

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BÁSICAS DA SAÚDE
CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM MICROBIOLOGIA CLÍNICA

Michele Pavan

**TOXOPLASMOSE CONGÊNITA NA TRIAGEM NEONATAL BRASILEIRA PELA
REDE PÚBLICA DE SAÚDE**

Porto Alegre

2023

Michele Pavan

**TOXOPLASMOSE CONGÊNITA NA TRIAGEM NEONATAL BRASILEIRA PELA
REDE PÚBLICA DE SAÚDE**

Trabalho de conclusão de curso de especialização apresentado ao Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Microbiologia Clínica.

Orientadora: Prof. Dra. Marilise Brittes Rott
Coorientadora: Dra. Denise Leal dos Santos

Porto Alegre

2023

CIP - Catalogação na Publicação

Pavan, Michele
Toxoplasmose congênita na triagem neonatal
brasileira pela rede pública de saúde / Michele Pavan.
-- 2023.
51 f.
Orientadora: Marilise Brittes Rott.

Coorientadora: Denise Leal dos Santos.

Trabalho de conclusão de curso (Especialização) --
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto
de Ciências Básicas da Saúde, Microbiologia Clínica,
Porto Alegre, BR-RS, 2023.

1. Toxoplasmose congênita. 2. Doença neonatal. 3.
Recém-nascido. 4. Triagem neonatal. 5. Diagnóstico. I.
Rott, Marilise Brittes, orient. II. Santos, Denise
Leal dos, coorient. III. Título.

RESUMO

A ocorrência de toxoplasmose, doença causada pelo protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii*, varia entre as populações ao redor do mundo, e essa diferença está relacionada a fatores ambientais e socioculturais. No ser humano as manifestações clínicas da toxoplasmose são mais comuns em indivíduos imunocomprometidos e nos casos de transmissão congênita. Mais de 80% das infecções congênitas são subclínicas, o diagnóstico necessita dos exames sorológicos das imunoglobulinas específicas anti-*Toxoplasma gondii*. Recentemente a toxoplasmose congênita passou a integrar a lista de doenças de triagem neonatal pelo Sistema Único de Saúde no Brasil, sendo essa a primeira doença infecciosa do Programa Nacional de Triagem Neonatal. No presente trabalho foi realizada uma revisão bibliográfica narrativa para pesquisar as metodologias utilizadas no exame de toxoplasmose IgM em amostras neonatais de sangue total, coletadas em papel filtro. Após identificar o método de escolha recomendado, foram comparados os kits comerciais disponíveis no mercado brasileiro e que podem ser usados na rotina laboratorial de triagem neonatal, e também os desafios de trabalhar com amostras coletadas em papel filtro. Além disso, foram apontados os métodos diagnósticos laboratoriais de escolha para a confirmação da triagem positiva para toxoplasmose congênita no neonato.

Palavras-chave: toxoplasmose congênita; doença neonatal; recém-nascido; triagem neonatal; diagnóstico.

ABSTRACT

The prevalence of toxoplasmosis, a disease caused by the intracellular protozoan *Toxoplasma gondii*, varies across different populations worldwide, and this variation is influenced by environmental and sociocultural factors. Clinical symptoms of toxoplasmosis are more frequently observed in immunocompromised individuals and cases of congenital transmission. Over 80% of congenital infections are asymptomatic, and the diagnosis requires serological tests for specific anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulins. Recently, congenital toxoplasmosis was included in Brazil's Unified Health System neonatal screening program, making it the first infectious disease to be included in the National Neonatal Screening Program. This study conducted a narrative bibliographic review to investigate the methodologies used for examining toxoplasmosis IgM in neonatal whole blood samples collected on filter paper. After identifying the recommended method, commercial kits available in the Brazilian market for routine laboratory screening of neonates were compared, along with the challenges associated with working with filter paper samples. Additionally, the preferred laboratory diagnostic methods for confirming positive screening results for congenital toxoplasmosis in neonates were highlighted.

Keywords: congenital toxoplasmosis; neonatal disease; newborn; neonatal screening; diagnosis.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
1.1.	TOXOPLASMOSE	6
1.1.1	Ciclo de vida do parasito	7
1.1.2	Toxoplasmose congênita	9
1.1.3	Triagem neonatal no Brasil e a inclusão da toxoplasmose	10
1.1.4	Métodos de diagnóstico laboratorial para <i>T.gondii</i>	12
1.1.5	Sorologia e diagnóstico da toxoplasmose no recém-nascido	14
1.1.6	Interpretação sorológica da toxoplasmose nos recém-nascidos	15
1.1.7	Resultados falsos no diagnóstico sorológico da toxoplasmose	17
1.2	OBJETIVOS	17
1.2.1	Objetivo geral	17
1.2.2	Objetivos específicos	18
2	ARTIGO CIENTÍFICO.....	19
3	CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS	36
	REFERÊNCIAS	37
	ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA DE SAÚDE PÚBLICA (RSP).....	40

1 INTRODUÇÃO

1.1. TOXOPLASMOSE

O agente etiológico causador da toxoplasmose chama-se *Toxoplasma gondii*, um protozoário intracelular obrigatório, que penetra e se replica nas células nucleadas dos hospedeiro, que podem ser humanos ou animais de sangue quente¹. *Toxoplasma gondii* é um patógeno oportunista que pertence ao filo Apicomplexa, formado por estrutura celular polarizada e duas organelas secretoras apicais² e se locomovem por deslizamento³. Existem três principais cepas identificadas desse parasito: tipo I, II e III. Essas cepas diferem entre si quanto a sua virulência e localização geográfica, sendo que na América do Sul há predominância das cepas mais virulentas⁴.

A ocorrência de toxoplasmose varia entre as populações ao redor do mundo, e essa diferença está relacionada a fatores ambientais e socioculturais. Nos EUA estima-se uma ocorrência em 30% da população, e em alguns países da Europa Central os valores variam de 37 a 58%, já no Brasil a variação é de 20 a 97,4%⁵.

Nos humanos as manifestações clínicas da infecção por esse parasito são mais comuns em indivíduos imunocomprometidos e nos casos de transmissão congênita, que se dá devido à infecção aguda da mãe durante a gestação⁶.

Na infecção congênita as principais sequelas graves da doença localizam-se na retina e no Sistema Nervoso Central - SNC⁷, e a gravidade do dano ao feto está inversamente relacionada à idade gestacional da soroconversão materna, ou seja, os nascidos de mães com infecção no primeiro trimestre da gravidez mostram com mais frequência sinais de toxoplasmose grave, enquanto a maioria dos nascidos de mães que contraíram a infecção no último trimestre da gestação apresenta infecção subclínica. A infecção subclínica deve ser confirmada por testes sorológicos realizados durante o primeiro ano de vida do bebê⁸.

Na maioria dos adultos imunocompetentes a doença é silenciosa, em raros casos pode haver manifestações como febre, linfadenopatia e coriorretinite⁴. A coriorretinite se apresenta na forma de intensa reação inflamatória vítrea, que gera destruição e desorganização das camadas da retina, e esse processo afeta secundariamente a coróide. Nos casos de coriorretinite toxoplásmica, utilizando a oftalmoscopia indireta, pode-se observar lesão focal esbranquiçada, descrita como farol de neblina⁸.

