

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas
Mestrado Interinstitucional**

**PREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA
NO NORTE DO ESTADO:
UM ESTUDO PROSPECTIVO EM PASSO FUNDO**

LIÉGE MOZZATTO

Orientador: Prof. Dr. Renato Soibelman Procianoy

Dissertação de Mestrado

Porto Alegre / Passo Fundo

2003

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas
Mestrado Interinstitucional**

**PREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA
NO NORTE DO ESTADO:
UM ESTUDO PROSPECTIVO EM PASSO FUNDO**

LIÉGE MOZZATTO

Orientador: Prof. Dr. Renato Soibermann Procianoy

Dissertação de Mestrado apresentada no
Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Ciências Médicas para obtenção do título
de Mestre em Medicina

Porto Alegre / Passo Fundo

2003

M939n Mozzatto, Liége

Prevalência de toxoplasmose congênita no norte do estado: um estudo prospectivo em Passo Fundo / Liége Mozzatto ; orient. Renato Soibermann Procianoy. – 2003.
156 f. : il. color.

Dissertação (mestrado interinstitucional) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto Alegre, BR-RS, 2003.

1. Toxoplasmose congênita : Epidemiologia 2. Passo Fundo 3. Rio Grande do Sul I. Procianoy, Renato Soibermann II. Título.

NLM: WC 725

Agradecimentos

Em especial, ao Prof. Dr. Renato Soibermann Procianoy,

Ao Prof. Dr. Mário Bernardes Wagner e demais professores do Programa de
Pós-graduação em Medicina: Ciências Médicas,

Ao Hospital São Vicente de Paulo, Sr. Ilário De David,

Ao laboratório Lavoisier-Labcenter,

Aos médicos residentes, Cristina Dornelles

Giovani Ferronato

Graziela Benazzi

Laíse Rottensusser

Márcia Laccho

Sílvia Santos

A enfermeira Cleusa Renner.

Dedicatória

Para Dalila, minha mãe,

Ao Pedro,

E toda família.

SUMÁRIO

<u>Agradecimentos</u>	<u>4</u>
<u>Dedicatória</u>	<u>5</u>
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	<u>8</u>
<u>LISTA DE TABELAS</u>	<u>9</u>
<u>1 INTRODUÇÃO</u>	<u>10</u>
<u>2 REVISÃO DA LITERATURA</u>	<u>12</u>
2.1 Histórico	12
2.2 Ciclo biológico	14
2.3 Formas de transmissão	17
2.4 Transmissão fetal	20
2.5 Prevalência de soropositividade e infecção pelo <i>Toxoplasma gondii</i> em gestantes	25
2.6 Toxoplasmose congênita	27
2.6.1 Epidemiologia.....	27
2.6.2 Efeitos da prevenção primária e do screening sistemático de gestantes de risco sobre a prevalência e severidade da infecção congênita pelo <i>Toxoplasma gondii</i> e de toxoplasmose congênita	30
2.6.3 Patogênese.....	32
2.6.4 Imunidade específica fetal	33
2.6.5 Patologia	35
2.6.6 Manifestações clínicas	38
2.6.7 Achados radiológicos, laboratoriais e no exame oftalmológico	47
2.6.8 Diagnóstico laboratorial específico	50
2.6.9 Diagnóstico diferencial	55
2.6.10 Tratamento e acompanhamento	56
2.6.11 Prognóstico	60
2.6.12 Prevenção	63
2.6.13 Justificativa da pesquisa	69
<u>3 OBJETIVOS</u>	<u>71</u>

3.1	Objetivo Geral	71
3.2	Objetivos específicos	71
4	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DA LITERATURA</u>	<u>72</u>
5	<u>ARTIGO EM INGLÊS</u>	<u>81</u>
6	<u>ARTIGO EM PORTUGUÊS</u>	<u>99</u>
6	<u>ANEXOS</u>	<u>120</u>
7	<u>CONSIDERAÇÕES FINAIS</u>	<u>147</u>
8	<u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DAS CONSIDERAÇÕES FINAIS</u>	<u>150</u>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Ciclo de vida do <i>Toxoplasma gondii</i>	15
Figura 2:	Risco de infecção congênita conforme duração da gestação na soroconversão materna	22
Figura 3:	Risco de desenvolvimento de sinais clínicos (não necessariamente sintomático) antes dos 3 anos conforme a duração da gestação na soroconversão materna: a) na presença de infecção congênita; b) quando a infecção do feto não é conhecida	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número de fetos infectados de acordo com o período da infecção materna.....	23
Tabela 2 – Prevalência de anticorpos- <i>Toxoplasma gondii</i> em gestantes em diferentes localizações geográficas.....	26
Tabela 3 – Evolução dos sinais da toxoplasmose congênita entre 1949 e 1992.....	31
Tabela 4 – Padrão de severidade da doença de acordo com a época gestacional no momento da infecção materna.....	39
Tabela 5 – Sinais e sintomas que ocorrem antes do diagnóstico ou durante o curso da toxoplasmose congênita sem tratamento em 152 crianças.....	45
Tabela 6 – Avaliação no acompanhamento de bebês com toxoplasmose congênita.....	58
Tabela 7 – Sequelas encontradas, em 101 crianças, acompanhadas aos 4 anos ou com mais idade.....	63

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é causada por um parasita intracelular, o protozoário *Toxoplasma gondii*, e a sua importância decorre de uma infecção mundialmente difundida. Atualmente, estima-se que mais de dois bilhões de pessoas estão cronicamente infectadas pela doença em todo mundo. Considera-se, também, um importante patógeno para o feto e recém-nascido, podendo acometer o feto em qualquer período da gestação, principalmente quando a infecção materna ocorre no último trimestre. A maioria das crianças infectadas congenitamente (80-85%) apresenta a forma subclínica ao nascimento; contudo, uma pequena percentagem apresenta sinais ou sintomas, variando desde coriorretinite, doença generalizada, encefalite aguda ou morte fetal. Assim, a infecção pode passar despercebida até a infância ou adolescência quando poderão surgir lesões oculares e desordens neurológicas irreversíveis (1,2). O principal desfecho da toxoplasmose congênita é o aparecimento de defeitos congênitos como hidrocefalia, cegueira, retardo mental e surdez (1). Portanto, torna-se fundamental identificar e tratar os recém-nascidos infectados logo após o nascimento. Nessas circunstâncias, os métodos sorológicos passam a ser muito valorizados para o diagnóstico.

A prevenção da doença é essencial. Para isso, a medida mais efetiva é prevenir a doença aguda na gestação, evitando os fatores de risco para a infecção pelo *Toxoplasma*

gondii. A educação pela prevenção é capaz de reduzir a transmissão em torno de 60%. A segunda medida preventiva baseia-se na redução das sequelas da infecção congênita através do tratamento da infecção aguda da gestante, diagnosticada pelo screening sorológico. A terceira medida de prevenção é o tratamento de recém-nascidos infectados (1,2,3). A terapêutica anti-parasitária no recém-nascido reduz os riscos de sequelas e deve ser iniciada assim que a infecção for diagnosticada, mas o impacto do tratamento durante a gestação sobre a transmissão materno-fetal é ainda controverso (1). No estudo realizado por Wilson *et al.*, 92% das crianças não tratadas desenvolveram sequelas, sendo que a cegueira unilateral ocorreu em 27% dos casos (4).

Os estudos de prevalência, neste contexto, assumem relevância por fornecerem informações básicas que poderão ser desenvolvidas posteriormente em nosso meio.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Histórico

O *Toxoplasma gondii* foi descoberto em 1908 em dois países. Alfonso Splendore, no Brasil, o identificou em formas livres e intracelulares em diversos tecidos de coelhos doentes ou mortos “naturalmente” em laboratório de São Paulo. Simultaneamente, Nicolle e Manceaux, no Instituto Pasteur da Tunísia, descreveram um microorganismo similar ao descrito por Splendore, em células mononucleares do baço e fígado do roedor norte-africano *Ctenodactylus gondii*. O parasito foi por eles denominado *Leishmania gondii*, devido à semelhança com uma *Leishmania*. No ano seguinte, Nicolle e Manceaux, propuseram a denominação do gênero *Toxoplasma* (do grego toxon = arco) e a espécie *gondii* (1,2,5). A partir de sua descoberta, o *T. gondii* foi implicado em várias infecções animais, por Mello & Carini no cão (1911), por Carini no pombo (1913), por Sangiori no camundongo (1916), por Carini & Migliano na cobaia (1916) (6).

Em 1923, Janku, em Praga, fez a primeira descrição da doença em humanos, em uma criança de 11 meses de idade com hidrocefalia e microftalmia, com coloboma na região macular (1,2,5,7). No Brasil, em 1927, Margarino Torres descreveu-o como causa de meningoencefalite congênita, miocardite e miosite. Em ambos os casos, os microorganismos foram descritos como Encephalitozoon, um pequeno protozoário difícil

de distinguir do toxoplasma sem colorações especiais (8). O cisto do parasito mencionado por Janku e Torres foi posteriormente identificado como toxoplasma por Levaditti em 1928, que sugeriu a associação entre hidrocefalia congênita e toxoplasmose (1,2,5).

Em 1936, Richter descreveu um caso de meningoencefalite neonatal (2). Entretanto, a partir de 1937, a toxoplasmose passou a apresentar uma maior importância médica, em decorrência da publicação de Wolf e Cowen, ao relatarem um caso fatal de encefalite granulomatosa infantil, causada pelo toxoplasma (1,5,7). Posteriormente, os autores reconheceram e reclassificaram os casos descritos por Torres em 1927 e por Richter, em 1936, como os relatos de casos congênitos mais precocemente descritos (1).

No ano de 1939, Wolf, Cowen & Paige realizaram a primeira transmissão experimental de toxoplasmose humana para animais, tendo ainda demonstrado, pela primeira vez, um agente infeccioso produzindo doença intra-uterina (2).

A forma adquirida da parasitose foi inicialmente descrita por Pinkerton e Weinman em 1940, em um adulto jovem com doença generalizada e fatal (1,2,5,8). No ano seguinte, Pinkerton e Henderson descreveram dois casos fatais de uma doença exantemática febril em adultos (1,5,8) e, no mesmo ano, Sabin relatou casos de encefalite toxoplasmática em crianças (9).

A relação entre toxoplasmose e retinocoroidite foi sugerida por Johnson *et al.*, em 1946, os quais identificaram a presença de anticorpos neutralizantes para o parasita em 62,5% de 32 indivíduos com uveítes (1).

No ano de 1948, Sabin e Feldman criaram o teste do corante (dye test), que permitiu maior facilidade diagnóstica e maior possibilidade de investigação epidemiológica (5,7,9). A seguir, surgiram várias outras reações, das quais as mais frequentemente empregadas são as de hemaglutinação (Jacobs & Lunde, 1957),

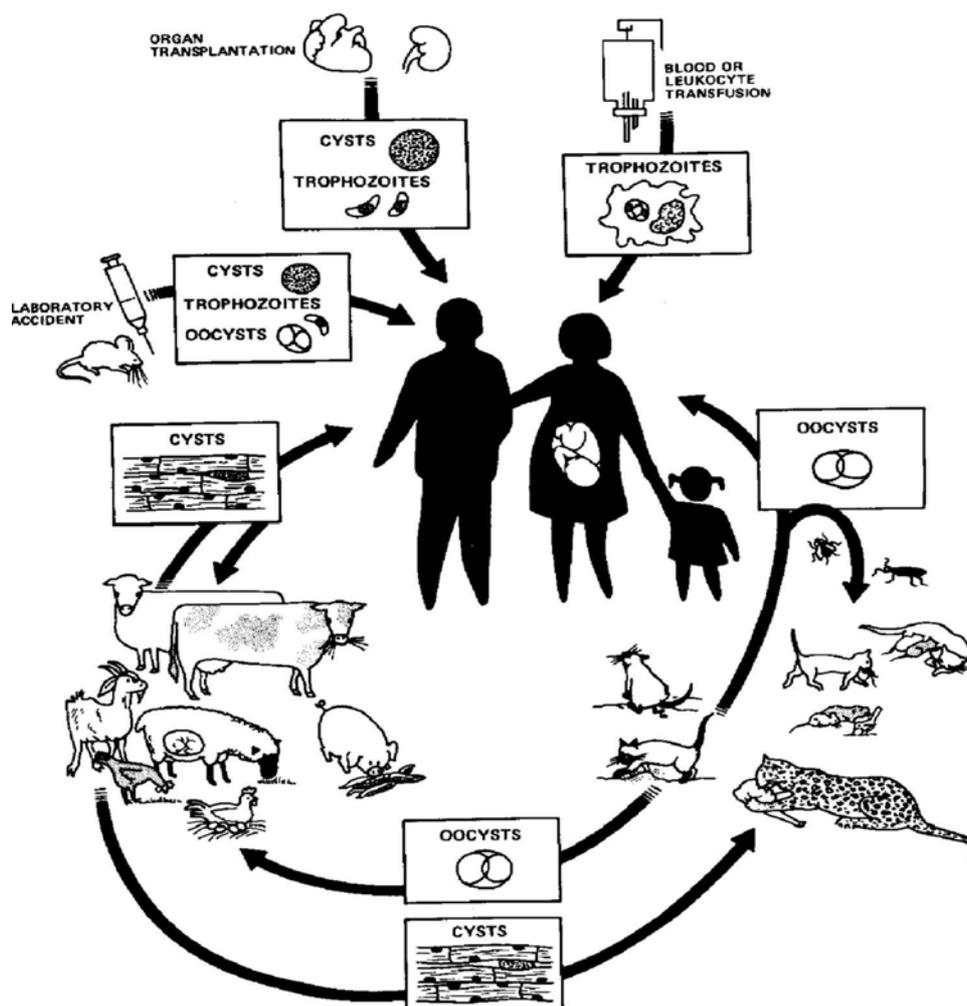
imunofluorescência indireta (Kelen *et al.*, 1962) e fixação de complemento (Nicolau & Ravelo, 1937; Waren & Sabin, 1942) (6).

Frenkel também sugeriu, posteriormente, que a coriorretinite pudesse ser causada pelo toxoplasma. Wilder, em 1952, confirmou essa associação (1,9). Gustafson *et al.*, em 1954, por intermédio da microscopia eletrônica, demonstraram a ultra-estrutura do *Toxoplasma gondii* (10). No mesmo ano, Weinman & Chandler sugeriram que a transmissão ocorria pela ingestão de carnes mal cozidas, o que foi confirmado por Jacobs *et al.*, que mostraram a resistência dos cistos teciduais às enzimas proteolíticas dos sucos digestivos (6). Essa forma de transmissão também foi confirmada por Desmonts *et al.*, em 1965 (6).

A partir de 1970, o ciclo biológico completo do *Toxoplasma gondii* foi descrito. Frenkel, Dubey & Miller classificaram o parasita entre os coccídios e descobriram que o gato doméstico e outros felinos eram os únicos hospedeiros definitivos, e como hospedeiros intermediários, os mamíferos, aves, roedores e répteis (1,2). Definiu-se, então, todo o espectro de síndromes clínicas causadas pelo parasita, bem como abordagens mais racionais para a terapia antimicrobiana nas diferentes situações clínicas.

2.2 Ciclo biológico

O *Toxoplasma gondii* é encontrado sob três formas: a proliferativa, que é o trofozoíto (recentemente denominado taquizoíto ou endozoíto); a latente de cistos teciduais (denominada de cistozoíto ou bradizoíto); e a denominada de oocisto, responsável pela produção de esporozoítos (1,2). O ciclo de vida deste protozoário, conforme descrito abaixo, está representado na figura 1.



Fonte: Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 5th ed. Philadelphia:WB Saunders; 2001. p. 205-346.

Figura 1: Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*

Os gatos se tornam infectados pelo *T. gondii* ao ingerirem cistos teciduais ou oocistos, através dos quais organismos viáveis são liberados e invadem as células enteroepiteliais do intestino delgado, onde se desenvolve um ciclo assexuado, seguido de ciclo sexuado que resulta na formação de oocistos que são, então, excretados (1,11). Os gatos são os únicos hospedeiros que podem excretar oocistos resistentes no meio ambiente (11). Os oocistos não esporulados, após 1 a 21 dias da excreção se tornam

esporulados (forma infecciosa). Embora os gatos eliminem oocistos por somente 1 a 2 semanas, a quantidade de oocistos é numerosa. Além disso, os oocistos podem sobreviver no ambiente por 12 a 18 meses e são resistentes aos desinfetantes, ao congelamento e ambientes secos. São mortos através do aquecimento a 70° C por 10 minutos (1,2,5,11).

Os taquizoítos constituem a forma invasiva responsável pelas manifestações da infecção aguda. Nessa fase, ocorre parasitema, sendo possível encontrar taquizoítos no sangue, linfa, exsudatos e secreções de animais e do homem (2). Tal forma do organismo é empregada nos testes sorológicos (Sabin-Feldman *dye test*, métodos de anticorpos fluorescentes e testes de aglutinação). A forma taquizoíta requer um habitat intracelular para sobreviver e se multiplicar. Não sobrevive ao congelamento, descongelamento, dessecação e ao suco gástrico. O organismo é multiplicado em laboratório no peritônio de ratos, em culturas teciduais de mamíferos e em ovos de galinha embrionados. Através do processo de endodiogênese se formam as rosetas e, finalmente, os cistos (1).

Quando o hospedeiro desenvolve uma resposta imune, a infecção atinge estágio latente ou crônico, com cistos presentes em muitos tecidos, mais comumente, em músculo esquelético, miocárdio e cérebro; estes cistos podem permanecer durante toda a vida do hospedeiro (1,2,11).

Entre alimentos de origem animal, o *T. gondii* é encontrado encistado em tecidos de porcos, ovelhas e cabras mais frequentemente do que em tecidos de outros animais domésticos. *T. gondii* viável é raramente encontrado em carne de vaca. Até o momento, a importância da carne de vaca na epidemiologia da infecção pelo *T. gondii* é incerta. Por outro lado, é altamente prevalente em ovelhas e cabras adultas. Embora a prevalência do parasita em cordeiros não seja conhecida, *T. gondii* viável foi encontrado em muitos tecidos comestíveis de cordeiros infectados congenitamente. Pesquisas sorológicas e

parasitológicas nos EUA e outros países indicam alta prevalência (23%) do parasita em porcos abatidos entre 1983 e 1984 (12).

Congelamento, descongelamento, dessecação, aquecimento a 66° C ou temperatura de - 12° C destroem esta forma de cisto tecidual. Entretanto, o organismo pode sobreviver 2 meses a 4° C. Até que mais dados estejam disponíveis, parece que o congelamento a - 20° C por 18 a 24 horas, seguido por descongelamento, é suficiente para destruição dos cistos (1).

2.3 Formas de transmissão

A infecção em seres humanos pode ser adquirida de vários modos: ingestão de cistos de toxoplasma encontrados em carne crua ou malcozida, especialmente do porco e do carneiro; ingestão de oocistos através de mãos (mal lavadas após contato com carnes cruas, na preparação dos alimentos) ou alimentos (frutas e vegetais) contaminados com fezes do gato, acometendo crianças que brincam em tanques de areia ou jardins, onde os gatos costumam defecar; transplante de órgãos ou transfusão sanguínea, inoculação acidental de taquizoítos, saliva, contato sexual e a transmissão transplacentária (1,11). A ingestão de leite não pasteurizado, contendo taquizoítos, e ovo cru, também são formas de transmissão (1).

A água parece ser fator importante na transmissão da doença. Duas epidemias, a primeira no Canadá, em 1995, e a segunda, em 2001, em Santa Isabel do Ivaí/Paraná, foram ocasionadas provavelmente pela contaminação de oocistos na água ingerida pela população (13).

Na dependência dos hábitos alimentares da população e do grau de contaminação do solo pelas fezes do gato, poderá predominar a transmissão por cistos ou oocistos. Em

uma dada comunidade, os abundantes oocistos do chão são aptos a causar maior prevalência da infecção em grupos etários mais jovens, enquanto na outra a conversão sorológica é viável, com maior frequência, na idade adulta, como decorrência do hábito de ingerir carnes cruas ou mal cozidas (1,11,13). Nos adultos, o período de incubação varia de 10 a 23 dias a partir de ingestão de carne crua ou malcozida e 5 a 20 dias da ingestão de oocistos das fezes do gato (1). A disseminação dos oocistos pode ser feita também por moscas, baratas e minhocas, e a transmissão pode ocorrer pela ingestão ou inalação do oocisto (13).

Jones JL *et al.* testaram os participantes do 3º Estudo Nacional de Saúde e Nutrição dos EUA para IgG anti-*Toxoplasma gondii*. Na análise multivariada, o risco de infecção pelo parasita apresentou-se maior nas pessoas com o aumento da idade; com baixo nível educacional, nas residentes em aglomerações e naquelas que trabalham em contato com o solo, embora na análise das categorias de risco tenha ocorrido variação por raça e etnia (14). Outro estudo concluiu que metade dos casos de toxoplasmose nos Estados Unidos são causados pelo consumo de carne contaminada (1). Carne fresca e linguiça de porco são provavelmente a principal fonte do parasita em muitos países, seguida da carne de cabra, ovelha e até de galinha (13).

Os fatores de risco de infecção em gestantes, com transmissão ao feto, foram estudados por alguns autores. Em um estudo multicêntrico europeu, Cook *et al.* determinaram que o principal fator de risco para a infecção em gestantes foi o consumo de carne crua ou inadequadamente cozida, contribuindo com 30 a 63% dos casos, e 6 a 17% das infecções foram atribuídas ao solo contaminado. Outros fatores que também mostraram risco aumentado de infecção foram consumo de leite não pasteurizado e derivados e produtos conservados de carne de porco. Os autores não encontraram associação significativa entre infecção aguda materna e contato com gatos (15).

Entretanto, a limpeza da caixa dos gatos foi um significativo fator de risco entre as mulheres no estudo da Noruega (16).

Possuir gatos não tem sido um consistente fator de risco para infecção pelo *T. gondii*, como citam alguns autores. O risco é maior quando ocorre exposição às fezes do gato no período em que eles estão eliminando oocistos. Essa liberação somente acontece quando o gato adquire a infecção pelo *T. gondii*. Quando estes animais são mantidos confinados, não caçam para se alimentar ou não ingerem carne crua, a probabilidade de infecção diminui e, conseqüentemente, representam pequeno risco. Assim, a possibilidade de transmissão da infecção aos seres humanos através do ato de tocar nos gatos é mínima ou inexistente (17).

Entretanto, Kapperud *et al.*, na Noruega, observaram que os casos de infecção pelo toxoplasma na gestação tiveram contato mais seguido com gatos do que os controles (OR=3,6), e aqueles que, menos frequentemente, lavavam a faca de cozinha, tiveram risco de infecção 5 vezes maior. Os casos apresentaram tendência a gostar mais de carne pouco cozida (OR=3,5), mas a análise de regressão logística não mostrou ser significativa (16).

Conforme conclusão de Cook *et al.*, os resultados do estudo sobre fatores de risco para infecção em gestantes não podem ser generalizados para países com diferentes climas e hábitos culinários. Recomendam, por isso, estudos de caso-controle para identificar os principais fatores de risco, em diferentes populações, com a finalidade de priorizar orientações às gestantes para prevenir infecção aguda (15).

Fatores protetores para toxoplasmose incluem dieta livre de carnes, morar em altas altitudes e climas áridos e, também, em climas com frequente congelamento e degelo (17).

2.4 Transmissão fetal

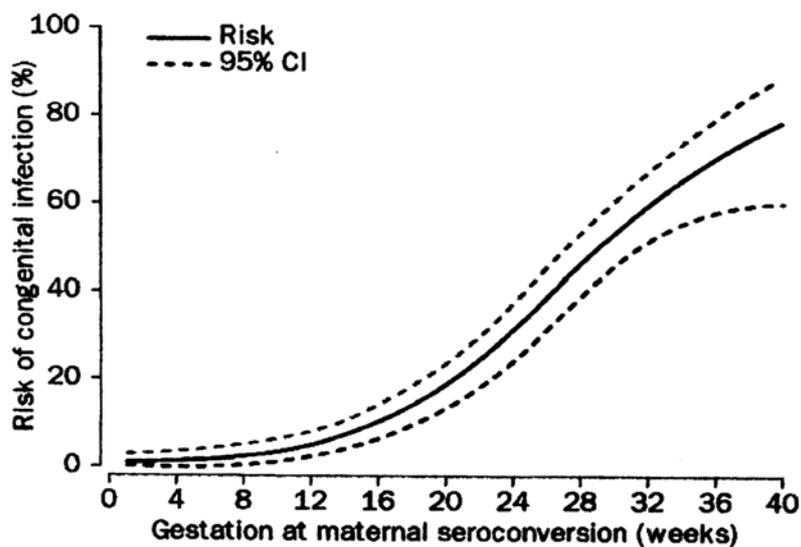
O risco global de infecção fetal a partir de infecção aguda materna pelo *T. gondii* é de 20 a 50% (17). A taxa de transmissão fetal depende de três fatores fundamentais – parasitemia materna, idade gestacional no momento da infecção e tratamento materno. Esses tópicos são pormenorizados a seguir.

1. Parasitemia materna: o toxoplasma pode determinar infecção fetal através da passagem transplacentária quando a mãe adquire infecção durante a gestação (principalmente) ou, raramente, logo antes da concepção. A reativação de uma infecção latente ou crônica pelo toxoplasma durante a gravidez pode causar infecção fetal, em gestantes com imunocomprometimento severo: como as pacientes portadoras da síndrome da imunodeficiência adquirida com contagem de CD4 < 50 cél/mm³ e as que recebem corticóides prolongadamente (1,18,19,20). A reinfecção materna, ocasionando toxoplasmose congênita, também tem sido relatada (18). Gavinet *et al.* descreveram um caso de coriorretinite em um lactente de 9 meses de idade cuja mãe era imune, mas reinfectou-se através do contato com gatos durante a gestação (21). Silveira, descreveu um caso de reinfecção ou reativação em uma mulher que apresentou toxoplasmose ocular e, após 20 anos, depois de duas gestações com filhos normais, teve o terceiro filho com toxoplasmose congênita (13).

A infecção do feto ocorre durante parasitemia materna com conseqüente infecção da placenta pelos taquizoítos, os quais invadem e se multiplicam dentro de suas células e, eventualmente, tem acesso à circulação fetal. A parasitemia materna ocorre num estágio inicial da infecção, antes de surgirem os sinais clínicos (se isto ocorrer) e os anticorpos. Esse processo pode durar menos do que 4 até mais de 16 semanas e é chamado de período de incubação pré-natal (1,18).

2. Idade gestacional no momento da infecção: o estágio da gestação na qual a infecção materna é adquirida torna-se importante para determinar a frequência de transmissão ao feto e a tendência de infecção congênita (3). Quanto mais precoce a infecção na gestação, menor o índice de acometimento fetal. A taxa de transmissão é muito baixa até a 10^a semana, 0-2%, mas, a partir disso, se eleva progressivamente. O risco aumenta de 25% no primeiro trimestre, 54% no segundo semestre e, para 65%, no terceiro trimestre (1,18,19). É desconhecido o exato mecanismo da influência da idade gestacional sobre a probabilidade de infecção fetal, entretanto, provavelmente, seja devido à maturação e expressão dos receptores de superfície no sincitiotrofoblasto ou citotrofoblasto. Isso influencia a habilidade do parasita em causar infecção placentária e, subsequentemente, a transmissão fetal.

No estudo desenvolvido por Dunn *et al.*, na França, entre 1987 e 1995, a taxa de transmissão materno-fetal foi de 29% (IC95% 25-33%). O risco de infecção congênita foi baixo no início da gravidez, somente 6% (IC95% 3-9%) na 13^a semana de gestação. Com a evolução da gestação, o risco aumentou acentuadamente 40% (IC95% 33-47%), na 26^a semana e 72% (IC95% 60-81%), na 36^a semana de gestação (20). Esses achados podem ser observados na figura 2.



Fonte: Dunn: Lancet, vol 353(9167). May 29, 1999; 1829-1833.

Figura 2: Risco de infecção congênita conforme duração da gestação na soroconversão materna

Daffos *et al.*, na França, em 1988, encontraram 0,6% de taxa de transmissão fetal no período periconcepcional; 3,7% se a infecção materna ocorreu antes de 16 semanas de gestação; e taxa de 20% quando a infecção materna ocorreu entre 16 e 25 semanas de gestação (1).

Hohlfeld *et al.*, em 1989, verificaram que a taxa de transmissão vertical ocorreu em 7% dos recém-nascidos cujas mães tiveram infecção aguda na gestação. Mostraram que o número de fetos infectados foi maior no terceiro trimestre da gestação (22). Esses resultados estão sumarizados na tabela 1.

