department of Pediatrics – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

²Centro de Triagem Neonatal (Center for Neonatal Screening) and Laboratório Nobel

³ Department of Ophthalmology – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

⁴Secretaria da Saúde do Município de Porto Alegre (Municipal Public Health Department)

⁵Laboratório Estadual de Referência para Rastreamento Neonatal (Neonatal Screening State Reference Laboratory)

Correspondence to:

Prof Eleonor Gastal Lago

Hospital Sao Lucas – Av. Ipiranga 6690 – Neonatologia

90610-000 Porto Alegre/RS – Brazil

Telephone/fax: ++ 55 51 3339 6474

E-mail: eglago@pucri.br

Summary

The first aim of this study was to determine the prevalence of congenital toxoplasmosis in newborn infants treated by the public health system in Porto Alegre, a city in southern Brazil, using neonatal screening for *Toxoplasma gondii*-specific IgM. The second aim was to investigate whether the cases detected by this approach could have been identified by the prenatal screening for antibodies to *T. gondii* that was done in the same population. A fluorometric assay was used to analyze *Toxoplasma gondii*-specific IgM in filter paper specimens obtained from newborn infants for routine metabolic diseases screening. When the specific IgM was positive, serum samples from the infant and the mother were requested for confirmatory serology, and the infant underwent a thorough clinical examination. Among 10,000 infants screened for *Toxoplasma gondii*-specific IgM, seven filter paper samples were positive, and congenital toxoplasmosis was confirmed in six patients. The prevalence of IgM specific for *Toxoplasma gondii* was 6/10,000 [95%CI 2/10,000, 13/10,000]. One case had already been identified in the maternity ward before birth, three cases had been identified by maternal serology at delivery, and two cases of congenital toxoplasmosis were identified solely through neonatal screening. Although four mothers of the patients with congenital toxoplasmosis received prenatal care, and three mothers had one or two serologic tests for *T. gondii*-specific antibodies, they were not identified as infected during pregnancy. Neonatal screening identified cases of infection not detected by obtaining only one or two serum samples from pregnant women for *T. gondii* serology, mainly when infection was acquired and transmitted in late pregnancy. Maternal serology at delivery and neonatal screening were useful in identifying congenital toxoplasmosis when the mother did not receive regular prenatal serologic testing or prenatal care.

Introduction

Despite the great advances in research on *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) infection, many issues remain to be resolved, including topics in epidemiology, diagnosis, treatment, and strategies to control this potentially disabling disease.^{1, 2} Congenital toxoplasmosis, or its sequelae, can be prevented by different approaches: 1) primary prevention, by providing health information about sources of infection to be avoided by susceptible pregnant women;³ 2) prenatal serologic screening to identify gestational toxoplasmosis as early as possible, followed by antimicrobial treatment to prevent or to limit transplacental transmission, and by fetal diagnosis and treatment;^{4, 5} and 3) neonatal screening, followed

by antimicrobial treatment of infected infants to prevent clinical damage.⁶⁻¹⁰ Knowledge about local epidemiological and economic characteristics and careful analysis of different approaches are needed to determine the most efficient and acceptable prevention strategies.¹¹⁻¹⁵

In early 2001, prenatal screening for toxoplasmosis, consisting of serologic testing for *T. gondii* infection one to three times during pregnancy, was implemented in the public health system of Porto Alegre, a city of approximately 1,500,000 inhabitants, capital of the state of Rio Grande do Sul, in southern Brazil. The prevalence of seropositivity for *T. gondii* in pregnant women in this city is estimated to be high (57-62%),¹⁶ but information on the prevalence of congenital toxoplasmosis was not reported, although some trials on neonatal screening showed that it is elevated in Brazil.^{17, 18}

Effectiveness of screening relies, among other factors (as adequacy of screening tests, availability of treatment and case compliance), on detecting all or most cases of a given disease.¹⁹ In case of congenital toxoplasmosis, early recognition of intrauterine *T. gondii* infection is of paramount importance, so that timely diagnosis and treatment of the pregnant woman and/or the infant are possible. Cost effectiveness is also driven by the burden of disease.¹¹⁻¹⁵

The first aim of this study was to determine the prevalence of congenital toxoplasmosis in newborn infants treated by the public health system in Porto Alegre, using a prospective trial on neonatal screening for *Toxoplasma gondii*-specific IgM. The second aim was to investigate whether the cases of congenital toxoplasmosis detected by this approach could have been identified by the prenatal screening for antibodies to *T. gondii* that was done in the same population.