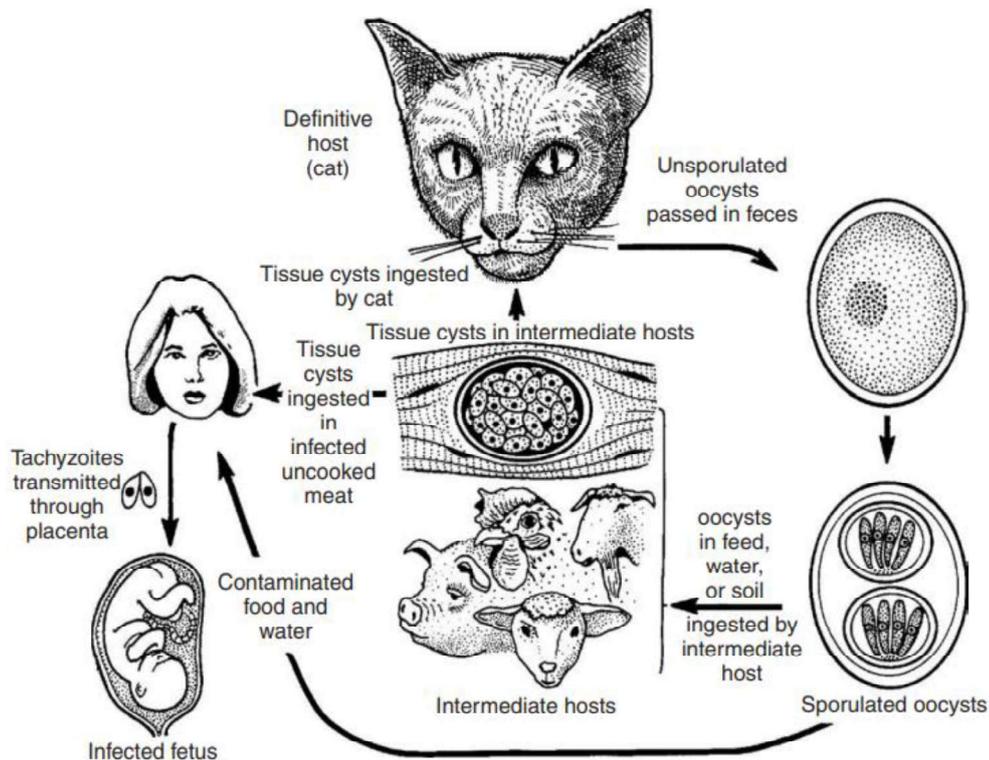
Sendo assim, o curso da infecção depende de alguns fatores, como: a carga parasitária, a virulência do parasito, características genéticas e o estado imunológico do hospedeiro⁹.

1.1.1 Ciclo de vida do parasito

O ser humano adquire a toxoplasmose principalmente pela ingestão de cistos teciduais (presentes na carne crua ou mal passada), oocistos (presentes em alimentos mal lavados, água, terra e fezes dos gatos domésticos) e também pela transmissão congênita durante a gestação. A infecção através de transfusão sanguínea, transplantes de órgãos e acidentes laboratoriais é incomum⁷.

O toxoplasma possui um ciclo de vida complexo que está dividido em duas fases, a fase sexuada que ocorre no hospedeiro definitivo e a fase assexuada que ocorre no hospedeiro intermediário². O ciclo sexual tem início com a ingestão, por parte da família Felidae, de oocistos ou tecidos com cistos teciduais contendo bradizoítos. Com a eliminação, através das fezes dos felinos, os oocistos sofrem maturação quando em contato com o ambiente, e então se tornam infecciosos recebendo o nome de oocistos esporulados. Esses oocistos esporulados sobrevivem por muito tempo no meio ambiente, e quando ingeridos pelos animais de sangue quente esses se tornam os hospedeiros para o ciclo assexuado do parasita. Os oocistos esporulados liberam esporozoítos que penetram pelas paredes do intestino do hospedeiro e se diferenciam na forma de taquizoítos. No ciclo assexuado os taquizoítos se disseminam pelo organismo infectado caracterizando a fase aguda da doença. Durante essa disseminação formam-se os cistos teciduais contendo bradizoítos que caracterizam a fase crônica da infecção. Os bradizoítos, se ingeridos pelo próximo hospedeiro, penetrarão pelas paredes do intestino e se diferenciarão em taquizoítos completando o ciclo⁶. A Figura 1 elucida o ciclo de vida do parasito.

Figura 1 – Ciclo de vida do parasito



Fonte: Dubey (2020, p. 2)²³.

Após a ingestão oral, seja de oocistos esporulados ou cistos teciduais, o toxoplasma atravessa o epitélio intestinal e dissemina-se nos tecidos, além de ser capaz de atravessar a placenta e a barreira hematoencefálica onde causa a patologia na forma mais grave. A transmigração através das células epiteliais está relacionada com o genótipo e a virulência da cepa do microrganismo³.

Na resposta imune, os tachizoítos são eliminados dos tecidos, enquanto alguns bradizoítos, dentro de um vacúolo parasitóforo e uma parede cística, permanecem na forma latente indefinidamente nos músculos esqueléticos e no SNC. Em imunocompetentes, pode ocorrer ruptura de alguns cistos teciduais e liberação de bradizoítos, mas esses poderão ser eliminados pela resposta imune do hospedeiro, sem que ocorra diferenciação em tachizoítos, ou seja, pode não haver reativação da infecção nos imunocompetentes⁹.

1.1.2 Toxoplasmose congênita

A infecção congênita ocorre por transmissão transplacentária de taquizoítos, após infecção primária da mãe durante a gravidez¹¹.

Toxoplasma gondii é um dos raros parasitas capazes de atravessar a placenta. A gravidade do resultado da transmissão da mãe para o feto depende do estágio gestacional da mãe no momento da infecção, podendo causar má-formação do feto e até aborto¹.

O risco de infecção congênita está proporcionalmente relacionado à prevalência da doença na população e ao número de mulheres em idade fértil que podem adquirir a doença durante a gestação¹⁰.

Os bebês infectados congenitamente podem apresentar uma série de sinais clínicos, como por exemplo a tríade clássica característica da toxoplasmose: hidrocefalia, coriorretinite e calcificações intracranianas. Em geral, quando os sinais são reconhecidos clinicamente ao nascimento a infecção é grave; casos leves, na maioria das vezes, não são reconhecidos logo ao nascimento, mas poderão ser reconhecidos semanas, meses ou anos mais tarde. Como mais de 80% das infecções congênitas são subclínicas, o diagnóstico necessita dos exames sorológicos das imunoglobulinas específicas anti-*T. gondii*¹².

Os marcadores de infecção aguda nos recém-nascidos são as imunoglobulinas específicas IgM, IgA e IgE. A imunoglobulina IgG não é inicialmente utilizada como marcador, pois como ela atravessa a placenta e pode ser oriunda do perfil sorológico da mãe, se o IgG específico permanecer por 12 meses de vida do bebê e até aumentar, então sim pode indicar infecção congênita⁷.

No Brasil a toxoplasmose é uma condição investigada durante o pré-natal, em que com 16 semanas de gestação, exames de IgM e IgG para toxoplasmose devem ser solicitados pelo médico que faz o acompanhamento da futura mãe. Caso os resultados dos testes de IgM e IgG sejam positivos, deverá ser solicitado o teste de avididade para identificar o período em que foi contraída a doença. Os casos positivos devem ser notificados conforme o fluxograma do Ministério da Saúde e essa gestante deve receber tratamento e acompanhamento¹³. Devido à alta incidência da doença na população do Brasil, somada ao fato de diversas gestantes não realizarem o pré-natal, e ainda por ser uma condição assintomática e que pode causar sérios problemas neurológicos e oftalmológicos ao bebê, é de extrema importância a investigação a toxoplasmose também em neonatos.

1.1.3 Triagem neonatal no Brasil e a inclusão da toxoplasmose

A triagem neonatal, conhecida popularmente como teste do pezinho, é parte integrante das políticas de saúde pública e é de grande relevância para a população em geral. O objetivo da triagem é detectar doenças que quando tratadas precocemente podem proporcionar melhor qualidade de vida aos indivíduos e até mesmo evitar o óbito. O bebê com diagnóstico positivo para alguma das alterações triadas ao receber o tratamento especializado precocemente, poderá não desenvolver sequelas. Dessa forma, a criança terá chances de se tornar um adulto produtivo e independente.

A primeira intenção de teste populacional em massa foi proposta pelo Dr. Robert Guthrie em 1963 nos EUA, onde foram utilizadas amostras de sangue seco em papel filtro com o objetivo de identificar precocemente indivíduos que acumulavam fenilalanina no sangue. Esse acúmulo é causador do quadro de fenilcetonúria, que é uma condição metabólica capaz de gerar danos cerebrais irreversíveis, e que pode ser evitada com restrição alimentar antes do aparecimento dos primeiros sintomas. Sendo assim, essa foi uma das primeiras condições triadas nos recém-nascidos^{14,15}.

As doenças que são triadas em cada país dependem de decisões de políticas de saúde baseadas em aspectos epidemiológicos, étnicos, sociais, econômicos e éticos¹⁶. Não há um consenso universal para essa decisão¹⁵. A Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda os critérios definidos por Wilson e Junger (1968): a doença a ser investigada deve ser um problema de saúde significativo; deve haver tratamento eficaz; devem estar disponíveis instalações para diagnóstico e tratamento; deve haver um sintoma precoce identificável na doença a ser triada; deve haver um teste ou exame confiável; o teste deve ser aceitável pela população; a história natural do desenvolvimento da doença deve ser bem conhecida; deve haver uma política estabelecida sobre quais pacientes tratar; os custos da detecção de um caso desde o diagnóstico até o tratamento devem ser economicamente viáveis; a triagem de casos deve ser um processo contínuo^{15,17}.