Tabela 1 – Número de fetos infectados de acordo com o período da infecção materna

Infecção materna	Fetos infectados/examinados	
	n	%
Periconcepcional	3/250	1,2
6 – 16 semanas	36/787	4,5
17 – 20 semanas	26/150	17,3
21 – 35 semanas	24/83	28,9

Em 1999, Foulon *et al.* descreveram uma taxa de infecção fetal variando de 0% (<5 semanas de gestação) e 93% (entre 31 – 35 semanas de gestação), com 44% de infecção congênita entre 144 gestantes estudadas com soroconversão (23).

Se, por um lado, a frequência de contaminação aumenta com a progressão da gestação, por outro, a gravidade da doença é inversamente proporcional à idade gestacional (19). Essa particularidade é discutida posteriormente.

3. Impacto do tratamento materno: o tratamento da infecção aguda durante a gestação tem sido empregado com o objetivo de reduzir a incidência e a severidade da infecção congênita. Os principais agentes terapêuticos utilizados no tratamento da toxoplasmose aguda em gestantes, com comprometimento fetal, são a pirimetamina e a sulfadiazina usadas em associação devido seu efeito sinérgico. Pelo potencial teratogênico, a pirimetamina não deve ser administrada nas primeiras 12 a 14 semanas de gestação (1). Devido a menor toxicidade, a espiramicina tem sido usada no tratamento da gestante, entretanto, pode causar reações gastrintestinais e dermatológicas (2). A pirimetamina é antagonista do ácido fólico, o qual é associado com defeitos do tubo neural e, também, com malformações renais e cardíacas nos recém-nascidos (1). Além disso, a pirimetamina e a sulfadiazina podem causar supressão da medula óssea (1).

Inicialmente, Desmonts & Crouvler descreveram que o uso da espiramicina na gestação reduziu de 56% para 24% a taxa de transmissão fetal (1,2). O estudo de Hohlfeld *et al.* também forneceu evidência indireta de que o uso de espiramicina na gestante diminuiu a transmissão fetal, e o tratamento adicional com sulfadiazina e pirimetamina reduziu a severidade do acometimento fetal (22).

As revisões mostram que, apesar do grande número de estudos realizados nas últimas três décadas, ainda não há evidências inequívocas de que o tratamento em gestantes com toxoplasmose presumível reduza a transmissão vertical do *Toxoplasma gondii*. Foulon *et al.* demonstraram que a administração de antibióticos ou o período de tempo entre a doença e o início da terapia não influenciaram a transmissão materno-fetal do parasita ($P=0,7$ e $0,3$, respectivamente). A análise multivariada mostrou que o tratamento é fator preditivo para a ausência de desenvolvimento de sequelas na criança ($P=0,026$, $OR= 0,30$, $IC\ 95\% 0,104 - 0,86$) e, particularmente, para a severidade destas ($P=0,007$, $OR=0,14$, $IC\ 95\% 0,036 - 0,584$). Quanto mais precoce o início da antibioticoterapia após a infecção, menor a ocorrência de sequelas no neonato ($P=0,021$) (23). Gilbert RE *et al.* compararam o intervalo de tempo entre a soroconversão materna e o início da terapia sobre a transmissão materno-fetal do toxoplasma. Terapia iniciada em 4-7 semanas e após mais que 8 semanas da soroconversão apresentou $OR =1,29$ ($IC95\% 0,61-2,73$) e $OR =1,44$ ($IC95\% 0,6-3,31$), respectivamente. Os autores julgam que a ausência de efeito do tratamento pré-natal é devido à transmissão fetal ocorrer antes do seu início (24).

Em outro estudo, foi comparado o risco de transmissão vertical do *Toxoplasma gondii* e o aparecimento de manifestações clínicas da toxoplasmose congênita, de acordo com diferentes protocolos de tratamento utilizados na gestante: somente espiramicina até 16 semanas de gestação ou sulfadiazina e pirimetamina alternadas mensalmente com espiramicina; espiramicina e sulfadiazina por 3 semanas, repetidas 2

semanas após e nenhum tratamento. O risco relativo encontrado foi, respectivamente, 1,24 (IC95% 0,88-1,59), 0,65 (IC95% 0,37-1,01) e 0,59 (IC95% 0,41-0,81). Os autores não comprovaram que o tratamento pré-natal intensivo reduza o risco de transmissão materno-fetal do *Toxoplasma gondii* ou as manifestações clínicas da doença congênita (25).

Alguns autores acreditam que, uma vez detectada a infecção na gestante, geralmente, já houve transmissão para o feto, e o tratamento é tardio para prevenir infecção fetal (26,27). O tratamento da gestante traria benefícios na prevenção do desenvolvimento de sequelas graves no neonato, e o efeito seria melhor quanto mais precocemente fosse instituído (26,27).

Por outro lado, a concentração de espiramicina e neoespiramicina foi medida em sangue materno e líquido amniótico de 18 gestantes com diagnóstico de infecção fetal pelo toxoplasma, através da PCR em líquido amniótico. As concentrações encontradas (0-1mg/ml) foram menores que a necessária para inibir o crescimento do parasita in vitro. Considerando os parâmetros farmacocinéticos e a aderência ao tratamento, os autores sugerem um estudo controlado para avaliar a atividade da espiramicina sobre o *Toxoplasma gondii* (28).

2.5 Prevalência de soropositividade e infecção pelo *Toxoplasma gondii* em gestantes

A estimativa da prevalência de anticorpos na gestante é importante porque o risco de toxoplasmose durante a gestação depende da prevalência de infecção passada (alta prevalência supõe alto grau de infectividade) e da incidência de infecção em mulheres soronegativas (susceptíveis). Consequentemente, tanto a frequência de toxoplasmose adquirida na gestação como a prevalência de toxoplasmose congênita nas diferentes

populações do mundo, variam conforme fatores sociais e econômicos, hábitos alimentares e aspectos étnicos, tipo de cepa do parasita e variações climáticas (1). A prevalência de anticorpos anti-toxoplasma em gestantes também varia conforme a idade. A prevalência é maior nas áreas tropicais, relativamente baixa nas áreas quentes e áridas e nas regiões frias, como a Islândia (13).

A tabela 2 demonstra a frequência de anticorpos-toxoplasma em gestantes.

Tabela 2 - Prevalência de anticorpos-*Toxoplasma gondii* em gestantes em diferentes localizações geográficas

	Cidade ou País	%
Petersson (29)	Estocolmo (Suécia)	14
	Skane (Suécia)	25,7
Remington (1)	França	54
	Paris	65
	Los Angeles (USA)	30
	Chicago (USA)	12
	Viena (Áustria)	36,7
Foulon (3)	Bélgica	56
Varella (30)	Porto Alegre	65
Vaz (31)	São Paulo	32,4
Meirelles (32)	Rio de Janeiro	77,1
Nóbrega (33)	Recife	69,4

A incidência de toxoplasmose durante a gestação foi estimada numa faixa de 3 a 6 casos por 1000 nativos nos países de “alto risco” e de 1 a 2 casos por 1000 nativos nos países de “baixo risco” (34).

Nos Estados Unidos, a frequência estimada de presumível toxoplasmose durante a gestação, ajustada a um período de 9 meses de observação foi de 1,1 caso por 1000 na

população (4,34). No Canadá, a taxa de infecção por *Toxoplasma gondii* durante a gravidez é de 2 a 8/1000 gestantes (34).

Lebech *et al.* conduziram um estudo na Dinamarca, entre 1992 e 1996, determinando uma taxa de infecção primária na gestação de 2,1/1000 gestantes (IC 95% 1,8-2,5) (35).

No Hospital Universitário de Pernambuco, entre 1996 e 1998, de um total de 1309 gestantes atendidas no ambulatório de obstetrícia, ocorreu primoinfecção pelo *T. gondii* em 2,4% delas (IC 95% 1,6% - 3,2%) (33).

2.6 Toxoplasmose congênita

2.6.1 Epidemiologia

Vários estudos estimaram a prevalência da doença, mas com diferentes desenhos epidemiológicos e métodos diagnósticos. Além disso, a frequência da doença mudou no decorrer dos anos, já que algumas pesquisas demonstram prevalências diferentes nos mesmos locais em épocas distintas. Acredita-se que a verdadeira incidência de toxoplasmose congênita seja desconhecida, pois os números relatados subestimam a sua ocorrência. De uma maneira geral, a prevalência varia entre 0 a 100 por 10.000 nascimentos dependendo da população estudada (36). Freij e Sever descrevem uma prevalência por 10.000 nascimentos de: 7, em Nova York; 1,2, em Birmingham (USA); 20, na Cidade do México; 53, na Alemanha; 86, na Áustria e 20, em Melbourne (Austrália) (36).

Uma das primeiras pesquisas, determinando os níveis de IgM no cordão umbilical, foi realizada na Universidade de Alabama. Esse estudo demonstrou uma prevalência de

infecção congênita pelo *T. gondii* de 20 por 10.000, no primeiro ano de estudo e 6 por 10.000, no último ano. Embora diferentes métodos tenham sido usados em estudo posterior, pelo mesmo grupo, a frequência observada foi de 1 por 10.000 nascimentos (1).

Para definir a prevalência da doença em crianças na região de Paris, foi realizado um estudo cooperativo com o Centro de Bilans de Santé de la Caisse Primaire d'Assurance de Paris, entre 1970 e 1980. A prevalência da doença estimada pela reação de Sabin-Feldman foi de 19 a 32 por 10.000 nascimentos (37). Outro estudo realizado em Paris estimou a frequência da doença em 30 casos por 10.000 nascimentos (36).

Uma incidência aproximada de 1 por 10.000 nascimentos foi encontrada em recém-nascidos infectados identificados através de um Programa de Pesquisa Neonatal em Massachusetts (1986) e New Hampshire (1988) durante um período de 6,5 anos. Amostras de sangue em papel filtro foram testadas para IgM-ELISA (enzyme linked immunosorbent assay); os exames positivos foram retestados através de nova coleta sanguínea, além do exame das mães (38).

Na Polônia, entre 1998 e 2000, a incidência de toxoplasmose congênita foi de aproximadamente 10 em 10.000 nascimentos vivos, utilizando screening em papel filtro pelos métodos ELISA e Western blot (39).

Na Suíça, 30.000 amostras de sangue do cordão umbilical foram coletadas entre 1986 e 1994 e testadas pelo método EIA (commercial enzyme immunoassay). A frequência da doença diminuiu no decorrer do estudo de 7,3 a 3,3 por 10.000 nascimentos (40).

A frequência de toxoplasmose congênita estimada na Suécia foi baixa. Identificou-se 3 recém-nascidos infectados em 40.978 testados pelo FEIA (fluorometric enzyme

immunoassay) e ISAGA (immunosorbent agglutination assay), demonstrando uma prevalência ao nascimento de 0,73/10.000 (IC95% 0,15-2,14) (41).

Lebech *et al.*, conduziram estudo na Dinamarca, entre junho de 1992 e agosto de 1996, em que a prevalência de infecção congênita ao nascimento foi de 4,2/10.000 nascimentos (IC95% 0,27 – 0,61). Foram testados 21.144 recém-nascidos através do EIA (35).

Em São Paulo, Castilho fez uma estimativa da incidência de toxoplasmose congênita, a partir da prevalência da infecção em mulheres entre 15 e 44 anos e o número de nascimentos vivos, encontrando 16 casos para 1000 nascimentos vivos (42).

Coutinho e colaboradores, no Rio de Janeiro, testaram 1032 recém-nascidos selecionados randomicamente de um total de 1131 nascimentos. Encontraram 15 recém-nascidos (14/1000) com IgM positiva pelo teste de imunofluorescência indireta, sendo considerados com risco potencial de infecção congênita. Desses, 4 apresentaram cistos do *Toxoplasma gondii* no estudo da placenta (43). Entre 1999 e 2000, a prevalência da doença em Campos dos Goytacazes (RJ), foi de 20 casos em 10.000 nascimentos vivos. Os autores testaram 2550 neonatos pelo método FEIA (44).

Um programa de screening neonatal para detectar anticorpos IgM anti-Toxoplasma gondii foi introduzido em Porto Alegre pelo Centro de Triagem Neonatal e Laboratório Nobel RIE, sendo testado entre 1995 e 1996, pelo método enzyme immunoassay. O resultado de 33.625 amostras de sangue em papel filtro de recém-nascidos demonstrou uma prevalência aproximada de 2 casos em 10.000 nascimentos vivos no Rio Grande do Sul (45). Baseados nesses resultados preliminares, esse estudo foi estendido e descrito a experiência de três anos. Foram coletadas 140.914 amostras de sangue em papel filtro e utilizados os métodos enzyme immunoassay (EIA) e fluorometric enzyme immunoassay

(FEIA). Os achados seguintes demonstraram uma prevalência no país de 3/10.000 nascimentos vivos (46).

Tese de mestrado desenvolvida na Universidade de São Paulo para estabelecer o perfil sorológico entre gestantes de hospital universitário, encontrou uma incidência de toxoplasmose congênita de 20 casos em 10.000 nascidos-vivos, pelo ISAGA (47).

Nos recém-nascidos de mães com primoinfecção pelo *T. gondii* durante a gestação (2,4%), atendidas no ambulatório de obstetrícia do Hospital Universitário de Pernambuco, a frequência de toxoplasmose congênita foi de 12,5% (IC95% 3,5% - 29,0%) (33).

Das 283 amostras de sangue de cordão umbilical testadas por Silveira, em Erechim, 2 amostras foram positivas nos três testes para IgM (captura de IgM, IgM-Abbot e IgM- Platelia) e 6 amostras positivas no teste de IgA. Das 6 amostras positivas para IgA, duas tinham apresentado resultado positivo nos três testes de IgM. Nesse trabalho, a prevalência de toxoplasmose congênita foi de 2,1% (13).

2.6.2 Efeitos da prevenção primária e do screening sistemático de gestantes de risco sobre a prevalência e severidade da infecção congênita pelo *Toxoplasma gondii* e de toxoplasmose congênita

As gestantes soronegativas devem receber informações para prevenir a toxoplasmose durante a gravidez. Essa prevenção primária inclui medidas de higiene como, ingerir somente carne bem cozida e leite pasteurizado, evitar contato com fezes de gato, assim como tocar os olhos ou a boca após manipular carne crua .

Na França, infecção adquirida pelo *T. gondii* durante a gestação, é 3 vezes menos frequente, após a instituição das medidas de prevenção primária fornecidas às gestantes (1).

Num estudo prospectivo realizado entre 1979 a 1990 em Bruxelas, Bélgica, Foulon *et al.* observaram que as medidas de prevenção primária reduziram a proporção de soroconversão durante a gestação em 63% (de 1,43% quando não era proporcionada nenhuma recomendação específica, para 0,53%, quando recomendações por escrito eram dadas às mulheres soronegativas antes da gravidez ou na 1ª consulta pré-natal). A partir desse estudo, foi marcante o impacto que a prevenção primária teve sobre a prevalência de toxoplasmose congênita (3).

Na Áustria, após implementação do programa nacional de screening, a taxa de soropositividade entre gestantes declinou de 50% no final de 1970, para 36,7%, no início de 1990. A incidência de infecção congênita diminuiu de 50 a 70 casos/10.000 nascimentos, antes do programa, para 1/10.000 nascimentos no início de 1990 (17,48).

Couvrer descreve a mudança na apresentação clínica da doença nos últimos 40 anos, nos quais a maioria dos casos severos eram encontrados na época em que o screening pré-natal não era realizado como rotina (49). O motivo da consulta inicial em clínicas especializadas, em 3 períodos diferentes, é demonstrado na tabela 3.

Tabela 3 – Evolução dos sinais da toxoplasmose congênita entre 1949 e 1992

Número de casos estudados	1949-1960 *		1972-1981 **		1984-1992 ***	
	n	%	n	%	n	%
Hidrocefalia ou microcefalia	66	44,8	19	9	5	2,5
Sinais neurológicos	92	62,5	30	14,2	7	2,9
Formas patentes sem sinais neurológicos	55	37,5	69	32,8	60	25,6
Formas infraclínicas	0	0	111	52,8	166	70,9

* Diagnóstico através de sinais clínicos sugestivos

** Diagnóstico a partir da história de infecção materna na gravidez

*** Diagnóstico intra-útero

2.6.3 Patogênese

Análises da população genética revela três predominantes linhagens designadas espécies tipo I, II e III. A maioria dos casos de toxoplasmose congênita são devidas ao tipo II; 10 a 25% ao tipo I.

As vias de infecção para o feto mais prováveis são: transplacentária - mais comum - ocorrendo durante parasitemia materna (os taquizoítos se disseminam pela via hematogênica para as vilosidades coriais da placenta); rompimento de cistos no endométrio - apesar da gestante apresentar a doença na forma crônica, alguns cistos localizados no endométrio podem se romper, liberando os bradizoítos que acometem o sincitiotrofoblasto; e taquizoítos livres no líquido amniótico (11).

Quando se inicia a infecção pelo parasita, os macrófagos englobam os taquizoítos nos fagossomos, onde os parasitas devem se multiplicar. Após a sua replicação intracelular, ocorre ruptura da célula com liberação dos taquizoítos na corrente sanguínea fetal, atingindo todos os órgãos e tecidos. A penetração celular é facilitada por um fator sintetizado pelo próprio parasita, o PEF (penetration enhancing factor). Enquanto os neutrófilos e os monócitos destroem a grande maioria dos parasitas, os taquizoítos tem a característica de sobreviverem em macrófagos (2). A multiplicação é inibida quando ocorre a fusão entre fagossomos e lisossomos, e estes devem ser estimulados pelo IFN- γ (interferon- γ). Uma vez ativados, os macrófagos inibem ou matam o toxoplasma através da ruptura oxidativa ou por um mecanismo por L-arginina. Também existem evidências sugerindo que o fator de necrose tumoral α (TNF- α) deve agir em sinergismo com o IFN- γ para otimizar a ativação dos macrófagos (11). O mais importante mediador imune parece ser o IFN- γ , o qual tem habilidade para ativar macrófagos in vivo e in vitro para matar o parasita (11). O hábitat intracelular do parasita o protege da ação dos anticorpos específicos circulantes, que, na presença de complemento, tem a capacidade de lisar

apenas os parasitas extracelulares (2,9). Alternativamente, os bradizoítos e os cistos são produzidos, tornando-se inativos e protegidos das defesas do hospedeiro por mecanismos desconhecidos. Quando ocorre imunossupressão, a destruição tecidual reinicia.

A progressão do processo destrutivo pode ocorrer nos locais onde o pronto acesso dos anticorpos não é possível (olho e sistema nervoso central). Os astrócitos podem oferecer condições favoráveis para a multiplicação do *T. gondii*, além do que, a barreira hematoencefálica impede o fluxo de várias substâncias, como IFN- γ e anticorpos específicos (9). Contudo, a extensão das lesões depende da passagem transplacentária de anticorpos maternos, da virulência da cepa e do número de parasitas, da susceptibilidade genética do hospedeiro e do grau de maturidade imunológica fetal, revisada a seguir (1,7).

2.6.4 Imunidade específica fetal

Infecção fetal e um extenso dano no feto antes de 15 semanas de gestação é resultado do anormal auto-reconhecimento, pobre transporte de anticorpos maternos através da placenta e imaturo mecanismo de defesa fetal (50,51).

No final do 1º trimestre e começo do 2º, o sistema imunológico fetal está iniciando a sua própria identificação, que é predominantemente de responsabilidade do linfócito T. Esse período é crítico na prevenção da “autoimunidade”. Se o feto é acometido pelo *Toxoplasma gondii*, no 1º trimestre, ele pode reconhecer os antígenos do parasita como “próprios”, e isso compromete a resposta imune ao parasita. A infecção persiste num momento crítico na ontogenia, e a probabilidade de morte fetal ou o nascimento de um neonato sintomático são altos (51).

Na primeira metade da gestação, o feto não se beneficia da imunidade passiva da mãe, pois pouca ou nenhuma IgG materna cruza a placenta. Em torno de 17-20 semanas de gestação, IgG de origem materna aparece no sangue fetal em resposta à infecção fetal, mas os níveis permanecem baixos até 28-30 semanas. Após este período, o nível de IgG no sangue fetal aumenta rapidamente e, ao termo, é um pouco maior que o materno. Embora seja pouco conhecida a interação da IgG materna transferida passivamente e o desenvolvimento do sistema imune fetal (51), Freij *et al.* afirmam que pode suprimir uma resposta IgM específica do feto (50).

Informações sobre a ontogenia do sistema imune fetal é extrapolado de dados utilizando fetos doentes, infecções fetais após 24 semanas de gestação ou modelos animais. Nenhum destes modelos revela o desenvolvimento e a capacidade de resposta de um feto saudável. O processo de diferenciação de células B a partir de uma célula-tronco começa no fígado fetal por volta da 8ª semana de gestação e na medula óssea ao redor da 13ª semana, com o aparecimento de células pré-B. Células B, expressando IgM, IgG e IgA em superfície, podem ser encontrados em torno da 10ª a 12ª semanas de gestação e, por volta da 22ª semana, a proporção de células B em baço, sangue periférico e medula óssea é similar à encontrada em adultos. Linfócitos B diferenciam-se em plasmócitos, células produtoras de imunoglobulinas. Plasmócitos produtores de IgM são encontrados em torno da 15ª semana de gestação, enquanto os produtores de IgG e IgA aparecem mais tardiamente, na 20ª e 30ª semanas, respectivamente, seguido pelo aparecimento posterior de IgD. A falência na produção de plasmócitos antes de 20 semanas ajuda a explicar a dificuldade do feto em eliminar sua infecção. E, apesar da presença de um número normal de células B ativas no feto, estas células combatem pobremente a infecção, principalmente pela imaturidade do sistema imune fetal (18,50,51). Após a estimulação antigênica, as células B iniciam o processo de produção de isotipos de imunoglobulinas (IgA, IgG, IgD) com a participação das células T.

Portanto, após 20-25 semanas gestacionais, o feto é capaz de armar resposta imunológica específica contra o parasita, apesar de ser ainda imatura, além de contar com a imunidade passiva humoral representada pela IgG materna (52). Segundo Newton, com 20-30 semanas de gestação, somente 25-50% dos fetos com infecção poderão instalar uma resposta IgM específica ao parasita (51).

Sabe-se pouco sobre a resposta celular (linfócitos T) à infecção fetal. Contudo, o prejuízo nas funções da imunidade celular inclui a citotoxicidade, produção de citocinas por tipo e quantidade, defeitos na imunoregulação e na participação das células T sensibilidade tipo atrasada. Na primeira metade da gestação há limitações no repertório de receptores alfa-beta de células-T (19,51). Uma resposta normal pode não estar presente no nascimento, retardando até 6 meses após o nascimento, ou seja, após a infecção pelo parasita, a aquisição de resposta específica ao antígeno dependente das células T é significativamente atrasada (51). Entretanto, a proporção de células T CD4:CD8 é alta na vida fetal (19).

2.6.5 Patologia

As principais lesões, ocasionadas pelo *T. gondii*, são as do sistema nervoso central e oculares. A importância clínica das lesões, nesses locais, é aumentada pela falta de habilidade desses tecidos em regenerar-se quando comparados aos demais (1). Entretanto, o toxoplasma pode ser encontrado em vários órgãos, como coração, pulmões, músculo estriado, rins, supra-renais, pâncreas, tireóide, testículos, ovários e ouvido.

No SNC, observa-se quadro de meningoencefalite, caracterizado por reações inflamatórias, áreas de necrose, calcificações e formação de cistos. Os locais mais envolvidos são a córtex, a substância branca subcortical, os núcleos caudado e lenticular,

região média do cérebro, ponte e medula. O processo é muito intenso em torno das arteríolas, vênulas e capilares, geralmente encontrando-se toxoplasmas nos referidos locais. Pode ocorrer completa obliteração dos sulcos e giros, e a linha de demarcação entre pia-aracnóide e massa cerebral tende a desaparecer. A vasculite em torno do aqueduto de Sylvius e dos ventrículos é notória, ocorrendo somente na toxoplasmose. Grandes áreas de necrose podem levar ao desprendimento de tecido periventricular, causando obstrução do aqueduto ou do forame de Monro. Essa obstrução origina a hidrocefalia e o tecido cerebral necrosado pode calcificar-se, tornando-se visível aos raios X. O nível de proteína no líquido ventricular é alto (gramas por decilitro) e contém grandes quantidades de antígeno do *T. gondii*. Além dos fenômenos obstrutivos, a destruição do tecido cerebral, especialmente devido à necrose periventricular, também pode causar hidrocefalia. O ventrículo lateral e o terceiro tornam-se semelhantes a um abscesso contendo células inflamatórias e acúmulos do parasita. O 4º ventrículo pode mostrar úlceras e nódulos endimários, mas não há vasculite e necrose devido à adequada drenagem de fluido através do forame de Luschka e Magendie (1,7).

No globo ocular, os achados histopatológicos dependem do estágio de desenvolvimento da lesão no momento do exame. As lesões primária e principal são encontradas na retina e coróide (coriorretinite, única ou múltiplas); alterações secundárias, como a iridociclite, vitrite e cataratas, que ocorrem em outras porções do olho, são consideradas como complicações da coriorretinite (1,7,11). Os microorganismos se alojam primeiro nos capilares da camada interna da retina, invadem o endotélio e estendem-se aos tecidos contíguos. Uma reação inflamatória local intensa se desenvolve, com edema e infiltração de linfócitos, plasmócitos, células mononucleares e, às vezes, eosinófilos. Nas zonas de intensa inflamação, todo tecido retiniano está destruído podendo descolar-se. Grandes lesões causam necrose e destruição, resultando em atrofia central da retina e coróide (1). A membrana de Bruch é frequentemente destruída e há proliferação do tecido conectivo para o espaço

subretiniano. É possível visualizar taquizoítos intracelulares e extracelulares e cistos teciduais na retina. O disco óptico pode mostrar papilite, às vezes, associada com neurite óptica e, outras, secundária à inflamação na retina adjacente ou ao papiledema causado pela hidrocefalia (1). Após resolução da infecção ativa, as cicatrizes caracterizam-se por uma área de gliose com borda hiperpigmentada, resultante da ruptura e da proliferação do epitélio retiniano pigmentado (7).

A presença do parasita na mastóide e no interior do ouvido, além do processo inflamatório, são responsáveis pela surdez. O envolvimento cerebral afetando o núcleo auditor também pode levar à incapacidade do processo auditor (1).

O septo alveolar pode estar alargado, edemaciado, com infiltrado de células mononucleares e raros eosinófilos. A parede dos pequenos vasos sanguíneos pulmonares tem infiltração de linfócitos e células mononucleares. Os parasitas podem ser encontrados nas células endoteliais e alveolares. Em muitos casos, há algum grau de broncopneumonia, frequentemente causada por outros agentes.

O *Toxoplasma gondii* é quase sempre encontrado no coração na forma de cistos nas fibras miocárdicas, juntamente com reações inflamatórias. Extensa calcificação do coração, envolvendo primariamente o ventrículo direito e septo intraventricular, já foi documentada. Miocardite é provavelmente produzida pela ruptura das células parasitadas (1).

Na maioria dos casos, o parasita não é identificado no fígado e baço, nem necrose ou células inflamatórias. A hepatomegalia é normalmente pronunciada e é acompanhada por eritropoiese, podendo também ocorrer no baço. Cirrose hepática é observada em poucos casos e calcificações hepáticas podem ser visualizadas radiologicamente e na autópsia. Taquizoítos já foram encontrados em líquido ascítico de neonato com insuficiência hepática (1).

Numerosos focos de hematopoiese podem ser vistos no rim e, também, cistos do parasita nos glomérulos e túbulos. Em casos severos, áreas focais de necrose são encontradas nos túbulos coletores da medula renal (1).

Nas adrenais, pituitária e pâncreas, extensos focos de necrose são identificados.

Grandes acúmulos de parasitas, sem reações inflamatórias ou necrose são encontrados na glândula tireóide (1).

Frequentemente ocorre inflamação intersticial aguda, áreas de hematopoiese e necrose focal em testículos e ovários. O organismo é visto na espermatogônia de túbulos seminíferos intactos.

Também são encontrados: edema de fibras musculares, hipoplasia do timo, deficiência na osteogênese, hiperplasia e necrose focal dos gânglios linfáticos (1,2).

Na placenta, encontram-se reações inflamatórias crônicas na decídua capilar e reação focal nas vilosidades. Cistos do toxoplasma são visualizados no tecido conectivo das membranas amnióticas e coriônicas, na geléia de Wharton e na decídua (1).

