

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Parasitologia



Dissertação

**Toxoplasmose: Perfil sorológico em gestantes atendidas
em Postos de Saúde do Município de Pelotas-RS**

Beatris González Cademartori

Pelotas, 2007

Dados de catalogação na fonte:
Patrícia de Borba Pereira - CRB - 10/1487

636

C122t

Cademartori, Beatris Gonzalez

Toxoplasmose: perfil sorológico em gestantes atendidas em Postos de Saúde do município de Pelotas-RS/ Beatris Gonzalez Cademartori; orientador Claudiomar Soares Brod; co-orientadora Nara Amélia da Rosa Farias. - Pelotas: UFPEL: IB, 2007. – 102p. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

I.Parasitologia II.*Toxoplasma gondii* III. Toxoplasmose IV. Gestantes 1. Autor 2. Título 3. Brod, Claudiomar Soares 4. Farias, Nara Amélia da Rosa

Beatris González Cademartori

**Toxoplasmose: Perfil sorológico em gestantes atendidas
em Postos de Saúde do Município de Pelotas-RS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Parasitologia).

Orientador: Prof. Dr. Claudiomar Soares Brod

Co-Orientador (a): Prof^ª Dr^a Nara Amélia da Rosa Farias

Pelotas, 2007

Banca examinadora:

Prof. Dr. Carlos James Scaini

Prof^a. Dr^a.Lulie Rosane Odeh Susin

Prof^a. Dr^a. Maria Elizabeth A. Berne

Prof. Dr. Claudiomar Soares Brod
(Orientador)

Prof^a. Dr^a. Nara Amélia da Rosa Farias
(Co-orientadora)

Ao meu esposo, João Francisco, e aos meus filhos, Mariana e Pedro Henrique, dedico este trabalho como forma de agradecimento pelo amor e incentivo nesta caminhada.

Agradecimentos Especiais

Aos meus pais, Carmen e Roberto (in memorian), pela educação transmitida com amor, seriedade, humildade e exemplo de dedicação à família.

Ao meu irmão, Carlos Roberto (in memorian), que sempre acreditou em mim, e apesar de sua ausência física, tenho certeza da sua felicidade pela minha conquista profissional.

Agradecimentos

À Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade oferecida para a realização deste curso de Pós-Graduação.

Ao Prof. Dr. Claudiomar Soares Brod, pelos ensinamentos, confiança e orientação deste estudo.

À Profª Dra. Nara Amélia da Rosa Farias, pela amizade, dedicação, por ser exemplo de profissional e pela orientação deste estudo.

À profª Dra Elaine Albernaz, do Centro de Pesquisas Epidemiológicas da UFPel, pela atenção e sugestões valiosas na execução deste trabalho.

Aos professores do curso de Pós-Graduação em Parasitologia pela seriedade e ensinamentos transmitidos.

À empresa WAMA Diagnóstica, pela doação de kits de Imunofluorescência Indireta e pelo assessoramento técnico durante a realização deste estudo.

Aos professores e estagiários do Centro de Zoonoses da UFPel, em especial à Profª Cláudia Fernandes, pela amizade e auxílio nas leituras dos testes de Imunofluorescência Indireta.

Aos professores, mestrandos e estagiários do Laboratório de Protozoologia da UFPel, pelo carinho e atenção dispensados.

Aos colegas do mestrado, em especial ao mestrando Nilton Cunha, pela amizade e auxílio na etapa final deste trabalho.

Especialmente a Deus, pelo dom da vida e pelo esposo maravilhoso que reservou para caminhar ao meu lado, sempre atento às necessidades da família, incansável em nos fazer felizes. Muito obrigada pelo incalculável apoio e por mais este sonho que se realiza.

A todos que, de alguma forma, colaboraram para que esta, importante, etapa profissional pudesse ser concluída.

RESUMO

CADEMARTORI, Beatris González. **Toxoplasmose: Perfil Sorológico em gestantes atendidas em Postos de Saúde do Município de Pelotas-RS.** 2007. 102f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A toxoplasmose adquirida durante a gestação, de curso benigno em pacientes imunocompetentes e assintomática em 85% dos casos, pode ser transmitida para o feto e resultar em infecção congênita. Embora maioria dos recém-nascidos não apresente sintomas ou sinais clínicos, pode evoluir para seqüelas na infância e vida adulta, sendo que a coriorretinite é a lesão mais freqüente. Entre as estratégias de prevenção da toxoplasmose congênita incluem-se a educação em saúde e a triagem pré-natal, com o objetivo de reduzir a exposição aos fatores de risco para a infecção por *Toxoplasma gondii*, detectar e tratar a infecção aguda na gestante. Os objetivos foram avaliar a prevalência e o risco de transmissão congênita por *T. gondii*, através da análise do perfil sorológico das mesmas e do conhecimento sobre as formas de transmissão da zoonose, verificar possíveis associações entre soropositividade das gestantes e a exposição aos fatores de risco da infecção, além de comparar as técnicas de Quimioluminescência e Imunofluorescência Indireta para o diagnóstico sorológico da toxoplasmose na amostra estudada. Foi realizado um estudo transversal, com 425 gestantes que realizaram o pré-natal nos Postos de Saúde de Pelotas-RS, no período de maio a novembro de 2006. Constatou-se uma soroprevalência (IgG) de 54,8% para *T. gondii* e não foi detectado a presença de anticorpos IgM. Na análise dos fatores de risco foi verificada associação significativa ($p<0,05$) entre a soropositividade das gestantes e a idade, manuseio de carne crua, consumo de vegetais crus, de carnes cruas ou mal cozidas, de leite cru não pasteurizado e contato direto com o solo. Através do modelo de regressão logística, essa associação foi confirmada para o consumo de carnes cruas ou mal cozidas (OR=1,85) e o contato direto com o solo (OR=2,67). O convívio com gatos, não apresentou associação significativa com a soropositividade para *T. gondii* nas pacientes estudadas. Constatou-se elevado desconhecimento da doença e das principais fontes da infecção pelas gestantes entrevistadas. A técnica de Quimioluminescência mostrou-se adequada ao diagnóstico de rotina da infecção por *T. gondii*, pois, além da praticidade, apresentou de sensibilidade, especificidade e acurácia comparáveis aos da Imunofluorescência Indireta. Os resultados obtidos indicam a necessidade da implantação de programas de prevenção primária da infecção por *T. gondii* para gestantes, a fim de reduzir o risco da toxoplasmose congênita.

Palavras-chave: *Toxoplasma gondii*. Gestação. Fatores de risco para toxoplasmose.

ABSTRACT

CADEMARTORI, Beatris González **Toxoplasmosis: serological analysis in pregnant women who attend primary health centres in Pelotas - RS.** 2007. 102f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Parasitologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The toxoplasmosis acquired during pregnancy of benign course in immunocompetent patients and asymptomatic in 85% of the cases may infect the fetus and result in congenital infection. Although most of the newborns do not present symptoms or clinical signs, there may be sequelae during the childhood and adult life, being the chorioretinitis the most frequent one. Among the strategies to prevent congenital toxoplasmosis we can find the education for health and the preconception trial, which aim is to reduce the exposition to the risk factors that may lead to an infection by *T. gondii*, to detect and to treat acute infection in pregnant woman. The aims of this study were to evaluate the prevalence and risk of congenital transmission by *Toxoplasma gondii*, through serological analysis of the pregnant women and also through their knowledge about the zoonosis transmission routes, to check the possible association between the soropositivity of the pregnant women and their exposition to the infection risk factors, and also to compare the Chemiluminescence and Indirect Immunofluorescence techniques in the diagnosis of the toxoplasmosis in the studied sample. A transversal study was conducted, with 425 pregnant women who were attending prenatal care in public health centres of Pelotas (RS-Brazil), during the period of May to November 2006. It was verified a *T. gondii* soroprevalence of (IgG) 54,8% and it was not detected the presence of IgM antibodies. The analysis of the risk factors showed a significant association ($p < 0.05$) between the soropositivity of the pregnant women and their age, the handle of raw meat, the intake of raw vegetables, raw or undercooked meat and raw or nonpasteurized milk and direct contact with the soil. The Logistic Regression Model confirmed the above associations to the intake of raw or undercooked meat (OR=1.85) and to the direct contact with the soil (OR=2.67). The interaction with cats did not present a significant association with the *T. gondii* soropositivity patients. It was observed that the pregnant women who were interviewed did not know much about the disease and its main sources of infection. The Chemiluminescence technique proved to be an adequate one in the routine diagnosis of the *T. gondii* infection as, besides being a practical technique, it showed results comparable to the ones of the Indirect Immunofluorescence, sensibility, specificity and accuracy. The results indicate the necessity of implementing *T. gondii* primary prevention programmes for the pregnant women who as a way of reducing the risks of congenital toxoplasmosis.

Key words: *Toxoplasma gondii*. Pregnancy. Risk factors for toxoplasmosis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Prevalência de soropositividade para <i>T. gondii</i> , segundo a faixa etária das gestantes atendidas nos Postos de Saúde de Pelotas-RS, no período de maio a novembro de 2006.....	65
----------	--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição das gestantes provenientes dos Postos de Saúde de Pelotas/RS (n=425), segundo possíveis fatores de risco para infecção por <i>T. gondii</i> , no período de maio a novembro de 2006.....	61
Tabela 2	Frequência dos principais fatores de risco para toxoplasmose, citados pelas pacientes entrevistadas, no período de maio a novembro de 2006.....	62
Tabela 3	Prevalência de anticorpos IgG para <i>T. gondii</i> em gestantes atendidas nos Postos de Saúde de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.....	62
Tabela 4	Exposição aos possíveis fatores de risco à infecção por <i>T. gondii</i> que não apresentaram associação significativa ($p>0,05$) com a soropositividade das gestantes analisadas (n= 425), nos Postos de Saúde do Município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.....	63
Tabela 5	Associação ($p<0,05$) dos prováveis fatores de risco à infecção por <i>T. gondii</i> com a soropositividade de gestantes (n=425), provenientes dos Postos de Saúde do Município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.....	64
Tabela 6	Associação ($p<0,05$) dos prováveis fatores de risco à infecção por <i>T. gondii</i> com a soropositividade de gestantes (n=425), provenientes dos Postos de Saúde do Município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006, após a aplicação do modelo multivariado.....	66
Tabela 7	Resultados da análise sorológica dos anticorpos IgG para <i>T. gondii</i> por Quimioluminescência, comparado com Imunofluorescência Indireta como Padrão Ouro, nas 254 gestantes dos Postos de Saúde do Município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.....	67
Tabela 8	Resultados da análise sorológica dos anticorpos IgG para <i>T. gondii</i> por Quimioluminescência, considerando os resultados < 8 UI/mL como negativos, comparado com Imunofluorescência Indireta como Padrão Ouro, nas 254 gestantes dos Postos de Saúde do Município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.....	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
ELFA	Enzyme Linked Fluorescent Assay
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
FAU	Fundação de Apoio Universitário
HAI	Hemaglutinação Indireta
HIV	Vírus da Imunodeficiência Adquirida
IC 95%	Intervalo de confiança 95%
IFI	Imunofluorescência Indireta
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
ISAGA	Immunosorbent Agglutination Assay
MA	Maranhão
MEIA	Microparticle Enzyme Immuno Assay
MG	Minas Gerais
mL	mililitros
N	Número descritivo da amostra
OR	Odds Ratio