Os laboratórios privados que oferecem o teste do pezinho não possuem limitações para quais doenças testar e esses oferecem o serviço de triagem em diversas modalidades. Cada modalidade contempla o rastreio de um número de doenças e o custo varia de acordo com o número de doenças triadas.

Na rede pública de saúde brasileira, o Sistema Único de Saúde (SUS), oferece o teste do pezinho de forma gratuita e o número de doenças triadas é limitado por lei. O fluxo da

triagem neonatal pelo SUS é muito bem estabelecido e envolve diversas etapas como: coleta das amostras em papel filtro em hospitais (maternidades) e postos de saúde. As amostras são coletadas do calcanhar do bebê até o quinto dia de vida e são encaminhadas para os laboratórios de serviços de referência em triagem neonatal (SRTN) onde os exames de triagem serão realizados. Nos casos de triagem positiva é feita a busca ativa da família e convocação para realização dos exames confirmatórios no bebê; nos casos confirmados é feita a busca ativa para consulta de orientação, atendimento e acompanhamento do paciente nos SRTN credenciados¹⁸.

A triagem neonatal no Brasil iniciou oficialmente em 1976, na Associação dos Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de São Paulo para a triagem de fenilcetonúria. Na mesma década a triagem foi ampliada para mais uma condição, o hipotireoidismo congênito, através da dosagem do hormônio tireoideano T4. Em 1990, pela Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990 do Estatuto da Criança e do Adolescente (ECA), a triagem neonatal passou a ser obrigatória. A triagem neonatal foi incorporada ao SUS no ano de 1992 pela Portaria GM/MS nº 22, de 15 de Janeiro de 1992, onde a triagem para fenilcetonúria e hipotireoidismo congênito passaram a ser obrigatórios para todos os nascidos-vivos no Brasil. No ano de 2001, o Ministério da Saúde (MS) com a Portaria GM/MS nº 822, de 6 de junho de 2001 criou o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN) e com ele serviços de referência (SRTN) que seriam os responsáveis pela centralização e gestão do programa em cada estado brasileiro. O objetivo do programa se baseia em diminuir a mortalidade e sequelas das doenças triadas, através do aumento do número de bebês triados, busca ativa das famílias dos bebês com resultados alterados, confirmação do diagnóstico, tratamento especializado e acompanhamento do paciente por toda a vida. Além disso, foram incluídas as testagens para hemoglobinopatias e fibrose cística. Em 2012, pela Portaria nº 2.829, de 14 de dezembro de 2012, foram incluídas mais duas doenças a serem triadas no PNTN: a hiperplasia adrenal congênita e a deficiência de biotinidase¹⁵.

Em 2019, a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC), em sua 84ª Reunião Ordinária, considerou que a toxoplasmose congênita é um problema de saúde pública e que o diagnóstico e tratamento precoces reduzem a mortalidade e problemas graves nos bebês. O CONITEC colocou em consulta pública, com recomendação preliminar favorável à ampliação no SUS, a utilização do teste de pezinho para detecção da toxoplasmose congênita, indicando no relatório o teste de toxoplasmose IgM como sendo de escolha para a triagem dos neonatos¹⁹.

Foi pela Portaria nº 7, de 4 de março de 2020 que ocorreu a inclusão na lista de doenças de triagem neonatal pelo SUS, da toxoplasmose congênita, sendo essa a primeira doença

infeciosa do PNTN¹⁶. Dessa forma, todos os estados brasileiros, através dos seus SRTN devem se adequar para implementar esse teste^{20,21}.

A triagem neonatal para toxoplasmose consiste na pesquisa de IgM anti-*Toxoplasma gondii* junto à triagem de outras condições biológicas que já fazem parte da rotina laboratorial da triagem neonatal¹.

Os profissionais dos laboratórios de triagem do SRTN que executam os exames laboratoriais precisam estar preparados para a inclusão da triagem da toxoplasmose. Essa inclusão se dará por meio da implantação do teste de toxoplasmose IgM na rotina do laboratório, onde serão utilizadas as mesmas amostras de sangue total seco em papel filtro utilizadas para as outras doenças já triadas. Conseqüentemente surgirão desafios que necessitarão de conhecimento para auxiliar no direcionamento e solução de questionamentos até chegar à confirmação da toxoplasmose congênita, seguindo as recomendações oficiais do PNTN²³.

Para a testagem de IgM nos recém-nascidos recomenda-se o uso de ensaio enzimático de captura⁷. Mesmo que os testes para detecção de anticorpos IgM não sejam perfeitos eles podem ser muito úteis em programas de triagem²⁴. Vale ressaltar que independente do recém-nascido apresentar sinais clínicos ou doença subclínica, os anticorpos IgM específicos estarão presentes¹².

As amostras de sangue seco, coletadas em papel de filtro, são fáceis de coletar, armazenar e transportar²⁴, o que viabiliza ainda mais o acesso ao exame. Além disso, existem estudos que comprovam altíssima concordância entre os resultados obtidos no sangue seco em papel filtro quando comparado aos resultados do soro²⁵, demonstrando que são seguros e confiáveis os resultados obtidos utilizando esse tipo de amostra.

1.1.4 Métodos de diagnóstico laboratorial para *T.gondii*

Os métodos de diagnóstico são divididos em diretos e indiretos¹¹. No Quadro 1 constam exemplos de métodos diretos e no Quadro 2, de métodos indiretos.

Quadro 1 – Métodos diretos

Métodos diretos	
Microscópico	Análise direta da amostra (tecido, água, fezes, etc) entre lâmina e lamínula podendo ser utilizado um corante adequado para melhor visualização ¹¹ .
Molecular	Na prática o tipo de exame direto mais empregado é a técnica de Reação de Cadeia da Polimerase (PCR). Os genes mais utilizados são: gene B1 e o gene AF146527 ¹ . Princípio do teste: amplificação de ácidos nucleicos do parasito. Na PCR em tempo real, são utilizadas amostras como sangue, líquor, líquido amniótico, lágrimas e tecidos ¹¹ .
Cultura	<i>In vivo</i> : inoculação da amostra em camundongos para isolamento do organismo. Taquizoítos e cistos teciduais podem ser observados com essa técnica ¹¹ . <i>In vitro</i> : cultura de células e acompanhamento da presença de taquizoítos ¹¹ .

Fonte: elaborado pela autora com base em Beder e Esenkaya Taşbent (2020)¹¹, e em Souza e Belfort (2014)¹.

Quadro 2 – Métodos indiretos

Métodos indiretos	
Sabin-Feldman ou <i>dye test</i>	Considerado padrão ouro, mas na prática é pouco empregado, pois utiliza taquizoítos vivos ¹ . Princípio do teste: após a amostra ser incubada com o complemento, adiciona-se corante azul de metileno, na presença de anticorpos específicos, o complemento é ativado, destruindo a membrana do parasito por citólise, desintegrando-o e não conseguindo, portanto, captar o corante ¹¹ .
Teste aglutinação modificado (MAT)	Princípio do teste: em placas de microtitulação em formato de U estarão fixados taquizoítos. Na presença de amostras positivas (contendo anticorpos) há formação de camada fina de aglutinação e em amostras negativas (ausência de anticorpos) um precipitado puntiforme no fundo do poço em U ¹¹ .
Aglutinação em látex	Princípio do teste: o antígeno solúvel é revestido partículas de látex e a aglutinação é observada quando amostra de soro contendo anticorpos é adicionada ¹¹ .
Enzimoimunoensaio (ELISA)	Frequentemente utilizado na rotina laboratorial. Princípio do teste: detecção da mudança de cor em amostras positivas adicionando o conjugado marcado com enzima ao complexo antígeno-anticorpo formado no material sólido, após a adição do substrato ¹¹ .
Fluorescência indireta de anticorpo (IFAT)	É um método imunocitoquímico. Princípio do teste: os anticorpos da amostra se ligam aos taquizoítos fixados em lâmina. Com a utilização de anticorpos marcados com compostos fluorescentes

	pode-se observar a reação positiva devido à presença de cor com brilho através da utilização de um microscópio de fluorescência ¹¹ .
Ensaio de Aglutinação Imunoabsorvente (ISAGA)	É pouco utilizado na rotina e mais utilizado em laboratórios de referência. Pode ser utilizado para avaliar anticorpos IgG, IgA, IgM ou IgE. Princípio do teste: é realizado em placas de 96 poços onde as paredes são adsorvidas com o anticorpo que se deseja pesquisar. Após etapas de incubação e lavagem, se houver ligação com o antígeno parasitário, ocorrerá aglutinação visual (reação positiva). Após, pode ser feita a semiquantificação ¹ .