2.6.6 Manifestações clínicas

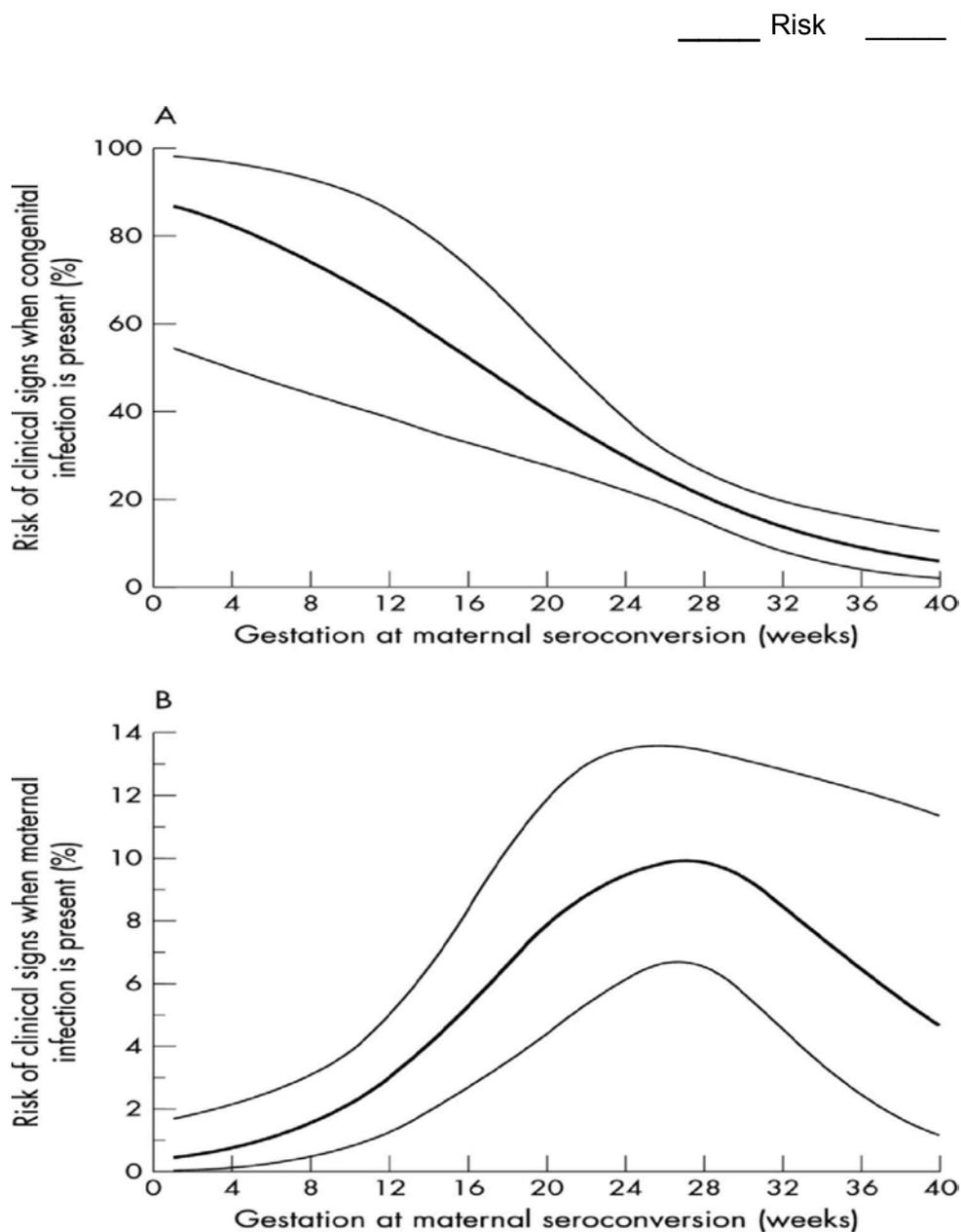
No primeiro caso relatado de toxoplasmose congênita, Wolf *et al.*, em 1939, identificou a presença de hidrocefalia, coriorretinite macular ou perimacular e calcificações intracranianas. Esses sinais foram denominadas de tríade clássica (1). Sabin, em 1942, descreveu uma tétrede de sinais clínicos (tríade + retardo mental), que será descrita adiante (53). Hoje, sabe-se que a doença pode apresentar-se de diversas formas. Aproximadamente 75-80% das crianças com toxoplasmose congênita são assintomáticas ao nascimento e podem ou não apresentar sequelas posteriores (1,2,18,19,38). A forma sintomática manifesta-se como leve, moderada ou grave. A

gravidade da doença é inversamente proporcional à idade gestacional. Gestantes contaminadas até a 24^a semana têm probabilidades de que até 80% dos fetos tenham acometimento moderado ou grave. Se a contaminação ocorrer a partir da 30^a semana até o termo, o risco cai de 20% para 6%, respectivamente, sendo as formas da doença mais leves. Portanto, pode-se dizer que o risco mais elevado da forma grave da doença, situa-se quando a contaminação ocorre entre a 10^a e a 24^a semana de idade gestacional (19). Remington (1) expõe a severidade das manifestações clínicas de acordo com a época gestacional que estão sumarizadas na tabela 4.

Tabela 4 – Padrão de severidade da doença de acordo com a época gestacional no momento da infecção materna

	1º trimestre (%)	2º trimestre (%)	3º trimestre (%)
Subclínica	18	67	90
Leve	6	18	10
Severa	41	8	0
Natimorto/Morte perinatal	35	7	0

No estudo desenvolvido por Dunn *et al.*, na França, entre 1987 e 1995, o risco de sinais clínicos (lesões no cérebro ou retina) numa criança infectada diminuiu de 60% quando a soroconversão materna ocorreu na 12^a semana de gestação para aproximadamente 5% quando a soroconversão foi próxima do parto (A). O risco de um neonato nascer com sinais clínicos foi maior (10%) para mulheres que soroconverteram entre 24 e 30 semanas de gestação e menor (5%) quando a soroconversão ocorreu antes de 12 semanas ou no termo (B) (20). Esses resultados são observados na figura 3.



Fonte: Dunn: Lancet, vol 353(9167). May 29, 1999; 1829-1833.

Figura 3: Risco de desenvolvimento de sinais clínicos (não necessariamente sintomático) antes dos 3 anos conforme a duração da gestação na soroconversão materna: a) na presença de infecção congênita; b) quando a infecção do feto não é conhecida

A doença pode envolver múltiplos órgãos e sistemas, ou ter manifestações isoladas. A tríade ou a téttrade clássica nem sempre está presente em todos os casos.

Remington e Desmonts (1), em 1983, classificaram a toxoplasmose em quatro formas, comentadas a seguir:

1. infecção subclínica;
2. doença manifesta no período neonatal;
3. doença (leve ou severa) que ocorre nos primeiros meses de vida;
4. seqüela ou reativação de infecção prévia não diagnosticada.

Infecção subclínica – É a apresentação mais frequente da infecção congênita, ocorrendo em cerca de 2/3 dos casos, principalmente quando a infecção materna ocorre no 3º trimestre da gestação. A doença somente é detectada pela história materna e teste sorológico positivo no recém-nascido ou pela história materna com infecção comprovada (17). Há predomínio de alterações liquóricas, coriorretinite, calcificações intracranianas e anemia. Essas crianças podem permanecer sem sequelas, ou desenvolver coriorretinite, uveítes, estrabismo, cegueira, hidrocefalia ou microcefalia, retardo neuropsicomotor, convulsões e surdez, meses ou mesmo anos após o nascimento (1,2,5,7). Follow-up de neonatos com infecção subclínica no nascimento revela doença neurológica e/ou ocular na idade escolar ou adolescência em 80-90% deles (18).

Doença neonatal – A forma clínica de apresentação neonatal é observada nos primeiros dias de vida e manifesta-se de maneira grave (5,19). São comuns: prematuridade, baixo peso ao nascer, escores de Apgar baixos, hipo ou hipertermia, hepatoesplenomegalia, hiperbilirrubinemia direta, alterações sanguíneas, como anemia, trombocitopenia, petéquias e equimoses disseminadas (1,19). Alterações do sistema nervoso central estão sempre presentes – calcificações intracranianas, meningoencefalites, alterações liquóricas, lesões medulares e cerebelares. Nesses

casos, mesmo quando tratados, raramente se recuperam sem sequelas (5). Anomalias pulmonares (pseudocistos) podem, também, ser encontradas (1).

Doença que ocorre nos primeiros meses de vida – A doença pode ser grave e acontece mais frequentemente em prematuros, aparecendo sinais neurológicos e de comprometimento ocular nos primeiros 3 meses de vida (19). Nos recém-nascidos de termo, geralmente é leve (19). Para finalidade didática pode-se dividir as formas graves de toxoplasmose congênita em: neurológica e/ou ocular e a forma generalizada (a doença manifesta no período neonatal também pode ser dividida da mesma forma) (2). Na forma neurológica, mais comum, geralmente resultante de infecção fetal precoce na gestação, os sinais e sintomas de comprometimento neurológico são proeminentes: calcificações intracranianas, alterações liquóricas, coriorretinite, convulsões, hidrocefalia ou microcefalia. A frequência de retinite, na forma neurológica, é de 94,4%, e quando as lesões neurológicas são discretas ou ausentes, a incidência de retinite é de 65,9% (1). Estudo desenvolvido no Hospital de Clínicas de Porto Alegre mostrou alta associação de lesões oculares (coriorretinite bilateral macular ou periférica) com lesões tomográficas encefálicas, com taxa de 77,3% de concordância (53). Lactentes com sinais de doença generalizada, resultante de infecção fetal mais tardia na gestação, apresentam, além de coriorretinite e alterações liquóricas, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, trombocitopenia, anemia, eosinofilia, hipo ou hipertermia e hiperbilirrubinemia direta. A icterícia, encontrada principalmente na forma generalizada, às vezes, é acompanhada de acolia fecal. Ressalta-se que muitos dos achados de uma forma clínica são também encontrados na outra, de modo que o que varia é o percentual de encontro (2). Por exemplo, a coriorretinite que é mais frequente na forma neurológica (5). Ainda em relação aos quadros clínicos severos, presentes em menos de 10% das crianças, a denominada Tétrade de Sabin é bastante valiosa para o diagnóstico, sendo caracterizada por: hidrocefalia ou microcefalia, coriorretinite bilateral, macular ou perimacular, simétrica; calcificações cerebrais intraparenquimatosas e retardo mental (1,2,18). A estenose do

aqueduto de Sylvius frequentemente é acompanhada de obstrução da drenagem do sistema ventricular com hidrocefalia, necrose periventricular e necrose por enfarte. Essas alterações são consideradas patognomônicas da doença (8). A hidrocefalia pode ser a única manifestação clínica e, usualmente, é obstrutiva, necessitando de colocação de válvula de derivação, na grande maioria das vezes (1,7). A microcefalia está presente em 5-10% dos casos e indica severo dano cerebral (1,18,23), mas há relato de crianças que tiveram um desenvolvimento normal ou próximo do normal, nos primeiros anos de vida, embora a grande maioria das crianças morra nos primeiros 5 anos (1). As calcificações intracranianas são devidas à meningoencefalite necrosante, e os depósitos de cálcio podem ser únicos ou múltiplos, nodulares ou em linhas curvilíneas (1). São detectáveis nos primeiros 3 meses de vida em 30% das crianças com toxoplasmose congênita e, em 80%, até os 2 anos de idade (1,18).

A lesão ocular característica é uma coriorretinite necrotizante focal, bilateral em 60-80% dos casos (1,18). Em crianças pequenas, a apresentação mais comum da coriorretinite é o estrabismo (nas crianças mais velhas e adultos, predomina alteração na acuidade visual) (18). Outras alterações oculares também são encontradas na doença. Em estudo de 243 casos de toxoplasmose congênita, a incidência de alterações oftalmológicas foi: coriorretinite bilateral em 65%, coriorretinite unilateral em 34%, atrofia óptica em 27%, microftalmia em 22%, alteração do humor vítreo em 11%, catarata em 8% e iridociclite em 7% (54). A microftalmia constitui uma das alterações oculares mais graves, sendo seguidamente associada à uveíte anterior e posterior, catarata ou a total disrupção do globo ocular (1). Além disso, estrabismo e/ou nistagmo podem ocorrer como sinais iniciais e persistentes, em 50% dos casos (1,18).

Quando se compara o desenvolvimento intelectual e social de crianças identificadas como portadoras de infecção subclínica, com controles sadios; conclui-se que a

toxoplasmose congênita não causa necessariamente retardo mental, mas está associada a algum grau de prejuízo intelectual (1).

As convulsões podem variar desde abalos musculares, espasticidade, opistótono, até convulsões motoras focais (1). A labilidade térmica é devido à inflamação e necrose do hipotálamo (8,18).

A toxoplasmose congênita também tem sido associada com: eritroblastose e hidropsia fetal, morte perinatal, miocardite, diarreia, pneumonia intersticial, nefrose congênita, diabetes insipidus, hipotireoidismo, deficiência do hormônio do crescimento, puberdade precoce, exantemas (pontilhado fino, máculopapular difuso, pápulas lenticulares vermelho-azul escuro, pápulas azuis difusas e bem definidas), córnea pequena, coloboma óptico, leucocoria (1,7,18) e atresia biliar (50).

Entre gêmeos monozigóticos, as manifestações clínicas geralmente são similares, enquanto que nos gêmeos dizigóticos, são diferentes (18,55). Além disso, a infecção congênita pode ocorrer em somente um dos gêmeos dizigóticos (55).

Ainda existem controvérsias sobre a possibilidade do *T. gondii* causar algum tipo de malformação fetal, como a fenda palatina (1).

Um dos mais completos estudos foi de Eichenwald, iniciado em 1947, para descobrir as formas clínicas da toxoplasmose congênita, determinar a história natural da infecção e seus efeitos sobre as crianças. Elas foram divididas em dois grupos: um com comprometimento acentuado do sistema nervoso central e da retina e outro com alterações clínicas e laboratoriais generalizadas, além de doença da retina e sinais menos acentuados do SNC. Os dados são observados na tabela 5.

Tabela 5 – Sinais e sintomas que ocorrem antes do diagnóstico ou durante o curso da toxoplasmose congênita sem tratamento em 152 crianças *

Manifestações Clínicas	Doença Neurológica	Doença Generalizada
	108 crianças † (%)	44 crianças ‡ (%)
Coriorretinite	94	66
LCR anormal	55	84
Anemia	51	77
Convulsões	50	18
Calcificações intracranianas	50	4
Icterícia	29	80
Hidrocefalia	28	0
Febre	25	77
Esplenomegalia	21	90
Hepatomegalia	17	77
Linfadenopatia	17	68
Vômitos	16	48
Microcefalia	13	0
Diarréia	6	25
Catarata	5	0
Pneumonia	0	41
“Rash”	1	25
Hipotermia	2	21
Sangramento anormal	3	18
Glaucoma	2	0
Atrofia óptica	2	0
Microftalmia	2	0

* Adapted from Eichenwald H: A study of congenital toxoplasmosis In: Siim JC (ed): Human Toxoplasmosis. Copenhagen, Munksgaard, 1960, pp 41-19.

Fonte: McLeod R, Remington JS. Toxoplasmosis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Textbook of Pediatrics. 16th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000.p.1057.

† Crianças com doença do SNC no 1^o ano de vida.

‡ Crianças com doença não-neurológica durante os primeiros 2 meses de vida.

Na Pesquisa Neonatal Regional da Inglaterra durante um período de 6,5 anos, realizada por Guerina *et al.*, os recém-nascidos com infecção confirmada realizaram exame oftalmológico, tomografia craniana e exame líquórico. Os achados clínicos e laboratoriais foram: aumento de proteínas no líquido em 31%, calcificações intracranianas em 26%, lesões maculares e distúrbio visual em 20%, déficit motor em 13%, hidrocefalia em 8%, hepatomegalia, icterícia, convulsões e microcefalia em 2% (38).

Sequelas – a maioria das crianças com infecção subclínica ao nascimento desenvolvem sinais ou sintomas posteriormente, podendo ser em semanas, meses ou anos mais tarde. Frequentemente são oculares e neurológicas (1,2,18,19,50,55). Obviamente, na maioria dos casos, não há retardo no início da doença e, sim, um reconhecimento mais tardio. Exceção ocorre nos prematuros, nos quais manifesta-se durante os primeiros 3 meses (1). Entre as sequelas oculares, a coriorretinite é a mais comum, mas também encontram-se: microftalmia, atrofia do globo ocular, estrabismo, nistagmo, catarata, sinéquia da íris e do corpo ciliar e atrofia óptica. Koppe *et al.* mostraram que 20-80% das crianças afetadas, congenitamente, desenvolveram doença ocular durante acompanhamento de 20 anos. A maioria delas apresentou lesões durante os primeiros 2 anos de idade. Além disso, os dados sugerem que se as crianças infectadas no período pré-natal não desenvolvem lesões precocemente, é menos provável que desenvolvam mais tarde (56). Por outro lado, segundo Gilbert *et al.*, 2/3 da toxoplasmose ocular diagnosticada em adultos são causadas por infecção pós-natal (57).

Entre as sequelas neurológicas destacam-se: hidrocefalia, convulsões, retardo psicomotor, microcefalia, surdez neurosensorial, hipertonia muscular, hiper-reflexia tendinosa e paralisias (5). Normalmente os sinais neurológicos aparecem entre o 3^o e o 12^o mês de vida (1).

No estudo de Wilson *et al.*, de 13 recém-nascidos com infecção subclínica identificados através de pesquisa sorológica em sangue do cordão umbilical, 1

desenvolveu retardo psicomotor, microcefalia e convulsões, 2 apresentaram desenvolvimento psicomotor atrasado e 2 neonatos desenvolveram disfunção cerebelar persistente. Três recém-nascidos desenvolveram perda auditiva neurosensorial. O QI médio para as 13 crianças foi de 88 ± 23 , com relato de 2 crianças estarem gravemente comprometidas, com valores de QI de 36 e 62 (4).

2.6.7 Achados radiológicos, laboratoriais e no exame oftalmológico

Exames como a tomografia computadorizada encefálica e a ressonância magnética permitem a localização anatômica de lesões intracranianas, a delimitação do tamanho dos ventrículos, o reconhecimento de atrofia cortical e necrose do tecido nervoso. Algumas lesões, como hidrocefalia e calcificações intracranianas, podem ser detectadas, também, pela ultrassonografia, importante no seguimento das hidrocefalias e hepatoesplenomegalias (1,50).

A hidrocefalia, caracteristicamente devido à obstrução do aqueduto de Sylvius, causa dilatação do ventrículo lateral e do 3º ventrículo. Mas pode ser unilateral, devido à obstrução do forame de Monro (1). Pode ser visualizada, também, porencefalia e encefalomalácia (50). Algumas áreas captantes de contraste podem ser detectadas, indicando encefalite (1).

São descritas 2 tipos de calcificações intracranianas: múltiplas, que são nódulos densos de 1 a 3 milímetros de diâmetro, espalhadas na substância branca e, mais frequentemente, nas áreas periventriculares das regiões occipitoparietal e temporal; e linhas curvilíneas no gânglio basal, em geral na cabeça do núcleo caudado. Alguns pesquisadores consideram que o achado de ambos os tipos são patognomônicos da toxoplasmose congênita (1). Müssbichler, refere que as calcificações intracranianas no núcleo caudado, plexo coróide, meninges e subependimárias são características da

doença, embora também sejam vistas na citomegalovirose (58). Como as calcificações podem estar presentes em vários locais, as visualizadas somente no plexo coróide são consideradas como evidência da doença (1). São melhor identificadas pela tomografia computadorizada encefálica e ressonância magnética, mas também podem ser detectadas pela ultrasonografia transfontanelar e, menos frequentemente, pelo Raio X de crânio.

Focos de consolidação podem ser observados nas vísceras, especialmente, no fígado e baço, através de radiografia simples de abdome, na posição lateral (1,18,50).

Anormalidades radiológicas em ossos longos, costelas e vértebras, observadas na toxoplasmose congênita são inespecíficas. Caracterizam-se por zonas transversais de menor densidade, radiolúcentes e estrias longitudinais radiotransparentes nas epífises e metáfises, respectivamente (1).

Anemia e trombocitopenia são achados frequentes em crianças com a forma sintomática, mas pode ser observada, também, na forma subclínica. Linfocitose, monocitose e eosinofilia, embora não sejam específicas da doença, constituem as manifestações hematológicas mais comuns no neonato e no 1º ano de vida (1,18,19,50). A eosinofilia normalmente apresenta valores altos, 15-20% do número total de leucócitos (50,55). Leucocitose ou leucopenia podem ser encontradas (1). As enzimas hepáticas podem estar alteradas, principalmente nos casos em que há acometimento hepático importante. Valores de proteínas totais e de albumina baixos, ou nos limites inferiores do normal, também podem ser identificados e são relacionados à desnutrição e ao comprometimento hepático na doença grave. Além disso, as bilirrubinas podem elevar-se - usualmente a fração direta. (1). A contagem de CD4 e a relação CD4-CD8 geralmente são baixos (1,50).

O exame do líquido é de fundamental importância tanto na doença manifesta como na subclínica. Achados anormais são sempre indicativos de doença no SNC. Em geral, o líquido apresenta-se xantocrômico, pela imaturidade dos sistemas das barreiras hematoencefálica e hemato-líquórica, e pela presença de elementos sanguíneos e bilirrubina.

As alterações líquóricas incluem: pleiocitose linfocítica, hipoglicorraquia, eosinófilos elevados e aumento de proteínas acima de 1g%. Essas alterações são observadas no líquido por punção lombar e punções occipital e ventricular. A elevação dos níveis de proteínas associada à obstrução do aqueduto de Sylvius e à dilatação ventricular são típicas da doença (7). A taxa de proteína líquórica constitui um indicador de prognóstico do desenvolvimento neurológico no 1º ano de vida (1,18,50,51).

No estudo colaborativo de Chicago, 35 recém-nascidos foram diagnosticados nos primeiros dois meses de idade e, quase todos devido a achados clínicos indicativos de infecção congênita sintomática. Em 56%, 40% e 66% deles, os exames iniciais mostravam aumento de proteínas no líquido, trombocitopenia e hiperbilirrubinemia, respectivamente (59).

Exame ocular e fundoscopia devem ser realizados rotineiramente pela frequência elevada de lesões oculares. Na lesão ativa, o primeiro sinal a aparecer é um exsudato branco-amarelado, cotonoso, com limites mal definidos devido ao edema retiniano circunjacente. Podem-se visualizar os vasos retinianos ou apenas deixar discernir seus perfis irregulares. A coróide subjacente e, mais raramente, a esclera estão comprometidas. Observam-se células no vítreo correspondendo à área da lesão ativa. Próximo da lesão, podem ocorrer hemorragias resultantes da vasculite secundária, predominantemente venular. As lesões ativas, muitas vezes, são adjacentes a lesões inativas antigas. O processo evolutivo é benigno e autolimitado. Progressivamente as margens da lesão vão tornando-se mais nítidas, o exsudato e a vitreíte diminuem, até

que resta uma zona central amorfa, elevada, de cor cinza ou marrom. Depois de um tempo variável, ocorre pigmentação, principalmente nas margens da lesão. Portanto, as lesões cicatrizadas são branco-aczentadas, possuem margens com bordas distintas e pigmento negro coroidal e há atrofia retinocoroidiana, podendo-se observar os vasos da coróide e esclera (1,5,7,13). A lesão em rosácea macular, segundo alguns autores patognomônica da infecção congênita, consiste em uma coroa radiada de pigmento dirigindo-se a uma zona central de necrose (5). Este é o aspecto da lesão não tratada, entretanto, se a lesão for tratada precocemente, apresenta-se com aspecto âmbar, e sem grande pigmentação em suas margens (5).

Comumente as reativações ocorrem próximas ou contíguas às lesões cicatrizadas, sendo chamadas de lesões satélites. Lesões com este aspecto são também patognomônicas da toxoplasmose (1,5,13).

As lesões podem ser únicas ou múltiplas, grandes ou pequenas, unilaterais ou bilaterais. Geralmente são bilaterais, únicas, e medem desde 1/10 de diâmetro de disco até 2 quadrantes da retina. O formato da lesão típica é oval ou circular. Sua localização mais frequente é no pólo posterior da retina e comumente atinge a mácula, mas também ocorre na periferia. Entre as lesões oculares periféricas, destacam-se a uveíte anterior, a irite e esclerite (1,5,7,18,50,55).

2.6.8 Diagnóstico laboratorial específico

Pesquisa do parasita ou de seus componentes - o *Toxoplasma gondii* pode ser isolado de fluidos e tecidos como a placenta, líquido amniótico, lavado brônquico-alveolar, líquido céfalo-raquidiano, sangue fetal obtido por cordocentese, sangue do cordão umbilical e sangue do neonato. O parasita é separado através da inoculação do material suspeito por via intraperitoneal em camundongos, com resultados em 4 a 6

semanas e com alta sensibilidade (1,2,18,60). O toxoplasma também pode ser isolado por semeadura em culturas de células (fibroblastos humanos), sendo identificado por imunofluorescência em até uma semana, porém apresenta menor sensibilidade (1,2,18,60). Material antigênico do toxoplasma e complexos imunes de antígenos parasitários podem ser detectados no soro e fluidos corporais, entretanto, pela transitoriedade e inconstância da antigenemia, sua pesquisa é de pouco valor diagnóstico; limitação possivelmente solucionada pela pesquisa de antígenos na urina (60).

Também pode-se identificar o parasita pela detecção de segmentos característicos de seus ácidos nucleicos (DNA), depois de ampliados pela reação em cadeia de polimerase (PCR). A pesquisa pode ser realizada no líquido amniótico, placenta, sangue de cordocentese de neonatos, em sangue venoso, urina, material de biópsia cerebral ou no líquido céfalo-raquidiano e em material de lavagem bronco-alveolar (1,2,18,19,50), sendo considerada diagnóstica quando positiva. Fuentes *et al.* detectaram o *Toxoplasma gondii* pela PCR no sangue e líquido em 3 de 4 neonatos com infecção congênita e pela PCR na urina nos 4 recém-nascidos infectados (61). A detecção dos segmentos do parasita pela PCR é considerada diagnóstica (1,50) e a sensibilidade, no líquido amniótico, é de 92% (2). Um resultado positivo, entretanto, não permite distinguir entre taquizoítos e formas císticas, isto é, entre infecção ativa e latente, exigindo criteriosa interpretação. A possibilidade futura dessa distinção é acenada, porém, pela constatação de diferenças entre antígenos e genomas de ambas as formas do parasita (60).

O recém-nascido infectado, via de regra, apresenta parasitemia, que pode ser detectada na camada leucocitária de sangue venoso, em geral durante todo o 1º mês de vida, principalmente na 1ª semana pós-parto, com sensibilidade de até 90%, especialmente pela PCR (60).

A detecção de gen B1 do *Toxoplasma gondii* pela PCR, realizada no líquido amniótico obtido por amniocentese, atualmente, é o método preferencial para a confirmação de infecção fetal (1,2,18,19,50,55). Na Universidade Federal de Minas Gerais, a PCR em amostras de líquido amniótico de mulheres que soroconverteram na gestação apresentou uma sensibilidade de 62,5% e especificidade de 97,4% (62). Outro estudo prospectivo multicêntrico, em 271 gestantes com infecção toxoplásmica primária na gestação, encontrou uma sensibilidade de 64% (IC95% 53,1% - 74,9%) e especificidade de 100% (IC95% 98% - 100%) (63). No estudo de Foulon *et al.*, a combinação da PCR e inoculação do líquido amniótico em camundongos aumentou a sensibilidade para 91%, em comparação à detecção isolada da PCR no líquido amniótico, com sensibilidade de 81% (64).

De alta sensibilidade diagnóstica são as alterações anatomopatológicas observadas na placentite toxoplásmica e a identificação do toxoplasma na placenta, entretanto, ocasionalmente, a infecção pode ficar restrita à placenta, não atingindo a criança (60).

Testes sorológicos - a pesquisa de anticorpos específicos para o toxoplasma constitui o método laboratorial mais utilizado, sendo os principais deles: reação de Sabin-Feldman, reação de hemaglutinação indireta, reação de fixação de complemento, reação de imunofluorescência indireta e as reações imunoenzimáticas (2).

Na presença de sinais clínicos sugestivos de toxoplasmose, altos títulos de IgG no recém-nascido, aliados a um perfil materno de infecção recente, tem alto valor preditivo positivo de toxoplasmose congênita, mas que deverá ser comprovado pela positividade, na criança, de teste para anticorpos IgM ou pela evidência do toxoplasma (60). Assim como, níveis de IgG inicialmente acima de 1:4000 que não desaparecem, permanecem elevados ou aumentam (50,65). Na infecção congênita, o nível sérico de anticorpos IgG anti-toxoplasma, em geral, reflete o nível de anticorpos IgG maternos transferidos passivamente, podendo persistir até 18-24 meses de idade pós-natal. A síntese de

anticorpos específicos pelo bebê infectado pode ser detectada por medição seriada da proporção de IgG anti-toxoplasma sobre IgG total e comparação com o declínio linear (50% ao mês) esperado dessa proporção num lactente não-infectado (1,7).