Methods

This prospective, cross-sectional study, conducted in 2002, tested a sample of 10,000 consecutive infants for *T. gondii*-specific IgM, using the same blood samples routinely obtained from all newborn infants treated by the public health system in Porto Alegre, for phenylketonuria, congenital hypothyroidism and hemoglobinopathies screening. The samples were collected between the third and the 30th day of life, at outpatient clinics or neonatal units. Heel-stick blood specimens were absorbed on filter paper cards (903[®] - Schleicher & Schuell BioScience) and dried at room temperature for at least two hours. The cards were stored at 4-8°C and sent to the Neonatal Screening State

Reference Laboratory for the routine tests. Once a week, the cards were transported from that laboratory to the Center for Neonatal Screening for the *T. gondii*-specific IgM analysis.

A solid-phase capture enzyme immunoassay with fluorometric detection (NeoToxo IgM FEIA[®] - Labsystems, Finland)^{20, 21} was performed, according to the manufacturer's instructions, for *T. gondii*-specific IgM testing. The kit contains negative, borderline (cutoff), and positive controls. The samples were analyzed in duplicate from the same filter paper card when the results were above or below 20% of the borderline control at the initial screen. When the samples were at repeat 20% above or below the cutoff values, serum samples from the infant and the mother were requested for confirmatory testing with a commercially available Microparticle Enzyme Immunoassay (AxSYM[®] - Abbott Laboratories) or an Enzyme Linked Fluorescent Assay (VIDAS[®] - bioMérieux). Infants with suspected or confirmed congenital toxoplasmosis were fully investigated (including physical and ophthalmologic examination and cranial computed tomography). Infected infants were treated regardless of the presence of clinical signs. Treatment consisted of pyrimethamine, sulfadiazine and folinic acid (plus corticosteroid therapy in the presence of active ocular lesions) for one year.

The 95% confidence interval was calculated by binomial distribution. The formula $[\text{false positive} \times 100 / (\text{total number of tests} - \text{true positives})]$ was used to calculate the false positive rate. The study was approved by the Research Ethical Committees of Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul and Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Results

In 2002, 14,398 infants (of approximately 20,000 live births in Porto Alegre), who constituted the study population, underwent routine neonatal screening at the Neonatal Screening State Reference Laboratory. Infants whose screening was done in a private laboratory were not included in the study. A sample including the first 10,000 infants (69.5% of the study population), whose cards had sufficient material after the routine tests, was screened for *T. gondii*-specific IgM. One hundred sixty-seven filter paper cards were excluded due to insufficient material, but each one was replaced by the card of the next infant, and thus not subtracted from the 10,000 available tests. In seven infants, the screening was positive for *T. gondii*-specific IgM, and congenital toxoplasmosis was

confirmed in six of them. Thus, the prevalence of *T. gondii*-specific IgM was 6/10,000 live-born infants [95%CI 2/10,000, 13/10,000]. The false positive rate was 0.010%.

The six infants with congenital toxoplasmosis had positive *T. gondii*-specific IgM in serum from venous blood, and all of them were thoroughly investigated and treated. Five patients presented clinical manifestations: one infant had a severe clinical picture, including hydranencephaly and microphthalmia; one infant had only hepatosplenomegaly; and three infants, with normal physical examination at birth, had intracranial calcifications and retinochoroiditis (two with active lesions). The *T. gondii*-specific IgG remained positive in the six patients at follow-up at 12 months of age. Clinical data for these patients are presented in Table 1.