Fonte: elaborado pela autora com base em Beder e Esenkaya Taşbent (2020)¹¹, e em Souza e Belfort (2014)¹.

Em recém-nascidos com suspeita de infecção intrauterina, a presença de IgM específico pode confirmar o caso, bem como o isolamento de parasitos ou PCR positiva na camada leucocitária de sangue²⁶.

A utilização de mais de um método, em conjunto, é uma abordagem mais precisa para aumentar a confiabilidade no diagnóstico²⁷.

Para o método de ELISA existem kits comerciais padronizados para utilização de amostras de sangue seco em papel filtro, com valores de referência para neonatos. Alguns laboratórios de serviços de referência em triagem neonatal no Brasil que já implantaram a triagem para a toxoplasmose congênita utilizam esse método.

1.1.5 Sorologia e diagnóstico da toxoplasmose no recém-nascido

O diagnóstico de toxoplasmose congênita em recém-nascidos deve começar com a coleta de dados da toxoplasmose da mãe. Com os dados da gravidez pode-se estabelecer a semana em que ocorreu a infecção materna e torna possível avaliar o risco e o prognóstico da infecção²⁷. Quando a triagem neonatal para toxoplasmose é positiva, deve-se fazer a sorologia confirmatória no recém-nascido e na mãe¹.

Um teste sorológico de IgM isolado não pode estabelecer o diagnóstico de toxoplasmose para crianças mais velhas ou adultos, mas no caso do recém-nascido, nos primeiros dias de vida, desde que não tenha ocorrido contaminação com sangue materno, o resultado é válido e deve ser repetido 3 a 4 dias após¹². Confirma-se a toxoplasmose congênita nos recém-nascidos com pelo menos uma das imunoglobulinas (IgM, IgA ou IgE) positivas, sendo as duas primeiras as mais utilizadas na rotina clínica¹.

A IgM específica de *T. gondii* raramente está presente no soro de um lactente que recebeu tratamento com pirimetamina e sulfadiazina na passagem intrauterina, a partir da 17ª semana de gestação até o nascimento. Se a criança não começar a produzir anticorpos antes do tratamento ser iniciado ou se a síntese estiver em um nível baixo, o tratamento aparentemente inibe a síntese e evita a formação de anticorpos, pois como o tratamento elimina os taquizoítos, ocorre a interrupção da produção de antígeno. Também há aqueles casos onde a produção de anticorpos anti-*T. gondii* é retardada até que os anticorpos transmitidos pela mãe diminuam para um título baixo ou até que o tratamento específico seja descontinuado, permitindo assim uma nova proliferação do microrganismo. Ainda vale ressaltar que o atraso na síntese de anticorpos pode estar relacionado apenas à infecção tardia no momento do parto, em que pode demorar algumas semanas para que os anticorpos apareçam¹².

O teste de avidéz de IgG, em amostras coletadas em papel filtro, pode contribuir para a identificação precoce da toxoplasmose congênita, pois baixa avidéz de anticorpos IgG é um indicativo para infecção recente²⁵.

Naqueles casos em que os títulos de anticorpos IgA ou IgM maternos são muito altos, os resultados do teste de IgA ou IgM nos neonatos deve ser interpretado com cautela e ser confirmado após aproximadamente 10 dias de vida, a menos que o diagnóstico seja estabelecido antes deste tempo¹².

1.1.6 Interpretação sorológica da toxoplasmose nos recém-nascidos

No Quadro 3 estão descritas as possibilidades de interpretação sorológica dos resultados de IgM e IgG anti-*T. gondii* nos recém-nascidos:

Quadro 3 – Possibilidades de interpretação sorológica da toxoplasmose em recém-nascidos

Perfil Sorológico		Possibilidade de interpretação
IgM	IgG	
Não reagente	Não reagente	1. Ausência de infecção congênita por <i>Toxoplasma gondii</i> , ou infecção nos últimos dias antes do nascimento. 2. Se há suspeita clínica e/ou indicativos epidemiológicos no pré-natal de toxoplasmose na gravidez, realizar outro exame 7-15 dias depois do parto.

		3. Pode colaborar na interpretação dos resultados a realização simultânea do binômio mãe-filho.
Reagente	Não reagente	1. Possibilidade de escape materno de IgM. 2. Se há suspeita clínica e/ou indicativo epidemiológico no pré-natal de toxoplasmose na gravidez, realizar outro exame 7-15 dias depois do parto ¹ ; se a IgG for positiva, confirma-se a infecção congênita.
Reagente	Reagente	Infecção congênita por <i>Toxoplasma gondii</i> , quando o exame é realizado nos 6 primeiros meses de vida. Pela possibilidade de escape materno de IgM (muito raro), recomenda-se confirmar a presença de IgM com mais de 7 dias de vida.
Não reagente	Reagente ¹	Muitos recém-nascidos com toxoplasmose congênita apresentam IgM específica negativa desde o nascimento e, na maioria, a IgM negativa-se precocemente. Por isso, IgM negativa não afasta a possibilidade de infecção congênita. 1. Se houver infecção congênita por <i>Toxoplasma gondii</i> , nos controles subsequentes haverá ascensão dos títulos de IgG, mesmo em crianças assintomáticas. 2. Se não houver infecção congênita por <i>Toxoplasma gondii</i> e a IgG for apenas de transmissão passiva, nos controles subsequentes haverá queda gradativa dos títulos de IgG, que desaparecerão até 12 meses de vida. • É importante avaliar indicativos epidemiológicos do pré-natal e suspeita clínica para a adequada interpretação laboratorial, sobretudo nas crianças assintomáticas. • Recomenda-se investigar os demais agravos infecciosos da transmissão vertical, assim como avaliação oftalmológica e neurológica, mesmo em crianças assintomáticas.

Fonte: Souza, Belfort (2014, p. 251-253)¹.

¹Pode ser realizada a pesquisa de IgA específica, que, se reagente, também define o caso como infecção congênita por *Toxoplasma gondii*. Associar a pesquisa de IgA, pois pode aumentar a sensibilidade do diagnóstico sorológico da toxoplasmose congênita. Em alguns casos em que a IgM é negativa, a IgA pode ser positiva. As mesmas observações se aplicam à possibilidade de escape materno nos primeiros sete dias.

1.1.7 Resultados falsos no diagnóstico sorológico da toxoplasmose

Para um teste ser considerado aceitável, um leve excesso de sensibilidade, resultando em falso-positivos pode ser aceito, mas a falta de sensibilidade, gerando resultados falso-negativos, não podem ser considerados aceitáveis principalmente para triagem¹².

Há estudos que relatam taxas de falso-positivos de testes de toxoplasmose em amostras de recém-nascidos, e percebe-se grande variabilidade, como por exemplo: 0,25/1000 de falso-positivos²⁸, 0,16% de falso-positivos²⁹ e 61,5% de falso-positivos³⁰.

Deve-se levar em consideração que resultados falso-positivos acarretam em aumento de custos na triagem, devido à necessidade de investigação, confirmação e acompanhamento até ser possível um diagnóstico verdadeiro e definitivo como negativo. Além disso, as famílias precisarão lidar com a notícia e gerará desgaste com os próximos passos relacionados ao acompanhamento médico³⁰.

Dessa forma, é importante que o laboratório responsável pela triagem utilize critérios de validação e aceitabilidade para avaliar o kit comercial de escolha, causando o menor impacto possível nos custos, aos bebês e famílias.

Outra questão a apontar é que nem todos os recém-nascidos com toxoplasmose congênita apresentam IgM anti-*Toxoplasma gondii* positiva e podem passar despercebidos na triagem¹, sendo assim, é fundamental ter bastante atenção aos sinais clínicos e aos resultados dos exames da mãe para não acarretar em falso-negativo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Analisar os métodos disponíveis para realização do teste de toxoplasmose IgM quando aplicados na triagem neonatal em sangue total de recém-nascidos coletado em papel filtro e a confirmação do diagnóstico em termos laboratoriais no caso de triagem positiva.