A demonstração de IgM e/ou IgA e/ou IgE no sangue do cordão ou no sangue do recém-nascido é diagnóstico de infecção congênita, se não ocorreu contaminação com sangue materno, tanto nos casos sintomáticos como na infecção subclínica (1). Um resultado falso-positivo pode ser devido à lesão com escape placentário de IgM materno (1,60). Nesse caso, a sua duração no sangue do recém-nascido é curta, pois a meia-vida da IgM é de 5 dias (60). Por outro lado, alguns autores sugerem que a quantificação de IgM no recém-nascido não pode ser universalmente aplicada para o diagnóstico de infecção, em razão de resultados falso-negativos (1). Portanto, um resultado IgM não reagente em suspeita clínica não exclui toxoplasmose congênita, pois a produção de anticorpos da classe IgM pode ocorrer mais lentamente, sendo aconselhável a repetição do exame em 1 e 2 meses após o nascimento (1,60). Além disto, a pesquisa de IgM pode dar resultados falso-negativos em até 25% dos casos, devido à grande quantidade de anticorpos IgG maternos, que saturam os receptores antigênicos e, também, podem suprimir a produção neonatal específica de IgM. Da mesma forma, pode haver resultados falso-positivos na presença de fator reumatóide e anticorpos antinucleares (1,2). Para evitar essas falsas reações, utilizam-se testes de captura de IgM, mais sensíveis e específicos: ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), ELFA (enzyme linked fluorescent assay), ISAGA (immunosorbent agglutination assay), FEIA (fluorometric enzyme immunoassay) e o teste de imunoblot (reatividade de anticorpos para diferentes componentes antigênicos do toxoplasma) (50,60).

O estudo de Lebech *et al.* documentou que os testes de screening neonatal, baseados na detecção de IgM-captura, detectam entre 75-80% dos casos de toxoplasmose congênita e que o acréscimo da dosagem de IgA pode aumentar em 5-

10% a identificação dos neonatos infectados (35). O teste específico IgA tem se mostrado mais sensível que a IgM para detectar infecção congênita no feto e no recém-nascido (1,2,18,19,50,55,60), contudo a especificidade é limitada pela maior possibilidade de transferência passiva de anticorpos maternos (1,60). Naessens *et al.* avaliaram a sensibilidade e especificidade de testes com dosagens de IgM e IgA, em amostras coletadas do sangue e do cordão umbilical de recém-nascidos. A especificidade global foi melhor nos testes realizados no sangue neonatal do que no cordão umbilical: especificidade de IgM e IgA no sangue neonatal é 99%, enquanto a especificidade no cordão umbilical é 96% e 92%, respectivamente. Os mesmos autores encontraram IgM no sangue neonatal, em 85% das crianças infectadas congenitamente de mães não tratadas e em somente 25% das crianças que foram tratadas no pré-natal. A análise multivariada revelou uma correlação independente entre a idade gestacional, no momento da aquisição da infecção materna e a positividade de IgM e IgA, devido à falta de resposta imunológica fetal na primeira metade da gestação e a curta duração dessa resposta. De acordo com os autores, os estudos que incluem mais crianças infectadas no início da vida fetal, poderão mostrar menor sensibilidade dos testes em relação aos que incluem mais crianças infectadas tardiamente (66).

Uma avaliação de 4 métodos diagnósticos para detecção de anticorpos IgM mostrou discrepância entre os testes, sendo importante considerar a prevalência de toxoplasmose na população em que os testes serão aplicados. O método VIDAS-IgM foi o mais específico e com maior valor preditivo negativo, 99,3% e 98,7%, respectivamente (67).

Na avaliação da sensibilidade e especificidade de 6 testes comerciais, Wilson *et al.* encontraram para VIDAS Toxo IgM, 100% e 98,6%, respectivamente. A quantidade de resultados equívocos foi de 0,9% e de falso-positivos de 1,4% (68). Pelloux *et al.* demonstraram 100% de sensibilidade e 97% especificidade, para o mesmo método (69).

A demonstração de IgM no líquido céfalorraquidiano, especialmente na ausência de IgM no soro, apóia o diagnóstico de infecção no sistema nervoso central. Esse diagnóstico também é estabelecido pela demonstração de antígenos do parasita no líquido, embora o método de escolha para a detecção do parasita seja a PCR (1). A IgA também pode ser detectada no líquido (50).

Portanto, a presença de IgM e/ou IgA e/ou IgE-toxoplasma no soro ou líquido, aumento nos níveis de IgG-toxoplasma durante o primeiro ano de vida ou uma PCR positiva em fluidos e tecidos são indicativos de toxoplasmose congênita (18).

2.6.9 Diagnóstico diferencial

A toxoplasmose congênita deve ser diferenciada de outras doenças congênitas como a rubéola, citomegalovírus, herpes, sífilis e listeriose e, menos frequentemente, hepatite B e varicela. O diagnóstico diferencial inclui também as infecções adquiridas no período neonatal, como sepse e chagas (1,50,55).

Na doença de inclusão citomegálica, como na toxoplasmose, as calcificações estão localizadas na região subependimária e são bilaterais, geralmente, nas paredes dos ventrículos dilatados. O rash é petequial ou purpúrico, ao contrário da toxoplasmose, que é geralmente macular. A coriorretinite nas duas doenças não pode ser diferenciada e fundamentada na aparência ou distribuição. Contudo, é mais provável que a coriorretinite relacionada ao citomegalovírus esteja associada a outras manifestações maiores, como a microcefalia (1,18).

Na sífilis congênita, há zonas radiolucidas na metáfise e irregularidades na linha de calcificação na epífise dos ossos longos, semelhantes às lesões da toxoplasmose, mas nesta, não há reação periosteal (1,55).

A rubéola congênita causa catarata central, defeitos cardíacos, trombocitopenia, calcificações intracranianas em pequena percentagem e retinopatia em “sal e pimenta” (1,19).

As manifestações clínicas da infecção pelo vírus herpes simples são a microcefalia, calcificações intracranianas, coriorretinite com ou sem atrofia óptica e hepatoesplenomegalia. A presença de vesículas na pele ou cicatrizes presentes ao nascimento é valiosa para o diagnóstico diferencial (1).

O diagnóstico diferencial também inclui algumas doenças oculares. A coriorretinite na toxoplasmose pode assemelhar-se a um coloboma óptico congênito, mas as alterações oculares associadas, sistêmicas e sorológicas orientam o diagnóstico da infecção. Além disso, o retinoblastoma, pseudoglioma, aneurisma congênito e teleangectasia dos vasos da retina, que não se acompanham de alterações viscerais ou cerebrais (1).

Já, a infecção congênita pode ser confundida com isoimunização fetal. O quadro hematológico e o curso clínico podem ser idênticos àqueles observados na eritroblastose, mas o teste de Coombs direto normalmente é negativo (1).

2.6.10 Tratamento e acompanhamento

As drogas mais eficientes para o tratamento da toxoplasmose congênita são a sulfadiazina, a pirimetamina e o ácido fólico, que, além de aumentarem os efeitos terapêuticos, previnem os efeitos colaterais, segundo o esquema proposto por Daffos *et al.* (1,19). As recomendações do estudo colaborativo de Chicago (59) são: pirimetamina (2mg/Kg em dose de ataque por 2 dias, após 1 mg/Kg/dia, em dose única, por via oral durante 2-6 meses. Após esse período, usa-se pirimetamina três vezes/semana) + sulfadiazina (100mg/Kg/dia, em 2 doses, por via oral) + ácido fólico (5-10mg, via oral ou

intramuscular, 3 vezes por semana). O tratamento da toxoplasmose congênita sintomática ou assintomática é por um período de 1 ano. O uso de corticóides está indicado na meningoencefalite (hiperproteinorraquia $\geq 1\text{g/dL}$) e, na coriorretinite aguda com prednisona ou metilprednisolona (1,5mg/Kg/dia em 2 doses), até a melhora da reação inflamatória, normalmente após 10 dias de terapia (1,18,50,59).

Um método alternativo, que incorpora pirimetamina, sulfadiazina e espiramicina, era usado anteriormente de maneira extensiva na França (1). Neste regime, após o sexto mês de tratamento, substitui-se a pirimetamina por espiramicina (100mg/Kg/dose, a cada 12 horas, VO) em dias alternados. No momento, há pouca informação confiável sobre o tratamento com espiramicina em recém-nascidos com toxoplasmose congênita (1,19).

Informações sobre os níveis de pirimetamina em bebês indicam que a meia-vida sérica é de, aproximadamente, 33 horas, com os níveis de estabilidade sendo, praticamente, duas vezes maiores na dosagem diária em comparação à dosagem em dias alternados. Ambos regimes produziram níveis séricos e líquóricos dentro do espectro de concentração ativo contra o parasita, mas os níveis do líquido atingiram apenas 10 a 25% dos níveis séricos. Portanto, é razoável maximizar os níveis com uma dosagem de pirimetamina diária durante uma parte do período inicial do tratamento (70). A pirimetamina e a sulfadiazina não são efetivas contra o parasita encistado, portanto, não previnem reativação da coriorretinite e da doença neurológica (18,55).

O uso de outras drogas (trimetoprim+sulfametoxazol, clindamicina, tetraciclina, rifampicina, macrolídeos, ataviquone) também não é apoiado por dados clínicos que permitam sua recomendação (1,19). O uso de imunomoduladores, como interferon- γ e interleucina-2, proporcionou bons resultados em experimentação animal (49).

A tabela 6 apresenta as orientações básicas para o acompanhamento de crianças com toxoplasmose congênita (71).

Tabela 6 – Avaliação no acompanhamento de bebês com toxoplasmose congênita

Hemograma completo para monitorizar a toxicidade medicamentosa *

1-2 vezes/semana durante a administração diária de pirimetamina

1-2 vezes/mês durante a administração de pirimetamina em dias alternados

ALT e creatinina séricas, exame comum de urina a cada 3 meses

Exame neurológico pediátrico completo, incluindo avaliação mensal do neurodesenvolvimento

Exame oftalmológico pediátrico a cada 3 meses até 18 meses de idade, depois anualmente †

Exame neurológico pediátrico a cada 3-6 meses até 1 ano de idade ‡

Determinações de IgG e IgM séricas a cada 3 meses até 18 meses de idade

* Os exames devem ser realizados em intervalos mais frequentes, se houver uma doença intercorrente ou ocorrência de neutropenia.

† A frequência dos exames deve ser ajustada conforme a necessidade, se houver lesão da retina.

‡ A frequência e duração do acompanhamento neurológico pediátrico devem ser determinados pela presença de alterações neurológicas.

A sulfadiazina pode causar anemia aplástica, trombocitopenia, anemia hemolítica, distúrbios neuropsíquicos, hepáticos e vômitos. A mensuração da ALT (alanina aminotransferase), creatinina sérica e exame comum de urina podem ser úteis na monitorização dos seus efeitos colaterais (71). A pirimetamina é um antagonista do ácido fólico e pode ocasionar depressão medular, com leucopenia, plaquetopenia e anemia megaloblástica. A neutropenia é o principal efeito colateral das drogas e resulta primariamente do uso da pirimetamina, menos frequentemente, devido à sulfadiazina. O ácido folínico é utilizado durante o uso da associação de sulfadiazina + pirimetamina e até 1 semana após. A sua dose deve ser aumentada, se o número absoluto de neutrófilos for menor de 1000 cels/ μ L; e a pirimetamina deve ser temporariamente suspensa, se o número de neutrófilos for menor de 500 cels/ μ L. Neutropenia persistente, apesar da interrupção da pirimetamina, pode ser causada pela sulfadiazina (1,50).

No estudo colaborativo de Chicago, 58% dos bebês desenvolveram neutropenia, geralmente concomitante a uma infecção viral (59). A incidência no estudo de Guerina *et al.* foi menor (32%), possivelmente, devido ao maior intervalo de tempo entre as doses de pirimetamina (38).

Aumentos nos títulos de anticorpos IgG-toxoplasma gondii, conhecidos como recorrência sorológica, são descritos durante os primeiros meses de vida. Ocorrem durante e após a descontinuação do tratamento, mas sua fisiopatologia e significância clínica permanecem pouco evidentes. Em adição, a possível relação entre sua ocorrência, a natureza e duração do tratamento específico contra o parasita tem sido considerada mas não claramente demonstrada (72). Djurkovic-Djakovic *et al.* coletaram amostras sanguíneas de 50 crianças, tratadas durante 1 ano, no final da terapia e, no mínimo 2 meses, após o término. Consideraram como recorrência sorológica um aumento de quatro vezes nos níveis de IgG. Em 97,6% das crianças, houve recorrência sorológica e foi detectada IgM e IgA anti-toxoplasma em 44% e 62%, respectivamente, das amostras com recorrência. Não houve relação entre recorrência clínica e aumento nos títulos de IgG (72). Fortier *et al.* descreveram 70% de recorrência sorológica, após tratamento de 1 ano, não associada a um risco significativamente maior de recorrência das lesões oculares (73). Para estimar a incidência e duração da recorrência sorológica, identificar fatores preditivos e o risco de lesões oculares, um estudo de coorte retrospectivo de 133 crianças com toxoplasmose congênita foi realizado por Wallon *et al.* Pelo menos uma recorrência sorológica, durante um follow-up de 95 meses, foi encontrada em 70% das crianças. A presença de calcificações intracranianas no nascimento foi associada a um maior risco de recorrência (RR=2,601 p=0,03). Não houve diferença na incidência de lesões oculares secundárias nas crianças sem recorrência, comparadas àquelas que apresentaram pelo menos uma recorrência (RR=1,10 IC95% 0,47-2,58); e, também, entre aquelas que apresentaram recorrência e receberam um

curso adicional de três meses de tratamento (81 crianças), comparadas as que não receberam terapia adicional (RR=0,72 IC95% 0,30-1,72) (74).

Kahi *et al.* encontraram altos níveis de interleucina-4 (IL-4) nas crianças com recorrência sorológica ($p < 0,03$) em relação às aquelas com quadro estável, que apresentaram níveis elevados de interferon- γ (INF- γ) ($p < 0,04$). Os autores sugerem o envolvimento das citocinas Th2 na desestabilização da toxoplasmose congênita e, talvez, na reativação do parasita (75).

2.6.11 Prognóstico

Estudos de follow-up indicam que o tratamento de crianças infectadas, congenitamente, melhora o prognóstico, reduzindo a frequência e a severidade das sequelas de aparecimento tardio, embora não existem estudos randomizados sobre o tratamento pós-natal de crianças infectadas congenitamente (1,55). Além disso, a instituição precoce da terapêutica, no recém-nascido, usualmente cura algumas manifestações da doença, como coriorretinite ativa, meningite, encefalite, hepatite, esplenomegalia e trombocitopenia (55).

As calcificações intracranianas podem diminuir de tamanho ou desaparecer com o tratamento (1,19,50). Patel *et al.*, em estudo controlado multicêntrico, relataram diminuição ou resolução das calcificações intracranianas após um ano de tratamento, que não ocorreu em regime de tratamento de um mês (76). O aumento no número e tamanho das calcificações, durante período de meses ou anos, é sugestivo de evolução do processo.

Hohlfeld *et al.* demonstraram que a maioria das crianças tratadas desenvolveram-se normalmente e eram neurologicamente normais (22). Guerina *et al.* expuseram que somente 1 entre 46 crianças infectadas congenitamente, identificadas através de

screening neonatal, apresentou déficit neurológico (hemiplegia) e 4 crianças tiveram lesões oculares, após tratamento durante um ano (38).

O estudo colaborativo de Chicago avaliou o efeito do tratamento com pirimetamina + sulfadiazina + ácido fólico durante um ano, em 44 bebês infectados e acompanhados durante dez anos. Verificaram que os resultados das crianças tratadas foram substancialmente melhores do que os históricos controles não tratados. Entre as crianças tratadas, coriorretinite periférica e macular ocorreu em 58% e 54%, respectivamente, comparado com 82% e 76%, nas crianças que não receberam tratamento. Recorrência posterior da toxoplasmose ocular ocorreu em 13% das crianças tratadas e em 44% dos controles. Além disso, os fatores que contribuíram para as incapacidades mais importantes, incluíram demora no estabelecimento do diagnóstico e no início da terapia (59).

Crianças com extenso envolvimento ao nascimento podem ter uma função normal mais tarde ou uma leve a severa deterioração da visão, audição, função cognitiva e outras funções neurológicas (55).

Por outro lado, um prognóstico pior está associado com atraso no diagnóstico e tratamento, presença de hipoglicemia perinatal, hipóxia, hipotensão, infecções repetidas e severa deterioração visual (55). Além disso, 92% das crianças não tratadas ou que receberam terapia somente durante 30 dias, desenvolveram sequelas (4).

Nesse aspecto, estudos demonstram o risco de anormalidades oftalmológicas e neurológicas a longo prazo, em recém-nascidos, com toxoplasmose congênita na ausência de terapia prolongada.

Koppe *et al.* acompanharam durante vinte anos 11 recém-nascidos com toxoplasmose congênita e observaram que 9 desenvolveram coriorretinite. Destes, 4 apresentaram deficiência visual grave e 3 tiveram cegueira unilateral. O tratamento foi

limitado a três semanas de pirimetamina e sulfadiazina, em 4 neonatos e, em 7 neonatos, não houve tratamento (56).

Complicações neurológicas e oculares significativas foram descritas por Wilson *et al.* O prognóstico dos lactentes, que tiveram infecção subclínica ao nascimento (diagnosticados pela presença de IgM-toxoplasma em amostras de sangue umbilical) e foram avaliados quando tinham 9 a 10 anos de idade, revelou que: 16% apresentavam retardo mental, 17% convulsões, 27% cegueira unilateral, 20% cegueira bilateral, 25% comprometimento da audição e 86%, escores de QI sequencialmente mais baixos quando testados a intervalos de cinco anos. Essas crianças não foram tratadas ou receberam um mês de sulfadiazina e pirimetamina (4).

Sever *et al.* também relataram alterações neurológicas no estudo de seguimento de crianças até os 7 anos, em que a incidência de microcefalia foi de 60%, e escores de QI menores de 70 foi de 30% (77).

Das 152 crianças estudadas por Eichenwald (tabela 5), 101 foram avaliadas aos 4 anos ou mais. As sequelas mais frequentemente diagnosticadas foram retardo mental, convulsões e severo prejuízo visual. O índice de mortalidade encontrado foi de 12%, não havendo diferença significativa entre as formas neurológica ou generalizada. As alterações são descritas na tabela 7.

Tabela 7 – Seqüelas encontradas, em 101 crianças, acompanhadas aos 4 anos ou com mais idade *

	Doença Neurológica 70 crianças (%)	Doença Generalizada 31 crianças (%)
Retardo mental	89	81
Convulsões	83	77
Surdez	17	10
Prejuízo visual	69	42
Espasticidade/Paralisia	76	58
Hidrocefalia/Microcefalia	44	6
Normal	9	16

* Adapted from Eichenwald H: A study of congenital toxoplasmosis In: Siim JC (ed): Human Toxoplasmosis. Copenhagen, Munksgaard, 1960, pp 41-19.

Fonte: McLeod R, Remington JS. Toxoplasmosis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. Textbook of Pediatrics. 16th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000.p.1057.

2.6.12 Prevenção

O uso de vacinas contra toxoplasmose tem como objetivo diminuir o dano fetal através da redução do número de cistos teciduais do *T. gondii* em animais, e a prevenção da formação de oocistos em gatos (78). A prevenção da eliminação de oocistos pelos gatos é a chave para o controle da disseminação do *T. gondii*, os quais se infectam, principalmente, através da ingestão de cistos teciduais contidos na musculatura de outros animais. Estudos indicam que, após esta infecção primária a imunidade não é permanente, sendo necessária a ingestão de bradizoítos vivos para adquiri-la. Foi estudada uma vacina contendo bradizoítos vivos da cepa mutante T-263, obtida a partir de um clone do *T. gondii*, capaz de desenvolver-se no intestino do gato e induzir imunidade sem excreção de oocistos. Entretanto, sua aplicação é limitada devido a

dificuldades em sua distribuição, que deve ser feita em nitrogênio líquido, por ser uma vacina viva (12,13).

Recentemente, em New Hampshire, USA, foi criada um novo tipo de vacina contra o parasita, que foi capaz de imunizar camundongos saudáveis e roedores com baixa resposta do sistema imune. Embora experimental, é promissor e abre novas perspectivas (13). Na Nova Zelândia, já existe uma vacina usada em ovelhas e porcos (13).

Um grupo de pesquisadores da Universidade de São Paulo está desenvolvendo uma vacina em que o parasita é alterado através de radiação, impedindo que ele se reproduza no organismo do hospedeiro. Já testada em camundongos, essa vacina mostra um grau de imunização tão grande quanto o produzido pelo protozoário sadio (13). Mas não existe, ainda, vacina para uso em humanos (1,13).

Foulon *et al.* sugerem que a prevenção da doença não deve ser baseada em um protocolo único. Algoritmos diferentes devem ser utilizados em áreas geográficas distintas, em função da variabilidade na prevalência da doença (3).

A prevenção da toxoplasmose é realizada através de três medidas: primária, secundária e terciária.

1. Prevenção primária: o foco de prevenção da toxoplasmose congênita deve ser a educação de mulheres em idade fértil. Algumas medidas são importantes para prevenir a doença: cozinhar a carne até perder a coloração avermelhada, ou seja, aquecimento da carne a 66° C (irradiação gamma a 0,5kGy ou congelamento da carne por 3 dias, no freezer a -15° C podem inviabilizar os cistos teciduais); deixar as verduras, legumes e frutas de molho em solução de água com vinagre, lavando-os após em água corrente; não usar a faca e a tábua de cortar carne para outros alimentos antes de lavá-la; filtrar ou ferver a água utilizada para beber ou preparar os alimentos; manter os reservatórios de água fechados; evitar ou pelo menos limitar o contato com as fezes dos gatos (a infecção

dos gatos poderá ser reduzida através do consumo que eles fizerem de alimentos secos, enlatados ou cozidos); lavar as mãos e unhas após trabalhar na terra, horta ou jardim, ou usar luvas; evitar consumir ovos crus e leite não pasteurizado; eliminar moscas, baratas e ratos dando destino correto ao lixo doméstico e dejetos das criações de animais (1,13).

2. Prevenção secundária: o objetivo do screening sorológico no pré-natal é detectar e tratar infecções agudas pelo *T. gondii* em gestantes, a fim de reduzir as sequelas da toxoplasmose congênita. Se for detectada infecção recente, ecografias seriadas devem ser feitas a cada duas semanas para detectar dilatação ventricular, calcificações cerebrais ou hepáticas, ascite, hidropsia, ou outras anormalidades fetais.

Não há consenso da estratégia mais apropriada para o screening ou tratamento materno. Entretanto, é obrigatório na França e Áustria e, também, amplamente praticado na Alemanha, Suíça, Itália e Bélgica (3,18). Na França, desde o início do programa, em 1985, exames médicos pré-nupcial e pré-natal para detecção de anticorpos específicos para *Toxoplasma gondii* tem sido realizados. Quando uma mulher susceptível engravida, o teste é realizado no primeiro exame pré-natal, durante o primeiro trimestre, e seis exames adicionais são realizados, mensalmente, para detectar soroconversão. Adicionalmente, as gestantes são orientadas sobre medidas preventivas (17,48). Na Áustria, num programa nacional implementado, desde 1975, as gestantes são submetidas ao screening no 1º trimestre da gestação e, se os resultados forem negativos, retestadas no 2º e 3º trimestre (1).

Avaliando custos, um programa nacional de educação em saúde é menos oneroso do que o programa de screening e tratamento utilizado na França. A análise de Henderson mostrou que para a aplicação do programa de screening, no Reino Unido, o custo seria quatro vezes maior que a educação em saúde. Além disso, para ser custo-efetivo, deveria prevenir mais do que quatro vezes o número de casos de toxoplasmose. Considerando incerta a eficácia da espiramicina, os efeitos colaterais da sulfadiazina e

pirimetamina, a possibilidade de abortamentos baseados em métodos diagnósticos de infecção fetal sem a precisão adequada, os autores concluem que os programas de educação em saúde seriam a medida preventiva com melhores resultados (79).

O United Kingdom Working Group concluiu que o screening materno reduz o número de casos de doença fetal, mas com custo substancial. A raridade da doença e as limitações no diagnóstico e tratamento restringem a efetividade do screening (80,81). Deve-se considerar, também, os riscos associados à amniocentese para detecção de infecção fetal (81).

Estudos questionam o benefício em realizar screening pré-natal em alguns países, principalmente, quando a prevalência de toxoplasmose na gestação é baixa (3,38). Mittendorf *et al.* analisaram sua aplicação nos Estados Unidos e concluíram que na possibilidade da prevalência da doença ser rara, mesmo melhorando a especificidade dos testes, não pode superar a influência da raridade no valor preditivo positivo do teste (82).

Wallon *et al.* avaliaram todos os estudos randomizados de grupos de gestantes com evidência de infecção recente pelo toxoplasma, que não receberam tratamento. Concluíram que os efeitos da terapêutica nas gestantes com toxoplasmose necessitam ser avaliados antes que uma decisão possa ser feita com relação à utilidade geral do screening pré-natal, pois ainda é incerto que o tratamento reduza a transmissão vertical do *Toxoplasma gondii* (83). Esses achados reforçam a conclusão de outros autores que até sugerem não introduzir tecnologias diagnósticas até que o impacto de programas de rastreamento e a avaliação dos efeitos de tratamento sejam analisadas (26).

Através de metanálise, Peyron *et al.* deduziram que o custo do screening é elevado, e países, onde este rastreamento ainda não é aplicado, deveriam conduzir cuidadosas pesquisas antes de sua introdução (26).

O Colégio Americano de Obstetrícia e Ginecologia não o recomenda como rotina no pré-natal (17).

Por outro lado, um estudo finlandês, analisou o custo-benefício do screening para infecções primárias pelo *T. gondii* durante a gestação, comparando alternativas na sua realização ou não. Os resultados mostram que a aplicação do screening reduziu o custo anual da toxoplasmose congênita em 25%. Os autores concluíram que é benéfico em países com baixa incidência de toxoplasmose congênita, como a Finlândia (84).

3. Prevenção terciária: o screening neonatal é baseado na detecção de IgM-toxoplasma e, em alguns países, também de IgA (39). Seu objetivo é diagnosticar e tratar neonatos com toxoplasmose congênita subclínica, para prevenir complicações tardias e riscos de reativação, especialmente oculares. A falta de manifestações clínicas ao nascimento, na maioria das crianças infectadas, torna difícil o diagnóstico de toxoplasmose congênita sem um screening pré-natal ou neonatal (39). A sua utilização é defendida em alguns estudos e questionada, em outros, embora muitos países o adotem como rotina.

Evengard *et al.* acreditam que o screening neonatal é viável e prático na Suécia, considerando o benefício duvidoso do screening pré-natal, pela baixa prevalência de infecção materna primária neste país. Além disso, afirmam que seu custo é baixo, comparado com os custos envolvendo uma criança severamente comprometida. Julgam que os resultados do estudo poderão auxiliar na consideração de um screening neonatal na Suécia (41). Foulon *et al.* consideram que o screening neonatal pode ser uma ótima alternativa para o screening pré-natal, em regiões com baixa prevalência de toxoplasmose congênita (3).

Para avaliar a viabilidade e aceitabilidade de um programa de screening neonatal, Lebech *et al.* detectaram anticorpos IgM-toxoplasma através de papel filtro para

diagnóstico de fenilcetonúria. Resultados positivos de IgM e/ou IgA nas seis semanas de vida foi presente em 83% das crianças com toxoplasmose congênita. Nas demais, o diagnóstico foi estabelecido pela persistência de anticorpos IgG-toxoplasma aos doze meses de vida. A taxa de falso-positivo, através de papel filtro para detecção de fenilcetonúria, foi de 0,19/1000 e não houve falso-negativos. Eles concluíram que o programa é um método econômico e confiável, podendo identificar entre 75-80% dos casos de toxoplasmose congênita (35). Com base nos achados deste estudo, a Dinamarca aplica rotineiramente o screening neonatal para toxoplasmose congênita a todos os neonatos, desde 1999 (35). Screening neonatal também é aplicado, desde 1986 e 1988, na região de New England e New Hampshire, respectivamente, demonstrando um custo-benefício favorável (38).

Defensores do screening neonatal enfatizam que, embora a eficácia da metodologia não tenha sido comprovada através de um estudo randomizado, existem muitas evidências que a terapêutica de crianças infectadas congenitamente reduz significativamente sequelas neurológicas e oculares (38,85). Por outro lado, o United Kingdom Working Group acredita que são necessários estudos randomizados para determinar a eficácia do tratamento neonatal sobre as manifestações clínicas numa criança infectada (80).

No estudo de Naessens *et al.*, na avaliação de diferentes testes laboratoriais, a sensibilidade de IgM-toxoplasma, foi aproximadamente, 40% (67). Talvez explicada pelo fato de que as infecções, na primeira metade da gestação, resultam em anticorpos no sangue do cordão, em somente 10% dos casos, devido à imaturidade da resposta imunológica fetal antes de vinte semanas gestacionais. A curta duração dessa resposta, também, é influenciada pela terapêutica materna e aos estudos que incluem mais crianças infectadas no início da gravidez (3,41,66). Assim, o screening neonatal poderá detectar crianças infectadas de mães que tiveram a doença numa fase tardia da

gestação e que não receberam tratamento. A infecção intra-uterina, na fase precoce da vida fetal, representa maior risco de sequelas do que a infecção que ocorre tardiamente. Então, o screening neonatal, baseado na detecção de IgM e/ou IgA, poderá não identificar crianças infectadas congenitamente e com alto risco de desenvolver sequelas (3,66).