In one of the six patients with congenital toxoplasmosis (patient 1), the disease had already been identified before birth. Although the mother had not received regular prenatal care, the fetal ultrasound performed in the maternity ward a few days before delivery showed hydrocephalus, thus raising the possibility of congenital toxoplasmosis, which was confirmed at birth. Three cases (patients 2 to 4) had already been identified at birth, also before neonatal screening, because at the hospitals where they were born, seronegative pregnant women and those with unknown serologic status were routinely tested for toxoplasmosis at delivery. The four infants who had been identified with congenital toxoplasmosis in the maternity ward underwent routine neonatal screening after hospital discharge, and were detected independently in our study, just as the other patients, and not as a result of a previous diagnosis. Data about their serologic testing and physical examination at birth were obtained retrospectively when the mothers returned for the recall assessment. Three infants had already started treatment before they were recalled, but the mother of patient 4 was only then convinced of the importance of therapy. Two cases of congenital toxoplasmosis (patients 5 and 6) were identified solely through the neonatal screening, after being discharged from the maternity ward without suspicion of having toxoplasmosis. The mother of patient 5 was seropositive for HIV and did not have prenatal care. Despite this, she was not tested for toxoplasmosis at delivery. The mother of patient 6 had negative serologic tests for *T. gondii* infection in the second and third trimester of pregnancy, but was not tested at delivery. So, the mothers of four of the six infants with congenital toxoplasmosis had prenatal care, three of whom had serologic screening for *T. gondii* infection (one at first trimester, one at first and second trimesters and the other at second and third trimesters) but none was identified as infected during pregnancy.

Congenital toxoplasmosis could not be confirmed in one infant with positive screening test results. The mother developed antibodies to *T. gondii* during pregnancy and received spiramycin to block transmission to the fetus. The newborn had a negative serum *T. gondii*-specific IgM on the third day after birth, and the physical examination was normal, as well as a thorough clinical examination, consisting of detailed ophthalmologic examination, brain computed tomography, cerebrospinal fluid examination, complete blood cell count including platelets, and liver function tests. This patient was lost to follow-up, and thus no definitive conclusion can be made about whether the infant was infected.

In 47 filter paper samples, the *T. gondii*-specific IgM value fell between the cutoff points (indeterminate), and the patients were also recalled. Thirty-two mothers and their infants (68%) presented for the recall and all infants had negative serum *T. gondii*-specific IgM between two and twelve weeks after birth. Sixteen infants were followed until maternal *T. gondii*-specific IgG had disappeared by six to ten months.

Discussion

In addition to providing objective prevalence data about *T. gondii*-specific IgM in newborn heel stick blood samples in Rio Grande do Sul, in southern Brazil, results from neonatal screening for *T. gondii* IgM in newborn serum, conducted in the same population and simultaneously with prenatal screening (consisting in obtaining one to three samples of maternal blood during pregnancy for testing for antibodies to *T. gondii*), provides an opportunity to evaluate some aspects of these two strategies. The study showed that the prevalence of congenital toxoplasmosis in Porto Alegre is very high when compared to other regions where the same methodology was applied.^{7-10, 17} Even so, it is likely to be a substantial underestimate, because in Porto Alegre blood samples for neonatal screening are routinely collected up to the end of the first month of life, and in some infants with congenital toxoplasmosis the *T. gondii*-specific IgM antibodies remain detectable only for a short time after birth.^{10, 11} In routine neonatal screening programs, it is recommended that the blood samples be obtained within the first week of life. Further, only 50-75% of infected newborns have IgM antibodies to *T. gondii*.⁸