1.2.2 Objetivos específicos

- a) Revisar a literatura disponível no que diz respeito às metodologias para o teste de toxoplasmose IgM em amostras neonatais de sangue total coletadas em papel filtro;
- b) Identificar e comparar a sensibilidade, especificidade e possíveis interferentes dos kits comerciais para toxoplasmose IgM específicos para amostras neonatais de sangue total coletadas em papel filtro disponíveis no mercado brasileiro;
- c) Compreender os desafios de trabalhar com amostras que são extraídas de papel filtro;
- d) Identificar o método diagnóstico laboratorial de escolha para a confirmação de uma triagem positiva para toxoplasmose congênita.

3 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

A metodologia de escolha para o teste de toxoplasmose IgM em amostras neonatais de sangue total coletadas em papel filtro é o teste de captura de anticorpos IgM. No Brasil estão disponíveis poucas marcas comerciais que possibilitam trabalhar com o tipo de amostra padrão para a triagem neonatal. Os kits comerciais do método ELISA disponíveis possuem alta sensibilidade e especificidade. Para garantir a melhor triagem para a doença se faz importante a escolha de um kit comercial que apresente alto VPP, que pode ser obtido durante uma validação de método. Para que nenhum recém-nascido deixe de receber o diagnóstico correto é preciso ter atenção aos possíveis falsos negativos, para isso os resultados da mãe pareados aos do bebê, assim como a acompanhamento pós-triagem precisam ser considerados. Para um diagnóstico definitivo mais efetivo a combinação de testes e metodologias é fundamental, diminuindo assim os falso positivos, que geram aumento de custos e ansiedade nas famílias.

A triagem neonatal para toxoplasmose congênita no Brasil, pela rede pública de saúde, ainda está em fase de implantação, em breve será possível uma melhor visualização do que realmente vai funcionar de forma eficiente, em termos de testes e combinações de métodos, para a triagem da população. Pelo fato do Brasil apresentar alta prevalência de toxoplasmose, espera-se que a inclusão do rastreio dessa condição seja duradoura e que seja possível demontar na prática o custo-benefício do rastreio e tratamento precoce nos recém-nascidos.

Pode-se dizer que Existe espaço para a diversificação de kits comerciais para o mercado brasileiro. A disponibilidade de kits comerciais que possibilitem a combinação de testes sorológicos para as diferentes imunoglobulinas, de forma simultânea, seria um bom avanço, diminuindo o tempo de triagem e melhorando a assertividade diagnóstica rápida. Novos estudos podem colaborar para melhorar ainda mais o desenvolvimento de novas possibilidades de kits para triagem e diagnóstico, como também a coleta menos invasiva que poderia se tornar um atrativo para a realização do teste nos recém-nascidos. A possibilidade de uma vacina acessível que impeça a disseminação do parasito pode baixar a prevalência da doença e diminuir o risco para as mulheres em idade fértil.

REFERÊNCIAS

1. Souza W, Belfort JR. *Toxoplasmose & Toxoplasma gondii*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2014. Available from: <https://doi.org/10.7476/9788575415719>.
2. Munoz M, Liesenfeld O, Heimesaat MM. Immunology of *Toxoplasma gondii*. *Immunol Rev*. 2011;240(1):269-85. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-065X.2010.00992.x>.
3. Barragan A, Sibley LD. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. *J Exp Med*. 2002;195(12):1625-33. Available from: <https://doi.org/10.1084/jem.20020258>.
4. Bollani L, Auriti C, Achille C, Garofoli F, Rose DU, Meroni, V, Salvatori G and Tzialla, C. Congenital Toxoplasmosis: the state of the art. *Front Pediatr*. 2022;10:894573. Available from: <https://doi.org/10.3389/fped.2022.894573>.
5. Bresciani KDS, Costa AJ. *Congenital toxoplasmosis in humans and domestic animals*. Sharjah: Bentham Science Publishers; 2018.
6. Black MW, Boothroyd JC. 2000. Lytic cycle of *Toxoplasma gondii*. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000;64(3):607–623. Available from: <https://doi.org/10.1128/MMBR.64.3.607-623.2000>.
7. Bichara CC, Andrade GM, Queiroz, Lago EG. *Toxoplasmose Congêntia*. In: Souza W., Belfort JR, R. *Toxoplasmose & Toxoplasmose gondii*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2014, p. 137-155. Available from: <https://books.scielo.org/id/p2r7v/pdf/souza-9788575415719-12.pdf>.
8. Bollani L, Stronati M. Congenital toxoplasmosis: clinical manifestation, treatment and follow-up. *J Pediatr Neonat Individual Med*. 2014;3(1):e030104. Available from: <https://doi.org/10.7363/030104>.
9. Avelino-Silva V, Kallás EG. *Toxoplasmose em pacientes imunocomprometidos e com AIDS*. In: Souza W, Belfort JR. *Toxoplasmose & Toxoplasmose gondii*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 2014, p. 163-170. Available from: <https://books.scielo.org/id/p2r7v/pdf/souza-9788575415719-14.pdf>.
10. Neto, EC, Amorim, F, Lago EG. 2010. Estimation of the regional distribution of congenital toxoplasmosis in Brazil from the results of neonatal screening. *Sci Medica*. 2010;20:64–70. Available from: <https://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/scientiamedica/article/view/5983>.
11. Beder D, Esenkaya Taşbent F. General Features and Laboratory Diagnosis of *Toxoplasma gondii* Infection. *Turkiye Parazitoloj Derg*. 2020;44(2):94-101. Available from: <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2020.6634>.
12. Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 7. ed. Philadelphia: Elsevier; 2011. Available from: <https://doi.org/10.1016/C2009-0-50442-4>.

13. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Nota Técnica nº 14/2020-COSMU/CGCIVI/DAPES/SAPS/MS. Trata-se de Nota Técnica que apresenta fluxograma de diretriz Nacional, para a condução clínica do diagnóstico da Toxoplasmose Gestacional e Congênita. 2020. Available from: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/t/toxoplasmose/arquivos/sei_ms-0014746811-nota-tecnica.pdf.
14. Leão LL and Aguiar, MJB. 2008. Newborn screening: what pediatricians should know. *J Pediatr.* 2008;84:80-90. Available from: <https://www.scielo.br/j/jped/a/rxQLMsYqQHGMxMw9WV4vXWv/?lang=pt&format=pdf>.
15. Ribeiro AF, Goto MMF, Grindler CM, Lemos-Marini SHV. *Triagem neonatal e doenças raras.* São Paulo: Thieme Revinter; 2019.
16. Souto MFO. *Agenda Brasileira. Primeira Infância - Triagem neonatal/teste do pezinho no Brasil e no mundo. Primeira infância.* 2022. Available from: <https://bd.camara.leg.br/bd/handle/bdcamara/40720>.
17. Wilson JMG, Junger G. *Principles and practice of screening for disease.* Geneva: World Health Organization; 1968, Public Health Papers, 34.
18. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. *Manual de Normas Técnicas e Rotinas Operacionais do Programa Nacional de Triagem Neonatal.* Brasília; 2004. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_normas_tecnicas_rotinas_operacionais_programa_triagem_neonatal.pdf.
19. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. *Ampliação do uso do teste do pezinho para a detecção da toxoplasmose congênita. Relatório de Recomendação.* Brasília; 2019. Disponível em: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2019/relatorio_procedimentotoxoplasmose_cp_84_2019.pdf.
20. Brasil. Lei n. 14.154, de 26 de maio de 2021. Altera a Lei nº 8.069, de 13 de julho de 1990 (Estatuto da Criança e do Adolescente), para aperfeiçoar o Programa Nacional de Triagem Neonatal (PNTN), por meio do estabelecimento de rol mínimo de doenças a serem rastreadas pelo teste do pezinho; e dá outras providências. Disponível em: www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2019-2022/2021/Lei/L14154.htm.
21. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Nota técnica nº 18/2022-CGSH/DAET/SAES/MS. Inclusão de Procedimento na Tabela de procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS – Detecção de IgM e IgG para o diagnóstico de Toxoplasmose Congênita em recém-nascidos com amostra de sangue coletada em papel-filtro e alteração da descrição do código de habilitação 14.08 do Sistema do Cadastro Nacional de Estabelecimentos de Saúde – SCNES. 2022. Disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/doc_tec/08.06.2022%20_%20PRT%20GM%201369.2022.pdf.