Portanto, a estratégia do screening neonatal tem sido dificultada pois poderá não detectar, aproximadamente, 25% das crianças infectadas, as quais são desprovidas de anticorpos IgM-toxoplasma, e que, provavelmente, infectaram-se no início da gestação (18). Assim, o screening neonatal poderá subestimar a incidência e as sequelas da toxoplasmose congênita (66).

2.6.13 Justificativa da pesquisa

A toxoplasmose adquirida pela gestante é subclínica, na grande maioria das vezes. Seu diagnóstico baseia-se nos exames sorológicos sistemáticos.

Dados da Secretaria de Saúde de Passo Fundo (86), a partir dos nascimentos da cidade no ano de 2001, demonstraram que 45% das gestantes não realizaram pré-natal ou o fizeram de maneira inadequada (até 4 consultas), dificultando, assim, a identificação de gestantes infectadas ou em risco de desenvolver toxoplasmose e, conseqüentemente, retardo no diagnóstico dos recém-nascidos acometidos. É importante considerar que alguns autores descrevem a demora no estabelecimento do diagnóstico e no início da terapia, como os fatores que contribuem para as incapacidades mais importantes nos recém-nascidos (59). Além disso, em 80-90% dos casos, são assintomáticos ao nascimento (1).

Há estimativas de que somente 60% dos neonatos no país (aproximadamente 270.000/mês) são submetidos ao screening neonatal (teste do pezinho), apesar da

obrigatoriedade por lei para o teste básico. A pesquisa de IgM-toxoplasma, em alguns tipos de testes, iniciou em 1995. Entretanto, o screening é realizado de acordo com o tipo de teste que os pais escolherem, com os custos pagos pelo sistema de saúde pública, plano de seguro de saúde ou pela própria família (87).

Em nosso meio, não existem estudos de prevalência de infecção pelo *Toxoplasma gondii* e de toxoplasmose congênita. Entretanto, considerando-se os hábitos da população de Passo Fundo e região, referente à culinária e ao predomínio de estilo de vida baseado na agricultura familiar de subsistência nas áreas rurais a incidência esperada de infecção toxoplásmica, na população, seria elevada.

Portanto, esses fatores correlacionados determinam a importância de estimar a prevalência de toxoplasmose congênita.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

O estudo propõe-se a determinar a prevalência de toxoplasmose congênita ao nascimento.

3.2 Objetivos específicos

1. Descrever variáveis neonatais: idade gestacional, crescimento intra-uterino, peso de nascimento, comprimento, perímetro cefálico e perímetro torácico.
2. Descrever variáveis maternas: idade, cor, classe econômica, escolaridade, estado civil, procedência, número de consultas de pré-natal, exame para toxoplasmose (método e trimestre da gestação), consumo de carne crua, mal cozida, ovo cru, ingestão de leite não pasteurizado e contato com gatos.
3. Observar a negatificação da sorologia e da PCR (reação em cadeia de polimerase) nos recém-nascidos que apresentarem exames positivos.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO DA LITERATURA

1. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p.205-346.
2. Sáfadi MAP, Farhat CK. Toxoplasmose. In: Farhat CK, Carvalho ES, Carvalho LHFR, Succi RCM. Infectologia Pediátrica. 2^a ed. Atheneu; 1999. p.612-19.
3. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. J Perinat Med 2000;28(5):337-45.
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. Andrade GMQ, Tonelli E, Oréfice F. Toxoplasmose. In: Tonelli E, Freire LMS. Doenças Infecciosas na Infância. 2^a ed. Rio de Janeiro: Medsi; 2000. p.1297-1339.
6. Amato Neto V, Marchi CR. Toxoplasmose. In: Cimerman B, Cimerman S. Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais. São Paulo: Atheneu; 1999. p.159-78.
7. Roberts F, Boyer K, McLeod R. Toxoplasmose. In: Katz SL, Gershon DA, Hotez PJ- Krugman-Doenças Infecciosas na Infância. RJ: McGrawhill; 1998. p. 421-44.

8. Frenkel JK. Toxoplasmose. In: Veronesi R, Focaccia R. Tratado de Infectologia. Vol 2. São Paulo: Atheneu;1996. p.1290-1305.
9. Macêdo V. Toxoplasmose. In: Castro LP, Cunha AS, Rezende JM. Protozooses Humanas. São Paulo: Fundo Editorial Byk; 1994. p.153-70.
10. Amato Neto V. Campos R. Toxoplasmose. Rio de Janeiro: Atheneu; 1970.
11. Kawazoe Urara. *Toxoplasma gondii*. In: Neves DP. Parasitologia Humana. São Paulo: Atheneu; 2000. p.147-56.
12. Dubey JP. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. *Vet Parasitol* 1996; 64:65-70.
13. Silveira CAM. In: Toxoplasmose – Dúvidas e Controvérsias. Avanços no Diagnóstico e Tratamento. Erechim:EDIFAPES; 2002. p.18-97.
14. Jones JL, Kruszon-Moran D, McQuillan G, Navin T, McAuley JB. *Toxoplasma gondii* in the United States: seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol* 2001;154(4): 357-65.
15. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMJ* 2000; 321 (7254):142-47.
16. 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.
17. Jones JL, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R. Congenital Toxoplasmosis: A Review. *Obstet Surv* 2001; 56(5):296-306.
18. Sánchez P. Congenital Toxoplasmosis. In: Feigin RD, Cherry JD. Textbook of Pediatrics infectious diseases. 4th ed. vol 1. Philadelphia: WB Saunders;1998. p.937-40.
19. Brock R, Segre CAM. Toxoplasmose congênita. In: Segre CAM. Perinatologia – Fundamentos e Prática. São Paulo: Sarvier; 2001. p.188-92.

20. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. *Lancet* 1999; 353(9167):1829-33.
21. Gavinet MF, Robert F, Firtion G, Delouvrier E, Hennequin C, Maurin JR, et al. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *J Clin Microbiol* 1997; 35(5):1276-77.
22. Hohlfeld P, Daffos F, Thulliez P, Aufrant C, Couvrer J, Mac Aleese J et al. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *The J of Pediatr* 1989;115:765-69.
23. 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 Obstetr Gynecol* 1999;180:410-5.
24. 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(6):1303-8.
25. Gilbert R, Dunn D, Wallon M, Hayde M, Prusa A, Lebech M, et al. Ecological comparison of the risk of mother-to-child transmission and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis according to prenatal treatment protocol. *Epidemiol Infect* 2001;127:113-20.
26. Martins-Costa SH, Valiati B, Ramos JGL. Infecções pré-natais. In: Freitas F, Martins-Costa SH, Ramos JGL, Magalhães JÁ. *Rotinas em obstetrícia*. 4^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2001. p.168-70.
27. Peyron F, Wallon M, Liou C, Garber P. Treatments for toxoplasmosis in pregnancy. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue 3, 2000. Oxford: update software.
28. Gratzl R, Sodeck G, Platzer P, Jager W, Graf J, Pollak A, et al. Treatment of Toxoplasmosis in pregnancy: concentrations of spiramycin and neospiramycin in maternal serum and amniotic fluid. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;21(1):12-6.

29. Petersson K, Stray-Pedersen B, Malm G, Forsgren M, Evengard B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in Sweden. *Acta Obstetric et Gynecology Scand* 2000;79 (10):824-29.
30. Varella IRS. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em uma população de gestantes. [Tese de Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Programa de pós-graduação em Epidemiologia], 2001.
31. Vaz AJ, Guerra EM, Ferratto LCC, Toledo LAS de, Azevedo Neto RS de. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em centros de saúde da área metropolitana, Brasil. *Rev Saúde Pública* 1990;24 (5):373-79.
32. Meirelles Filho J. Toxoplasmose e gravidez: inquérito sorológico em gestantes e seus recém-nascidos na Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *J Bras Ginecol* 1985;95(9):393-401.
33. Nóbrega MC, Magalhães V, Albuquerque Y, Magalhães C, Arcoverde C, Castro C. Toxoplasmose em gestantes e em seus recém-nascidos, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. *Rev Bras de Med* 1999; 56(supl):23-9.
34. Matsui D. Prevenção, Diagnóstico e Tratamento da Toxoplasmose Fetal. *Clínicas de Perinatologia* 1994: 663-77.
35. 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(9167):1834-37.
36. Freij BJ, Sever JL. Toxoplasmosis. *Pediatrics in Rev* 1991;12:227.
37. Labadie MD, Hazemann JJ. Contribution of health check-ups in children to the detection and epidemiologic study of congenital toxoplasmosis. *Ann Pediatr* 1984; 31: 823-28.
38. Guerina NG, Hsu H-W, 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.

39. Magorzata P, Petersen E, Szczapa J. Prevalence of congenital toxoplasma gondii infection among newborns from the Pozna 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(5):1912-16.
40. Berger R, Merkel S, Rudin C. Toxoplasmosis and pregnancy: findings from umbilical cord blood screening in 30.000 newborn infants. *Schweiz Med Wochenschr* 1995; 125(23):1168-73.
41. Evengard B, Petersson K, Engman ML, Wiklund S, Tear-Fahnehjelm K, Forsgren M, et al. Low incidence of toxoplasma infection during pregnancy and in newborns in Sweden. *Epidemiol Infect* 2001; 127(1):121-27.
42. Castilho EA. An estimation of the incidence of congenital toxoplasmosis in São Paulo city, Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1976; 18:202-5.
43. Coutinho SG, Garcia AP, Amendoeira MRR, Assumpção MR, Nicola A. Detection of newborn infants at risk for congenital toxoplasmosis in Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1983; 25(1):25-30.
44. Oliveira-Bahia LMG, Abreu AMW, Azevedo-Silva J, Oréfice F. Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. *International J for Parasitol* 2001;31:115-44.
45. Neto EC. One Year experience on neonatal screening for congenital toxoplasmosis in South Brazil. *Proceedings of the 3 rd International Neonatal Screening Symposium, October 21-24, Boston, Massachusetts, USA, 1996; p. 68-70.*
46. Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Cshulte J, Becker D, et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol* 2000; 29(5):941-47.
47. Pedreira DAL. Contribuição ao estudo da toxoplasmose congênita. [Dissertação de mestrado – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – Departamento de Obstetrícia], São Paulo, 1995.
48. Thulliez P. Screening program for congenital toxoplasmosis in France. *Scand J Infect Dis Suppl* 1992;84:43-45.

49. Couvrer J. Le problème de la toxoplasmose congénitale. L'évolution sur quatre décennies. *Presse Med* 1999;28:753-7.
50. Freij BJ, Sever J. Chronic Infections. In: Avery GB, Fletcher MA, MacDonald MG. 50th ed. Philadelphia: Lippincott; 1999. p. 1130-38.
51. Newton ER. Diagnosis of perinatal TORCH infections. *Clin Obstetr Gynecol* 1999;42(1):59-70.
52. Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY. Infecções congênitas e perinatais. *J Pediatr* 1999;75(1):15-30.
53. Melamed J, Dornelles F, Eckert GU. Alterações tomográficas cerebrais em crianças com lesões oculares por toxoplasmose congênita. *J Pediatr* 2001;77(6):475-80.
54. Franceschetti A & Bamatter F. Toxoplasmosis ocular. Diagnóstico clínico, anatómico e histopatológico de las afecciones toxoplásmicas. *Acta I Congr Lat Amer Ophtalm* 1953;1:315-45.
55. McLeod R, Remington JS. Toxoplasmosis. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Textbook of Pediatrics*. 16th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2000. p.1054-62.
56. Koppe JG, Loewer Soeger DH, de Roever Bonnet H. Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. *Lancet* 1986;254-6.
57. Gilbert RE, Stanford MR. Is ocular toxoplasmosis caused by prenatal or postnatal infection? *Br J Ophthalmol* 2000; 84(2):224-26.
58. Müssbichler H. Radiologic study of intracranial calcifications in congenital toxoplasmosis. *Acta Radiol* 1968;7:369-79.
59. McAuley J, Boyer KN, Patel D, Mets M, Swisher 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(1):38-72.
60. Camargo ME. Toxoplasmose. In: Ferreira AW, Ávila SLM. *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes*. 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 278-87.

61. Fuentes I, Rodriguez M, Domingo CJ, Castillo F, Juncosa T, Alvar J. Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2368-71.
62. Vidigal PV, Santos DV, Castro FC, Couto JC, Vitor RW, Brasileiro FG. Prenatal toxoplasmosis diagnosis from amniotic fluid by PCR. *Rev Soc Bras Med Trop* 2002;35(1):1-6.
63. Romand S, Wallon M, Franck J, Thulliez P, Peyron F, Dumon H. Prenatal diagnosis using polymerase chain reaction on amniotic fluid for congenital toxoplasmosis. *Obstetr Gynecol* 2001;97(2):296-300.
64. 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 Obstetr Gynecol* 1999;181(4):843-7.
65. Miúra E. Toxoplasmose congênita. In: Miúra E, Procianoy RS. *Neonatologia*. 2 ed. Porto Alegre: Artes Médicas; 1997. p.338-44.
66. 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(6): 714-19.
67. Hofgärtner WT, Swanzy SR, Bacina RM, Condon J, Gupta M, Matlock PE. et al. Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*. Evaluation of four commercial immunoassay systems. *J Clin Microbiol* 1997;35(12):3313-15.
68. Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Warw W. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. Evaluation of six commercial Kits for detection of human IgM antibodies to *toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 1997;35(12): 3112-15.
69. Pelloux H, Ciapa P, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Evaluation du systeme Vidas pour le diagnostic serologique de la toxoplasmose. *Ann Biol Clin* 1993;50:875-878.

70. McLeod R. Levels of pyrimethamine in sera and cerebrospinal and ventricular fluids from infants treated for congenital toxoplasmosis. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36(5):1040.
71. Guerina NG. Congenital infection with *Toxoplasma gondii*. *Pediatr Ann* 1994;23:138.
72. Djurkovic-Djakovic O, Romand S, Nobrè R, Couvreur J, Thulliez P. Serologic rebounds after one-year-long treatment for congenital toxoplasmosis. *The Ped Infect Dis J* 2000;19(1):81-3.
73. Fortier B, Coignard-Chatain C, Dao A, Rouland V, Valat AS, Vinatier D, et al. Study of developing clinical outbreak and serological rebounds in children with congenital toxoplasmosis and follow-up during the first 2 years of life. *Arch Pediatr* 1997;4(10):940-6.
74. 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(9):534-40.
75. Kahi S, Cozon GJ, Pinon JM, Greenland T, Wallon M, Al Kurdi M, et al. A switch towards Th2 during serological rebound in children with congenital toxoplasmosis. *Clin Exp Immunol* 1999;117(3):524-8.
76. Patel DV, Holfels BS, 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.
77. Sever JL. Toxoplasmosis. Maternal and pediatric findings in 23000 pregnancies. *Pediatrics* 1988;82(2):181.
78. Dubey JP. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. *Vet Parasitol* 1996;64:65-70.
79. Jeannel D, Costagliola D, Niel G, Hubert B, Danis M. What is know about the prevention of congenital toxoplasmosis? *Lancet* 1990;336:359-61.
80. Gilbert RE, Peckham CS. Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen? *J Med Screen* 2002;9:135-41.

81. Bader TJ, Marcones GA, Asch DA. Prenatal screening for toxoplasmosis. *Obstetr & Gynecol* 1997;90(3):457-64.
82. Mittendorf R, Pryde P, Herschel M, Williams M. Is routine antenatal toxoplasmosis screening justified in the United States? Statistical considerations in the application of medical screening tests. *Clin Obstetr Gynecol* 1999;42(1):163-73.
83. Wallon M, Liou C, Garner P, Peyron F. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy in treatment in pregnancy. *BMC Meeting Abstracts: 9th international cochrane colloquium* 2001;1:47.
84. Lappalainen M, Sinronen H, Koskiniemi M, Hedman K, Hiilesmaa V, Ämmälä P, et al. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Scand J Infect Dis* 1995;27:265-72.
85. Roizen N, Swisher G, Stein MA, Hopkins J, Boyer KM, Holfels E, et al. Neurologic and developmental outcome in treated congenital toxoplasmosis. *Pediatrics* 1995;95(1):11-20.
86. Secretaria da Saúde de Passo Fundo, Serviço de informações de nascimentos, 2001.
87. Neto EC, Schulte J, Anele E, Rubim R, Portal L, Giugliani R, et al. A comprehensive screening program in south Brazil. *South Asian J Trop Med and Public Health* 1999;30(2):47-8.

5 ARTIGO EM INGLÊS

**PREVALENCE OF CONGENITAL TOXOPLASMOSIS IN THE NORTHERN REGION
OF RIO GRANDE DO SUL: A PROSPECTIVE STUDY IN PASSO FUNDO**

Mozzatto, Liége¹; Procianoy, Renato Soibelman²

¹ Pediatrician, Head of the Residency Program in Pediatrics, Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, State of Rio Grande do Sul;

² Professor of Pediatrics, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Head of the Neonatology Division of Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Rio Grande do Sul.

The present study was carried out at Hospital Universitário São Vicente de Paulo - Teaching Hospital affiliated with the School of Medicine of Universidade de Passo Fundo.

Correspondence to:

Liége Mozzatto

Rua Teixeira Soares 777/608

CEP 99010-081 - Passo Fundo, RS

E-mail: ped.liege@razaoinfo.com.br

SUMMARY

Objective: To determine the prevalence of congenital infection by *Toxoplasma gondii*, and to describe neonatal and maternal characteristics regarding newborn infants treated at a teaching hospital in the town of Passo Fundo, in the State of Rio Grande do Sul, Brazil.

Methods: Cord blood samples collected from 1250 live newborns were analyzed. The laboratory diagnosis was established by the detection of *Toxoplasma gondii* IgM using enzyme linked fluorescent assay. Gestational age, intrauterine growth, anthropometric measures and prenatal characteristics were assessed.

Results: The prevalence of congenital toxoplasmosis at birth was 8/10.000 (95%CI 0,2-44,5). The mean birthweight and gestational age were respectively 3080±215,56 grams and 38,43±1,88 weeks. With regard to prenatal care, 58% of the pregnant patients visited their doctors five times or more and 38,9% were serologically tested for toxoplasmosis in the first trimester of pregnancy.

Conclusion: The prevalence of congenital toxoplasmosis was similar to that found in most studies conducted in our country and abroad. The distribution of the study population was similar to that of Passo Fundo and 72,5% of births in the town took place at Hospital São Vicente de Paulo. Although our study sample can be considered to be representative of the town of Passo Fundo, the data obtained show the prevalence of congenital toxoplasmosis in the population treated at Hospital São Vicente de Paulo.

Keywords: Congenital infection, toxoplasmosis, neonatal screening.

PREVALENCE OF CONGENITAL TOXOPLASMOSIS IN THE NORTHERN REGION OF RIO GRANDE DO SUL: A PROSPECTIVE STUDY IN PASSO FUNDO

Introduction

Toxoplasmosis is a ubiquitous zoonosis caused by *Toxoplasma gondii*. The disease was discovered by Splendore, in Brazil, and Nicolle and Manceaux, in Tunisia, in 1908. Janku described, in 1923, the congenital form of the disease in an infant with hydrocephalus and microphthalmia. (1) Individuals usually get infected by the consumption of contaminated water and food sources containing oocysts, or by the ingestion of uncooked or undercooked meat containing tissue cysts. Other forms of transmission include blood transfusions, organ transplantation and laboratory accidents. Fetal transmission occurs hematogenously through the placenta. (1,2)

Fetal involvement results from acute infection in the mother; however, those mothers with chronic infection can transmit the disease by reactivation, which is caused by an immunological dysfunction. (1,3) The rate of fetal transmission during primoinfection is 25%, 54% and 65%, in the first, second and third trimester, respectively. (2) The treatment of pregnant women is believed to prevent serious sequelae in newborn infants, but it does not avoid fetal transmission; therefore, the outcome is certainly better the earlier the treatment. (4)

The severity of the disease is inversely proportional to gestational age. The clinical status varies enormously. Approximately two thirds of newborn infants are asymptomatic at birth, but can develop sequelae, such as microcephalia, hydrocephalus, chorioretinitis, uveitis, deafness and delayed psychomotor development, at a later time. (5) The classical tetrad of hydrocephalus, chorioretinitis, intracranial calcifications and mental retardation is not necessarily present in all cases.

Serological tests, especially immunoenzyme assays, are the routine exams for the diagnosis of the disease. The detection of IgM and/or IgA and/or IgE anti-toxoplasma antibodies in cord blood or in the newborn's blood establishes the diagnosis. (2,5,6) Also, it is possible to detect the parasite in body fluids by isolating it in tissue culture or by inoculation into mice, by the detection of parasitic antigens and toxoplasma DNA using

polymerase chain reaction (PCR). (2,5)

The treatment of congenitally infected infants with pyrimethamine, sulfadiazine and folinic acid, implemented within the first month of life and extended for the first year of life, improves the prognosis, reducing the frequency and severity of later sequelae. Late diagnosis and delayed treatment implementation contribute towards remarkable incapacities. (7)

The prevalence of congenital toxoplasmosis in Passo Fundo is still unknown. Dwellers of this town have a high ingestion of meat, with rates similar to the neighboring town of Erechim, which is known for the high frequency of congenital toxoplasmosis. (8) In 2001, 45% of pregnant women living in Passo Fundo did not have prenatal care or received it in an inadequate manner. This hinders the identification of pregnant women at risk for toxoplasmosis. (9)

The aim of the present study was to determine the prevalence of congenital toxoplasmosis at birth and to describe neonatal and maternal variables.

Material and Methods

This prevalence study was carried out at Hospital São Vicente de Paulo, in Passo Fundo, state of Rio Grande do Sul. The analysis of cord blood was conducted at the Lavoisier-Labcenter laboratory, located in the same town. The screening for *Toxoplasma gondii* DNA in blood and cerebrospinal fluid (CSF) was performed at the DNA Reference laboratory, in Porto Alegre, the state capital. The study was approved by the Scientific and Ethics Committees of the do Graduate Research Group of Hospital de Clínicas de Porto Alegre and of Hospital São Vicente de Paulo in Passo Fundo.

After consent by the assistant physician and the written consent by the patient and her family at admission to the maternity ward, all live newborns were included in the study. After delivery and afterbirth, 2 ml of cord blood were collected. The samples were centrifuged for 5 minutes at 3500 rpm, separated, quantitated and stored at -20 °C until later analysis. The serum obtained was screened for IgM anti-toxoplasma antibodies using ELFA (enzyme linked fluorescent assay) method, on the mini VIDAS system (bioMérieux). ELFA is an IgM capture test with a final detection in fluorescence, with the

following indices: $i < 0,55$, negative; $i \geq 0,65$, positive and $0,55 \leq i < 0,65$, undetermined. A positive and a negative control were used for recalibration of the device and for the confirmation that reagents were unaltered whenever a new MINIVIDAS TOXO IgM kit was opened.

Next, a questionnaire for the mother/newborn characteristics was filled out, with the following data on the mother: age, socioeconomic status, years spent in school, marital status, number of prenatal consultations, serological tests for toxoplasmosis every three months, type of serological test used, treatment against toxoplasmosis during pregnancy, ingestion of uncooked or undercooked meat, ingestion of unpasteurized milk, uncooked eggs, and presence of cats at home or in the workplace. The data collected on the newborn were the following: weight, gestational age, intrauterine growth, length and head and chest circumference at birth. Aside from the interview, information contained in the prenatal records was used. The socioeconomic status was determined by the Economic Classification of the Brazilian Population. (10) The anthropometric measures were obtained according to the recommended techniques, gestational age was determined by the method of Capurro, (11) and intrauterine growth was assessed by the curve of Battaglia and Lubchenco. (12)

The protocol included the collection of venous peripheral blood (2ml in vacutainer with EDTA) for every newborn infant who tested positive for IgM. In addition, 30 drops of CSF were collected for the investigation of toxoplasma DNA by PCR, for follow-up of IgM titers during neonatal treatment and for the collection of blood from the mother for the quantitation of anti-toxoplasma IgM (ELFA). The salting-out and GFXTM Genomic Blood DNA Purification methods were used for the extraction of DNA from blood and cerebrospinal fluid, respectively. Nested DNA amplification was also employed.

A sample of 1195 newborns was assessed, with a prevalence of approximately five cases/1.000 live births and a 95%CI. The population rate was estimated by the 95%CI, based upon a binomial distribution. Neonatal and maternal variables were categorized by simple frequency tables. The mean and standard deviation were calculated for some variables.

Results

Between July 2001 and February 2002, 1250 cord blood samples were collected. One newborn infant tested positive for IgM at birth ($i=10,13$), showing subclinical infection. On the examination of the ocular fundus under mydriasis, the newborn showed bilateral cicatricial chorioretinitis in the temporal region, whereas the CSF analysis revealed 65 cells mm^3 , 24% of neutrophils, 76% of monocytes, 30% of lymphocytes, 0% of eosinophils, 23mg% of glucose, 109mg% of proteins, ++ globulins. The prevalence of congenital toxoplasmosis was 8/10.000 (95%CI 0,2-44,5). The serological test was repeated in the newborn on the 5th, 30th, 60th, 90th and 120th days. The results were respectively: 10,10; 8,22; 1,8; 0,95; 0,43. PCR in venous peripheral blood and in CSF was negative. The quantitation of IgM of the seropositive mother was 4,55.

The mean weight and the mean gestational age of the studied sample were $3080\pm 215,56$ grams and $38,43\pm 1,88$ weeks. The intrauterine growth of most newborns (72%) was adequate for gestational age and 22,9% of them were below the 10th percentile on the growth curve. Among these, 15,3% were preterm and 7,6% full-term babies. Length, and head and chest circumference are shown in Table 1.

The age of pregnant women ranged between 13 and 46 years (mean $25,6\pm 6,9$) and the mean time spent in school was $8,3\pm 2,9$ years. The distribution in terms of socioeconomic status and marital status is shown in Table 2. Table 3 shows the eating habits and contact with cats.

Only 3,4% of pregnant patients did not receive any prenatal care, whereas 58% visited their doctors more than five times. Of 1250 pregnant women, 1001 were tested at least once for toxoplasmosis in the prenatal period, 187 were not submitted to any test, 62 did not know whether they were serologically tested, and 498 (39,8%) pregnant patients were submitted to more than one serological test during their pregnancy. The distribution of the number of pregnant women who were submitted to antitoxoplasma serology per gestational trimester was: 486 in the first, 515 in the second, and 444 in the third trimester. The following serological tests were requested: indirect immunofluorescence (76,5%), MEIA (15,8%) and ELFA (7,7%).

Six pregnant women received spiramycin and one HIV-positive pregnant patient received pyrimethamine, sulfadiazine and folic acid during prenatal care. All the infants

born to these mothers tested negative for IgM-toxoplasma and did not show any disorder on physical examination at birth.

During the study period, there were 1735 deliveries in the four town hospitals, of which 1257 (72,5%) occurred at Hospital São Vicente de Paulo. Seven cord blood samples were lost during the study, among which five included positive tests for toxoplasmosis in the prenatal period. All of the newborns did not show any disorder on physical examination. The distribution of the study population, according to the Economic Classification of the Brazilian Population, was as follows: A1 (0,6%), A2 (3,0%), B1 (4,6%), B2 (7,3%), C (30,9%), D (42,3%), E (11,3%).

Discussion

The analysis of the results obtained shows that the prevalence of congenital toxoplasmosis in the study population is similar to other studies described in the literature, ranging from 0 to 100/10.000 live births, according to socioeconomic, cultural, ethnic, and climatic factors of the study population and to the type of parasite strain. (2,13) The prevalence of the disease per 10.000 births was 7 in New York, 53 in Germany, 86 in Austria and 30 in Paris, where pregnant women are at a high risk for toxoplasmosis. (2) Some Brazilian studies have revealed frequencies between 2-20/10.000 live births, (14,15,16) but a study carried out in the state of Pernambuco indicated a high frequency in newborns of mothers with primoinfection, 1250/10.000 live births (95%CI 3,5-29%). (17) In these studies, however, the serological methods were different, with some variability in terms of specificity, sensitivity, positive and negative predictive values. A program for neonatal screening for the detection of IgM-toxoplasma antibodies, EIA (enzyme immunoassay), was implemented in Porto Alegre by the Center for Neonatal Screening and Nobel RIE Laboratory, and tested between 1995 and 1996. The approximate prevalence in the State was two cases per 10.000 live births. (14) This finding may not represent the actual frequency of the disease, since not all newborns are submitted to neonatal screening for toxoplasma antibodies (18) and also because the method used has a sensitivity of 61,2% and a specificity of 88,8%. (19)

The present study was conducted at a hospital that handles most deliveries in the town of Passo Fundo and attends to pregnant women from all socioeconomic classes. (9)

The distribution of the study population, according to the Economic Classification of the Brazilian Population, was similar to that of Passo Fundo, and is classified as: A1 (0,5%), A2 (4,5%), B1 (8,3%), B2 (13,2%), C (46,0%), D (22,5%), E (5,0%). (20) In addition, during the study, 72,5% of births in the town took place at Hospital São Vicente de Paulo and 88,6% of the patients were from Passo Fundo. Although our study sample can be considered to be representative of the town of Passo Fundo, the data obtained show the prevalence of congenital toxoplasmosis in the population treated at Hospital São Vicente de Paulo between July 2001 and February 2002.