PA	Pará
PBS	Tampão Fosfato-Salino
PCR	Polymerase chain reaction
PR	Paraná
RJ	Rio de Janeiro
RS	Rio Grande do Sul
SP	São Paulo
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
<i>T. gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
UFPeI	Universidade Federal de Pelotas
μl	microlitros
μm	micrômetros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1	Histórico.....	17
2.2	Agente.....	18
2.2.1	Taxonomia e morfologia.....	18
2.2.2	Ciclo biológico.....	19
2.3	Fontes de infecção.....	22
2.4	Formas de transmissão.....	24
2.5	Epidemiologia.....	26
2.5.1	Fatores de risco para toxoplasmose em gestantes.....	26
2.5.2	Transmissão materno – fetal.....	28
2.5.3	Prevalência da toxoplasmose em gestantes.....	30
2.5.4	Prevalência de infecção em gestantes e em recém-nascidos.....	33
2.6	Manifestações clínicas da toxoplasmose na gestante e no recém-nascido.....	35
2.7	Diagnóstico laboratorial.....	38
2.7.1	Diagnóstico sorológico da toxoplasmose.....	39
2.7.2	Diagnóstico na gestante e no feto.....	43
2.7.3	Diagnóstico no recém-nascido.....	47
2.8	Prevenção.....	49
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	53
3.1	Delineamento.....	53
3.2	Local de estudo e coleta das amostras.....	53
3.3	Tamanho amostral.....	54
3.4	Execução dos ensaios.....	54
3.4.1	Técnica de Quimioluminescência.....	55
3.4.1.1	Interpretação dos resultados para anticorpos IgG – <i>T. gondii</i>	56
3.4.1.2	Interpretação dos resultados para anticorpos IgM – <i>T. gondii</i>	56
3.4.2	Técnica de Imunofluorescência Indireta.....	55

3.5	Análise estatística.....	58
3.6	Questões éticas.....	59
4	RESULTADOS.....	60
4.1	Caracterização da amostra.....	60
4.2	Prevalência de soropositividade para <i>T. gondii</i>	62
4.3	Influência dos possíveis fatores de risco na soropositividade.....	63
4.4	Comparação entre as técnicas de Quimioluminescência e Imunofluorescência Indireta (IFI).....	66
5	DISCUSSÃO.....	69
6	CONCLUSÕES.....	78
7	RECOMENDAÇÕES.....	79
8	REFERÊNCIAS.....	80
	APÊNDICES.....	96
	ANEXOS.....	100

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma antroponose, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*, de curso benigno em indivíduos imunocompetentes, mas pode causar lesões graves em imunossuprimidos e fetos (JEFREY *et al.*, 2001).

Atualmente, têm-se observado um crescente interesse no estudo desta infecção, devido ao aumento de casos incidentes de infecções pelo vírus HIV-1, mas ainda são necessárias maiores informações sobre o foco principal da infecção aguda em gestantes (REMINGTON *et al.*, 2001).

A infecção por *T. gondii* quando adquirida durante a gestação, pode causar sérios danos ao desenvolvimento do feto. Em geral, o risco de adquirir toxoplasmose durante o período gestacional correlaciona-se a três fatores: a prevalência na comunidade, o contato com uma fonte de infecção e o número de mulheres suscetíveis (não imunizadas por infecção prévia) na comunidade (SANTANA; ANDRADE; MORON, 2003). A prevalência é muito variável nas diferentes regiões do mundo e relacionada aos hábitos higiênico-alimentares e culturais da população (LEÃO; MEIRELES-FILHO; MEDEIROS, 2004).

É importante salientar que a consequência principal da toxoplasmose congênita, que ocorre devido à transmissão transplacentária de infecção aguda materna, é o aparecimento de alterações congênitas como hidrocefalia, coriorretinite, retardo mental e calcificações cerebrais. Essas alterações podem estar presentes ao nascimento ou se desenvolverem mais tarde. Assim, a prevenção da doença assume importância fundamental, uma vez que as seqüelas são irreversíveis (SÁFADI *et al.*, 2003). Estima-se que 20% a 80% dos fetos acometidos desenvolverão tais complicações, a maioria nos primeiros dois anos de vida (GILBERT; STANFORD, 2000).

Ambroise-Thomas *et al.* (2001), avaliaram o seguimento clínico de crianças com toxoplasmose congênita, durante o primeiro ano de vida e constataram que 19% tiveram diagnóstico de coriorretinite, 16% apresentaram calcificações cerebrais, 8% das crianças apresentaram microcefalia e, em 5% casos, ocorreu o desenvolvimento de convulsões e retardo neuropsicomotor.

Em outro estudo, desenvolvido por Sáfadi *et al.* (2003), com seguimento clínico-laboratorial durante cinco anos, de crianças encaminhadas com diagnóstico de toxoplasmose congênita, a incidência de coriorretinite foi de 95% e as calcificações cerebrais ocorreram em 77% das crianças. As alterações oftalmológicas como estrabismo, nistagmo e microftalmia estiveram presentes em, respectivamente, 49%, 47% e 9,3% das crianças.

A avaliação dos recém-nascidos infectados congenitamente pode detectar sintomas e/ou sinais clínicos da infecção que não seriam diagnosticados no período neonatal. Em estudo de Paul *et al.* (2000), 86% dos neonatos com infecção toxoplásmica foram, inicialmente, avaliados como assintomáticos e a avaliação cuidadosa mostrou anormalidades neurológicas e/ou oculares em 40% dos casos. A prevalência de sinais clínicos de toxoplasmose congênita foi de 33% e excede a de outros estudos, indicando que 80% a 85% são assintomáticos ao nascimento.

A prevenção da toxoplasmose congênita pode ser realizada por diferentes meios, sendo que uma das medidas mais efetivas é prevenir a doença aguda na gestação, evitando os fatores de risco para infecção e implantando programas de educação em saúde (KAPPERUD *et al.*, 1997; FOULON, NAESSENS, HO-YEN, 2000). Outra importante medida é baseada no “screening” sorológico durante a gestação para identificar mulheres com infecção aguda e as suscetíveis à infecção, pois, o tratamento durante a gestação resulta em importante redução na incidência e gravidade das seqüelas do feto (PEYRON *et al.*, 2000).

Os estudos de prevalência, neste contexto, assumem relevância por fornecerem informações básicas que poderão ser utilizadas, posteriormente, em programas de controle.

O presente estudo teve como objetivos avaliar a soroprevalência de toxoplasmose e o risco de transmissão congênita por *T. gondii* em gestantes atendidas nos Postos de Saúde de Pelotas-RS, através da análise do perfil sorológico e o conhecimento das mesmas sobre as formas de transmissão da zoonose, verificar possíveis associações entre soropositividade e a exposição aos fatores de risco da infecção, além de comparar as técnicas de Quimioluminescência e Imunofluorescência Indireta para o diagnóstico sorológico da toxoplasmose.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

O protozoário *T. gondii*, agente responsável pela toxoplasmose, foi reconhecido pela primeira vez no Brasil, em São Paulo, por Alfonso Splendore, em 1908. Este pesquisador de origem italiana e radicado no Brasil, ao trabalhar com coelhos em seu laboratório, apresentou uma descrição completa das lesões patológicas e dos corpúsculos parasitários presentes na forma livre e intracelular, isolados e agrupados, em diversos tecidos de animais infectados (SPLENDORE, 1908).

Em outubro de 1908, Nicolle e Manceaux, do Instituto Pasteur da Tunísia, descreveram um microrganismo semelhante ao observado por Splendore em células monocelulares do baço e do fígado de um roedor norte-africano, o *Ctenodactylus gondii* (NICOLE; MANCEAUX, 1908).

Em 1923, o oftalmologista, Jankü, em Praga, fez a primeira descrição de toxoplasmose congênita no ser humano, em uma criança falecida aos 11 meses de idade com hidrocefalia e cegueira, cuja necrópsia, em cortes do globo ocular direito, evidenciou a presença de parasitos semelhantes ao *T. gondii*. Segundo este autor, tratava-se de uma infecção de origem congênita (JANKÜ, 1923).

A descoberta do *T. gondii*, como causa de doença adquirida no adulto, é creditada a Pinkerton e Weinman, que, em 1940, descreveram um caso de doença fatal generalizada em um jovem (PINKERTON; WEINMAN, 1940).

Sabin e Feldman (1948) criaram o teste do corante de Sabin-Feldman, permitindo que inúmeros investigadores estudassem os aspectos clínicos e epidemiológicos da toxoplasmose, demonstrando ser uma doença de alta prevalência em todo o mundo e assintomática na maioria dos pacientes.

Hutchison, em 1965, foi o primeiro a reconhecer o papel do gato no ciclo evolutivo do parasito, mostrando que estes animais poderiam eliminá-lo pelas fezes (HUTCHINSON, 1965).

Foi somente em 1969, 60 anos após a descoberta do parasito, que o *T. gondii* foi reconhecido como um coccídeo e teve seu ciclo biológico completo descrito por Frenkel, Dubey e Miller, tendo como hospedeiros definitivos os felídeos em geral, e não apenas o gato doméstico, e, como hospedeiros intermediários, os mamíferos, aves, roedores e répteis (FRENKEL; DUBEY; MILLER, 1970).