In our trial there was a delay in the *T. gondii*-specific IgM analysis and in the recalling of the patients for confirmatory testing, due to the time spent in the transportation of the filter paper cards from one laboratory to another. But even in routine situations,

when all tests are performed in the same laboratory, serum of an infected infant may become negative for *T. gondii*-specific IgM in the time lag between the screening and the confirmatory testing. So, if the *T. gondii*-specific IgM is positive in the filter paper screening, it is always prudent to fully investigate the infant for congenital toxoplasmosis, even when the serum *T. gondii*-specific IgM is negative. In asymptomatic infants, serum *T. gondii*-specific IgG is monitored monthly for detecting possible neosynthesized antibodies indicative of congenital infection, or, alternatively, a method that allows discrimination between IgG antibodies of maternal and infant origin may be used, if available.²² With more thorough clinical evaluation, five of the six patients had clinical manifestations of the disease; four had ocular and cerebral lesions (table 1). Lumbar puncture was performed only in patients 1 and 6, and both had cerebrospinal fluid lymphocytosis and elevated protein levels. The possibility of severe retinochoroiditis, including active lesions, in infants whose mothers acquired the infection in the last weeks of pregnancy, was previously noted.²³

Although four mothers of the patients with congenital toxoplasmosis received prenatal care, and the mothers of patients 2, 4 and 6 had serologic tests for *T. gondii*-specific antibodies (at first and third trimesters, first trimester, and second and third trimesters, respectively), they were not identified as infected during pregnancy. Acquired toxoplasmosis is generally asymptomatic and often goes unnoticed in a pregnant woman with acute infection.¹ Toxoplasmosis acquired in the last trimester of pregnancy has a high risk for vertical transmission,²¹ and when transmitted in late gestation, infection may remain undetected unless serologic testing is provided for previously seronegative women at delivery, or for the infants after birth.²⁴⁻²⁶ Newborn infants with congenital *T. gondii* infection may have a normal physical examination; however, many of them present ocular and/or central nervous system lesions that can be detected by more detailed examinations, and some patients, even without initial abnormalities, will present sequelae that can be prevented or minimized by early treatment.^{27, 28} The goal of a prenatal or neonatal screening program is to identify this infection in the fetus and newborn infant.

In conclusion, in addition to finding a high prevalence of congenital toxoplasmosis in Porto Alegre, this study showed that neonatal screening identified cases of infection not detected by obtaining only one or two serum samples from pregnant women for *T. gondii* serology, mainly when infection was acquired and transmitted in late pregnancy. Maternal serology at delivery and neonatal screening were useful in identifying congenital

toxoplasmosis when the mother did not receive regular prenatal serologic testing or prenatal care.

Acknowledgments

This study received financial support from FAPERGS (*Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul*). Rucks AP and Parise C were research fellows from CNPq (*Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico*). We are indebted to Ani Labsystems (former ThermoLabsystems), from Helsinki, Finland, for providing the NeoToxo IgM FEIA[®] kits. We thank Dr Ruth Gilbert for her valuable comments.

References

1. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 2004;363:1965-1976
2. Wilson CB, Remington JS, Stagno S, Reynolds DW. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. *Pediatrics* 1980;66:767-774.
3. Breugelmans M, Naessens A, Foulon W. Prevention of toxoplasmosis during pregnancy – an epidemiologic survey over 22 consecutive years. *Journal of Perinatal Medicine* 2004;32:211-4.
4. Ambroise-Thomas P, Schweitzer M, Pinon JM, Thiebaugeorges O. La prévention de la toxoplasmose congénitale en France. Évaluation des risques. Résultats et perspectives du dépistage anténatal et du suivi du nouveau-né. *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine* 2001;185:665-688.
5. Naessens A. Screening for toxoplasmosis during pregnancy: the situation in Belgium. *Archives de Pédiatrie* 2003;10 Suppl 1:18.
6. Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *New England Journal of Medicine* 1994;330:1858-1863.
7. Petersen E, Eaton R. Control of congenital infection with *Toxoplasma gondii* by neonatal screening based on detection of specific immunoglobulin M antibodies eluted from phenylketonuria filter-paper blood-spot samples. *Acta Paediatrica* 1999;432 Suppl:36-39.
8. Lebech M, Andersen O, Christensen NC et al. Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. *Lancet* 1999;353:1834-1837.
9. Paul M, Petersen E, Pawlowski Z, Szczapa J. Neonatal screening for *Toxoplasma gondii* in Poznań region of Poland by analysis of *Toxoplasma gondii*-specific IgM antibodies eluted from filter paper blood spots. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2000;19:30-36.
10. Paul M, Petersen E, Szczapa J. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznań region of Poland: validation of a new combined

- enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. *Journal of Clinical Microbiology* 2001;39:1912-1916.
11. Lynfield R, Hsu HW, Guerina NG. Screening methods for congenital toxoplasmosis and risk of disease. *Lancet* 1999;353:1899-1900.
 12. Ambroise-Thomas P. Toxoplasmose congénitale: les différentes stratégies préventives. *Archives de Pédiatrie* 2003;10:12-14
 13. Gilbert RE, Peckham C. Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen? *Journal of Medical Screening* 2002;9:135-141.
 14. Lappalainen M, Sintonen H, Koskiniemi M et al. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 1995;27:265-272.
 15. Biquet C, Wallon M, Quantin C, Gadreau M, Peyron F. Evaluation de stratégies de prévention de la toxoplasmose congénitale: revue critique des études medico-économiques. *Revue d'épidémiologie et de santé publique* 2002;50:475-487.
 16. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Müller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. *Jornal de Pediatria (Rio de Janeiro)* 2003;79:69-74.
 17. Neto EC, Anele E, Rubin R et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *International Journal of Epidemiology* 2000;29:941-947.
 18. Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerging Infectious Diseases* 2003;9:55-62.
 19. Hartup C, Johnson JD, Holliman RE. The investigation of toxoplasma infection associated with pregnancy. *Journal of Infection* 1997;35:47-54.
 20. Eaton RB, Petersen E, Seppänen H, Tuuminen T. Multicenter evaluation of a fluorimetric immunocapture assay to detect *Toxoplasma*-specific immunoglobulin M in dried blood filter paper specimens from newborns. *Journal of Clinical Microbiology* 1996;34:3147-3150.
 21. Sørensen T, Spenter J, Jaliashvili I, Christiansen M, Nørgaard-Pedersen B, Petersen E. Automated time-resolved immunofluorimetric assay for *Toxoplasma gondii*-specific IgM and IgA antibodies: study of more than 130 000 filter-paper blood-spot samples from newborns. *Clinical Chemistry* 2002;48:1981-1986.
 22. Tissot-Dupont D, Fricker-Hidalgo H, Brenier-Pinchart MP, Bost-Bru C, Ambroise-Thomas P, Pelloux H. Usefulness of Western Blot in serological follow-up of newborns suspected of congenital toxoplasmosis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 2003;22:122-125.
 23. 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;353:1899-1900.
 24. Wirden M, Botterel F, Romand S, Ithier G, Bourée P. Intérêt du dépistage en post-partum de la toxoplasmose congénitale après primo-infection maternelle en fin de grossesse. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 1999;28:566-567.

25. Wallon M, Franck J, Romand S, Peyron S, Dumon H, Thulliez P. Intérêt de la sérologie toxoplasmique à l'accouchement chez les femmes séronégatives pendant la grossesse. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction* 2001;30:697-699.
26. Chemla C, Villena L, Aubert D, Hornoy P, Dupouy D, Leroux B et al. Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 2002;9:489-490.
27. Mc Auley J, Boyer K M, Patel D, Mets M, Suvsher C, Roizen N et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago collaborative treatment trial. *Clinical Infectious Diseases* 1994;18:38-72.
28. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, eds. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*, 6th edn. Philadelphia: Elsevier-Saunders, 2006:948-1091.