Three factors that influence primoinfection in pregnant women should be taken into consideration in order to explain the prevalence rate in a given population. First, the prevalence of infection in the community; secondly, the frequency of possible contacts with sources of infection; and thirdly, the number of women of childbearing age who have not had primoinfection yet. (1) In some regions of the state, the rate of toxoplasma infection was higher (86%) (21), than that found in most studies conducted in our country. Nevertheless, the highest prevalence of congenital toxoplasmosis in Erechim (2,1%) (8) might result from a more intense and chronic exposure of mothers to the parasite than elsewhere, (22) in addition to the fact that type I strains are more virulent and frequent in town. (13) Researchers have underscored the high differentiation of the seropositivity of the disease, even in nearby regions. (21)

In our environment, neither the prevalence of toxoplasma infection in the community nor the frequency of susceptible pregnant women in the first prenatal consultation (seronegative) is known. This consultation could identify pregnant women at higher risk for fetal transmission of toxoplasmosis at the beginning of pregnancy. In this study, 702 (56,2%) pregnant patients were not serologically tested during their first trimester of pregnancy and 62 women did not know about the serological exam.

Naessens *et al.* have assessed the sensitivity and specificity of the tests with titers of IgM and IgA, in blood samples and cord blood samples collected from newborns. Sensitivity was similar and the total specificity of tests with neonatal blood was better than that of tests with cord blood: specificity of IgM and IgA in neonatal blood is 99%, where the specificity in cord blood is 96% and 92%, respectively. (6) Notwithstanding, we opted for cord blood due to the sample size needed and also to avoid invasive procedures.

We tested the IgM antibody, since it does not usually cross the placenta at any time during pregnancy (except for placentitis); being used as the basis for the diagnosis of

congenital infection. (1) Nevertheless, the screening for IgA is more sensitive, (1,3,6) but the specificity is limited due to the greater possibility of passive transfer of antibodies from the mother. (1) On the other hand, the detection of segments of the parasite by PCR is regarded as diagnostic. (1) Despite the high sensitivity of this test, (1) Bastien believes that the PCR does not have a sufficient sensitivity level for the toxoplasma. (23) There is, however, no doubt over its benefits to diagnosis. Fuentes *et al.* (24) have detected *Toxoplasma gondii* by PCR in the blood and CSF of three out of four newborns with congenital infection.

This serological method is preferred due to the fact that this technique includes a capture IgM. This eliminates the interference of a specific IgG, which causes false-negative results, and the interference of the rheumatoid factor and of antinuclear antibodies, which cause false-positive results, in most cases. ELFA (enzyme linked fluorescent assay) has high sensitivity and specificity, ranging between 93,5% and 99,3%, respectively. All the phases of this test are automatically performed. (25) Wilson *et al.* (26) have assessed six commercially available tests and found a sensitivity and specificity of respectively 100% and 98,6% for VIDAS Toxo IgM. The rate of equivocal results was 0,9%. The most cost-effective methods are those with a better combination of sensitivity and specificity and few equivocal results. (26) Pelloux *et al.* (27) have found a sensitivity of 100% and a specificity of 97% for this method. An assessment of four diagnostic methods for the detection of IgM-toxoplasma has shown discrepancy between the tests, indicating that it is important to consider the prevalence of the disease in the population to which these tests are to be applied. ELFA was the most specific test with the highest negative predictive value, 99,3% and 98,7%, respectively. (28) Therefore, we can say that this laboratory test proved adequate for our key objective, since a sensitivity of 100% and a high negative predictive value are desirable when attempting to identify infected newborns. (29)

As the prevalence of congenital toxoplasmosis estimated in this study was low, the negative predictive value of the test used by us was high. (29) Therefore, the probability of false-negative results was minimal, whereas that of false-positives would be greater, since the test-positive newborn showed signs of the disease. This, however, did not occur in our study.

Naessens *et al.* (6) have stated that early-infected infants are less frequently positive for IgM and IgA at birth due to the lack of immune response of the fetus before 20-22 gestational weeks and to the short duration of this response. Studies that include

more infected infants before 20 weeks can have less sensitivity to the test than those studies in which infants become infected at a later time. (6)

Some eating habits observed in the study have been reported in surveys that determine risk factors for toxoplasma infection in pregnant women. For Cook *et al.*, (30) the main risk factor was the ingestion of uncooked meat (30%) or undercooked meat (63%), as well as the ingestion of unpasteurized milk. Kapperud *et al.* (31) have observed that the patients with infection during pregnancy had had daily contact with cats at a higher frequency than the controls (OR = 3,6). These authors suggest case-control studies for the identification of the major risk factors, in different populations, with the aim of prioritizing the guidelines for the prevention of acute infection in pregnant women. (31)

We believe that the screening for capture IgM (ELFA) in cord blood is an important tool for the detection of newborns probably infected by *Toxoplasma gondii*, given its relatively low cost compared to more sophisticated methods and due to its accuracy as well. (32) In a situation in which the frequency of clinical manifestations at birth is low and the serological data of mothers are not always available, it is essential to establish an early diagnosis and offer infected infants proper treatment. (32)

Acknowledgments

We thank FAPERGS (Research Foundation of the State of Rio Grande do Sul) for its support.

References

1. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 205-346.
2. Freij BJ, Sever JL. Toxoplasmosis. *Pediatr Rev* 1991 Feb; 12:227-36.
3. Beazley DM, Egerman RS. Toxoplasmosis. *Seminars in Perinatology* 1998;2(4):332-38.
4. Peyron F, Wallon M, Liou C, Garber P. Treatments for toxoplasmosis in pregnancy. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*. In: *The Cochrane Library*, Issue, 2000. Oxford: update software.
5. Wilson CB, Remington JS, Stagno S. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital toxoplasma infection. *Pediatrics* 1980; 66:767-74.
6. Naessens A, Jenum PA, Pollak A. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period: a multicenter evaluation. *J Pediatr* 1999;135:714-9.
7. McAuley J, Boyer KM, Patel D, Mets M, Swisher 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(1):38.
8. Silveira CAM. Estudo da toxoplasmose ocular na região de Erechim-RS [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 1997.
9. Secretaria da Saúde de Passo Fundo, Serviço de Informações de Nascimentos, 2001.
10. ANEP (Associação Nacional das Empresas de Pesquisas), ABA (Associação Brasileira de Anunciantes), ABIPEME (Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercado). Critério de Classificação Econômica Brasil. *Revista M&M*; 1997.

11. Capurro H, Konichewsky S, Fonseca D. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1978; 93:120-2.
12. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 1967; 71:159.
13. Melamed J. Peculiaridades da toxoplasmose no Rio Grande do Sul. *Arq Bras Oftal* 1988; 51(5):197-200.
14. Neto EC. One Year experience on neonatal screening for congenital toxoplasmosis in South Brazil. Proceedings of the 3 rd International Neonatal Screening Symposium, October 21-24, Boston, Massachusetts, USA, 1996; p.68-70.
15. Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Cshulte J, Becker D, et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol* 2000; 29(5): 941-47.
16. Oliveira-Bahia LMG, Abreu AMW, Azevedo-Silva J, Oréface F. Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. *Int J Parasitol* 2001; 31:115-44.
17. Nóbrega MC, Magalhães V, Albuquerque Y, Magalhães C, Arcoverde C, Castro C. Toxoplasmose em gestantes e em seus recém-nascidos, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. *Rev Bras Med* 1999; 56(supl): 23-9.
18. Neto EC, Schulte J, Anele E, Rubim R, Portal L, Giugliani R, et al. A comprehensive screening program in south Brazil. *Southeast Asian J Trop Med and Public Health* 1999; 30(2): 47-8.
19. Pinon JM, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J Clin Microbiol* 2001; 29(6): 2267-71.
20. Qualidata Survey – Pesquisa de Mercado e Opinião Pública, Passo Fundo, 2002.
21. Melamed J, Raffin NN, Agnes MJ. Toxoplasmose no Rio Grande do Sul - Inquérito sorológico no interior do Estado. *Rev Pat Trop* 1981; 10(1): 1-7.

22. Spalding SM. Acompanhamento de gestantes com risco de transmissão de infecção congênita por *Toxoplasma gondii*, na região do Alto Uruguai, RS, Brasil – Diagnóstico e aspectos epidemiológicos [tese]. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2000.
23. Bastien P. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; 96 suppl 1:205-15.
24. Fuentes I, Rodriguez M, Domingo CJ, Castillo F, Juncosa T, Alvar J. Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2368-71.
25. bioMérieux as, laboratory. VIDAS TOXO IgM (TXM), France.
26. Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Warw W. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. Evaluation of six commercial Kits for detection of human igM antibodies to *toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 3112-15.
27. Pelloux H, Ciapa P, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Evaluation du systeme Vidas pour le diagnostic serologique de la toxoplasmose. *Ann Biol Clin* 1993; 50:875-78.
28. Hofgärtner WT, Swanzy SR, Bacina RM, Condon J, Gupta M, Matlock PE, et al. Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*. Evaluation of four commercial immunoassay systems. *J Clin Microbiol* 1997;35(12): 3313-15.
29. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. *Epidemiologia clínica: elementos essenciais*. 3ª ed. Artes Médicas: Porto Alegre; 1996.p.52-82.
30. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMJ* 2000; 321(7254):142-47.
31. Kapperud G. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: results of a prospective case-control study in Norway. *Am J Epidemiol* 1996; 144:405-12.
32. Berger R, Stürchler D, Rudin C. Cord blood screening for congenital toxoplasmosis: detection and treatment of asymptomatic newborns in Basel, Switzerland. *Scand J Infect Dis – suppl* 1992; 84:46-50.

Tables

Table 1. General characteristics of 1250 infants born in Passo Fundo (RS) between July 2001 and February 2002, regarding weight, gestational age, length and head and chest circumference.

Variables	n	%
Birthweight (g) ¹	3080 ± 215,56	
<1500	35	(2,8)
1500 – 2499	311	(24,9)
2500 – 3999	829	(66,3)
≥ 4000	75	(6,0)
Gestational age (weeks) ¹	38,43 ± 1,88	
<37	208	(16,7)
37 – 42	1038	(83,0)
≥ 42	4	(0,3)
Length (cm) ¹	48,5 ± 1,1	
Head circumference (cm) ¹	34,2 ± 1,7	
Chest circumference (cm) ¹	32,3 ± 1,3	

¹Values expressed as mean and standard deviation

Table 2. Characteristics of pregnant patients who gave birth to 1250 infants in Passo Fundo (RS), between July and February 2002, regarding socioeconomic status and marital status

Variables	n	%
Socioeconomic status		
A1	7	(0,6)
A2	37	(3,0)
B1	58	(4,6)
B2	91	(7,3)
C	386	(30,9)
D	530	(42,3)
E	141	(11,3)
Marital status		
Single	170	(13,6)
Married	458	(36,6)
Cohabiting	602	(48,2)
Widowed	3	(0,2)
Divorced	17	(1,4)

Table 3. Characteristics of pregnant patients who gave birth to 1250 infants in Passo Fundo (RS), between July 2001 and February 2002, regarding eating habits and contact with cats

Variables	n	%
Antitoxoplasmosis treatment	7	(0,6)
Contact with cats	696	(55,7)
Ingestion of undercooked meat	463	(37,0)
Ingestion of uncooked meat	791	(63,3)
Ingestion of unpasteurized milk	504	(40,3)
Ingestion of uncooked eggs	960	(76,8)

6 ARTIGO EM PORTUGUÊS

**PREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA NO NORTE DO ESTADO: UM
ESTUDO PROSPECTIVO EM PASSO FUNDO**

Mozzatto, Liége¹; Procianoy, Renato Soibelman²

¹ Pediatra, Chefe do Programa de Residência Médica em Pediatria do Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS; ² Professor Titular de Pediatria da UFRGS, Chefe do Serviço de Neonatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, RS.

Trabalho realizado no Hospital Universitário São Vicente de Paulo – Hospital Escola da Faculdade de Medicina da Universidade de Passo Fundo.

Endereço para correspondência:

Liége Mozzatto

Rua Teixeira Soares 777/608

CEP 99010-081 – Passo Fundo, RS

E-mail: ped.liege@razaoinfo.com.br

RESUMO

Objetivos - Determinar a prevalência de infecção congênita pelo *Toxoplasma gondii* e descrever características neonatais e maternas, em recém-nascidos atendidos em Hospital Universitário de Passo Fundo, RS.

Métodos - Foram analisadas amostras de sangue do cordão umbilical de 1250 recém-nascidos vivos. O diagnóstico laboratorial foi realizado através da detecção de IgM-toxoplasma gondii pelo método ELFA (enzyme linked fluorescent assay), no aparelho MINIVIDAS. Avaliou-se a idade gestacional, o crescimento intra-uterino, as medidas antropométricas e características gerais do pré-natal.

Resultados - A prevalência de toxoplasmose congênita ao nascimento foi de 8/10.000 (IC 95% 0,2-44,5). A média do peso de nascimento e idade gestacional foi $3080 \pm 215,56$ gramas e $38,43 \pm 1,88$ semanas, respectivamente. Em relação ao pré-natal, 58% das gestantes realizaram 5 ou mais consultas e, 38,9%, realizaram sorologia para toxoplasmose no 1º trimestre da gestação.

Conclusões - Observou-se uma prevalência de infecção congênita ao toxoplasma similar à encontrada na maioria dos estudos realizados no país e exterior. A distribuição da população estudada foi similar a de Passo Fundo e 72,5% dos nascimentos da cidade ocorreram no hospital São Vicente de Paulo. Embora a nossa amostra estudada possa ser considerada como representativa da cidade de Passo Fundo, os dados obtidos

mostram a prevalência de toxoplasmose congênita na população tratada no Hospital São Vicente de Paulo.

Unitermos - Infecção congênita, toxoplasmose, screening pré-natal e neonatal.

PREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA NO NORTE DO ESTADO: UM ESTUDO PROSPECTIVO EM PASSO FUNDO

Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição universal causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. Foi descoberta por Splendore, no Brasil, e Nicolle e Manceaux, na Tunísia, em 1908. Janku, em 1923, descreveu pela primeira vez a forma congênita em um lactente com hidrocefalia e microftalmia (1). O contágio geralmente ocorre pela ingestão de oocistos contidos em água e alimentos contaminados, ou pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais. Também pode ser transmitido através de transfusões de sangue, transplante de órgãos e acidentes em laboratório. A transmissão fetal ocorre pela via hematogênica transplacentária (1,2).

O acometimento fetal resulta de uma infecção aguda na gestante, entretanto, aquelas com infecção crônica podem transmitir a doença por reativação a partir de uma disfunção imunológica (1,3). A taxa de transmissão fetal na primoinfecção é 25%, 54% e 65%, no primeiro, segundo e terceiro trimestre, respectivamente (2). Acredita-se que o tratamento da gestante possa prevenir o desenvolvimento de sequelas graves no neonato, mas não a transmissão fetal, e o efeito seria melhor quanto mais precocemente fosse instituído (4).

A gravidade da doença é inversamente proporcional à idade gestacional. O quadro clínico é bastante variável. Aproximadamente 2/3 dos recém-nascidos são assintomáticos ao nascimento, mas podem ocorrer sequelas posteriores, como microcefalia, hidrocefalia, coriorretinite, uveítes, surdez e retardo psicomotor (5). A tétade clássica de hidrocefalia, coriorretinite, calcificações intracranianas e retardo mental não está necessariamente presente em todos os casos.

Os testes sorológicos, principalmente as reações imunoenzimáticas, são os exames de rotina para o diagnóstico da infecção. A pesquisa de anticorpos IgM e/ou IgA e/ou IgE anti-toxoplasma no sangue do cordão ou no sangue do recém-nascido concede o diagnóstico (2,5,6). Pode-se, ainda, detectar o parasita em fluidos corpóreos pelo isolamento em cultura de tecidos ou inoculação em camundongos, pela detecção dos antígenos parasitários e do DNA do toxoplasma através da reação em cadeia de polimerase (2,5).

O tratamento de crianças infectadas congenitamente com pirimetamina, sulfadiazina e ácido folínico, iniciado ainda no 1º mês de vida e prolongado por todo o 1º ano, melhora o prognóstico, reduzindo a frequência e severidade das sequelas de aparecimento tardio. A demora no estabelecimento do diagnóstico e no início da terapia contribuem para as incapacidades mais importantes (7).

A prevalência de toxoplasmose congênita em Passo Fundo não é conhecida, a cidade apresenta alta incidência de ingestão de carne e está próxima de Erechim, reconhecida pela elevada frequência da doença (8). Em 2001, 45% das gestantes em Passo Fundo, não realizaram pré-natal ou fizeram de maneira inadequada, dificultando a identificação de gestantes em risco de desenvolver toxoplasmose (9).

Este estudo teve como objetivo determinar a prevalência de toxoplasmose congênita ao nascimento e descrever variáveis neonatais e maternas.

Material e Métodos

Este estudo de prevalência foi realizado no Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo-RS. A análise do sangue do cordão umbilical foi realizada no laboratório

Lavoisier-Labcenter, na mesma cidade. A pesquisa do DNA do *Toxoplasma gondii* em sangue e Líquor foi realizada no Laboratório DNA Reference, Porto Alegre. O projeto foi aprovado pelas Comissões Científica e Ética em Saúde, do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e do Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo.

Após o consentimento do médico assistente e o consentimento por escrito da gestante ou seus responsáveis, na admissão da maternidade, todos os recém-nascidos vivos eram incluídos no estudo. Após o nascimento e a dequitação da placenta, foi coletado 2 ml de sangue do cordão umbilical. As amostras foram centrifugadas em centrífuga por 5 minutos a 3500 rpm, separadas, aliquotadas e armazenadas a -20° C até posterior análise. No soro obtido foi pesquisado IgM anti-toxoplasma pelo método ELFA (enzyme linked fluorescent assay), no aparelho MINIVIDAS (bioMérieux). É um teste de captura de IgM com uma detecção final em fluorescência, com índices de interpretação: $i < 0,55$, negativo; $i \geq 0,65$, positivo e $0,55 \leq i < 0,65$, indeterminado. Na abertura de cada novo kit MINIVIDAS TOXO IgM foi utilizado um controle positivo e um negativo para a recalibração do aparelho e a confirmação da ausência de alteração dos reagentes.

A seguir foi preenchido um questionário, para o binômio gestante-neonato, com os seguintes dados maternos: idade, classe econômica, escolaridade, estado civil, número de consultas de pré-natal, realização de testes sorológicos para toxoplasmose em cada trimestre, método sorológico utilizado, tratamento para toxoplasmose na gestação, ingestão de carne crua, mal cozida, consumo de leite não pasteurizado, ovo cru e presença de gato em casa ou no local de trabalho. Também, dados do recém-nascido: peso, idade gestacional, crescimento intra-uterino, comprimento e perímetro cefálico e torácico ao nascimento. Além da entrevista, utilizou-se informações da carteira de pré-natal. A classe econômica foi determinada pela Classificação Econômica Brasil (10). As

medidas antropométricas foram obtidas segundo as técnicas recomendadas, a idade gestacional, pelo método de Capurro (11), e o crescimento intra-uterino avaliado pela curva de Battaglia e Lubchenco (12).

O protocolo previa para todo recém-nascido que apresentasse IgM positiva, a coleta de sangue venoso periférico (2ml em vacutainer com EDTA) e líquido céfalorraquidiano (30 gotas) para pesquisa do DNA do *Toxoplasma gondii* pela PCR (reação em cadeia de polimerase), o acompanhamento dos títulos IgM durante o tratamento neonatal e a coleta de amostra sanguínea materna para dosagem de IgM anti-toxoplasma (ELFA). A extração do DNA do sangue e líquido foi realizada pelos métodos salting-out e GFX™ Genomic Blood DNA Purification, respectivamente. A amplificação do DNA foi realizada pela técnica de Nested.

Estimou-se uma amostra de 1195 recém-nascidos, considerando-se uma prevalência aproximada de 5 casos/1000 nascimentos e admitindo-se um intervalo de confiança de 95%. A estimativa da proporção populacional foi determinada via intervalo de confiança de 95% baseado na distribuição binomial. As variáveis neonatais e maternas foram categorizadas através de tabelas de frequência simples. Para algumas variáveis foram calculados a média e desvio padrão.

Resultados

Foram coletadas, no período de julho de 2001 a fevereiro de 2002, 1250 amostras sanguíneas do cordão umbilical. Identificou-se 1 recém-nascido com IgM positiva ao nascimento (i=10,13), com infecção subclínica. Na fundoscopia ocular sob midríase apresentava coriorretinite bilateral cicatricial em região temporal e, o exame

liquórico, 65 células mm³, 24% neutrófilos, 30% linfócitos, 76% monócitos, 0% eosinófilos, 23mg% glicose, 109mg% proteínas, ++ globulinas. A prevalência de toxoplasmose congênita foi de 8/10.000 (IC95% 0,2-44,5). O teste sorológico do recém-nascido foi repetido com 5, 30, 60, 90 e 120 dias. Os índices encontrados foram: 10,10; 8,22; 1,8; 0,95; 0,43; respectivamente. A PCR em sangue venoso periférico e liquor foi negativa. A dosagem de IgM da mãe do neonato com sorologia positiva apresentou índice de 4,55.

A média do peso e da idade gestacional da amostra estudada foram 3080±215,56 gramas e 38,43±1,88 semanas. A maioria dos recém-nascidos, 72%, apresentava um crescimento intra-uterino adequado para a idade gestacional e, 22,9%, estava abaixo de percentil 10 na curva de crescimento. Destes, 15,3% eram prematuros e, 7,6%, eram de termo. O comprimento e o perímetro cefálico e torácico são apresentados na tabela 1.

A idade das gestantes variou entre 13 e 46 anos (média 25,6±6,9) e a escolaridade média foi 8,3±2,9 anos. A distribuição quanto à classe econômica e estado civil está descrita na tabela 2. A tabela 3 descreve os hábitos alimentares e contato com gatos.

Apenas 3,4% das gestantes não realizaram nenhuma consulta de pré-natal e 58% fizeram mais de 5 consultas. Das 1250 gestantes, 1001 realizaram pelo menos uma sorologia para toxoplasmose no pré-natal, 187 não fizeram nenhum exame, 62 gestantes não sabiam informar e, 498 (39,8%) gestantes, realizaram mais de um teste sorológico na gravidez. A distribuição do número de gestantes que fizeram sorologia anti-toxoplasma por trimestre gestacional foi: 486 no primeiro, 515 no segundo e, 444 gestantes no terceiro trimestre. A imunofluorescência indireta (76,5%), MEIA (15,8%) e ELFA (7,7%), foram os métodos sorológicos solicitados.

Seis gestantes receberam espiromicina e uma gestante, HIV positiva, pirimetamina, sulfadiazina e ácido fólico, durante o pré-natal. Todos os recém-nascidos dessas mães

tiveram a dosagem de IgM-toxoplasma negativa e não apresentaram nenhuma alteração no exame físico, ao nascimento.

No período do estudo, houve 1735 partos nos 4 hospitais da cidade e, destes, 1257 (72,5%) no Hospital São Vicente de Paulo. Houve 7 perdas de amostras sanguíneas do cordão umbilical durante o estudo, das quais 5 gestantes fizeram sorologia para toxoplasmose no pré-natal e todos os neonatos foram normais ao exame físico. A distribuição da população estudada, de acordo com a Classificação Econômica Brasil, foi: A1 (0,6%), A2 (3,0%), B1 (4,6%), B2 (7,3%), C (30,9%), D (42,3%), E (11,3%).

Discussão

A análise do resultado obtido mostra que a prevalência de toxoplasmose congênita na população estudada é semelhante a outras pesquisas descritas na literatura, com variabilidade de 0 a 100/10.000 nascimentos, de acordo com fatores sócio-econômicos, culturais, étnicos, climáticos, da população estudada e do tipo de cepa do parasita (2,13). Demonstrou-se uma prevalência/10.000 nascimentos de, 7 em Nova York, 53 na Alemanha, 86 na Áustria e, em Paris, cidade considerada de alto risco para infecção toxoplásmica na gestante, de 30 (2). Alguns estudos brasileiros estimaram frequências entre 2-20/10.000 nascimentos vivos (14,15,16), mas uma pesquisa desenvolvida em Pernambuco encontrou uma elevada frequência em recém-nascidos de gestantes com primoinfecção, 1250/10.000 nascidos vivos (IC95% 3,5-29,0%) (17). É importante ressaltar que nestes estudos os métodos sorológicos utilizados foram diferentes, com suas variabilidades quanto à especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo e negativo. Um programa de screening neonatal para detectar anticorpos IgM-toxoplasma gondii, método EIA (enzyme immunoassay), foi introduzido em Porto Alegre pelo Centro

de Triagem Neonatal e Laboratório Nobel RIE, e testado entre 1995 e 1996. A prevalência aproximada, no Estado, foi de 2 casos em 10.000 nascimentos vivos (14). Este achado pode não representar a verdadeira frequência da doença, pois nem todo recém-nascido é submetido ao screening neonatal para pesquisa de anticorpos toxoplasma (18) e o método utilizado apresenta uma sensibilidade de 61,2% e especificidade de 88,8% (19).

Este estudo foi desenvolvido em um hospital que abrange a maioria dos nascimentos da cidade e atende gestantes de todas as classes econômicas (9).

A distribuição da população estudada, segundo a Classificação Econômica Brasil, foi semelhante a de Passo Fundo, a qual está classificada em: A1 (0,5%), A2 (4,5%), B1 (8,3%), B2 (13,2%), C (46,0%), D (22,5%), E (5,0%), (20). Além disso, durante o estudo, 72,5% dos nascimentos da cidade ocorreram no hospital sede do trabalho. Embora a nossa amostra estudada possa ser considerada como representativa da cidade de Passo Fundo, os dados obtidos mostram a prevalência de toxoplasmose congênita na população tratada no Hospital São Vicente de Paulo durante julho de 2001 a fevereiro de 2002.

Para explicar a taxa de prevalência da doença em uma determinada população, tem que se levar em conta 3 fatores que influenciam na primo-infecção das gestantes. Primeiro, a prevalência da infecção na comunidade; segundo, a frequência de possíveis contatos com as fontes de infecção; e, por último, o número de mulheres em idade fértil que ainda não tiveram a primoinfecção (1). Em algumas regiões do Estado, a infecção toxoplásmica foi maior (86%) (21), do que a maioria dos estudos realizados no país. Porém, a maior prevalência de toxoplasmose congênita encontrada em Erechim (2,1%) (8) pode ser resultado da exposição materna ao parasita muito mais intensa e crônica que em outros lugares (22), além da possibilidade das cepas tipo I serem mais virulentas

e frequentes na cidade (13). Tem sido salientado por pesquisadores a grande diversificação na soropositividade da doença ainda em localidades muito próximas (21).

Em nosso meio, não conhecemos a prevalência da infecção na comunidade nem a frequência de gestantes susceptíveis na 1ª consulta de pré-natal (soronegativas), a qual poderia identificar as gestantes em maior risco para transmissão fetal no início da gestação. Neste estudo, 702 (56,2%) gestantes não realizaram exame sorológico no 1º trimestre da gestação e a informação era ignorada em 62 gestantes.

Naessens *et al.* avaliaram a sensibilidade e especificidade de testes com dosagens de IgM e IgA, em amostras coletadas do sangue e do cordão umbilical de recém-nascidos. A sensibilidade foi semelhante e a especificidade global foi melhor nos testes realizados no sangue neonatal do que no cordão umbilical: especificidade de IgM e IgA no sangue neonatal é 99%, enquanto a especificidade no cordão umbilical é 96% e 92%, respectivamente (6). No entanto, optamos pela coleta de sangue do cordão umbilical, pela maior praticidade ao tamanho da amostra necessária e para evitar um procedimento invasivo.

Testamos o anticorpo da classe IgM, pois normalmente não cruza a placenta em nenhum momento da gestação (exceto na placentite); sendo a base para o diagnóstico da infecção congênita (1). Contudo, a pesquisa de anticorpos IgA é mais sensível (1,3,6), mas a especificidade é limitada pela maior possibilidade de transferência passiva de anticorpos maternos (1). Por outro lado, a detecção de segmentos do parasita pela PCR é considerada diagnóstica (1). Embora a sua sensibilidade seja considerada alta (1), Bastien acredita que a técnica da PCR para o toxoplasma ainda não alcançou um suficiente nível de sensibilidade, no entanto, não há dúvida do seu benefício para o diagnóstico (23). Fuentes *et al.* detectaram o *Toxoplasma gondii* pela PCR no sangue e líquido em 3 de 4 neonatos com infecção congênita (24).