A partir de 1981, com o advento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA), a toxoplasmose teve uma maior importância em virtude da possibilidade de reagudização, que pode ocorrer nos indivíduos cronicamente infectados pelo protozoário, e da gravidade da forma reagudizada nestes pacientes, tornando-se uma importante causa de morbidade e mortalidade (ISRAELKI *et al.*, 1991).

Nas últimas décadas, inúmeros avanços foram conseguidos, como a descrição de diversos métodos sorológicos, além de conquistas recentes na imunologia e na biologia molecular e celular, que têm permitido um melhor diagnóstico da parasitose, bem como novos progressos na assistência de gestantes, crianças e indivíduos imunocomprometidos.

2.2 Agente

2.2.1 Taxonomia e Morfologia

O *T. gondii* é um parasito pertencente ao Reino Protista, Subreino Protozoa, Filo Apicomplexa, Classe Sporozoa, Subclasse Coccidia, Ordem Eucoccidiida, Subordem Eimeriina, Família Sarcocystidae, Subfamília Toxoplasmatinae, Gênero *Toxoplasma*, Espécie *T.gondii* (KAWAZOE, 2002).

Apresenta-se na natureza sob três formas: oocistos, no interior dos quais se formam os esporozoítos; como forma proliferativa, o trofozoíto, mais recentemente denominado endozoíto ou taquizoíto; e como cisto tecidual, com uma forma intracística denominada cistozoíto ou bradizoíto (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

O oocisto é a forma infectante proveniente da reprodução sexuada do parasito (gametogonia) no interior das células intestinais dos felídeos não imunes. É esférico, medindo aproximadamente 12,5 x 11,0 µm e contém no seu interior dois esporocistos com quatro esporozoítos cada, sendo a forma de resistência ambiental (KAWAZOE, 2002).

Os oocistos são resistentes aos desinfetantes, ao congelamento e ambientes secos. São mortos através do aquecimento a 70° C por 10 minutos (AMATO NETO *et al.*, 1995; REMINGTON *et al.*, 2001).

Os taquizoítos são considerados como a forma de multiplicação e apresentam um metabolismo mais rápido, produzida pelo ciclo assexuado do parasito em hospedeiros intermediários. É também conhecido como forma livre ou proliferativa (KAWAZOE, 2002). São encontrados na fase aguda da infecção, no interior das células infectadas presentes no sangue, linfa, secreções e exsudatos de animais e do homem, sendo responsáveis pela sintomatologia (SÁFADI; FARHAT, 1999). Apresentam-se sob a forma de arco com uma extremidade afilada e outra arredondada, medindo aproximadamente, 4 a 9 µm de comprimento e 2 a 4 µm de diâmetro (KAWAZOE, 2002). Constitui a forma menos resistente do parasito, não sobrevive ao congelamento, descongelamento, dessecação e ao suco gástrico (REMINGTON *et al.*, 2001).

Os bradizoítos são formas assexuadas, morfologicamente são semelhantes aos taquizoítos. Estão presentes no interior dos cistos teciduais na fase crônica da infecção. Os cistos têm membrana dupla, sendo resistente às enzimas proteolíticas e ao resfriamento a 4° C por 30 dias. Medem, aproximadamente, de 10 a 100 µm de diâmetro, podendo chegar até 300 µm com centenas de bradizoítos no seu interior. Esta forma do parasito é a principal responsável pela transmissão da zoonose através da ingestão de carne crua ou mal cozida (AMATO NETO *et al.*, 1995).

2.2.2 Ciclo biológico

O ciclo de vida do *T. gondii* é do tipo heteroxeno facultativo, pois ocorre em duas fases distintas. Uma fase se passa no hospedeiro definitivo ou completo, que conforme definido por Frankel, Dubey e Miller (1970), não é apenas o gato, mas os felídeos em geral. A outra fase ocorre no hospedeiro intermediário que pode ser o homem, outros mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes.

O ciclo no hospedeiro definitivo ocorre nas células epiteliais do intestino delgado. Durante o desenvolvimento deste ciclo ocorre uma fase assexuada (merogonia) e outra sexuada (gamogonia) do parasito. Deste modo, um gato jovem

e não imune, infectando-se oralmente por oocistos, cistos ou taquizoítos, desenvolverá o ciclo sexuado (REY, 1991).

Os esporozoítos, taquizoítos ou bradizoítos ao penetrarem no epitélio intestinal do gato, sofrerão um processo de multiplicação por endodiogenia e merogonia, dando origem a vários merozoítos. O conjunto destes merozoítos formados dentro do vacúolo parasitóforo da célula é denominado meronte ou esquizonte maduro. O rompimento da célula parasitada libera os merozoítos que penetrarão em novas células epiteliais e se transformarão nas células sexuadas femininas e masculinas: os gametócitos ou gamontes que, após um processo de maturação, formarão os gametas masculinos (microgametas) e os gametas femininos (macrogametas). O macrogameta (imóvel) permanecerá dentro de uma célula epitelial, enquanto os microgametas (móveis) sairão de sua célula e irão fecundar o macrogameta, formando o ovo ou zigoto. Este evoluirá dentro do epitélio formando uma parede externa dupla, dando origem ao oocisto. A célula epitelial sofrerá rompimento em alguns dias, liberando o oocisto ainda imaturo que alcançará o meio externo juntamente com as fezes (KAWAZOE, 2002).

Segundo Dubey (1994), os felinos podem eliminar até 100 mil oocistos por grama de fezes, os quais devem esporular para se tornarem infectantes. Este processo, denominado esporogonia ou esporulação, leva de um a cinco dias após a excreção, ocorre no ambiente e é dependente da temperatura e umidade. Os oocistos são excretados por apenas 1 ou 2 semanas, mas podem permanecer viáveis por até 24 meses. A eliminação de oocistos ocorre em animais jovens durante a fase aguda da infecção, uma vez que desenvolvem imunidade após a primoinfecção (DUBEY; LAPPIN; THULLIEZ, 1995).

Felinos adultos, imunes à infecção, geralmente não eliminam oocistos, somente em casos de imunossupressão podem sofrer a reativação da toxoplasmose. Animais imunossuprimidos podem eliminar alguns oocistos, porém em quantidades inferiores às encontradas na infecção primária (DUBEY, 1995).

O gato jovem infectado é capaz de eliminar oocistos durante um mês, aproximadamente. O oocisto em condições de umidade, temperatura e local sombreado favorável, é capaz de se manter infectante por cerca de 12 a 24 meses (DUBEY, 2000). O tempo decorrido entre a infecção e o aparecimento de oocistos nas fezes dos felídeos (período pré-patente) dependerá da forma do parasito

ingerido. Este período será de três dias, quando a infecção ocorrer por cistos, 19 ou mais, por taquizoítos e 20 ou mais, por oocistos (KAWAZOE, 2002).

O hospedeiro intermediário, ingerindo os oocistos maduros contendo esporozoítos, os taquizoítos eliminados no leite cru, ou os cistos encontrados na carne crua ou mal cozida, poderá adquirir o parasito e desenvolver a fase assexuada. As formas de taquizoítos que chegam ao estômago serão destruídas, mas as que penetrarem na mucosa oral poderão evoluir do mesmo modo que os cistos e oocistos (REY, 1991). Cada taquizoíto, bradizoíto ou esporozoíto sofrerá intensa multiplicação, após rápida passagem pelo epitélio intestinal, e penetrará em vários tipos de células do organismo, formando um vacúolo citoplasmático (vacúolo parasitóforo) onde sofrerão divisões sucessivas por endodiogenia, formando novos taquizoítos (fase proliferativa), que irão romper a célula parasitada, liberando novos taquizoítos, que invadirão novas células. Esta disseminação do parasito no organismo ocorre através de taquizoítos livres na linfa ou no sangue circulante, que poderão provocar um quadro polissintomático, cuja gravidade dependerá da quantidade de formas infectantes adquiridas, cepas do parasito e da suscetibilidade do hospedeiro. Esta fase inicial da infecção (fase proliferativa) caracteriza a fase aguda da doença. A evolução da infecção poderá levar à morte do hospedeiro, o que poderá ocorrer com fetos ou indivíduos com comprometimento imunológico, ou diminuir e cessar pelo aparecimento da resposta imune específica. Com o aparecimento da imunidade, os parasitos extracelulares desaparecem do sangue, da linfa e dos órgãos viscerais, (AMATO; MARCHI, 2002).

Segundo Frenkel (2004), alguns taquizoítos invadem as células, mas desenvolvem, após proliferações iniciais, uma cápsula cística na parede do vacúolo parasitóforo, diminuindo seu metabolismo e transformando-se em uma forma com metabolismo mais lento, os bradizoítos que, pela constante resposta imunológica, permanecem no interior do cisto sem ocasionar sintomatologia no hospedeiro, durante meses, anos e, provavelmente, décadas. Essa imunidade limita a progressão da infecção e o desenvolvimento de novas lesões, porém não erradicam os cistos já existentes encontrados em vários tecidos como musculares (esqueléticos e cardíacos), nervoso e retiniano, sendo as formas de resistência do parasito.

Indivíduos com comprometimento do sistema imune podem apresentar uma reativação da infecção, ocasionada pelo rompimento dos cistos e liberação dos bradizoítos, que se transformam em taquizoítos e promovem uma nova infecção aguda (REMINGTON *et al.*, 2001).

2.3 Fontes de Infecção

Inúmeras são as fontes de infecção para toxoplasmose. É essencial compreender a importância relativa de cada via de transmissão a fim de melhor orientar na prevenção desta zoonose, principalmente aos segmentos da população em risco, isto é, mulheres gestantes e pacientes portadores do vírus HIV. Portanto, abrir mão da companhia do gato não garante proteção contra a toxoplasmose (MARTINS; VIANNA, 1998).

Entre alimentos de origem animal, o *T. gondii* tem sido encontrado encistado em tecidos de suínos, ovinos e caprinos mais frequentemente do que em tecidos de outros animais. Cistos de *T. gondii* viáveis são raramente encontrados em carne de bovino. Até o momento, a importância da carne bovina na epidemiologia da infecção pelo parasito é incerta. Embora a prevalência do agente em cordeiros não seja conhecida, cistos foram encontrados na carne e vísceras de cordeiros infectados congenitamente. Pesquisas sorológicas e parasitológicas nos EUA e outros países indicam alta prevalência (23%) de *T. gondii* em suínos abatidos entre 1983 e 1984 (DUBEY, 1996).