22. Ministério da Saúde (BR), Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Nota técnica nº 36/2022 CGSH/DAET/SAES/MS. Triagem neonatal, diagnóstico, acompanhamento e notificação de casos suspeitos para toxoplasmose congênita. 2022. Disponível em: <https://atencao basica.saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202211/08135001-nota-tecnica-n-36-2022-cgsh-daet-saes-ms.pdf>.
23. Dubey JP. The history and life cycle of *Toxoplasma gondii*. In: Weiss LM, Kim K, editors. *Toxoplasma gondii: the model apicomplexan: perspectives and methods*. New York: Academic Press; 2020. p. 1-19. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815041-2.00001-3>.
24. Hegazy MM, Hegazy MK, Azab MS, Nabih N. Validation of dried blood spots in monitoring toxoplasmosis. *Pathog Glob Health*. 2020;114(5):242-250. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/20477724.2020.1765125>.
25. Souza JY, Gomes TC, Rezende HHA, Storchilo HR, Rodrigues PG, Castro AM. IgG Avidity in Samples Collected on Filter Paper: importance of the early diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2021;43(12):887-893. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0041-1740272>.
26. Vaz AJ, Martins J de O, Takei K, Bueno EC. *Imunoensaios: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2018.
27. Baquero-Artigao F, Castillo Martín F, Fuentes Corripio I, Goncé Mellgren A, Fortuny Guasch C, Calle Fernández-Miranda M, González-Tomé MI, Couceiro Gianzo JA, Neth O, Ramos Amador JT, Grupo de Trabajo de Infección Congénita y Perinatal de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica (SEIP). Guía de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica para el diagnóstico y tratamiento de la toxoplasmosis congénita [The Spanish Society of Pediatric Infectious Diseases Guidelines for the diagnosis and treatment of congenital toxoplasmosis]. *An Pediatr (Barc)*. 2013;79(2):116.e1-116.e16. Spanish. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2012.12.001>.
28. Evengård B, Petersson K, Engman ML, Wiklund S, Ivarsson SA, Teär-Fahnehjelm K, Forsgren M, Gilbert R, Malm G. Low incidence of toxoplasma infection during pregnancy and in newborns in Sweden. *Epidemiol Infect*. 2001;127(1):121-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s0950268801005775>.
29. Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R. Newborn screening for congenital infectious diseases. *Emerg Infect Dis*. 2004;10(6):1068-73. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1006.030830>.
30. Carvalheiro CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Souza CB, Maciel LM. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect*. 2005;133(3):485-91. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/s095026880400353x>.

ANEXO A – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DA REVISTA SAÚDE PÚBLICA (RSP)



Instruções aos Autores

1. Informações gerais
2. Categorias de artigos
3. Dados de identificação do manuscrito
4. Conflito de interesses
5. Declarações e documentos
6. Preparo do manuscrito

1. Informações gerais

São aceitos manuscritos nos idiomas: português e inglês. Artigos submetidos em português são traduzidos para o inglês e publicados nesses dois idiomas. Para artigos submetidos em inglês, não há tradução para o português.

O texto de manuscrito de pesquisa original deve seguir a estrutura conhecida como IMRD: Introdução, Métodos, Resultados e Discussão (Estrutura do Texto). Manuscritos baseados em pesquisa qualitativa podem ter outros formatos, admitindo-se Resultados e Discussão em uma mesma seção e Considerações Finais ou Conclusões. Outras categorias de manuscritos (revisões, comentários etc.) seguem os formatos de texto a elas apropriados.

Os estudos devem ser apresentados de forma que qualquer pesquisador interessado possa reproduzir os resultados. Para isso estimulamos o uso das seguintes recomendações, de acordo com a categoria do manuscrito submetido:

- CONSORT – checklist e fluxograma para ensaios controlados e randomizados;

- STARD – checklist e fluxograma para estudos de acurácia diagnóstica; MOOSE – checklist e fluxograma para metanálises e revisões sistemáticas de estudos observacionais;
- PRISMA – checklist e fluxograma para revisões sistemáticas e metanálises;
- STROBE – checklist para estudos observacionais em epidemiologia;
- RATS – checklist para estudos qualitativos.

Pormenores sobre os itens exigidos para apresentação do manuscrito estão descritos de acordo com a categoria de artigos.

Como forma de avaliação da ocorrência de plágio, todos os manuscritos recebidos são submetidos à programa de detecção de similaridade entre textos.

O ORCID do primeiro autor e de todos os coautores deverá ser informado no momento da submissão dos manuscritos, na carta de apresentação.

Resolução de conflitos de interesse e violações éticas

Os editores tomarão as medidas necessárias para identificar e prevenir a publicação de artigos onde ocorra má conduta de pesquisa ou violações éticas, incluindo plágio, manipulação de citações e falsificação / fabricação de dados, ausência de autorizações pertinentes, discriminação, entre outros. As situações e alegações que chegarem ao conhecimento de editores e avaliadores serão levadas ao Comitê Editorial, que tomará as providências cabíveis, incluindo o encaminhamento a instâncias superiores da Universidade, se necessário.

2. Categorias de artigos

a) Artigos Originais

Incluem estudos observacionais, estudos experimentais ou quase-experimentais, avaliação de programas, análises de custo-efetividade, análises de decisão e estudos sobre avaliação de desempenho de testes diagnósticos para triagem populacional. Cada artigo deve conter objetivos e hipóteses claras, desenho e métodos utilizados, resultados, discussão e conclusões.

Incluem também ensaios teóricos (críticas e formulação de conhecimentos teóricos relevantes) e artigos dedicados à apresentação e discussão de aspectos metodológicos e técnicas utilizadas na pesquisa em saúde pública. Neste caso, o texto deve ser organizado em tópicos para guiar o leitor quanto aos elementos essenciais do argumento desenvolvido.

Instrumentos de aferição em pesquisas populacionais

Manuscritos abordando instrumentos de aferição podem incluir aspectos relativos ao desenvolvimento, a avaliação e à adaptação transcultural para uso em estudos populacionais, excluindo-se aqueles de aplicação clínica, que não se incluem no escopo da RSP.

Aos manuscritos de instrumentos de aferição, recomenda-se que seja apresentada uma apreciação detalhada do construto a ser avaliado, incluindo seu possível gradiente de intensidade e suas eventuais subdimensões. O desenvolvimento de novo instrumento deve estar amparado em revisão de literatura, que identifique explicitamente a insuficiência de propostas prévias e justifique a necessidade de novo instrumental.

Devem ser detalhados: a proposição, a seleção e a confecção dos itens e o emprego de estratégias para adequá-los às definições do construto, incluindo o uso de técnicas qualitativas de pesquisa (entrevistas em profundidade, grupos focais etc.), reuniões com painéis de especialistas, entre outras; o trajeto percorrido na definição da forma de mensuração dos itens e a realização de pré-testes com seus conjuntos preliminares; e a avaliação das validades de face, conteúdo, critério, construto ou dimensional.

Análises de confiabilidade do instrumento também devem ser apresentadas e discutidas, incluindo-se medidas de consistência interna, confiabilidade teste-reteste ou concordância inter-observador. Os autores devem expor o processo de seleção do instrumento final e situá-lo em perspectiva crítica e comparativa com outros instrumentos destinados a avaliar o mesmo construto ou construtos semelhantes.

Para os manuscritos sobre **adaptação transcultural** de instrumentos de aferição, além de atender, de forma geral, às recomendações supracitadas, é necessário explicitar o modelo teórico norteador do processo. Os autores devem também justificar a escolha de determinado instrumento para adaptação a um contexto sociocultural específico, com base em minuciosa revisão de literatura. Finalmente, devem indicar explicitamente como e quais foram as etapas seguidas do modelo teórico de adaptação no trabalho submetido para publicação.

O instrumento de aferição deve ser incluído como anexo dos artigos submetidos.

Organização do manuscrito

Além das recomendações mencionadas, verificar as seguintes instruções de formatação:

a) Artigo original:

- Devem conter até 3.500 palavras (excluindo resumos, tabelas, figuras e referências).

- Número máximo de tabelas e figuras: 5.
- Número máximo recomendado de referências: 30.
- Resumos no formato estruturado com até 300 palavras.

b) Comunicação breve

São relatos curtos de achados que apresentam interesse para a saúde pública, mas que não comportam uma análise mais abrangente e uma discussão de maior fôlego.