A escolha do método sorológico deve-se ao design da técnica que possui IgM de captura. Isto elimina a interferência de IgG específica, responsável por reações falso-negativas e a interferência de fator reumatóide e anticorpos antinucleares, responsáveis por reações falso-positivas, na grande maioria dos casos. O método ELFA (enzime linked fluorescent assay) apresenta elevada sensibilidade e especificidade, em torno de 93,5% e 99,3%, respectivamente, e todas as etapas do teste são realizadas automaticamente (25). Wilson *et al.* ao avaliarem a sensibilidade e especificidade de 6 testes comerciais, encontraram para VIDAS Toxo IgM, 100% e 98,6%, respectivamente. A porcentagem de resultados equívocos foi de 0,9% (26). Acredita-se que os métodos com a melhor combinação de sensibilidade, especificidade e poucos resultados equívocos são os mais custo-efetivos (26). Pelloux *et al.*, encontraram 100% de sensibilidade e 97% de especificidade, para este método (27). Uma avaliação de 4 métodos diagnósticos para detecção de IgM-toxoplasma mostrou discrepância entre os testes, sendo importante considerar a prevalência da doença na população em que os testes serão aplicados. O ELFA foi o mais específico e com maior valor preditivo negativo, 99,3% e 98,7%, respectivamente (28). Consideramos, então, que este método laboratorial apresentou adequado desempenho para o objetivo proposto, pois na tentativa de identificar os neonatos infectados, o desejável é 100% de sensibilidade e um alto valor preditivo negativo (29).

Como a prevalência de toxoplasmose congênita estimada no estudo foi baixa, o valor preditivo negativo do teste utilizado foi alto (29). Portanto, a probabilidade de resultados falso-negativos foi mínimo, enquanto a de falso-positivos deveria ser grande, apesar do recém-nascido com teste positivo demonstrar sinais da doença. Isto, contudo, não ocorreu no nosso estudo.

Naessens *et al.* relatam que crianças infectadas precocemente são menos frequentemente positivas para IgM e IgA ao nascimento, pela falta de resposta

imunológica fetal antes de 20-22 semanas gestacionais e a curta duração desta resposta (6). Estudos que incluem mais crianças infectadas antes de 20 semanas poderão apresentar menor sensibilidade dos testes do que estudos com a maioria de crianças infectadas tardiamente (6).

Alguns hábitos alimentares encontrados no estudo são relatados em pesquisas que determinaram fatores de risco para infecção toxoplásmica na gestante. Para Cook *et al.*, o principal fator de risco, foi o consumo de carne crua (30%) ou inadequadamente cozida (63%), assim como o consumo de leite não pasteurizado (30). Kapperud *et al.* observaram que os casos de infecção na gestação tiveram contato diário com gatos mais frequentemente do que os controles (OR = 3,6) (31). Estes autores recomendam estudos de caso-controle para identificar fatores de risco principais, em diferentes populações, com a finalidade de priorizar as orientações às gestantes para a prevenção da infecção aguda (31).

Acreditamos que a pesquisa de IgM de captura (ELFA) em sangue de cordão umbilical é uma importante ferramenta na detecção de recém-nascidos provavelmente infectados pelo *Toxoplasma gondii*, considerando seu relativo baixo custo comparado aos métodos mais sofisticados e a sua acurácia (32). Numa situação onde a frequência de manifestações clínicas ao nascimento é baixa e os dados sorológicos das mães nem sempre são disponíveis, torna-se fundamental diagnosticar precocemente e oferecer tratamento adequado às crianças infectadas (32).

Agradecimentos

Agradecemos ao apoio da FAPERGS (Fundação De Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul).

Bibliografia

1. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 205-346.
2. Freij BJ, Sever JL. Toxoplasmosis. *Pediatr Rev* 1991 Feb;12:227-36.
3. Beazley DM, Egerman RS. Toxoplasmosis. *Seminars in Perinatology* 1998;2(4):332-38.
4. Peyron F, Wallon M, Liou C, Garber P. Treatments for toxoplasmosis in pregnancy. The Cochrane Database of Systematic Reviews. In: The Cochrane Library, Issue, 2000. Oxford: update software.
5. Wilson CB, Remington JS, Stagno S. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital toxoplasma infection. *Pediatrics* 1980;66:767-74.
6. Naessens A, Jenum PA, Pollak A. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period: a multicenter evaluation. *J Pediatr* 1999; 135: 714-9.
7. McAuley J, Boyer K, Patel D, Mets M, Swisher 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(1):38.
8. Silveira CAM. Estudo da toxoplasmose ocular na região de Erechim-RS [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina; 1997.
9. Secretaria da Saúde de Passo Fundo, Serviço de Informações de Nascimentos, 2001.
10. ANEP (Associação Nacional das Empresas de Pesquisas), ABA (Associação Brasileira de Anunciantes), ABIPEME (Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercado). Critério de Classificação Econômica Brasil. *Revista M&M*; 1997.

11. Capurro H, Konichewsky S, Fonseca D. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1978;93:120-2.
12. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 1967; 71:159.
13. Melamed J. Peculiaridades da toxoplasmose no Rio Grande do Sul. *Arq Bras Oftal* 1988; 51(5):197-200.
14. Neto EC. One Year experience on neonatal screening for congenital toxoplasmosis in South Brazil. Proceedings of the 3 rd International Neonatal Screening Symposium, October 21-24, Boston, Massachusetts, USA, 1996; p.68-70.
15. Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Cshulte J, Becker D, et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol* 2000; 29(5):941-47.
16. Oliveira-Bahia LMG, Abreu AMW, Azevedo-Silva J, Oréface F. Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. *Int J Parasitol* 2001;31:115-44.
17. Nóbrega MC, Magalhães V, Albuquerque Y, Magalhães C, Arcoverde C, Castro C. Toxoplasmose em gestantes e em seus recém-nascidos, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. *Rev Bras Med* 1999;56(supl):23-9.
18. Neto EC, Schulte J, Anele E, Rubim R, Portal L, Giugliani R, et al. A comprehensive screening program in south Brazil. *Southeast Asian J Trop Med and Public Health* 1999;30(2):47-8.
19. Pinon JM, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J Clin Microbiol* 2001;29(6):2267-71.
20. Qualidata Survey – Pesquisa de Mercado e Opinião Pública, Passo Fundo, 2002.
21. Melamed J, Raffin NN, Agnes MJ. Toxoplasmose no Rio Grande do Sul - Inquérito sorológico no interior do Estado. *Rev Pat Trop* 1981;10(1):1-7.

22. Spalding SM. Acompanhamento de gestantes com risco de transmissão de infecção congênita por *Toxoplasma gondii*, na região do Alto Uruguai, RS, Brasil – Diagnóstico e aspectos epidemiológicos [tese]. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2000.
23. Bastien P. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002;96 suppl 1:205-15.
24. Fuentes I, Rodriguez M, Domingo CJ, Castillo F, Juncosa T, Alvar J. Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR. *J Clin Microbiol* 1996; 34:2368-71.
25. bioMérieux as, laboratório. VIDAS TOXO IgM (TXM), França.
26. Wilson M, Remington JS, Clavet C, Varney G, Press C, Warw W. The FDA Toxoplasmosis Ad Hoc Working Group. Evaluation of six commercial Kits for detection of human igM antibodies to *toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 1997;35: 3112-15.
27. Pelloux H, Ciapa P, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Evaluation du systeme Vidas pour le diagnostic serologique de la toxoplasmose. *Ann Biol Clin* 1993;50:875-78.
28. Hofgärtner WT, Swanzy SR, Bacina RM, Condon J, Gupta M, Matlock PE, et al. Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*. Evaluation of four commercial immunoassay systems. *J Clin Microbiol* 1997;35(12): 3313-15.
29. Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH. *Epidemiologia clínica: elementos essenciais*. 3ª ed. Artes Médicas: Porto Alegre; 1996.p.52-82.
30. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMJ* 2000; 321 (7254):142-47.
31. Kapperud G. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: results of a prospective case-control study in Norway. *Am J Epidemiol* 1996; 144:405-12.
32. Berger R, Stürchler D, Rudin C. Cord blood screening for congenital toxoplasmosis: detection and treatment of asymptomatic newborns in Basel, Switzerland. *Scand J Infect Dis – suppl* 1992; 84:46-50.

Tabelas

Tabela 1: Características gerais de 1250 neonatos nascidos em Passo Fundo (RS), entre Julho de 2001 a Fevereiro de 2002, de acordo com o peso, idade gestacional, comprimento e perímetro cefálico e torácico.

Variáveis	n	%
Peso ao nascimento (g) ¹	3080 ± 215,56	
<1500	35	(2,8)
1500 – 2499	311	(24,9)
2500 – 3999	829	(66,3)
≥ 4000	75	(6,0)
Idade gestacional (semanas) ¹	38,43 ± 1,88	
< 37	208	(16,7)
37 – 42	1038	(83,0)
≥ 42	4	(0,3)
Comprimento (cm) ¹	48,5 ± 1,1	
Perímetro cefálico (cm) ¹	34,2 ± 1,7	
Perímetro torácico (cm) ¹	32,3 ± 1,3	

¹ Valores expressos como média e desvio padrão

Tabela 2: Características das gestantes de 1250 neonatos nascidos em Passo Fundo (RS), entre Julho de 2001 a Fevereiro de 2002, de acordo com a classe econômica e o estado civil

Variáveis	n	%
Classe Econômica		
A1	7	(0,6)
A2	37	(3,0)
B1	58	(4,6)
B2	91	(7,3)
C	386	(30,9)
D	530	(42,3)
E	141	(11,3)
Estado Civil		
Solteira	170	(13,6)
Casada	458	(36,6)
Companheiro	602	(48,2)
Viúva	3	(0,2)
Divorciada	17	(1,4)

Tabela 3: Características das gestantes de 1250 neonatos nascidos em Passo Fundo (RS), entre Julho de 2001 a Fevereiro de 2002, de acordo com os hábitos alimentares e contato com gatos

Variáveis	n	%
Tratamento para toxoplasmose	7	(0,6)
Contato com gatos	696	(55,7)
Consumo de carne mal cozida	463	(37,0)
Consumo de carne crua	791	(63,3)
Consumo de leite não pasteurizado	504	(40,3)
Consumo de ovo cru	960	(76,8)

6 ANEXOS

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas
Mestrado Interinstitucional: Universidade de Passo Fundo

**Prevalência de Toxoplasmose Congênita No Norte do Estado: Um Estudo
Prospectivo em Passo Fundo**

Anexo I

Aspectos Éticos

e

Termo de Consentimento Informado

Aspectos Éticos e Termo de Consentimento Informado

Os pesquisadores assinarão um termo de compromisso, para a utilização de dados coletados em prontuários referentes aos recém-nascidos e gestantes atendidos no Hospital São Vicente de Paulo. As informações serão utilizadas, única e exclusivamente, com a finalidade científica, preservando-se o anonimato dos pacientes.

As gestantes ou, no impedimento dessas, os responsáveis, assinarão um termo de consentimento para a participação dos recém-nascidos na pesquisa (consentimento I).

Os pais ou responsáveis pelos recém-nascidos com diagnóstico de toxoplasmose congênita, assinarão um termo de consentimento para a coleta de sangue venoso periférico e líquido, para pesquisa do parasita pela reação em cadeia de polimerase (consentimento II).

Os recém-nascidos com diagnóstico de toxoplasmose congênita, terão seus exames comunicados a seus médicos, sendo solicitado a sua permissão para o acompanhamento desses exames laboratoriais. Os neonatos do Sistema Único de Saúde (SUS), serão encaminhados ao ambulatório de Pediatria da Residência Médica de Pediatria do Hospital São Vicente de Paulo, para tratamento e acompanhamento.

Todos os médicos pediatras e obstetras do Hospital São Vicente de Paulo, receberão um comunicado da Direção, sobre o desenvolvimento da pesquisa.

O projeto foi aprovado pela Comissão Científica e Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, sob o número 01-164, e do Hospital São Vicente de Paulo.

FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

ESTUDO CLÍNICO EM RECÉM-NASCIDOS SOBRE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

TERMO DE COMPROMISSO PARA UTILIZAÇÃO DE DADOS

Os autores do presente projeto de pesquisa se comprometem a manter a privacidade dos dados coletados em prontuários e base de dados, referentes a pacientes atendidos no Hospital São Vicente de Paulo.

Concordam, igualmente, que essas informações serão utilizadas, única e exclusivamente, com finalidade científica, preservando-se integralmente o anonimato dos pacientes.

Liége Mozzatto - Pesquisadora executora _____

Renato Procianoy - Pesquisador responsável _____

Data: __/__/200__

**FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

ESTUDO CLÍNICO EM RECÉM-NASCIDOS SOBRE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

TERMO DE PERMISSÃO PARA ACOMPANHAMENTO DO RECÉM-NASCIDO

Os autores do presente projeto de pesquisa solicitam a permissão do(a) colega, para acompanharem a sorologia mensal pelo método ELFA e, se necessário, da PCR, do recém-nascido com diagnóstico de toxoplasmose congênita.

Liége Mozzatto - Pesquisadora executora

Renato Procianoy - Pesquisador responsável

Nome paciente: _____

Médico (a): _____

Data: __/__/200__

**FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

ESTUDO CLÍNICO EM RECÉM-NASCIDOS SOBRE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

TERMO DE CONSENTIMENTO - I

Nós gostaríamos de convidar você para participar de um estudo que estamos realizando. Sabemos que a toxoplasmose é comum na região e, frequentemente, a gestante não percebe que tem a doença, podendo passá-la ao feto. Por outro lado, a maioria dos bebês com toxoplasmose parecem saudáveis ao nascer, mas frequentemente desenvolvem complicações sérias, se o diagnóstico não for feito precocemente.

Nós estamos interessados em estudar melhor essa doença nos recém-nascidos, para saber a real prevalência na nossa cidade e melhorar os cuidados para preveni-la. Para isso, estamos convidando as mães para participarem do estudo. Nesse trabalho, os recém-nascidos receberão o atendimento normalmente oferecido pelo pediatra, não terão nenhum prejuízo ou desconforto e, além disso, será pesquisada a doença.

Assim, se você concordar em participar do estudo, será coletado sangue do cordão umbilical que está junto da placenta após o nascimento de seu bebê (e depois que ele for cortado), para a realização do exame.

Se você decidir participar, estará colaborando para que os médicos conheçam melhor a frequência da toxoplasmose nos recém-nascidos, e saberá se o seu bebê tem ou não a doença. Assim, eles poderão orientar as mães na prevenção da doença e acompanhar adequadamente seus bebês para evitar as complicações que essa doença pode ocasionar.

Se você decidir não participar, seu bebê será atendido pelo pediatra da mesma maneira que os recém-nascidos em geral são atendidos. Se você tiver alguma dúvida, pode perguntar antes de decidir.

A senhora concorda em participar?

Gestante ou familiar _____

Liége Mozzatto - Pesquisadora executora _____

Renato Procianoy - Pesquisador responsável _____

Telefone para contato: (54) 313 5676

Data: ___/___/200__

**FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

ESTUDO CLÍNICO EM RECÉM-NASCIDOS SOBRE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

TERMO DE CONSENTIMENTO - II

Os recém-nascidos que tiverem seu exame positivo, o pediatra saberá que ele tem toxoplasmose. Nesses casos, normalmente todos os bebês são tratados e acompanhados com exames durante um ano, para saber se o tratamento está funcionando e também para que o pediatra possa identificar logo alguma complicação da doença. Porque se sabe que a doença pode afetar olhos, cérebro, fígado, medula óssea, pulmões e rins. Assim, sempre é realizado exame de sangue todos os meses, para controle da doença, até que ele esteja normal. Também é realizado exame do líquido assim que o diagnóstico for feito e, se estiver alterado, repete-se mensalmente até que normalize. Sempre que houver alteração no exame do líquido, esse deve ser repetido com intervalo de um mês até que fique normal. A coleta do líquido é realizada pela punção lombar e será feita nesse hospital. Assim, estamos prevenindo a chance de uma infecção ou que o seu bebê tenha alguma alteração na respiração, situações que não são frequentes. O desconforto que o seu bebê sentirá nesse exame é o mesmo que ele sente quando tem o seu sangue coletado.

Se você concordar que seu bebê participe do trabalho, ele fará todos os exames que os recém-nascidos devem fazer, não sofrerá nenhum procedimento adicional, em função de estar participando do estudo.

Esse estudo servirá para que os médicos saibam em quanto tempo os exames normalizam. Portanto, o pediatra terá certeza que o tratamento está funcionando e se o seu bebê, poderá ou não, ter lesões neurológicas devido à doença.

Se você decidir que o seu bebê não deva participar do estudo, ele será tratado e acompanhado pelo pediatra, da mesma maneira, que os recém-nascidos com toxoplasmose em geral são tratados.

A senhora concorda que seu bebê participe do estudo?

Gestante ou familiar _____
Liége Mozzatto - Pesquisadora executora _____
Renato Procianoy - Pesquisador responsável _____

Telefone para contato: (54) 313 5676

Data: ___/___/200__

Íntegra do Comunicado dirigido aos Médicos

Passo Fundo - RS, 27 de junho de 2001.

Prezado(a) Doutor(a):

Estamos, através desta, certificando-o(a), que será desenvolvida uma pesquisa sobre "**Toxoplasmose Congênita**", coordenada pela Dra. Liége Mozzatto e Prof. Dr. Renato Procianoy (UFRGS/HCPA), a qual será a "Dissertação de Mestrado".

A pesquisa será realizada com as gestantes e recém-nascidos internados na Maternidade do Hospital São Vicente de Paulo.

O material utilizado será o "sangue do cordão", após a dequitação da placenta. Haverá, também, um questionário que será apresentado às pacientes e/ou familiares pelos Médicos Residentes. Não haverá custo aos familiares quanto aos exames realizados, IgM-ELFA e PCR.

O trabalho tem aprovação da Comissão Científica e Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, do Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA.

Os resultados dos exames estarão ao dispor dos(as) médicos(as) que fizerem o atendimento das pacientes ou dos recém-nascidos.

Levando-se em consideração, a importância da pesquisa para a saúde populacional, a gravidade das lesões causadas pela toxoplasmose, e as informações que, certamente, nos trará o trabalho, estamos solicitando, ao(a) estimado(a) doutor(a) que dê sua colaboração, à Dra. Liége e ao Prof. Procianoy para que consigam o êxito almejado.

Sem mais, apresentamos nossas cordiais saudações.

Dr. Rudah Jorge - Diretor Médico

Bel. Ilário Jandir De David - Administrador

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas
Mestrado Interinstitucional: Universidade de Passo Fundo

**Prevalência de Toxoplasmose Congênita no Norte do Estado: Um Estudo
Prospectivo em Passo Fundo**

Anexo II

**Projeto de Pesquisa
Protocolo**

1 METODOLOGIA

1.1 Amostra

População em estudo: recém-nascidos no Hospital São Vicente de Paulo, Passo Fundo – RS. Hospital que abrange 2/3 dos nascimentos da cidade e atende gestantes de todas as classes econômicas.

Critério de inclusão: recém-nascidos vivos.

Tipo de amostragem: amostra sequencial, à medida que forem nascendo e preencherem o critério de inclusão.

Cálculo da amostra: considerando-se que a toxoplasmose congênita apresenta uma prevalência aproximada de 5 casos/1000 nascimentos vivos e admitindo-se um intervalo de confiança de 95%, estimou-se uma amostra de 1195 recém-nascidos, através do programa Epi-info.

1.2 Delineamento

Estudo de prevalência. Fator em estudo: recém-nascidos vivos. Desfecho: toxoplasmose congênita. Esta modalidade de investigação permite detectar a estimativa da proporção de recém-nascidos infectados pelo *Toxoplasma gondii*.

1.3 Definição das variáveis em estudo

1.3.1. Variável dependente

Será considerado como desfecho o diagnóstico de toxoplasmose congênita, através da positividade da sorologia. Esse exame será efetuado pelo método IgM-ELFA (enzyme linked fluorescent assay), aparelho MINIVIDAS (bioMérieux). É realizado com soro (0,5 ml) não hemolisado e pode ser conservado 5 dias entre 2°–8°C. Além desse período, congelá-lo a –20°C. Limiar e interpretação dos resultados:

<i>Índice</i>	<i>Interpretação</i>
$i < 0,55$	Negativo
$0,55 \leq i < 0,65$	Indeterminado
$i \geq 0,65$	Positivo

Para os índices compreendidos entre 0,55 e 0,65 fazer novamente o teste. Se a verificação der novamente uma interpretação indeterminada, proceder a uma nova coleta.

Fonte: Manual do Fabricante – bioMérieux – VIDAS TOXO IgM, Outubro, 1998.

1.3.2. Variáveis independentes

Será preenchido questionário para coleta de dados, contendo as seguintes variáveis:

1.3.2.1. Dados neonatais:

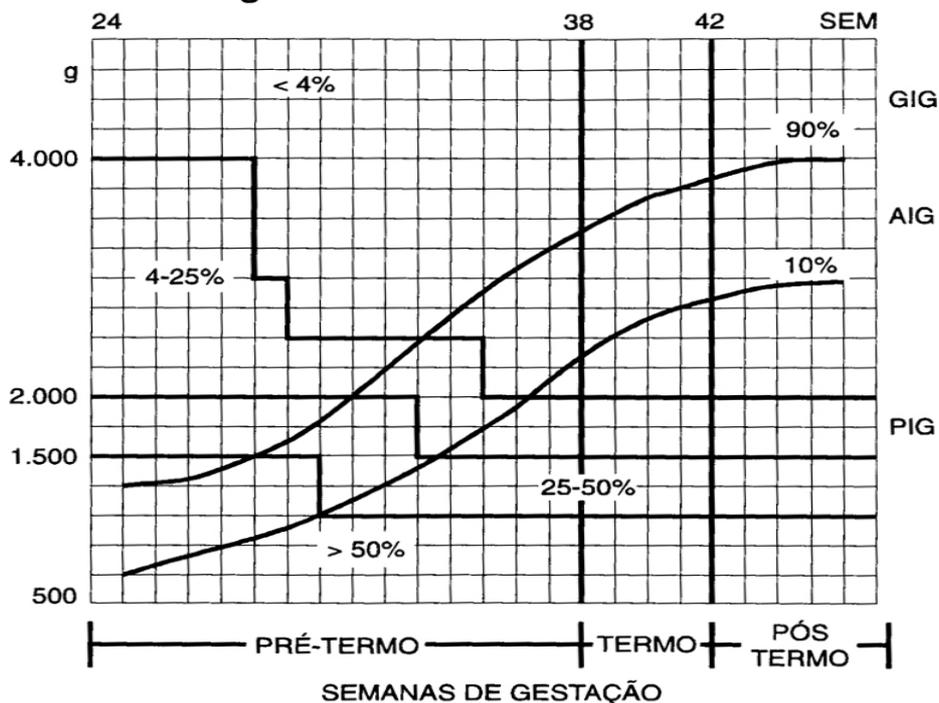
Idade gestacional: calculada pelo método de Capurro (avaliação clínica da idade gestacional) que analisa critérios físicos: textura da pele, forma da orelha, glândula mamária, pregas plantares e formação do mamilo. Dá-se uma nota a cada quesito e aos pontos encontrados soma-se uma constante, 204, a qual divide-se por 7 para fornecer as semanas, o número restante caracteriza os dias (1). A OMS classifica o recém-nascido em 3 categorias: prematuro (antes de 37 semanas completas – menos de 259 dias), a termo (37 a menos de 42 semanas completas – 259 a 293 dias) e pós-termo (42 semanas completas ou mais – 294 dias ou mais) (2).

Método de Capurro

FORMAÇÃO DO MAMILO	Mamilo apenas visível, sem aréola 0	Mamilo bem definido, aréola <0,75cm 5	Aréola plana >0,75cm 10	Aréola saliente >0,75cm 15	
TEXTURA DA PELE	Fina gelatinosa 0	Fina e lisa 5	Algo mais grossa, discreta descamação superficial 10	Grossa, marcas superficiais, descamação de mãos e pés 15	Grossa, enrugada, com marcas profundas 20
FORMAS DE ORELHAS	Clara, disforme, pavilhão não encurvado 0	Pavilhão parcialmente encurvado na borda 8	Pavilhão parcialmente encurvado em toda parte superior 16	Pavilhão totalmente encurvado 24	
GLÂNDULA MAMÁRIA	Não palpável 0	Diâmetro <0,5cm 5	Diâmetro 0,5-1cm 10	Diâmetro >1cm 15	
PREGAS PLANTARES	Sem pregas 0	Marcas vermelhas mal definidas sobre 1/2 anterior 5	Marcas vermelhas bem definidas sobre 1/3 anterior 10	Recortes sobre 1/2 anterior 15	Recortes profundos sobre mais de 1/2 anterior 20

Crescimento intra-uterino: designado pela relação do peso de nascimento/idade gestacional, através da curva de Battaglia e Lubchenco (3). Os recém-nascidos são classificados em: pequeno para a idade gestacional (PIG - peso abaixo do percentil 10), adequado para a idade gestacional (AIG – peso entre o percentil 10 e 90) e grande para a idade gestacional (GIG – peso acima do percentil 90).

Curva de Battaglia e Lubchenco



Peso de nascimento: aferido através de balança eletrônica padronizada, Filizola modelo BP Baby devidamente calibrada e com o recém-nascido despido. Anota-se o peso em gramas.

Comprimento: verificado utilizando-se o antropômetro (em centímetros) com cursor. O recém-nascido é medido deitado e despido, encostando a cabeça na parte superior do antropômetro e o corpo esticado com o ângulo do pé em 90°, encostando o calcanhar no cursor.

Perímetro cefálico: medido utilizando-se fita métrica logo acima das sobrancelhas e orelhas, envolvendo o maior diâmetro occipital.

Perímetro torácico: medido ao nível dos mamilos com o tórax moderadamente cheio (no meio tempo entre expiração e inspiração) através de fita métrica.

1.3.2.2. Dados maternos:

Idade: registrada em anos completos.

Cor: obtida pela observação durante a entrevista.

Classe econômica: definida pelo critério de Classificação Econômica Brasil, através dos itens: TV em cores, videocassete, rádio, banheiro, automóvel, aspirador de

pó, máquina de lavar, geladeira, freezer, empregada mensalista e grau de instrução do chefe da família (4).

SISTEMA DE PONTOS							
Possui							
	0	1	2	3	4	5	6 e +
Televisão em cores	0	2	3	4	5	5	5
Videocassete	0	2	2	2	2	2	2
Rádio	0	1	2	3	4	4	4
Banheiro	0	2	3	4	4	4	4
Automóvel	0	2	4	5	5	5	5
Empregada mensal	0	2	4	4	4	4	4
Aspirador de pó	0	1	1	1	1	1	1
Máquina de lavar	0	1	1	1	1	1	1

GELADEIRA E FREEZER	
Não possui	0
Possui só geladeira sem freezer	2
Possui geladeira duplex ou freezer	3

GRAU DE INSTRUÇÃO	
Analfabeto/Primário incompleto	0
Primário completo/Ginasial incompleto	1
Ginasial completo/Colegial incompleto	2
Colegial completo/Superior incompleto	3
Superior completo	5

RENDA FAMILIAR POR CLASSE		
Classes	Pontos	Faixa de Renda – R\$
A1	30 – 34	5.555 ou +
A2	25 – 29	2.944 - 5.554
B1	21 – 24	1.771 - 2.943
B2	17 – 20	1.065 - 1.770
C	11 – 16	497 - 1.064
D	6 – 10	263 - 496
E	0 – 5	Até 262

Nível de escolaridade: anos escolares completos.

Estado civil: será considerado, casada, solteira, viúva, divorciada ou se tem companheiro.

Procedência: definida pelo local de residência da gestante - Passo Fundo ou outra cidade.

Pré-natal: número de consultas realizadas na gestação.

Sorologia para toxoplasmose: presença de IgG e IgM anti-toxoplasma e o trimestre gestacional.

Método sorológico: nome do método laboratorial utilizado.

Tratamento para toxoplasmose: será considerado o uso de espiramicina ou sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico, da prescrição médica até o término da gravidez.

Contato com gato: presença de gato em casa ou no local de trabalho.

Consumo de carne crua: consumo de salame caseiro (não defumado), kibe cru, linguiça ou carne não cozida, queijo de porco, carpaccio. Carnes: porco, gado, ovelha e carneiro.

Consumo de carne mal cozida: dado obtido mostrando-se fotografias para que a gestante possa identificar o tempo de cozimento da carne que ingere. Carnes: porco, gado, ovelha e carneiro.

Ingesta de leite não pasteurizado: leite retirado direto de vaca ou cabra.

Consumo de ovo cru: ingestão de maionese caseira, gemada, doces com clara em neve e, do próprio, ovo cru.