Estudos realizados em diferentes regiões do Brasil sobre *T. gondii* em suínos verificaram uma prevalência variando de 7,3% em abatedouros na região de Erechim; 9,6% na região de São Paulo; 15,4% na região de Londrina, 54,1% na região de Recife e 13,9% na região de Pelotas (ARAÚJO; SOUZA, 1996; SUAREZ-ARANDA *et al.*, 2000; TSUTSUI, 2000; PEREIRA, 2005).

A alta produção e consumo de carne suína, a elevada disseminação e prevalência do *T. gondii* associadas ao fato de que os cistos podem permanecer viáveis na musculatura dos suínos infectados por mais de 171 dias (DUBEY; MURREL; FAYER, 1984) e de não serem detectáveis ao abate (KOSKI, 1990),

tornam este alimento quando ingerido cru ou mal cozido, uma importante via de transmissão da toxoplasmose ao homem.

Tenter, Heckeroth e Weiss (2000), afirmam que animais de produção com cistos em suas vísceras representam uma fonte de infecção importante em humanos. Seu papel na rota horizontal de transmissão do agente da toxoplasmose é de grande relevância em termos epidemiológicos. Os cistos teciduais podem se desenvolver em seis dias após a infecção dos hospedeiros intermediários seja por oocistos ou por outros cistos teciduais. Dependendo da espécie parasitada, o número e a localização dos cistos são variáveis. Em países da Europa, e nos Estados Unidos a carne de suíno é considerada a maior responsável pela infecção humana.

Na última década, houve diminuição da prevalência de infecção por *T. gondii* em suínos criados em granjas tecnificadas. Isto ocorreu graças a mudanças no manejo, à adoção de medidas adequadas de higiene e prevenção. Por outro lado, a produção de animais em criação artesanal (não tecnificada) pode estar associada à infecção por *T. gondii*, pela contaminação do ambiente com oocistos (JAUREGUI *et al.*, 2001). Este dado foi confirmado na região de Pelotas (RS), onde a soroprevalência foi de 5,8%, em suínos de criação industrial, e 33,9%, nos de criação artesanal abatidos na região (PEREIRA, 2005).

No Rio Grande do Sul e outros estados do sul do Brasil, principalmente em zonas de colonização italiana, é muito disseminado o costume de consumir embutidos de carne suína, tanto produzidos de forma industrial quanto artesanal, e já foram encontrados embutidos contaminados com *T. gondii* (BONAMETTI *et al.*, 1997b; SILVEIRA, 2002; DIAS *et al.*, 2005).

Meireles (2001) realizou um estudo sobre as fontes de infecção da toxoplasmose humana, e verificou uma prevalência sorológica de anticorpos IgG para *T. gondii* de 8,5% (suínos), 11% (bovinos), 17% (caprinos), 31% (ovinos), 40% (felinos), e não encontrou anticorpos em frangos de corte. Este pesquisador concluiu que o risco de transmissão da toxoplasmose em São Paulo está relacionado a quase todas as fontes de infecção pesquisadas, tornando necessários estudos para o melhor manejo dos animais de consumo humano e a eliminação de gatos errantes, que contribuem para a disseminação da infecção através da liberação de oocistos no ambiente.

Em relação à prevalência em galináceos, estudo realizado por Dubey *et al.* (2007) avaliando galinhas criadas soltas, em pequenas propriedades rurais da região de Pelotas (RS), revelou que 38% destes animais estavam infectados por *T. gondii*, representando, portanto, uma provável fonte de infecção aos humanos.

Bonametti *et al.* (1997b) relataram casos de toxoplasmose aguda sintomática, ocorrido na cidade de Bandeirantes (PR), adquirida pela ingestão de carne crua de carneiro servida em uma festa. Todos os convidados apresentaram sinais clínicos da doença. Posteriormente, foi realizado um estudo sorológico do rebanho da propriedade de origem da carne consumida, encontrando uma soroprevalência de 23,1%, sugerindo que a carne crua destes animais pode ter sido a responsável pela transmissão da toxoplasmose.

Congelamento, descongelamento, dessecação e aquecimento a 66°C destroem a forma de cisto tecidual. Entretanto, o organismo pode sobreviver por até dois meses a 4°C. Cistos teciduais podem se tornar inviáveis quando temperaturas internas atingem 66°C ou -12°C. Resultados indicam que o congelamento a -20°C por 18 a 24 horas, seguido por descongelamento, pode ser suficiente para destruição dos cistos (REMINGTON *et al.*, 2001).

A água também pode ser uma fonte de infecção de *T. gondii*, atuando como um disseminador de oocistos para a população que venha a utilizá-la. A contaminação de reservatórios municipais de água por fezes de felinos infectados e eliminando oocistos de *T. gondii*, pode levar a surtos ou epidemias, envolvendo uma cidade ou mesmo uma região (FUNASA, 2002).

Surto da doença ocorridos no Canadá, em 1995, na cidade de Santa Isabel do Ivaí, (PR), em 2001 e na cidade de São Luis (MA), em 2006, foram ocasionados pela ingestão de água contaminada por oocistos pela população (SILVEIRA, 2002; BOLETIM ELETRÔNICO EPIDEMIOLÓGICO, 2002).

2.4 Formas de Transmissão

Todas as formas evolutivas do *T. gondii* são infectantes para os seres humanos.

O homem pode se infectar por via oral, através de transfusão de sangue, transplante de órgãos, transmissão accidental por auto-inoculação em laboratório e transmissão transplacentária (KAWAZOE, 2002).

A infecção por via oral pode ocorrer através de ingestão de oocistos esporulados presentes em jardins, caixas de areia, latas de lixo ou alimentos contaminados; ingestão de cistos contendo bradizoítos, encontrados em carne crua ou mal cozida; ingestão de taquizoítos encontrados no leite contaminado (REY, 1991).

Pode ocorrer ainda, a transmissão por via cutânea ou percutânea, através de manipulação, uso de facas e outros utensílios com carnes cruas contaminadas, além das superfícies onde são preparados os alimentos. Esta forma de transmissão, somente ocorre quando há lesão de continuidade da pele ou em mucosas nasal e oral intactas (SMITH *et al.*, 1992).

A ingestão do leite de cabra não pasteurizado é uma possível fonte de infecção (BONAMETTI *et al.*, 1997a). Já o risco de infecção por leite de vaca é considerado mínimo (DUBEY, 1994).

Segundo Dubey e Beattie (1988), a ingestão de alimentos, principalmente verduras e legumes crus contaminados com oocistos e carnes cruas ou mal cozidas contendo cistos, são as duas principais causas de infecção na transmissão pós-natal do *T. gondii* para o homem.

A transmissão através da transfusão sanguínea e transplante de órgãos ocorre quando o doador é soropositivo para *T. gondii* e o receptor é soronegativo. Nesses casos, a transmissão ocorrerá se o receptor estiver com a resposta imunitária celular deficiente, estabelecendo uma infecção de caráter oportunista, algumas vezes de extrema gravidade. Pode ocorrer também, a reativação da infecção em decorrência da imunossupressão (CAMARGO, 2001).

A transmissão transplacentária ou congênita é uma das formas mais grave de infecção. Ocorre quando o agente está na forma de taquizoíto e atravessa a barreira placentária infectando o feto. Essa transmissão somente ocorre em mulheres que adquirirem infecção primária durante a gestação ou uma reagudização da infecção devido à imunossupressão (FRENKEL, 2004).

A disseminação dos oocistos pode ser realizada pela água, por moscas, baratas e minhocas, e a transmissão pode ocorrer pela ingestão ou inalação do oocisto (KAWAZOE, 2002).

2.5 Epidemiologia

2.5.1 Fatores de risco para toxoplasmose em gestantes

Estudos revelaram, tanto no exterior, como no Brasil, que os fatores de risco associados com a soropositividade para *T. gondii* em gestantes estão relacionados aos hábitos higiênico–alimentares da população, fatores climáticos e culturais de cada país ou região estudada (VARELLA *et al.*, 2003).

Em um estudo multicêntrico europeu, Cook *et al.* (2000), determinaram que os principais fatores de risco para a infecção em gestantes foram o consumo de carne crua ou mal cozida, 30% a 63% dos casos, e contato com solo contaminado, 6% a 17% das infecções. Outros fatores que também mostraram risco aumentado de infecção foram consumo de leite não pasteurizado e derivados e, produtos conservados de carne de suíno. Os autores não encontraram associação significativa entre infecção aguda materna e contato com gatos.

Ter gatos não tem sido um consistente fator de risco para infecção por *T. gondii*, como citam alguns autores (BRACHO; SANOJA; GRANADILLO, 2001; JONES *et al.*, 2001). O risco é maior quando ocorre exposição às fezes do gato, quando eles estão eliminando oocistos. Esta liberação de oocistos durante várias semanas 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, eles representam pequeno risco de infecção. Assim, a possibilidade de transmissão aos seres humanos pelo ato de tocar nos gatos é mínima ou inexistente (JONES *et al.*, 2001). Semelhante conclusão foi observada por pesquisadores, na Venezuela, onde não encontraram relação entre a positividade para *T. gondii* em gestantes com a presença de gatos na residência (BRACHO; SANOJA; GRANADILLO, 2001). De acordo com Farias (2002), os profissionais da área da saúde precisam orientar a

população sobre os reais riscos da infecção e não fazer recomendações infundadas e preconceituosas sobre o gato como animal de estimação.

Baril *et al.* (1999) realizaram, na França, um estudo de caso-controle para identificar os possíveis fatores de risco para a toxoplasmose durante a gravidez com o objetivo de melhorar a prevenção da infecção em gestantes não imunes. A análise multivariada demonstrou que os fatores de risco encontrados na pesquisa foram higiene inadequada das mãos, consumo de carne mal cozida, consumo de vegetais cru e convívio com gatos.

Um estudo retrospectivo realizado na Sérvia verificou que o principal fator de risco para a aquisição da infecção foi o consumo de carne mal cozida ($p=0,009$) e contato com o solo ($p=0,022$). O convívio com gatos como animais de estimação não mostrou significância estatística (BOBIC-NIKOLIC; DJURKOVIC-DJAKOVIC, 2003).

Alvarado *et al.* (2006) observaram em sua pesquisa realizada na cidade de Durango (México), que os fatores de risco que tiveram associação com a soropositividade para *T. gondii* foram o consumo de carne de peru ($p=0,06$) e residir em habitações sem piso ($p=0,004$).