Table –DATA OF PATIENTS WITH CONGENITAL TOXOPLASMOSIS

Patient number	1	2	3	4	5	6
Sex	Female	Female	Male	Female	Male	Male
Birth weight (g)	2,980	3,200	3,055	2,980	3,120	2,270
Moment of identification	Maternity ward (hydrocephalus)	Maternity ward (routine maternal serology)	Maternity ward (routine maternal serology)	Maternity ward (routine maternal serology)	Neonatal screening	Neonatal screening
Maternal data	No prenatal care Ultrasound before delivery: hydrocephalus	Negative serology for <i>T. gondii</i> in the first and third trimester	Prenatal care but no testing for <i>T. gondii</i>	Negative serology for <i>T. gondii</i> in the first trimester	No prenatal care HIV positive	Negative serology for <i>T. gondii</i> in the second and third trimester
Age at first serology in maternity ward^a	1 day	1 day	4 days	5 days		
Results of first serology^b	IgG>3000 IU/mL IgM positive	IgG >3000 IU/mL IgM positive	IgG 40 IU/mL IgM 7.69	IgG 740 IU/mL IgM 2.51		
Age at blood collection for screening^a	30 days	12 days	16 days	16 days	10 days	7 days
Age when attended recall^a	58 days	41 days	45 days	87 days	80 days	50 days
Serology at recall assessment^b	IgG>3000 IU/mL IgM 2.31	IgG 2596 IU/mL IgM 7.84	IgG 1040 IU/mL IgM 13.04	IgG 796 IU/mL IgM 0.39	IgG 440 IU/mL IgM 1.54	IgG>3000 IU/mL IgM 8.47
Physical examination at birth	Macrocephaly Microphthalmia	Normal	Normal at birth (At 6 weeks of age: hepatomegaly, splenomegaly)	Hepatomegaly Splenomegaly	Normal	Normal at birth (At 7 weeks of age: hepatomegaly, splenomegaly)
Ophthalmologic examination	Microphthalmia Leukocoria	Retinochoroiditis scar in both eyes	Active retinochoroiditis in both eyes Vitritis Retinal necrosis	Normal	Normal	Active retinochoroiditis in both eyes Vitritis
Cranial computed tomography	Hydranencephaly Calcifications Microphthalmia	Calcifications	Calcifications	Normal	Normal	Calcifications Ventricular dilatation
Age at the beginning of treatment	20 days	14 days	11 days	90 days ^c	83 days	55 days
Type of treatment	Pyrimethamine Sulfadiazine Folinic acid	Pyrimethamine Sulfadiazine Folinic acid	Pyrimethamine Sulfadiazine Folinic acid Prednisone	Pyrimethamine Sulfadiazine Folinic acid	Pyrimethamine Sulfadiazine Folinic acid Zidovudine	Pyrimethamine Sulfadiazine Folinic acid Prednisone
Follow-up at 1-2 years	Blindness Severe mental retardation	Normal	Strabismus Impaired vision Normal development	Normal	Normal	Strabismus Impaired vision Normal development