Formatação: Sua apresentação deve acompanhar as mesmas normas exigidas para artigos originais.

- Devem conter até 1.500 palavras (excluindo resumos tabelas, figuras e referências).
- Número máximo de tabelas e figuras: 1.
- Número máximo recomendado de referências: 5.
- Resumos no formato narrativo com até 100 palavras.

c) Artigos de revisão

Revisão sistemática e meta-análise – Por meio da síntese de resultados de estudos originais, quantitativos ou qualitativos, objetiva responder a uma pergunta específica e de relevância para a saúde pública. Descreve com pormenores o processo de busca dos estudos originais, os critérios utilizados para seleção daqueles que foram incluídos na revisão e os procedimentos empregados na síntese dos resultados obtidos pelos estudos revisados. Consultar:

MOOSE checklist e fluxograma para meta-análises e revisões sistemáticas de estudos observacionais;

PRISMA checklist e fluxograma para revisões sistemáticas e meta-análises.

Revisão narrativa ou crítica – Apresenta caráter descritivo-discursivo e dedica-se à apresentação compreensiva e à discussão de temas de interesse científico no campo da saúde pública. Deve apresentar formulação clara de um objeto científico de interesse, argumentação lógica, crítica teórico-metodológica dos trabalhos consultados e síntese conclusiva. Deve ser elaborada por pesquisadores com experiência no campo em questão ou por especialistas de reconhecido saber.

- Devem conter até 4.000 palavras (excluindo resumos, tabelas, figuras e referências).
- Número máximo de tabelas e figuras: 5.
- Número máximo de referências: ilimitado.

- Resumos no formato estruturado com até 300 palavras, ou narrativo com até 150 palavras.

d) Comentários

Visam a estimular a discussão, introduzir o debate e oxigenar controvérsias sobre aspectos relevantes da saúde pública. O texto deve ser organizado em tópicos ou subitens. A introdução deve destacar o assunto e sua importância. As referências citadas devem dar sustentação aos principais aspectos abordados no artigo.

- Devem conter até 2.000 palavras (excluindo resumos, tabelas, figuras e referências).
- Número máximo de tabelas e figuras: 5.
- Número máximo recomendado de referências: 30.
- Resumos no formato narrativo com até 150 palavras.

Publicamos também Cartas Ao Editor com até 600 palavras e até 5 referências.

3. Dados de identificação do manuscrito

Autoria

O conceito de autoria está baseado na contribuição substancial de cada uma das pessoas listadas como autores, no que se refere sobretudo à concepção do projeto de pesquisa, análise e interpretação dos dados, redação e revisão crítica do manuscrito. A contribuição de cada autor deve ser explicitada em declaração para esta finalidade. Não se justifica a inclusão de nome de autores cuja contribuição não se enquadre nos critérios mencionados.

Dados de identificação dos autores (cadastro)

Nome e sobrenome: O autor deve seguir o formato pelo qual já é indexado nas bases de dados e constante no ORCID.

Correspondência: Deve constar o nome e endereço do autor responsável para troca de correspondência.

Instituição: Podem ser incluídas até três hierarquias institucionais de afiliação (por exemplo: universidade, faculdade, departamento).

Coautores: Identificar os coautores do manuscrito pelo nome, sobrenome e instituição, conforme a ordem de autoria.

Financiamento da pesquisa: Se a pesquisa foi subvencionada, indicar o tipo de auxílio, o nome da agência financiadora e o respectivo número do processo.

Apresentação prévia: Tendo sido apresentado em reunião científica, indicar o nome do evento, local e ano da realização.

4. Conflito de interesses

A confiabilidade pública no processo de revisão por pares e a credibilidade de artigos publicados dependem, em parte, de como os conflitos de interesses são administrados durante a redação, revisão por pares e tomada de decisões pelos editores.

Conflitos de interesses podem surgir quando autores, revisores ou editores possuem interesses que, aparentes ou não, possam influenciar a elaboração ou avaliação de manuscritos. O conflito de interesses pode ser de natureza pessoal, comercial, política, acadêmica ou financeira.

Quando os autores submetem um manuscrito, eles são responsáveis por reconhecer e revelar conflitos financeiros ou de outra natureza que possam ter influenciado seu trabalho. Os autores devem reconhecer no manuscrito todo o apoio financeiro para o trabalho e outras conexões financeiras ou pessoais com relação à pesquisa. O relator deve revelar aos editores quaisquer conflitos de interesses que possam influir em sua opinião sobre o manuscrito e, quando couber, deve se declarar não qualificado para revisá-lo.

Se os autores não tiverem certos do que pode constituir um potencial conflito de interesses, devem contatar a secretaria editorial da RSP.

5. Declarações e documentos

Em conformidade com as diretrizes do *International Committee of Medical Journal Editors*, são solicitados alguns documentos e declarações do(s) autor(es) para a avaliação de seu manuscrito. Observe a relação dos documentos abaixo e, nos casos em que se aplique, anexe o documento ao processo. O momento em que tais documentos serão solicitados é variável:

Documento	Quem assina	Quando anexar
a. Carta de Apresentação	Todos os autores ou o primeiro autor assina e insere o ORCID de todos os autores informados na carta de apresentação.	Na submissão
b. Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos	Autor responsável	Após a aprovação
c. Declaração de Transferência de Direitos Autorais	Todos os autores	Após a aprovação

a) Carta de apresentação

A carta deve ser assinada por todos os autores ou, ao menos, pelo primeiro autor. O ORCID de todos os autores deverá ser informado nessa carta. A carta de apresentação deve conter:

- Informações sobre os achados e as conclusões mais importantes do manuscrito e esclarecimento de seu significado para a saúde pública;
- Informação sobre a novidade do estudo e porque ele deve ser publicado nesta revista;
- Menção de até três artigos, se houver, publicados pelos autores na linha de pesquisa do manuscrito; Declaração de potenciais conflitos de interesses dos autores;
- Atestado de exclusividade da submissão do manuscrito à RSP;
- Contribuição ao manuscrito por parte de cada autor.

Segundo o critério de autoria do *International Committee of Medical Journal Editors*, autores devem contemplar todas as seguintes condições: (1) contribuir substancialmente para a concepção e planejamento, ou análise e interpretação dos dados; (2) contribuir significativamente na elaboração do rascunho ou na revisão crítica do conteúdo; e (3) participar da aprovação da versão final do manuscrito.

Nos casos de grupos multicêntricos ou grande número de autores terem desenvolvido o trabalho, o grupo deve identificar os indivíduos que aceitam a responsabilidade direta pelo manuscrito. Esses indivíduos devem contemplar totalmente os critérios para autoria definidos anteriormente. Nesse caso os editores solicitarão a eles as declarações exigidas na submissão de manuscritos. O autor correspondente deve indicar claramente a forma de citação preferida para o nome do grupo e identificar seus membros. Estes serão listados no final do texto do artigo.

Não justificam autoria: aqueles que realizaram apenas a aquisição de financiamento, a coleta de dados, ou supervisão geral do grupo de pesquisa.

b) Agradecimentos

Devem ser mencionados os nomes de pessoas que, embora não preencham os requisitos de autoria, prestaram colaboração ao trabalho. Será preciso explicitar o motivo do agradecimento (por exemplo, consultoria científica, revisão crítica do manuscrito, coleta de dados etc). Deve haver permissão expressa dos nomeados e o autor responsável deve anexar a Declaração de Responsabilidade pelos Agradecimentos. Também pode constar agradecimentos a instituições que prestaram apoio logístico.

c) Transferência de direitos autorais

Todos os autores devem ler, assinar e enviar documento transferindo os direitos autorais. O artigo só será liberado para publicação quando esse documento estiver de posse da RSP.

O documento de transferência de direitos autorais será solicitado após a aprovação do artigo.

MODELOS DOS DOCUMENTOS

a) CARTA DE APRESENTAÇÃO

Cidade, __[dia]__ de Mês de Ano.

Prezado Sr. Editor, Revista de Saúde Pública

Assim, submetemos à sua apreciação o trabalho “_____ [título] _____”, o qual se encaixa nas áreas de interesse da RSP. A revista foi escolhida [colocar justificativa da escolha da revista para a publicação do manuscrito].

Contribuição dos autores (exemplo): concepção, planejamento, análise, interpretação e redação do trabalho: autor 1; interpretação e redação do trabalho: autor 2. Ambos os autores aprovaram a versão final encaminhada.