Na Jordânia, Jumaian (2005), verificou que o consumo de carne mal cozida e contato com o solo foram os fatores de risco significativo associados com a soropositividade em mulheres grávidas.

No Brasil, estudos epidemiológicos não são uniformes quanto aos fatores de risco para infecção toxoplásmica. Pinto (1998), em São Paulo, pesquisou o perfil sorológico de gestantes e sua associação com os possíveis fatores de risco para toxoplasmose. Constatou uma soroprevalência de anticorpos IgG para *T. gondii* de 65,1% e, 20,6% das gestantes possuíam o hábito de comer carne crua ou mal cozida, 27,4% ovo cru e 10,9% leite cru não pasteurizado e, 18,9% conviviam com gatos, mas não foi encontrada associação significativa entre os fatores de risco e a presença de anticorpos.

Guedes (2003) realizou um estudo de coorte retrospectiva-prospectiva no período de setembro de 2000 a março de 2003 em um hospital de referência na cidade do Rio de Janeiro, onde foram avaliadas 149 mulheres com suspeita de toxoplasmose adquirida na gestação. Em relação aos fatores de risco mais freqüentes foram: manipulação de carne crua (80,1%), não lavagem das mãos às

refeições (61,1%), contato com gatos (53,5%); ingestão de salsicha e salame crus (50,7%). A idade e os hábitos de risco não estiveram associados à infecção recente pelo *T. gondii*.

Segundo Avelino *et al.* (2004), em estudo realizado na cidade de Goiânia, com 2.242 mulheres, a presença de gatos na residência não é um fator de risco para toxoplasmose, sendo imperativo o contato com outras fontes de infecção para apresentar uma maior vulnerabilidade ao organismo invasor. Estes pesquisadores observaram que os fatores determinantes à infecção foram a ingestão de leite de cabra não pasteurizado ($p < 0,001$) e carne mal cozida ($p < 0,001$).

Outro estudo, realizado na região do Alto Uruguai, verificou que o contato das gestantes com o solo (82,5%) e com felinos (78,8%) foram os fatores de risco que apresentaram maior frequência de aquisição da infecção (SPALDING *et al.*, 2003).

Os resultados de estudos sobre fatores de risco para infecção em gestantes não podem ser generalizados para países com diferentes climas e hábitos culinários (COOK *et al.*, 2000). Eles recomendam estudos de caso-controle para identificar os principais fatores de risco em diferentes populações, com a finalidade de priorizar as orientações às gestantes para evitar infecção aguda.

2.5.2 Transmissão materno – fetal

A transmissão materno-fetal ocorre quando os taquizoítos, presentes na circulação materna, atingem a placenta e são transmitidos ao concepto. Desta forma, assume-se que a transmissão congênita só deve ocorrer durante a primo-infecção materna, embora existam relatos de que possa acontecer também durante a fase crônica da infecção (FRENKEL, 2004).

A taxa de transmissão fetal depende de três fatores presentes conjuntamente: parasitemia materna, idade gestacional no momento da infecção e competência da resposta imunológica materna ao *T. gondii* (WILSON; REMINGTON, 1992).

A transmissão do *T. gondii* da mãe para o feto ocorre em 20% a 50% dos casos e varia de acordo com a idade gestacional em que acontece a infecção aguda (JONES *et al.*, 2001).

Desmonts e Couvreur (1974) estudaram 180 gestantes, dividindo-as em três grupos de acordo com o trimestre em que provavelmente adquiriram a infecção. O parasito foi transmitido para 17% dos fetos quando a infecção foi adquirida no primeiro trimestre, para 24% dos fetos no segundo trimestre e para 62% no terceiro trimestre. Os autores observaram também que, apesar de menos freqüente, a doença neonatal era mais grave, quando a mãe era infectada no primeiro trimestre da gravidez. Em contrapartida, quando a infecção materna acontecia no último trimestre, a doença fetal ocorria com maior freqüência e com apresentação quase sempre subclínica. Portanto, no decorrer da gestação aumenta o risco de transmissão vertical e diminui a gravidade do acometimento fetal.

Segundo Pelloux *et al.* (2002), que correlacionaram taxa de infecção congênita e idade gestacional no diagnóstico de infecção materna, foi observada uma taxa de transmissão inferior a 5% quando a soroconversão materna ocorreu no primeiro trimestre, em torno de 30% no segundo trimestre, acima de 50% após a 30ª semana e superior a 80% no final da gestação.

Quando avaliados o desenvolvimento e gravidade dos sinais clínicos da toxoplasmose congênita, ao contrário da taxa de transmissão materno-fetal que aumenta com a idade gestacional, as lesões precoces e de maior gravidade (hidrocefalia, microcalcificações cerebrais, retardo mental e lesões coreoretinianas), ocorrem nos fetos que são acometidos em fases iniciais de gestação (FOULON *et al.*, 1999).

As infecções congênitas inaparentes, geralmente, ocorrem quando o feto é acometido no terceiro trimestre e são decorrentes da maturação progressiva do sistema imunológico fetal. Entretanto, a toxoplasmose assintomática pode ser reativada tardiamente, manifestando-se por crises neurológicas e alterações retinianas (SÁFADI; BEREZIN; FARHAT, 2003).

De acordo com Hassl e Tuma (1995), gestantes imunodeprimidas como as portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV), de doença de Hodgkin ou em uso de corticoterapia, mesmo estando em fase crônica da infecção pelo *T. gondii*, apresentam risco de transmiti-la aos seus conceitos. Como o número de mulheres

soropositivas para o HIV em idade fértil vem crescendo, grande é a preocupação com a transmissão congênita da toxoplasmose. Em gestantes soropositivas, tanto para HIV como para o *T. gondii*, os autores estimaram que o risco de transmissão possa ser superior a 50%, sendo que o principal mecanismo seria a reativação da infecção.

2.5.3 Prevalência da toxoplasmose em gestantes

O conhecimento sobre a prevalência de toxoplasmose nas mulheres em idade reprodutiva é essencial para o planejamento de programas de controle da toxoplasmose congênita, por dois aspectos principais: 1) como forma de avaliar a proporção de gestantes suscetíveis e 2) como uma das formas de estimar a incidência de toxoplasmose gestacional e de toxoplasmose congênita, dados necessários para avaliar o impacto da doença (HO-YEN, 2003).

Nas gestantes, o risco de adquirir a doença depende de vários fatores, como prevalência e incidência na comunidade, oportunidades de contato com fontes de infecção nas diversas faixas etárias e número de mulheres em idade reprodutiva que ainda não adquiriu anticorpos. Se a prevalência é relativamente baixa, geralmente há grande quantidade de mulheres em risco, o que pode resultar em maior número de infecções durante a idade reprodutiva (REMINGTON *et al.*, 2001).

De acordo com Varella *et al.* (2003), os hábitos alimentares, a idade, os baixos níveis socioeconômicos e educacionais estão diretamente relacionados a soropositividade materna.

Vários estudos de soroprevalência em gestantes têm sido realizados, em diversos países e no Brasil.

Gilbert *et al.* (1993) verificaram que a prevalência de anticorpos IgG em gestantes na região oeste de Londres foi de 18,8%. Das mulheres estudadas, 57,7% haviam nascido fora da Grã-Bretanha. A soroprevalência foi diferente entre mulheres do mesmo grupo étnico nascidas em países diferentes.

Em um estudo transversal realizado na Noruega entre 1992 a 1994 com 35.940 gestantes, Jenum *et al.* (1998) mostraram que a prevalência de anticorpos

IgG nas gestantes foi de 10,9%. Os autores observaram que a prevalência aumentou significativamente em mulheres acima de 34 anos de idade.

Petersson *et al.* (2000) demonstraram baixa prevalência de anticorpos para *T. gondii* entre mulheres grávidas na Suécia (14% em Estocolmo e 25,7% em Skane). A soroprevalência foi significativamente maior entre as mulheres com idade superior ou igual a 40 anos (20,3%) quando comparada à de mulheres com idade inferior a 20 anos (6%; $p < 0.001$)

Jones *et al.* (2001) constataram que a soroprevalência elevada para *T. gondii* em diversos países como a França (54%), pode ser devido à preferência de consumo da carne pouco cozida, e em áreas tropicais como América Latina ou África, onde a população de gatos é numerosa e o clima favorece a viabilidade dos oocistos.

Em países como a França (54%) e Bélgica (49%), que apresentam elevadas taxas de infecção toxoplásmica e programas rígidos de acompanhamento pré-natal, a soroprevalência nas gestantes tem declinado ao longo de décadas (JONES *et al.*, 2001; BREUGELMANS, M.; NAESSENS, A.; FOULON, 2004). Porém, a falta de estudos comparando populações similares com e sem triagem rotineira impossibilita determinar o real impacto dos programas de rastreamento da toxoplasmose sobre a prevalência da infecção.

Ertug *et al.* (2005) revelou uma soroprevalência de anticorpos IgG para *T. gondii* em gestantes de 30,1% na Turquia. Os fatores de risco avaliados que apresentaram significado estatístico foram a idade ($p = 0,001$) e o consumo de água não tratada ($p = 0,042$). Os demais, como nível educacional, história de abortos, contato com gatos, consumo de carnes mal cozidas, vegetais crus e leite não foram estatisticamente significativos.

No Brasil, investigação realizada em Belo Horizonte (MG) por Araújo (1970), com soros de 729 adultos, revelou 50% de positividade à reação de Sabin-Feldman. No final da década de oitenta, Vaz *et al* (1990), encontraram em 481 gestantes, ao primeiro atendimento em centro de saúde da área metropolitana de São Paulo (SP), soropositividade de 67%.

A partir da década de noventa, várias investigações foram publicadas. Na cidade de Porto Alegre (RS), estudo coordenado por Neves *et al.* (1994), em 812 gestantes, foi determinada soropositividade para *T. gondii* em 54%. Estudo realizado

por Pedreira (1995), através de triagem sorológica para toxoplasmose em 2.330 gestantes por ocasião da primeira consulta pré-natal em hospital universitário de referência do município de São Paulo, constatou uma prevalência de 58%. Também, a pesquisa conduzida por Inagaki (1997) no serviço de pré-natal em maternidade pública de São Paulo demonstrou a prevalência de anticorpos específicos para *T. gondii* em 65%, de 175 gestantes estudadas. Em Belém (PA), estudo realizado no Instituto Evandro Chagas por Carmo *et al* (1997), em um grupo de 192 grávidas, revelou que 71% eram soropositivas. Outra pesquisa realizada por Brisighelli-Neto (2006), em 397 gestantes, na cidade de Bragança Paulista no estado de São Paulo, constatou soroprevalência de 55%. Nóbrega *et al.* (1999), em Recife, ao estudarem 1.309 grávidas, encontraram o valor de 69%.