1.3.2.3. *PCR (reação em cadeia de polimerase):* será realizada em amostra de 2 ml de sangue venoso periférico coletada em vacutainer (com EDTA - ácido etilendiaminotetracético) e em 30 gotas de líquido, para a detecção de segmento de DNA (ácido desoxirribonucléico) do toxoplasma. Valor de referência: negativo.

1.4 Procedimentos

Em todos recém-nascidos será testada IgM-ELFA, em sangue de cordão umbilical, logo após o nascimento e a dequitação da placenta. Quando a sorologia for positiva, antes do tratamento, será coletado sangue venoso periférico (2 ml em tubo vacutainer com EDTA) e líquido (30 gotas) para a realização da PCR. Nos neonatos com sorologia positiva, o exame será repetido com 5 dias de vida e mensalmente, para acompanhar a persistência dos anticorpos. Quando a PCR for positiva, será testada novamente a cada mês, em sangue venoso periférico e líquido, para identificar a negatificação do teste.

As mães dos recém-nascidos com sorologia positiva, também serão testadas para IgM anti-toxoplasma, pelo mesmo método.

Os testes IgM-ELFA serão realizados no Laboratório Labcenter-Lavoisier, Passo Fundo.

A PCR será realizada no Laboratório DNA Reference, Porto Alegre.

1.5 Instrumento para coleta de dados neonatais e maternos

Será aplicado um questionário para obtenção dos dados dos recém-nascidos e das mães, após atendimento em sala de parto no centro obstétrico do hospital. Os residentes realizarão as medidas antropométricas e a classificação neonatal, após o atendimento, e preencherão os questionários.

A maioria dos itens de informação coletados estão contidos em questões fechadas, com codificação das respostas (anexo III).

1.6 Preenchimento dos questionários

Serão preenchidos por 6 médicos residentes do Programa de Residência Médica em Pediatria do Hospital São Vicente de Paulo. Um dos médicos residentes será o supervisor desse processo, avaliando os questionários quanto à correção e o completo preenchimento, a cada 2 dias.

A codificação das informações será realizada pela pesquisadora posteriormente.

1.7 Instrumentos para coleta de sangue de cordão umbilical

Será realizada pela enfermagem (4 enfermeiras) do Centro Obstétrico do Hospital São Vicente de Paulo, em conjunto com os residentes de Pediatria. As enfermeiras do Centro Obstétrico serão treinadas, pela pesquisadora executora, em relação ao procedimento de coleta. Todos os passos desse item, serão discutidos pela pesquisadora executora com a equipe do Centro Obstétrico:

- pinçar o cordão unido à placenta, imediatamente após a dequitação;
- coletar 2,0 ml de sangue;
- colocar o material coletado, no tubo de ensaio, direcionando-o lentamente, à parede do tubo de ensaio;
- rotular os tubos, constando: nome completo da mãe (RN de...), número do registro e data;
- manter o tubo, na grade, em temperatura ambiente de 20°-24°C, até o transporte ao laboratório.

Os materiais serão transportados ao laboratório, em todos os turnos, por um funcionário do local.

1.8 Instrumentos para coleta de sangue venoso periférico

Quando for necessário realizar a detecção do *Toxoplasma gondii* pela PCR, o sangue será coletado em vacutainer com EDTA, na maternidade do Hospital São Vicente de Paulo, pelo laboratório. Se o recém-nascido já tiver recebido alta hospitalar, será buscado em casa, e o procedimento efetuado na emergência pediátrica do hospital.

Técnica: agulha 20 x 5,5,25 x 6 ou 25 x 7, com luvas de procedimento, realiza-se a anti-sepsia com álcool a 70% e punciona-se a veia visualizada com a agulha cujo bisel deve estar voltado para cima.

1.9 Instrumentos para coleta de líquido

A punção lombar será realizada, quando necessária, pela pesquisadora executora, na maternidade do Hospital São Vicente de Paulo. Se o recém-nascido já tiver recebido alta hospitalar, será buscado em casa, e o procedimento efetuado na emergência pediátrica do hospital.

Os passos para a coleta são: posicionamento do recém-nascido, sentado ou em decúbito lateral esquerdo, com o quadril fletido a 90° sem fletir o pescoço, anestesia local com xilocaína, anti-sepsia com álcool a 70% e uso de butterfly nº 23. Serão coletadas 30 gotas, em recipiente estéril com identificação da criança.

O procedimento será acompanhado pelo serviço de neurologia do Hospital São Vicente de Paulo.

O transporte das amostras sanguíneas e líquóricas (PCR) para o Laboratório DNA Reference, em Porto Alegre, seguirá uma rotina padronizada entre os laboratórios e, será realizado, em caixa de isopor com gelo.

1.10 Análise das amostras

IgM-ELFA: as amostras serão centrifugadas durante 5 minutos a 3500 rpm, separadas, alíquotadas e armazenadas a -20°C até posterior análise. O soro obtido será processado pelo método Enzyme Linked Fluorescent Assay. Os Kits contém ponteiras e tiras de prolipropileno.

As ponteiras movimentam amostra e reagentes e servem de suporte sólido onde a reação se processa. As tiras de polipropileno tem 10 cavidades, a primeira recebe a amostra e, a última, o substrato onde é feita a leitura da reação. As cavidades intermediárias contém os demais reagentes. O processo é realizado automaticamente

pelos movimentos sequenciais de entrada e saída da ponteira/suporte sólido, nas cavidades com reagentes da tira. Passos: 100 µl de amostra são pipetados na primeira cavidade do barrete de polipropileno, previamente identificado. A ponteira, revestida de antígenos de membrana humana, remove a amostra da 1ª cavidade, permitindo a captura dos anticorpos IgM. Uma lavagem remove o material não conjugado. A ponteira entra em contato com o conjugado, que é um complexo marcado com fosfatase alcalina. Nova lavagem remove o material não ligado e a ponteira entra em contato com o substrato 4 metil-umbeliferil fosfato. O produto fluorescente é medido pelo sistema óptico. Os resultados são analisados automaticamente.

PCR: o DNA do sangue será extraído pelo método de “salting out”. O DNA do líquido será extraído pelo GFX™ Blood DNA Purification Kit. A amplificação do DNA será feita pela técnica de Nested PCR, em volumes de reação de 50µl (1º round) e 25µl (2º round) contendo: 20mM Tris-HCl (pH 8,0); 100mM NaCl; 0,1 mM EDTA; 1mM DTT; estabilizantes; 50% glicerol; 1,5mM MgCl₂; 250 mM de cada desoxinucleotídeo; 0,4 mM de cada Primer e 0,125 U de Taq Polimerase. Serão amplificadas 2 alíquotas de cada amostra com volumes diferentes: sangue com EDTA (1 e 3 ml), líquido (5 e 20 ml). Programa de amplificação: 1º round e 2º round: 94°C – 1 minuto, 94°C – 20 segundos, 55°C – 20 segundos 35 ciclos, 72°C – 20 segundos, 72°C – 1 minuto. Os produtos de amplificação serão submetidos à eletroforese em gel de agarose 2% contendo brometo de etídio e o fragmento (213 bp) será visualizado sob luz ultravioleta. Em cada eletroforese, será usado um marcador de peso molecular 100bp.

1.11 Treinamento

Os médicos residentes e enfermeiras que participarão da pesquisa devem se comprometer a estudar o assunto em questão - TOXOPLASMOSE CONGÊNITA - e será exigida disponibilidade de tempo para o preenchimento dos questionários.

Aos colaboradores, será apresentado o projeto de pesquisa e o questionário, previamente elaborados pela pesquisadora executora e pesquisador responsável.

Cada item do questionário, com sua interpretação e codificação, será amplamente discutido com a equipe de trabalho. As dúvidas serão esclarecidas pela pesquisadora executora.

Estudo piloto: 5 procedimentos de coleta sanguínea de cordão umbilical serão realizados pela pesquisadora executora, em cada turno, acompanhados pelo grupo de colaboradores e enfermeira do turno correspondente. Cada enfermeira realizará 5 coletas sanguíneas de cordão umbilical e cada colaborador preencherá, individualmente, 10 prontuários. Nessa oportunidade, o procedimento de coleta sanguínea e o questionário,

serão estudados, e as dúvidas esclarecidas, novamente. Esses dados não serão analisados.

1.12 Processamento dos dados

Será realizada digitação dupla por dois digitadores treinados, através do programa Epi-Info 6.0.

1.13 Controle de Qualidade

A pesquisadora executora revisará 10% dos questionários, que também serão revisados pelo residente supervisor. Duas vezes por semana, a pesquisadora executora supervisionará a coleta de sangue do cordão umbilical.

Controle de qualidade do aparelho MINIVIDAS: um controle positivo e um controle negativo estão incluídos em cada Kit MINIVIDAS TOXO IgM. Esses controles devem ser utilizados na abertura de cada novo Kit, para confirmar a ausência de alteração dos reagentes. Esses controles, também, devem ser utilizados em cada recalibração. Se o valor dos controles se afastar dos valores esperados, os resultados não podem ser validados.

1.14 Cronograma básico

Questionário e manual: maio/2001

Seleção e treinamento: junho/2001

Estudo piloto: julho/2001

Coleta de dados: agosto/2001- março/2002

Digitação: agosto/2001 - março/2002

Análise dos dados: abril - maio/2002

Redação do artigo: junho - julho/2002

Preparação final: agosto - novembro/2002

Apresentação: janeiro/2003

1.15 Análise estatística

A estimativa da proporção populacional será determinada, via intervalo de confiança de 95%, baseado na distribuição binomial. As variáveis maternas e neonatais serão categorizadas através de tabelas de frequência simples. Para algumas variáveis, serão calculadas a média e o desvio padrão.

1.16 Recursos necessários

Computador, impressora, disquetes e material de escritório, serão fornecidos pela pesquisadora executora. Os exames IgM (ELFA) serão realizados no Laboratório Labcenter-Lavoisier, em Passo Fundo, em parceria com o Hospital São Vicente de Paulo. A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), concederá auxílio no valor de R\$ 5.500,00 de acordo com o programa de apoio ao desenvolvimento de pesquisa científica e tecnológica (programa reg. 3 – processo 00/2329.7).

2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO PROJETO DE PESQUISA

1. Capurro H, Konichewsky S, Fonseca D. A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant. *J Pediatr* 1978;93:120-2.
2. World Health Organization. Technical Report Series, 1971.
3. Battaglia FC, Lubchenco LO. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. *J Pediatr* 1967; 71:159.
4. ANEP (Associação Nacional das Empresas de Pesquisas), ABA (Associação Brasileira de Anunciantes), ABIPEME (Associação Brasileira dos Institutos de Pesquisa de Mercado). Critério de Classificação Econômica Brasil. *Revista M&M*; 1997.

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas
Mestrado Interinstitucional: Universidade de Passo Fundo

**Prevalência de Toxoplasmose Congênita no Norte do Estado: Um Estudo
Prospectivo em Passo Fundo**

Anexo III

Instrumento de Coleta de Dados

Questionário

ANEXO III - QUESTIONÁRIO PARA DE COLETA DE DADOS
PESQUISA: PREVALÊNCIA DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

QUESTIONÁRIO N° [] [] [] [] [] []	CODIFICAÇÃO QUEST [] [] [] [] [] []
NOME DA GESTANTE: _____	
REGISTRO: _____	REG [] [] [] [] [] [] [] [] [] []
ENDEREÇO: _____	
Fone contato _____ Falar com _____	
PROCEDÊNCIA: [1] PASSO FUNDO [2] OUTRA CIDADE	PROC []
IDADE MATERNA: [] [] [] [99] IGNORADO	IDMAT [] [] []
COR: [1] BRANCA [2] MISTA [3] NEGRA	COR []
ESTADO CIVIL: [1] SOLTEIRA [2] CASADA [3] VIÚVA [4] DIVORCIADA [5] COMPANHEIRO [9] IGNORADO	ESTCIV []
ESCOLARIDADE MATERNA: [1] ANALFABETA [8] ATÉ 7ª SÉRIE 1º GRAU [2] ATÉ 1ª SÉRIE 1º GRAU [9] 1º GRAU COMPLETO [3] ATÉ 2ª SÉRIE 1º GRAU [10] 2º GRAU INCOMPLETO [4] ATÉ 3ª SÉRIE 1º GRAU [11] 2º GRAU COMPLETO [5] ATÉ 4ª SÉRIE 1º GRAU [12] SUPERIOR INCOMPLETO [6] ATÉ 5ª SÉRIE 1º GRAU [13] SUPERIOR COMPLETO [7] ATÉ 6ª SÉRIE 1º GRAU [99] IGNORADO	ESCOLMAT [] [] []
CLASSE ECONÔMICA: <u>POSSE:</u> [0] NÃO TEM [N°] TEM TV EM CORES, VIDEOCASSETE, RÁDIO, BANHEIRO, AUTOMÓVEL EMPREGADA MENSAL., ASPIRADOR DE PÓ, MÁQUINA DE LAVAR	TV [] VC [] RAD [] BAN [] AUT [] EMPR [] ASP [] MAQ []
<u>GELADEIRA E FREEZER:</u> [0] NÃO [1] SÓ GELADEIRA SEM FREEZER [2] POSSUI GELADEIRA DUPLEX OU FREEZER	GELFREEZ []
<u>GRAU DE INSTRUÇÃO CHEFE DA FAMÍLIA:</u> [1] ANALFABETO [8] ATÉ 7ª SÉRIE 1º GRAU [2] ATÉ 1ª SÉRIE 1º GRAU [9] 1º GRAU COMPLETO [3] ATÉ 2ª SÉRIE 1º GRAU [10] 2º GRAU INCOMPLETO [4] ATÉ 3ª SÉRIE 1º GRAU [11] 2º GRAU COMPLETO [5] ATÉ 4ª SÉRIE 1º GRAU [12] SUPERIOR INCOMPLETO [6] ATÉ 5ª SÉRIE 1º GRAU [13] SUPERIOR COMPLETO [7] ATÉ 6ª SÉRIE 1º GRAU [99] IGNORADO	CHEF [] [] []

PRÉ-NATAL: [0] NÃO [1] 1 CONSULTA [2] 2 CONSULTAS
[3] 3 CONSULTAS [4] 4 CONSULTAS [5] 5 CONSULTAS
[6] 6 OU + CONSULTAS

SOROLOGIA:

IgG NO 1º TRIMESTRE [1] SIM [0] NÃO REALIZADA
IgG NO 2º TRIMESTRE [9] IGNORADA
IgG NO 3º TRIMESTRE

IgM NO 1º TRIMESTRE [1] SIM [0] NÃO REALIZADA
IgM NO 2º TRIMESTRE [9] IGNORADA
IgM NO 3º TRIMESTRE

MÉTODO SOROLÓGICO: _____

TRATAMENTO MATERNO PARA TOXOPLASMOSE

[1] SIM [0] NÃO [3] INCOMPLETO [9] IGNORADO

GATO EM CASA OU NO LOCAL DE TRABALHO: [1] SIM [0] NÃO

CONSUMO DE CARNE MAL COZIDA: [1] SIM [0] NÃO

CONSUMO DE CARNE CRUA: [1] SIM [0] NÃO

CONSUMO DE OVO CRU: [1] SIM [0] NÃO

INGESTA DE LEITE NÃO PASTEURIZADO: [1] SIM [0] NÃO

PESO DE NASCIMENTO: **COMPRIMENTO:**

PERÍMETRO CEFÁLICO: **PERÍMETRO TORÁCICO:**

IDADE GESTACIONAL:

[1] ATÉ 37 SEMANAS [2] 37 - 41/6 SEMANAS [3] ≥ 42 SEMANAS

CRESCIMENTO INTRA-UTERINO: [1] AIG [2] PIG [3] GIG

SOROLOGIA RN: [1] POSITIVA [2] NEGATIVA

PCR SANGUE: [1] POSITIVA [2] NEGATIVA [0] NÃO REALIZADA

PCR LÍQUOR: [1] POSITIVA [2] NEGATIVA [0] NÃO REALIZADA

COLETADOR (A) DE DADOS:

PREN []

IgG1 []

IgG2 []

IgG3 []

IgM1 []

IgM2 []

IgM3 []

TRATMAT []

GAT []

CARN []

CARNCRUA []

OV []

LEIT []

PN_____ C_____

PC_____ PT_____

IG []

CIU []

SOROL []

PCR S []

PCR L []

COLET []

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Faculdade de Medicina
Universidade de Passo Fundo
Faculdade de Medicina
Programa de Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas
Mestrado Interinstitucional: Universidade de Passo Fundo

**Prevalência de Toxoplasmose Congênita no Norte do Estado: Um Estudo
Prospectivo em Passo Fundo**

Anexo IV

Manual de rotinas

MANUAL DE ROTINAS

1 Introdução

Fazem parte deste manual as rotinas que deverão padronizar as orientações, auxiliando na tomada de decisões, no decorrer da pesquisa.

1.1 Equipe de pesquisa

Liége Mozzatto - pesquisadora executora

Márcia Laccho

Graciela Benazzi

Giovani Ferronato

Cristina Dornelles

Sílvia dos Santos

Laíse Rottensusser

Cleusa Renner—enfermeira chefe da maternidade, supervisora das coletas de cordão umbilical e transporte ao laboratório.

1.2 Admissão no hospital

Para toda gestante e/ou familiar, no momento da admissão na maternidade, será explicado os objetivos e o tipo de pesquisa proposta. Aquelas que participarem do estudo, assinarão o Termo de Consentimento I.

1.3 Centro obstétrico

Para todo recém-nascido vivo, será coletado sangue do cordão umbilical, conforme os procedimentos descritos no protocolo de pesquisa.

1.4 Questionários

Após o nascimento, no alojamento conjunto, será preenchido o questionário:

- sempre que houver dúvida no preenchimento de alguma questão, escrever por extenso a resposta da informante, e deixar para o supervisor ou pesquisador decidir como codificar;

- se a resposta do informante parecer pouco confiável, anotá-la e fazer um comentário sobre sua má qualidade;
- quando a resposta for outra, descrever a resposta segundo as palavras do informante.

1.4.1 Orientações para preenchimento dos questionários

NÚMERO DO QUESTIONÁRIO: cada questionário terá um número que *não poderá ser repetido*.

NOME DA GESTANTE: registre o nome completo.

REGISTRO: anote o registro do SAME.

ENDEREÇO: descreva o endereço completo com número e telefone, se possuir. Pergunte algum ponto de referência, telefone de contato e falar com que pessoa.

PROCEDÊNCIA: considere Passo Fundo (1) ou outra cidade (2). Se a gestante reside há menos de um mês em determinada cidade, registre a localidade anterior.

IDADE MATERNA: pergunte a idade em anos *completos*, conferir no SAME. Se ela não sabe ou não lembra e não houver dados no SAME, preencha 99.

COR: anote a cor observada durante a entrevista – branca, negra e mista.

ESTADO CIVIL: pergunte se é casada, viúva, solteira, divorciada ou se tem companheiro. O “ficante” não é companheiro! Companheiro é a pessoa com quem mantém relação fixa.

ESCOLARIDADE MATERNA: indague até que ano estudou na escola e se passou de ano. Se estudou até a 2ª série, mas não a completou, então marque 1ª série. O 1º grau é, agora, chamado de ensino fundamental e o 2º, de ensino médio.

CLASSE ECONÔMICA: não considerar bem emprestado para outro domicílio há mais de 6 meses, bem quebrado há mais de 6 meses, bem alugado em caráter eventual, bem de propriedade de empregados ou pensionistas.

Item posse – registre 0 para quem não possui algum destes aparelhos e os que possuem, registre a quantidade de cada tipo de aparelho presente em casa.

Item geladeira e freezer – anote 0, para quem não possui, 1, se possui só geladeira e, 2, para quem tem geladeira duplex ou freezer. Não confundir freezer com congelador.

Item grau de instrução do chefe da família – entende-se como escolaridade do chefe de família à escolaridade paterna ou responsável pela família. Anote semelhante à escolaridade materna.

Obs: *Televisores* – considerar apenas os televisores em cores. Televisores de uso de empregados domésticos (declaração espontânea) só devem ser considerados

caso tenha (m) sido adquirido (s) pela família empregadora. *Rádio* – não pode ser considerado o rádio de automóvel. *Banheiro* – o que define banheiro é a existência de vaso sanitário. Banheiros coletivos (que servem a mais de uma habitação) não devem ser considerados. *Automóvel* - não considerar táxis, vans ou pick-ups usados para fretes, ou qualquer veículo usado para atividades profissionais. Veículos de uso misto (lazer e profissional) não devem ser considerados. *Empregada doméstica* – considerar apenas as mensalistas, aquelas que trabalham pelo menos 5 dias por semana, durmam ou não no emprego. Não esquecer de incluir babás, motoristas, cozinheiras, copeiras, arrumadeiras, considerando sempre os mensalistas. *Aspirador de pó* - considerar, também, o Vaporetto. *Máquina de lavar* – quando mencionado, espontaneamente, o tanquinho deve ser considerado.

REALIZAÇÃO DE PRÉ-NATAL: anote o número de consultas realizadas durante o pré-natal. Verificar a carteira de gestante para confirmação dos dados.

SOROLOGIA PARA TOXOPLASMOSE: pergunte se fez exame(s) para toxoplasmose. Verifique na carteira de gestante e/ou exames, a sorologia IgG e IgM. Se realizou exame anote 1, para cada trimestre. Se não realizou exame, em algum trimestre, coloque 0. Se não sabe informar ou não dispõe da carteira de gestante, considere ignorado e, anote 9. Se não trouxe a carteira, veja se algum familiar pode buscá-la, então, retorne para confirmar os dados. Para identificar o trimestre da gestação em que houve a coleta, o parâmetro é a data da última menstruação. Considere-se 1º trimestre, 0 a 14 semanas, 2º trimestre, 15 a 28 semanas e 3º trimestre, 29 a 42 semanas. Na ausência desta, o parâmetro será o método de Capurro.

MÉTODO SOROLÓGICO: verifique a carteira de gestante e/ou exames. Caso não se obtenha a informação desejada, marque o campo com um traço. Se a gestante realizou 2 exames sorológicos em um trimestre, com métodos diferentes, anote ambos.

TRATAMENTO MATERNO PARA TOXOPLASMOSE: considere quando houver o uso de espiramicina ou sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico (a partir da prescrição médica até o término da gestação). Verifique a carteira de gestante. Se a paciente não sabe informar ou não lembra, registre 9. Se não fez o tratamento prescrito pelo médico, marque 0. Se fez incompleto (parou por conta), anote 3.

VOCÊ TEM GATO EM CASA OU NO LOCAL DE TRABALHO? considere também, como sim, se o(s) gato (s) do vizinho ou outro gato aparece no terreno diariamente.

VOCÊ COMEU CARNE MAL COZIDA? mostre as fotografias para a gestante identificar o tempo de cozimento que utiliza para as carnes. Considere carne de porco, gado, ovelha e carneiro.

VOCÊ COMEU CARNE CRUA? pergunte se comeu kibe cru, salame feito em casa, queijo de porco, linguiça ou carne não cozida (assada), carpaccio. Tipos de carne: porco, gado, ovelha e carneiro. Mesmo que, poucas vezes, entenda como resposta afirmativa.

VOCÊ COMEU OVO CRU? considere maionese feita em casa, gemada, doces com clara em neve e o ovo cru. Considere sim, mesmo que, poucas vezes.

VOCÊ TOMOU LEITE TIRADO DIRETO DA VACA OU CABRA? considere sim, mesmo que, algumas vezes.

DADOS ANTROPOMÉTRICOS: realize as medidas do neonato, após o nascimento, conforme o protocolo de pesquisa.

IDADE GESTACIONAL E CRESCIMENTO INTRA-UTERINO: realize as avaliações, após o nascimento, de acordo com o protocolo. Anote os seguintes códigos - 1 (premature, AIG); 2 (a termo, PIG) e 3 (pós-termo, GIG).

SOROLOGIA DO RECÉM-NASCIDO: anote o resultado da sorologia enviada pelo laboratório. Certifique-se que está anotando no questionário correto, confira o nome completo da gestante. Explicar para mãe e/ou família do recém-nascido, com diagnóstico de toxoplasmose congênita, sobre os exames necessários para a pesquisa do parasita pela PCR e o acompanhamento mensal da sorologia. A família que participar, deve assinar o Termo de Consentimento II.

PCR NO SANGUE: anote o código (positiva ou negativa): se não realizada, coloque o código 0.

PCR NO LÍQUOR: anote o código (positiva ou negativa): se não realizada, coloque o código 0.

COLETADOR(A) DOS DADOS: registre o seu código: Liége [1], Laíse [2], Márcia [3], Cristina [4], Graciela [5], Giovani [6], Sílvia [7].

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora os estudos de prevalência assumam uma maior relevância quando se utiliza base populacional (1), esta pesquisa não ficaria prejudicada quanto ao viés de seleção, apesar de conduzida em uma população restrita, porque ao se pretender estabelecer medidas de frequência em toxoplasmose congênita, a população alvo é a de neonatos.

Sabemos que a real prevalência de toxoplasmose congênita na população estudada, é incerta, pois o screening neonatal subestima a magnitude da doença ao nascimento. A produção de anticorpos fetais depende da época gestacional no momento da infecção e da possível influência das drogas antiparasitárias recebidas pela gestante. Crianças infectadas precocemente são menos frequentemente positivas para IgM ou IgA ao nascimento, pois a resposta imune fetal inicia-se após 20-22 semanas de gestação (2,3); embora a taxa de transmissão vertical, nessa fase, seja muito baixa. O tratamento da gestante poderá ter um efeito negativo na acurácia dos testes neonatais, ao abortar ou retardar a resposta imunológica fetal à infecção (3). Screening neonatal, baseado na detecção de IgM, pode identificar 75-80% dos recém-nascidos infectados de mães não tratadas e, somente, 25% das crianças de mães que receberam tratamento (2,3). Para minimizar esses fatores, o ideal seria repetir o teste sorológico após 30 dias, nos

neonatos com exames negativos ao nascimento. Contudo, essa execução representaria um custo adicional.

Entretanto, é descrita a grande variabilidade na prevalência da doença, em diferentes regiões, baseada em fatores climáticos, culturais e econômicos (4). A frequência da doença, nessa pesquisa, é semelhante a outros estudos realizados.

A pesquisa de IgM é menos específica em sangue de cordão umbilical do que em sangue neonatal, pela possibilidade de contaminação com sangue materno (5). Mas, pelo tamanho necessário da amostra, e por ser menos invasiva, optamos pela coleta de sangue de cordão umbilical.

Nos casos de placentite, pode ocorrer a passagem transplacentária de IgM, cuja vida média é de 5 dias (6). Portanto, é importante retestar os casos positivos nos primeiros dias de vida.

Não realizamos a pesquisa do parasita, pela reação em cadeia de polimerase, na urina, porque o tempo que o toxoplasma permanece nesse fluido é desconhecido; sendo necessária várias coletas, em tempos diversos, para a sua captação. Além disso, não existem estudos sobre a detecção do parasita na urina de recém-nascidos com infecção subclínica, somente, de neonatos sintomáticos (7)

Ressalta-se a importância de exames sorológicos sistemáticos em toda gestante soronegativa, devendo ser testada antes e durante a gravidez. Por outro lado, as gestantes soropositivas previamente, não estão totalmente imunizadas, pois, mesmo em raras ocasiões, existem evidências de que é possível haver recontaminação ou reativação durante a gravidez, com acometimento fetal (8,9). Chemla *et al.* recomendam, sobretudo, realizar teste sorológico um mês após o parto, para todas as mulheres que permanecem soronegativas até esse momento. Essa estratégia foi baseada no relato de

um caso de toxoplasmose congênita, cuja gestante se infectou no final da gravidez e não apresentava sinais de soroconversão na ocasião do parto (10).

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DAS CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Pereira MG. Epidemiologia – Teoria e Prática. 1ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan,1995. p.271.
2. Lebech M, Andersen O, Christensen N, Hertel J, Nielsen H. Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. Lancet 1999 May; 353:1834-37.
3. Naessens A, Jenum PA, Pollak A. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period: a multicenter evaluation. J Pediatr 1999; 135:714-9.
4. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 2001. p. 205-346.
5. Montoya JG. Laboratory diagnosis of toxoplasma gondii infection and toxoplasmosis. The J Infect Dis 2002;185:S73-82.
6. Camargo ME. Toxoplasmose. In: Ferreira AW, Ávila SLM. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p.278-87.

7. Fuentes I, Rodriguez M, Domingo CJ, Castillo F, Juncosa T, Alvar J. Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR. *J Clin Microbiol* 1996;34:2368-71.
8. Gavinet MF, Robert F, Firtion G, Delouvrier E. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *J Clin Microbiol* 1997; 35(5):1276-77.
9. Sánchez P. Congenital Toxoplasmosis. In: Feigin RD, Cherry JD. *Textbook of Pediatrics infectious diseases*. 4th ed. vol 1. Philadelphia: WB Saunders;1998. p.937-40.
10. Chemla C, Villena I, Aubert D, Hornoy P. Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9:489-90.