Certifico que este manuscrito representa um trabalho original e que nem ele, em parte ou na íntegra, nem outro trabalho com conteúdo substancialmente similar, de minha autoria, foi publicado ou está sendo considerado para publicação em outra revista, quer seja no formato impresso ou no eletrônico.

Os autores não possuem conflitos de interesse ao presente trabalho. (Se houver conflito, especificar).

_____ nome completo do autor 1 + assinatura + ORCID

_____ nome completo do autor 2 + assinatura + ORCID

b) DECLARAÇÃO DE RESPONSABILIDADE PELOS AGRADECIMENTOS

Eu, (nome por extenso do autor responsável pela submissão), autor do manuscrito intitulado (título completo do artigo):

Certifico que todas as pessoas que tenham contribuído substancialmente à realização deste manuscrito, mas que não preencheram os critérios de autoria, estão nomeadas com suas contribuições específicas em Agradecimentos no manuscrito.

Certifico que todas as pessoas mencionadas nos Agradecimentos forneceram a respectiva permissão por escrito.

_____/_____/_____/_____

DATA NOME COMPLETO E ASSINATURA

c) DECLARAÇÃO DE TRANSFERÊNCIA DE DIREITOS AUTORAIS

Concordo que os direitos autorais referentes ao manuscrito [TÍTULO], aprovado para publicação na Revista de Saúde Pública, serão propriedade exclusiva da Faculdade de Saúde Pública, sendo possível sua reprodução, total ou parcial, em qualquer outro meio de divulgação, impresso ou eletrônico, desde que citada a fonte, conferindo os devidos créditos à Revista de Saúde Pública.

Autores: _____

Local, data NOME COMPLETO + Assinatura

6. Preparo do manuscrito

Título no idioma original do manuscrito

O título deve ser conciso e completo, contendo informações relevantes que possibilitem a recuperação do artigo nas bases de dados. O limite é de 90 caracteres, incluindo espaços.

Título resumido

É o título que constará no cabeçalho do artigo. Deve conter a essência do assunto em até 45 caracteres.

Descritores

Para manuscritos escritos em português, devem ser indicados entre 3 a 10 descritores extraídos do vocabulário “Descritores em Ciências da Saúde” (DeCS), da BVS/Bireme, no idioma original. Para manuscritos em inglês, utilizar o Medical Subject Headings (MeSH) da *National Library of Medicine* (EUA). Se não forem encontrados descritores adequados para a temática do manuscrito, poderão ser indicados termos livres.

Resumo

O resumo deve ser escrito em seu idioma original. As especificações quanto ao tipo de resumo estão descritas em cada uma das categorias de artigos. Como regra geral, o resumo deve incluir:

objetivo do estudo, principais procedimentos metodológicos (população em estudo, local e ano de realização, métodos observacionais e analíticos), principais resultados e conclusões.

Estrutura do texto

Introdução – Deve relatar o contexto e a justificativa do estudo, apoiados em referências pertinentes. O objetivo do manuscrito deve estar explícito no final da introdução.

Métodos- É imprescindível a descrição clara dos procedimentos adotados, das variáveis analisadas (com a respectiva definição, se necessário) e da hipótese a ser testada. Descrever também a população, a amostra e os instrumentos de medida, com a apresentação, se possível, de medidas de validade. É necessário que haja informações sobre a coleta e o processamento de dados. Devem ser incluídas as devidas referências para as técnicas e métodos empregados, inclusive os métodos estatísticos; é fundamental que os métodos novos ou substancialmente modificados sejam descritos, justificando-se as razões para seu uso e mencionando-se suas limitações. Os critérios éticos de pesquisa devem ser respeitados. Os autores devem explicitar que a pesquisa foi conduzida dentro dos padrões éticos e aprovada por comitê de ética.

Resultados – É preciso que sejam apresentados em uma sequência lógica, iniciando-se com a descrição dos dados mais importantes. Tabelas e figuras devem ser restritas àquelas necessárias para argumentação e a descrição dos dados no texto deve ser restrita aos mais importantes. Os gráficos devem ser utilizados para destacar os resultados mais relevantes e resumir relações complexas. Dados em gráficos e tabelas não devem ser duplicados, nem repetidos no texto. Os resultados numéricos devem especificar os métodos estatísticos utilizados na análise.

Discussão – A partir dos dados obtidos e resultados alcançados, os aspectos novos e importantes observados devem ser interpretados à luz da literatura científica e das teorias existentes no campo. Argumentos e provas baseadas em comunicação de caráter pessoal ou divulgadas em documentos restritos não podem servir de apoio às argumentações do autor. Tanto as limitações do trabalho quanto suas implicações para futuras pesquisas precisam ser esclarecidas. É necessário incluir somente hipóteses e generalizações baseadas nos dados do trabalho. As *Conclusões* devem finalizar esta parte, retomando o objetivo do trabalho.

Referências

Listagem: As referências devem ser normatizadas de acordo com o **estilo Vancouver** – Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication, listadas por ordem de citação. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o PubMed. No

caso de publicações com até seis autores, todos devem ser citados; acima de seis, devem ser citados apenas os seis primeiros, seguidos da expressão latina “et al.”. Sempre que possível, incluir o DOI do documento citado.

Exemplos:

Artigo de periódicos

Brüggemann OM, Osis MJD, Parpinelli MA. Apoio no nascimento: percepções de profissionais e acompanhantes escolhidos pela mulher. Rev Saude Publica. 2007;41(1):44-52. <https://doi.org/10.1590/S0034-89102006005000015>

Livro

Wunsch Filho V, Koifman S. Tumores malignos relacionados com o trabalho. In: Mendes R, coordenador. Patologia do trabalho. 2. ed. São Paulo: Atheneu; 2003. v.2, p. 990-1040.

Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer Washington: National Academy Press; 2001[citado 2003 jul 13]. Disponível em:

http://www.nap.edu/catalog.php?record_id=10149

Para outros exemplos recomendamos consultar as normas (Citing Medicine) da National Library of Medicine, disponível em

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=citmed>.

Citação no texto:

É necessário que a referência seja indicada pelo seu número na listagem, na forma de **expoente (sobrescrito)** antes da pontuação no texto, sem uso de parênteses, colchetes ou similares. Nos casos em que a citação do nome do autor e ano for relevante, o número da referência deve ser colocado seguido do nome do autor. Trabalhos com dois autores devem fazer referência aos dois autores ligados por “e”. Nos outros casos de autoria múltipla, apresentar apenas o primeiro autor, seguido de “et al.”

Exemplos:

A promoção da saúde da população tem como referência o artigo de Evans e Stoddart⁹, que considera a distribuição de renda, desenvolvimento social e reação individual na determinação dos processos de saúde-doença.

Segundo Lima et al.⁹, a prevalência de transtornos mentais em estudantes de medicina é maior do que na população em geral.

Tabelas

Devem ser apresentadas no final do texto, após as referências bibliográficas, numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto. A cada uma deve-se atribuir um título breve. Não utilizar traços internos horizontais ou verticais. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé das tabelas e não no cabeçalho ou no título. Se houver tabela extraída de outro trabalho publicado previamente, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou para sua reprodução. Para composição de uma tabela legível, o número máximo é de 10 colunas, dependendo da quantidade do conteúdo de cada casela. Notas em tabelas devem ser indicadas por letras e em sobrescrito.

Quadros

Diferem das tabelas por conterem texto em vez de dados numéricos. Devem ser apresentados no final do texto, após as referências bibliográficas, numerados consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citados no texto. A cada um deve-se atribuir um título breve. As notas explicativas devem ser colocadas no rodapé dos quadros e não no cabeçalho ou no título. Se houver quadro extraído de trabalho publicado previamente, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que o publicou para sua reprodução.

Figuras

As ilustrações (fotografias, desenhos, gráficos etc.) devem ser citadas como Figuras e numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na ordem em que foram citadas no texto e apresentadas após as tabelas. Elas também devem conter título e legenda apresentados em sua parte inferior. Só serão admitidas para publicação figuras suficientemente claras e com qualidade digital, preferencialmente no formato vetorial. No formato JPEG, a resolução mínima deve ser de 300 dpi. Não se aceitam gráficos apresentados com as linhas de grade, e os elementos (barras, círculos) não podem apresentar volume (3D). Se houver figura extraída de trabalho publicado previamente, os autores devem solicitar formalmente autorização da revista que a publicou para sua reprodução.