Bichara (2001), em estudo desenvolvido no ambulatório do Programa de Toxoplasmose do Instituto Evandro Chagas com 656 gestantes procedentes da área metropolitana de Belém (PA), constatou uma prevalência de 81% e a investigação de fatores de risco potencial para a infecção pelo *T. gondii* mostrou que o contato com gatos, cães e aves não foi significativo. Entretanto, houve associação significativa entre o hábito de comer carne crua ou mal passada e soropositividade para toxoplasmose, sugerindo que o mecanismo de transmissão mais importante foi o hábito alimentar e que embora o contato direto com o gato não seja um fator de risco direto, provavelmente sua presença foi responsável pela distribuição homogênea da soroprevalência na área estudada.

Oliveira (2002), a partir de um estudo realizado em 531 gestantes assistidas no ambulatório de pré-natal da Fundação Hospital Santa Casa de Misericórdia de Belém do Pará obtiveram uma elevada prevalência (73%). Este pesquisador através dos resultados obtidos em seu trabalho, sugeriu necessidade de implantar o rastreamento da toxoplasmose na rotina pré-natal, com acompanhamento das pacientes suscetíveis através do monitoramento sorológico sistemático, uma vez que a cidade de Belém apresenta prevalência elevada da infecção.

Varella *et al.* (2003), através de sua pesquisa, realizada com gestantes procedentes da cidade de Porto Alegre (RS) e região metropolitana, verificaram uma prevalência de 59,8%. Observaram o aumento na proporção de soropositividade para *T. gondii* com o aumento da idade da gestante, o risco de exposição aumenta

nas gestantes residentes em Porto Alegre, nas com nível de escolaridade inferior a sete anos e nas com mais de 32 anos de idade.

Spalding *et al.* (2003) encontraram 74,5% de prevalência nas 2.126 gestantes que realizaram sorologia nas Unidades do Sistema Único de Saúde da região noroeste do estado do Rio Grande do Sul. As taxas de soropositividade aumentaram significativamente com a idade e em relação aos fatores de exposição à infecção por *T.gondii* tais como idade, contato com o solo, moradia na zona rural, ausência de coleta de lixo/abastecimento público de água, contato com gatos, ingestão de carne crua ou mal cozida, de embutidos artesanais e de leite cru não pasteurizado, foi verificada a sua associação com a presença de anticorpos (IgG) específicos. Além disso, todos os fatores estudados, com exceção da idade, apresentaram fração de impacto etiológico, maior na região urbana, que na rural e, as gestantes que residiam na zona rural apresentaram maior probabilidade de aquisição da infecção. O contato direto com gatos demonstrou ter maior associação com a infecção na zona urbana e o contato das gestantes com o solo foi o fator que contribuiu de forma mais intensa para a aquisição da infecção. Com relação aos gatos, única fonte de oocistos, foi destacada a sua importância como elemento de contaminação ambiental nesta região.

As gestantes de Uberlândia (MG) atendidas em hospitais da rede pública de saúde apresentaram maior soropositividade para toxoplasmose (57,6%) em relação a gestantes acompanhadas em hospitais privados (41,9%) (SEGUNDO *et al.*, 2004).

No Brasil, os diversos inquéritos epidemiológicos realizados em gestantes com diferentes testes sorológicos têm mostrado uma alta prevalência da toxoplasmose, que varia ao redor de 50% a 80%. Daí pode-se inferir que de 20% a 50% das mulheres em idade fértil não apresentam anticorpos específicos para a doença, com risco de contraí-la na gestação e transmiti-la ao concepto.

2.5.4 Prevalência de infecção em gestantes e em recém nascidos

Considerando-se que a toxoplasmose congênita é sintomática em apenas 10% dos pacientes, torna-se difícil determinar sua real incidência em países que não realizam o acompanhamento sorológico sistemático durante a gestação (JONES *et al.*, 2001).

A incidência de toxoplasmose durante a gestação foi estimada entre 3 a 6 casos por 1.000 nativos nos países de alto risco e de um a dois casos por 1.000 nativos nos países de baixo risco (MATSUI, 1994).

Nos Estados Unidos, em 1988, a frequência estimada de toxoplasmose durante a gestação, ajustada a um período de nove meses de observação, foi de 1,1 caso por 1.000 na população (MATSUI, 1994). Em Massachusetts, a prevalência de toxoplasmose congênita entre 1986 e 1992, detectada através de “screening” sorológico com amostra em papel-filtro, foi de 0,8/10.000 nascimentos (GUERINA *et al.*, 1994). No Canadá, a taxa de infecção por *T. gondii* durante a gravidez foi de 2 a 8/1.000 gestantes (MATSUI, 1994).

Jenum *et al.* (1998), constataram, em um estudo realizado na Noruega, que 1,7/1.000 gestantes apresentaram evidência de infecção primária durante a gestação, com uma taxa de transmissão de 23,4% (IC=95%:11,3–35,5%). Os autores observaram que a taxa era de 13,3% no primeiro trimestre, de 28,6% no segundo e de 50% no terceiro trimestre, tendo ocorrido 8% de abortamentos.

Lebech *et al.* (1999), conduziram um estudo na Dinamarca entre junho de 1992 e agosto de 1996, detectando uma taxa de infecção primária na gestação de 2,1/1.000 gestantes (IC=95%:1,8–2,5), incidência de infecção congênita ao nascimento de 0,42/1.000 nascimentos (IC=95%:0,27–0,61) e taxa de transmissão materno-fetal de 19,4% (IC=95%:13,2–27,0) em casos não tratados.

Na Polônia, entre 1988 e 2000, a incidência de toxoplasmose congênita foi de aproximadamente 10 em 10.000 nascimentos vivos utilizando “screening” em papel filtro pelo método Elisa (MAGORZATA; PETERSEN; SZCZAPA, 2001). Outro estudo realizado na Colômbia obteve uma incidência de 5/1.000 (IC=95%:0,2–0,8) (GALLEGO-MARIN; HENAO; GOMEZ-MARIN, 2006).

Schmidt *et al.* (2006) conduziram um estudo na Dinamarca entre 1999 e 2002, avaliando 262.912 neonatos e obtiveram uma incidência de 2,1% em 10.000 nascimentos vivos.

De um total de 1.309 gestantes atendidas no ambulatório de Obstetrícia do Hospital Universitário de Pernambuco entre outubro de 1996 e junho de 1998, ocorreu primoinfecção por *T. gondii* em 2,4% (IC=95%:1,6–3,2). Nos recém-nascidos de mães infectadas, a frequência de toxoplasmose congênita foi de 12,5% (IC=95%:3,5–29,0), (NÓBREGA *et al.*, 1999). Entre 1999 e 2000, a incidência da

infecção em Campos dos Goytacazes (RJ), foi de 20 casos em 10.000 nascimentos vivos. Os pesquisadores trabalharam com 2.550 neonatos (OLIVEIRA-BAHIA *et al.*, 2001).

Um programa de “screening” neonatal para detectar anticorpos IgM para *T. gondii* foi introduzido em Porto Alegre (RS) pelo Centro de Triagem Neonatal e Laboratório Nobel, sendo testado entre 1995 e 1996, pelo ensaio imunoenzimático (ELISA). Foram examinados de 33.625 amostras de sangue em papel filtro de recém-nascidos, demonstrando uma incidência aproximada de 2 casos em 10.000 nascimentos vivos no Rio Grande do Sul. Este estudo foi extendido até 1999, com um número total de 140.914 amostras de sangue de neonatos em papel filtro, verificando uma incidência de 3 casos em 10.000 nascimentos vivos (CAMARGO-NETO *et al.*, 2000).

Mozzato e Procianoy (2003) analisaram 1.250 amostras de sangue do cordão umbilical de recém-nascidos vivos, em uma maternidade na cidade de Passo Fundo (RS). Foram pesquisados anticorpos IgM para *T. gondii*, encontrando uma incidência de 8 casos em 10.000 nascimentos vivos.

Segundo *et al.* (2004) investigaram a incidência de toxoplasmose congênita em 805 amostras de sangue do cordão umbilical de recém-nascidos em um hospital de rede privada e, outro do Sistema Único de Saúde, na cidade de Uberlândia (MG). Obtiveram uma incidência de 0,8% de toxoplasmose congênita em neonatos provenientes da rede pública. Nenhuma amostra positiva foi encontrada na rede privada

2.6 Manifestações clínicas da toxoplasmose na gestante e no recém-nascido

Os sintomas da toxoplasmose aguda em mulheres gestantes podem ser transitórios e inespecíficos. Quando estão presentes, no máximo em 10% dos casos, geralmente limitam-se a linfadenopatia e fadiga. A adenopatia pode persistir durante meses e comprometer apenas um único linfonodo. Menos freqüentemente, tem sido descrita uma síndrome do tipo mononucleose caracterizada por febre, mal-estar, faringite, cefaléia, mialgia e linfocitose atípica (WONG; REMINGTON, 1994).

A toxoplasmose tem sido responsabilizada por óbito intra-uterino. É possível que a infecção, quando aguda, cause óbito fetal no primeiro trimestre da gravidez. Entretanto, esta ocorrência em pacientes com infecção crônica é rara e não significativa (REMINGTON *et al.*, 2001).

Os recém-nascidos com toxoplasmose congênita podem apresentar um dos quatro padrões: - doença manifesta no período neonatal; - doença sintomática nos primeiros meses da vida; - seqüela ou reativação de uma infecção prévia não diagnosticada; - infecção subclínica (FOULON *et al.*, 1999).

A infecção que se manifesta no período neonatal é caracterizada pela tetrade de Sabin: alterações do volume craniano, retardo mental, coriorretinite bilateral e calcificações cerebrais (LESER *et al.* 2003).

Muitas crianças com infecção congênita pelo *T. gondii* são aparentemente normais ao nascimento; os sinais e sintomas da doença se manifestam semanas, meses ou anos mais tarde. Em muitos casos, no entanto, isto se deve ao reconhecimento tardio da doença e não à demora do início dos sinais e sintomas (REMINGTON *et al.*, 2001).