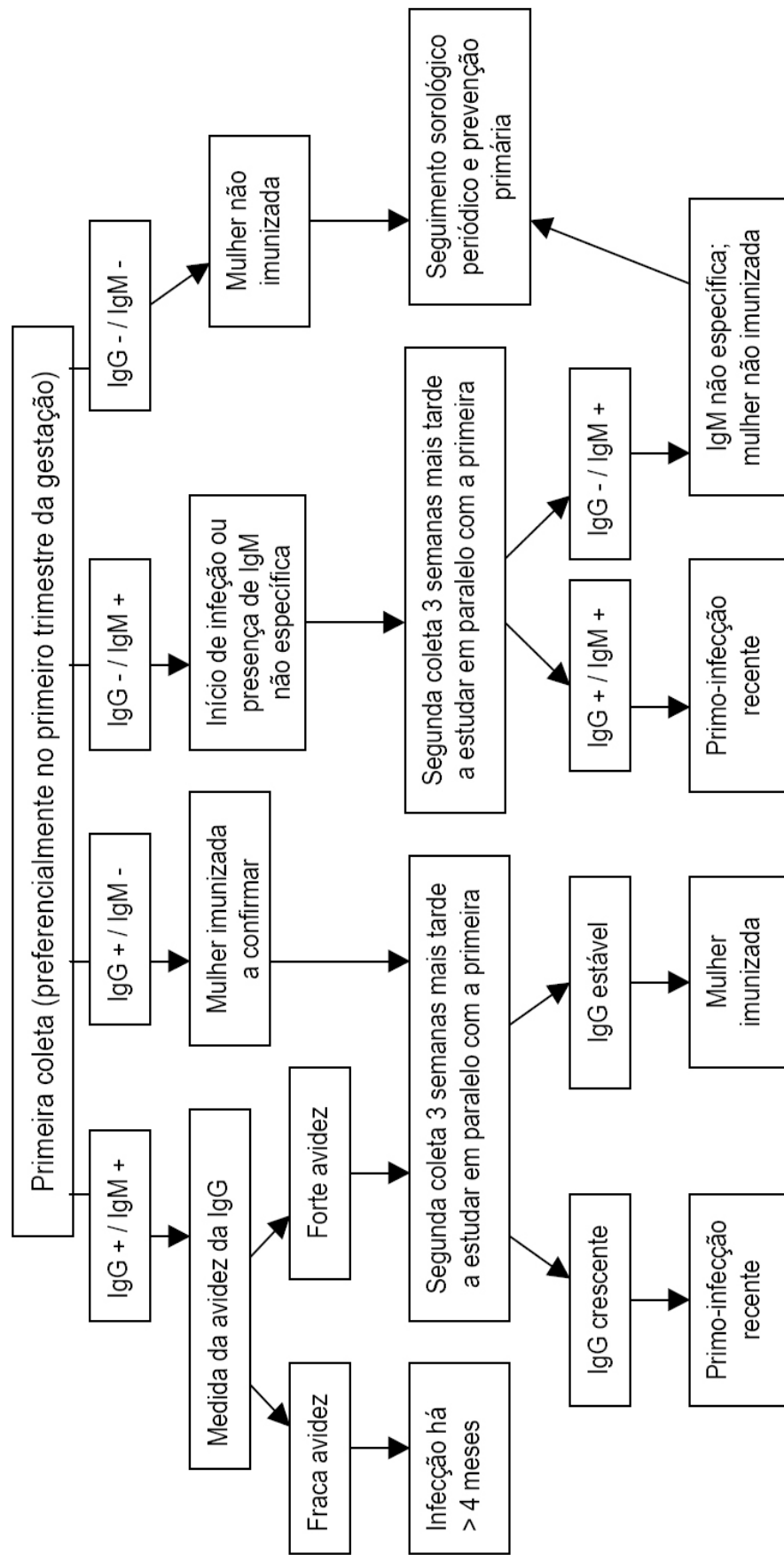
^a Patients 1-4, although identified with congenital toxoplasmosis in the maternity ward, underwent routine neonatal screening after hospital discharge and were detected independently in the study. Data about first serology and physical examination at birth were obtained retrospectively.

^b IgG <4IU/mL=negative, > 8 IU/mL=positive; IgM <0.55=negative, > 0.65=positive (index). Techniques mentioned in the Methods section.

^c Patient 4 begun investigation and treatment only after they were recalled for confirmatory tests, despite positive serology at birth.

ALGORITMO PARA INTERPRETAÇÃO DA SOROLOGIA DA TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO

Elaborada em conjunto pelo Grupo de Assistência e Pesquisa em Toxoplasmose do HSL-PUCRS



DEFINIÇÃO DE CASO DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

(CRITÉRIOS DE LEBECH)

Adaptada de:

Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, Ovlisen B, Petersen E. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996;15:799-805.

- **Identificação do *Toxoplasma gondii* em tecido fetal, neonatal ou do lactente, antes dos 6 meses de idade**
- **IgM ou IgA específicas reagentes dentro dos 6 primeiros meses de vida**
- **Presença de anormalidades clínicas características (retinocoroidite, calcificações cerebrais, hidrocefalia), com sorologia compatível**
- **IgG específica crescente nos primeiros meses de vida**
- **IgG específica que permanece reagente após os 12 meses de idade**

SEGUIMENTO DE PACIENTES COM TOXOPLASMOSE CONGÊNITA
TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

A toxoplasmose é uma infecção que pode atingir o feto quando a mãe se contamina durante a gestação. A maioria dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita não apresenta nenhum sintoma, mas algumas crianças podem vir a ter problemas, principalmente visuais e neurológicos. O tratamento iniciado no primeiro ano de vida pode diminuir ou evitar esses problemas. Assim, é importante que o diagnóstico seja feito precocemente e que o tratamento seja iniciado o mais cedo possível.