A forma de manifestação de toxoplasmose congênita mais comum é a subclínica e atinge 76% dos casos observados em um período de seguimento de 6 meses a 4 anos (SÁFADI; FARHAT, 1999; FOULON *et al.*, 1999). Estas crianças podem, subseqüentemente, em alguns meses ou até anos após o nascimento, desenvolver seqüelas, incluindo coriorretinite, estrabismo, cegueira, hidrocefalia ou microcefalia, retardo neuropsicomotor, epilepsia ou surdez. A seqüela mais freqüente é ocular e pode ocorrer na idade escolar ou na adolescência (REMINGTON *et al.*, 2001). Também podem ser observadas seqüelas oculares como microftalmia, atrofia do globo ocular, estrabismo, catarata, nistagmo e atrofia óptica.

Koppe, Lower e Roever (1986) mostraram que 20 a 80% das crianças afetadas congenitamente desenvolveram doença ocular no decorrer de 20 anos de acompanhamento. A maioria delas apresenta lesões durante os dois primeiros anos de idade.

Camargo-Neto *et al.* (2000) observaram em seu estudo com recém-nascidos infectados congenitamente, que as seqüelas e manifestações clínicas mais freqüentes foram calcificações cerebrais, cicatriz retiniana, hepatoesplenomegalia e

linfadenopatia. Outro estudo realizado na Dinamarca, no período de 1992 a 2002, com crianças infectadas congenitamente, as lesões apresentadas foram calcificações cerebrais, coriorretinite e hidrocefalia (SCHMIDT *et al.*, 2006). Coriorretinite foi a lesão clínica mais freqüente diagnosticada nos recém-nascidos, em uma pesquisa realizada na cidade de Uberlândia (MG) (SEGUNDO *et al.*, 2004).

Sáfadi *et al.* (2003) avaliaram crianças com toxoplasmose congênita na Santa Casa de São Paulo (SP), por um período de 5 anos e verificaram que 88% das crianças infectadas não apresentaram sintomas ao nascimento. Durante o primeiro ano de vida, 51% das crianças desenvolveram manifestações neurológicas e 95% lesões oculares.

A toxoplasmose congênita pode permanecer latente por vários anos e, não excepcionalmente, durante a puberdade (talvez por influência hormonal) ou mais adiante, reativar. Os distúrbios oculares e neurológicos são exemplos clássicos observados neste tipo de reativação clínica (AMATO; MARCHI, 2002).

Cicatriz macular bilateral decorrente de toxoplasmose congênita foi a maior causa de diminuição da acuidade visual (43,4%) em um trabalho retrospectivo desenvolvido em um ambulatório de estudo de acuidade visual entre pacientes com idade inferior a 14 anos, na Universidade Estadual de Campinas em São Paulo, entre 1982 e 1992 (CARVALHO *et al.*, 1998).

Kodjikian *et al.* (2006), também, observaram que coriorretinite foi a lesão mais diagnosticada em crianças com toxoplasmose congênita após o nascimento e durante os primeiros anos de vida.

O diagnóstico clínico da toxoplasmose congênita é impreciso, pois as manifestações clínicas podem ser confundidas com outras infecções, como as causadas por agentes como Citomegalovírus, Rubéola, Epstein Barr, Herpes simples e HIV. No exame clínico apenas é sugerida a eventualidade dessa etiologia, ficando a sua confirmação para os exames laboratoriais que identifiquem o parasito ou a presença de anticorpos específicos que não atravessam a barreira placentária (IgA, IgE ou IgM) no sangue do suspeito. Já os níveis de IgG quando diferenciados dos maternos também sugerem a infecção (SÁFADI, 2000).

2.7 Diagnóstico laboratorial

Classicamente, o diagnóstico da toxoplasmose é baseado na pesquisa de anticorpos contra o parasito através de testes sorológicos. A pesquisa de diferentes classes de imunoglobulinas IgG, IgM, IgA e IgE anti-*Toxoplasma* constitui a principal contribuição laboratorial para o diagnóstico da doença. Além disso, a presença dos anticorpos para *T. gondii* no curso da infecção permite a análise de perfis sorológicos muito característicos, seja de infecção recente, em fase aguda, ou de infecção antiga em fase de latência ou crônica (CONTRERAS *et al.*, 2000).

Em indivíduos imunocompetentes os testes sorológicos com pesquisa de IgG e IgM são suficientes para o diagnóstico, por serem sensíveis, específicos e de fácil execução. Mas devido à variedade de métodos existentes no mercado, sua interpretação requer cuidados e profissionais qualificados para a realização dos testes. Porém, para o diagnóstico em imunossuprimidos e na infecção fetal, há necessidade de testes complementares (MONTROYA, 2002).

Segundo Camargo (2001), a evidenciação do parasito, por isolamento a partir do material do paciente ou pela demonstração de seus componentes, como antígenos ou segmentos do DNA, é de alto valor diagnóstico, especialmente nos imunocomprometidos, seja por imunodepressão, como nos aidéticos ou transplantados, ou por imunoimaturidade como no feto e no recém-nascido. A pesquisa do parasito e de seus componentes pode ser realizada por inoculação em camundongo, isolamento em cultura de células, pesquisa de antígenos no soro e na detecção de DNA por PCR.

A PCR, apesar de ser um teste sensível, não está definitivamente padronizada na rotina dos laboratórios de análises clínicas, podendo apresentar resultados diferentes entre laboratórios (PELLOUX *et al.*, 1998). Baseia-se na detecção do DNA do *T. gondii* em fluídos corporais ou fragmentos de tecidos. Para identificação do *Toxoplasma* podem ser identificados vários segmentos do DNA correspondentes a diferentes genes, como P30, TRG1, B1 ou DNA ribossomal, por apresentarem maior sensibilidade (AUBERT *et al.*, 2000).

A pesquisa pode ser realizada no líquido amniótico, no sangue de cordocentese do feto, em sangue periférico de recém-nascidos, em material de biópsia cerebral ou no líquido cefalorraquiano e em material de lavagem bronco

alveolar. Um resultado positivo, entretanto, não permite distinguir entre taquizoítos e formas císticas, mas a evidência do parasito, independente de sua forma, em pacientes imunossuprimidos e fetos, é diagnóstico de infecção (CAMARGO, 2001).

2.7.1 Diagnóstico sorológico da toxoplasmose

O sorodiagnóstico é vastamente utilizado nos exames de rotina para toxoplasmose. Diferentes técnicas têm a propriedade de detectar estes anticorpos no sangue dos pacientes. São utilizados métodos como imunofluorescência indireta (IFI), hemaglutinação indireta (HAI), fixação do complemento e reações imunoenzimáticas (MONTROYA; LIESENFELD, 2004). Entretanto, o primeiro teste para diagnóstico da toxoplasmose, a reação de Sabin-Feldman ou teste do corante, ainda é considerado um teste de referência com taxas altas de sensibilidade e especificidade. Mas, a sua utilização tem sido restrita pelo uso obrigatório de toxoplasma vivo, o que traz graves problemas de biossegurança (REITER-OWONA *et al.*, 1999).

A reação de imunofluorescência indireta apresenta especificidade e sensibilidade, comparável ao teste do corante de Sabin-Feldman. Apresenta a vantagem de utilizar toxoplasmas preservados, fixados em lâminas de microscopia, tornando-o muito mais prático e seguro para a rotina laboratorial. Além do mais, este teste possibilita a identificação dos anticorpos segundo as classes de imunoglobulinas. Entretanto, pode apresentar resultados falso-positivos na detecção de anticorpos IgM devido a interferência de fatores reumatóides, eventualmente presentes no soro. Os testes para anticorpos IgM podem, também, revelar resultados falso-negativos, devido à competição que os anticorpos IgG fazem aos IgM, impedindo que estes se fixem aos antígenos parasitários (CAMARGO, 2001). De acordo com Naot e Remington (1980), esta técnica consome muito tempo e exige pessoal cuidadosamente treinado para a leitura e interpretação apropriadas dos resultados.

Soccol *et al.* (2003), pesquisando a prevalência de anticorpos IgG em gestantes, utilizaram os métodos de Imunofluorescência indireta (IFI) e ELISA. Na avaliação dos resultados, considerando a técnica de Imunofluorescência indireta

como padrão ouro, encontraram uma sensibilidade 94,55% e uma especificidade de 82,50% para o ELISA.

Os anticorpos IgG são marcadores sorológicos de imunidade ou infecção crônica (latente) porque, após um episódio de infecção aguda, eles persistem de modo estável ou com lenta diminuição da concentração. Concentrações elevadas persistem por anos em aproximadamente 5% dos pacientes (REMINGTON *et al.*, 2001).

No teste de hemaglutinação indireta (HAI), hemácias de aves marcadas com *T. gondii* são aglutinadas quando em contato com soro contendo anticorpos contra *Toxoplasma* (CAMARGO, 2001).

Brisighelli-Neto (2006), avaliou a sensibilidade e a especificidade da Hemaglutinação Indireta, em relação à técnica de ELISA, que foi respectivamente de 100% e 87,6%, mostrando-se eficaz no rastreamento das gestantes soronegativas. Entretanto, Fialho e Araújo (2002) compararam as técnicas de IFI e HAI e, através dos resultados encontrados, concluíram que para fins diagnósticos a IFI é superior a HAI, e que esta reação tem sua principal indicação em inquéritos epidemiológicos.

Na reação de fixação de complemento, os anticorpos testados aparecem mais tardiamente do que em outras reações. Portanto, o teste é indicado quando a reação de imunofluorescência e a de Sabin-Feldman encontram-se com títulos estáveis ou muito altos, quando, então, é possível verificar a elevação dos títulos na reação de fixação de complemento (SÁFADI; FARHAT, 1999).

Os testes de hemaglutinação indireta e de fixação de complemento não são, usualmente, recomendados para diagnósticos em rotinas laboratoriais, visto que diferentes preparações de antígenos causam resultados distintos. Assim, a resposta de anticorpos pode ser diversa não somente quando diferentes testes são usados, mas também quando um mesmo teste é realizado em laboratórios diversos (REMINGTON *et al.*, 2001).