Diagnóstico, tratamento e acompanhamento

Para confirmar o diagnóstico, o bebê deve ser submetido a alguns exames: exames de sangue, exame oftalmológico (por um oculista), tomografia computadorizada de crânio (é como um exame de RX, porém mais detalhado) e ecografia cerebral. Em alguns casos, poderá ser necessário um exame de líquido da coluna). Esses exames podem causar um desconforto passageiro, mas não trazem riscos à saúde do paciente.

O tratamento para toxoplasmose congênita consiste em dois medicamentos (pirimetamina e sulfadiazina), administrados por via oral. Para o controle dos efeitos colaterais, é necessário realizar exames de sangue, que serão inicialmente semanais e, após, mensais. Um terceiro medicamento, semelhante a uma vitamina (ácido fólico), deve ser administrado para diminuir os efeitos colaterais. O tratamento deve ser continuado até pelo menos um ano de idade. Outros medicamentos podem ser necessários em situações especiais.

Durante e após o tratamento, o paciente deve ser submetido a revisões pediátricas e exames oftalmológicos periódicos, pois algumas lesões oculares podem surgir ou piorar, mesmo tendo sido feito o tratamento completo. Nesses casos, é necessário reiniciar ou manter o tratamento por mais algum tempo. A ecografia cerebral deverá ser repetida em 3 e 6 meses.

Pesquisa

Estamos desenvolvendo uma linha de pesquisa sobre a evolução das crianças com toxoplasmose congênita. Os objetivos não são testar nenhum procedimento ou tratamento alternativo, mas sim os seguintes:

- observar as manifestações da doença em cada paciente;
- analisar as informações obtidas com os procedimentos diagnósticos;
- avaliar as condições de saúde e desenvolvimento até a idade escolar;
- correlacionar a evolução das crianças com as características da infecção materna e com o tratamento durante a gestação.

Além das avaliações descritas, que devem fazer parte da assistência a todos os pacientes com toxoplasmose congênita, o seguimento poderá incluir testes de inteligência e de audição. No mais, a pesquisa não modificará a assistência normal ao paciente, que será orientado com base nos mais recentes conhecimentos da Medicina. Os exames necessários e o tratamento mais indicado não deixarão de ser feitos e nenhum exame laboratorial ou tratamento será realizado por causa da pesquisa. A diferença é que alguns dados de nossos pacientes e de suas mães serão anotados em fichas especiais para depois serem analisados em conjunto e comparados com os de outras crianças com toxoplasmose congênita, incluindo pacientes de outros estados e países. Os resultados poderão trazer conhecimentos que ajudarão a aperfeiçoar o tratamento de seu filho e de outras crianças no futuro.

As informações são confidenciais; os nomes dos pacientes e das mães não aparecerão nas fichas da pesquisa. Ao serem divulgados os resultados em revista científica, os dados aparecerão em conjunto com muitos outros casos semelhantes, de forma que nenhum paciente terá como ser identificado. Não haverá nenhum custo adicional para os pacientes, que seja decorrente da pesquisa. A não concordância em participar, a qualquer momento, não prejudicará em nada o atendimento ao paciente no Hospital São Lucas da PUCRS.

Eu,, fui informada(o) de maneira clara sobre a doença de meu filho e os procedimentos diagnósticos e terapêuticos necessários. Recebi explicações adicionais para esclarecer minhas dúvidas.

Desejo que meu filho seja avaliado e tratado como descrito acima. Permito que informações sobre a sua saúde sejam incluídas na pesquisa. Estou ciente de que nossos nomes não serão divulgados e de que a qualquer momento poderei desistir de participar da pesquisa. Este termo de consentimento foi feito em duas vias, sendo que uma delas permanece em meu poder.

Assinam:

Mãe, pai ou responsável

Testemunha

Pesquisadora: Dra. Eleonor Lago Fone 3320-3000

Porto Alegre,/...../.....