A introdução do ensaio imunoenzimático trouxe um grande avanço para o diagnóstico da doença. Os testes de IFI por serem testes manuais estão sendo substituídos por tecnologias automatizadas. Estas novas técnicas, apesar da facilidade de realização, apresentam o inconveniente de detectar níveis mínimos de anticorpos IgM circulantes, o que modificou a interpretação dos resultados destes testes na prática clínica. Assim, em especial para a gestante, há a possibilidade de

resultados falso-positivos para infecção aguda ou a detecção de infecções assintomáticas em maior número. Estes novos fatos tornaram mais complexa a interpretação dos resultados de exames laboratoriais, em especial quando aplicados em uma rotina, como forma de rastreamento de infecções assintomáticas, como é ao pré-natal (BARINI *et al.*, 2000). O ideal é manter o mesmo método sorológico quando se está acompanhando a evolução sorológica em uma gestante ou em um lactente (HOFGARTNER *et al.*, 1997).

Em 1978, Camargo, Ferreira e Mineo, descreveram a técnica de ELISA para anticorpos IgG e IgM, observando porém, presença de resultados falso-positivos para IgM em pacientes portadores do fator reumatóide.

Naot e Remington (1980) desenvolveram uma técnica para detecção de IgM, denominada teste de captura de IgM. O princípio desta técnica consiste na adição de um anticorpo anti-IgM humano durante a fase sólida da reação. As amostras em teste são incubadas, ocorrendo a captura de qualquer IgM presente. A seguir, incuba-se com o antígeno de *T. gondii* marcado com enzima (conjugado). O conjugado reage com os anticorpos IgM anti-*Toxoplasma* ligados ao anticorpo anti-IgM na etapa anterior.

Através do método de imunocaptura foi possível detectar a presença de IgM específica para *T. gondii* em 92% dos indivíduos com toxoplasmose recentemente adquirida, e que eram negativos na IFI para IgM. Este método demonstrou não só ser simples, rápido e acurado no diagnóstico de toxoplasmose aguda em adultos e na forma congênita, mas, principalmente, mais sensível e específico do que o teste de IFI na detecção de anticorpos IgM para *T. gondii*. Esta sensibilidade maior do método de captura de IgM, quando comparada à do IFI-IgM, pode ser atribuída ao fato de que a inibição da demonstração de anticorpos IgM pela presença de anticorpos IgG séricos no teste IFI-IgM é eliminada com esta técnica (SÁFADI; FARHAT, 1999).

Wilson *et al* (1997) realizaram um estudo para avaliar o desempenho de diferentes ensaios sorológicos para toxoplasmose de anticorpos IgM em Kits comerciais para diagnóstico. Os pesquisadores utilizaram como padrão ouro do estudo, o teste ELISA IgM por captura com especificidade de 100%. Constataram que a técnica MEIA-Imunoensaio Enzimático de Micropartículas-IgM (®Abbott

Diagnostics) apresentou a menor especificidade quando comparada a outras técnicas (84,2% versus 98,6% com método ELFA-IgM e 96,8% com Platelia-IgM).

Hovanec *et al.* (1998) pesquisaram a presença de anticorpos IgG no soro, através de duas metodologias existentes no mercado para diagnóstico da toxoplasmose. O padrão ouro estabelecido para o estudo foi o teste de Sabin Feldman e, a outra técnica avaliada foi a Quimioluminescência, no equipamento IMMULITE (®DPC Medlab). Os resultados obtidos verificaram uma sensibilidade de 94%, especificidade de 100% e uma acurácia de 97,3% do método de Quimioluminescência em relação ao padrão ouro do estudo.

Entretanto, em outra pesquisa, quando compararam a Quimioluminescência com o método ELFA (® bioMérieux), constataram sensibilidade e especificidade de 97,5% e 98,8%, respectivamente para anticorpos IgG. Em relação aos anticorpos IgM foi verificado 100% de especificidade (VLASPOLDER *et al.*, 2001).

Robert *et al.* (2001), compararam a Quimioluminescência com o método MEIA para IgM e IgG anti-*T. gondii* (®Abbott Diagnostics), obtendo-se sensibilidade e especificidade para anticorpos IgG de 99,4% e 100%, respectivamente. Os resultados para anticorpos IgM foram 100% de sensibilidade e 98,4% de especificidade.

Outros estudos clínicos foram realizados com metodologias comerciais, para avaliar a sensibilidade e especificidade da técnica de Quimioluminescência, no equipamento IMMULITE (®DPC Medlab) para imunoglobulina IgG anti-*T. gondii*. No primeiro estudo, utilizou-se como padrão ouro, o método ELFA-Enzyme Linked Fluorescent Assay (® bioMérieux), verificando uma sensibilidade de 96,3% e uma especificidade de 100%. No segundo estudo, foi utilizado como padrão ouro, o método MEIA (®Abbott Diagnostics), encontrando 90,2% de sensibilidade e 98,6% de especificidade (DPC, 2005).

A reação de aglutinação por imunoabsorção – ISAGA (Immunosorbent Agglutination Assay) – é utilizada para identificação de anticorpos IgM, sendo importante no diagnóstico de infecção aguda. Os antígenos adicionados às placas constituem-se em uma suspensão de toxoplasmas, que se aglutinam na presença de IgM específica (DESMONTS; NAOT; REMINGTON, 1981).

No início da década de 90, foi desenvolvido o teste de ELISA IgG para avidéz, que tem sido um método auxiliar no diagnóstico de infecção aguda em

gestantes através da separação dos anticorpos de baixa avididade, produzidos em uma fase inicial da infecção, dos anticorpos de alta avididade, indicativos de infecção crônica (JOYNSON; PAYNE; RAWAL, 1990). Segundo Camargo (2001), o princípio deste teste é baseado na afinidade com que os anticorpos IgG ligam-se aos seus respectivos antígenos, podendo ser avaliada pela maior ou menor facilidade de quebra desta ligação. Mede-se por um teste imunoenzimático ELISA IgG modificado, ou seja, pela dissociação dos complexos antígenos-anticorpos formados e liberação dos anticorpos IgG de baixa avididade, por meio de uma solução caotrópica, por exemplo a uréia 6Molar. Após a incubação do soro na placa, esta é lavada com a solução de uréia 6M e, em seguida, prossegue-se a reação pela incubação com o conjugado enzimático. Uma baixa avididade é indicada pela acentuada diminuição do título com relação ao título original obtido sem o tratamento com a uréia. O resultado é expresso pela porcentagem de IgG remanescente, dada pelo cálculo: título após o tratamento com uréia/ título sem o tratamento com uréia X 100.

Segundo Leser *et al.* (2000), a avididade da IgG pelo antígeno de *T. gondii* é medida pela afinidade funcional e aumenta com o passar do tempo. É um marcador informativo à medida que a baixa avididade da IgG poderia ser interpretado como indicador do diagnóstico de infecção toxoplásmica recente, em combinação com um painel de outros exames (MONTROYA; LIESENFELD, 2004), porém ainda é evidente uma extensa janela de valores indeterminados.

2.7.2 Diagnóstico na gestante e no feto

O diagnóstico das infecções maternas e congênitas depende do aparecimento dos anticorpos IgM e IgG e sua variação com a técnica sorológica utilizada. Sabe-se que os anticorpos IgG normalmente aparecem uma a duas semanas após a infecção, atingem pico dentro de um a dois meses e apresentam um declínio, permanecendo definitivamente presentes e atestando imunidade adquirida. A presença de IgG indica que ocorreu a infecção, mas o título ou grau de reatividade não indica se a infecção foi tardia ou recente. O aparecimento dos anticorpos IgM é mais precoce e seu declínio é mais rápido do que a IgG (LIESENFELD *et al.*, 2001a).

Devido ao grande número de gestantes que não apresentam anticorpos para *T. gondii* e à necessidade de repetição dos testes a cada quatro ou cinco semanas naquelas que permanecem soronegativas, são necessários testes sensíveis para a triagem, porém de baixo custo e de execução simples, capazes de detectar anticorpos IgG e IgM e de fornecerem resultados em curto prazo (JONES *et al.*, 2001).

A maior dificuldade no diagnóstico sorológico ocorre nos casos em que são detectados anticorpos IgM por ocasião da primeira consulta pré-natal. A sua presença nem sempre indica uma infecção aguda recente, pois com o aumento da sensibilidade dos testes sorológicos para toxoplasmose com detecção de IgM por períodos superiores a um ano após a infecção aguda, recorre-se a outros métodos sorológicos para tentar estabelecer, retrospectivamente o momento da soroconversão (MONTROYA, 2002).

O diagnóstico da infecção aguda nestes casos exige a demonstração de aumento nos títulos de anticorpos, maior ou igual a quatro diluições, em duas amostras colhidas com intervalo de três semanas e testadas em paralelo. No entanto, quando somente a amostra inicial IgM positiva é disponível, há necessidade da avaliação adicional com a realização de outros testes sorológicos como IgA, IgE ou o teste de avididade de IgG. Isto decorre do fato de que a positividade para IgM e IgG não é capaz de determinar se a toxoplasmose aguda ocorreu durante a gestação, e tampouco a idade gestacional em que a mãe foi infectada (MONTROYA *et al.*, 2002). Geralmente, deve-se utilizar uma combinação de dois testes para confirmação diagnóstica (REMINGTON *et al.*, 2001).

Em levantamento realizado por SPALDING *et al.* (2003), 80% das gestantes IgM positivas apresentaram persistência desta imunoglobulina durante todo período gestacional, não sendo marcador de infecção aguda, já que 52% tiveram este diagnóstico descartado quando submetidas a exames complementares.

O rastreamento sorológico para detectar infecção materna e o acompanhamento das gestantes suscetíveis é realizado em vários países como França e Bélgica (LANGER; CANEVA; SCHLAEDER, 1999), permitindo o diagnóstico sorológico definitivo de infecção aguda que é feito somente se amostras sorológicas seriadas demonstrarem soroconversão ou através do aumento significativo nos títulos, mais freqüentemente de IgG (LIESENFELD *et al.*, 2001a).

Em muitos países, inclusive no Brasil, existem iniciativas em triagem pré-natal para toxoplasmose, sob forma de projetos de pesquisa, como programas piloto, geralmente com base municipal, em alguma instituição ou em clínicas e consultórios privados. Segundo os autores, não é fácil organizar e manter o bom funcionamento desses programas, sem dispor de alguns recursos indispensáveis que por vezes não são lembrados na hora do planejamento (BOBIC *et al.*, 1998; EVENGARD *et al.*, 2001; QUEIROZ-ANDRADE *et al.*, 2001; LOGAR *et al.*, 2002; LÓPEZ-CASTILLO; DIAZ-RAMÍREZ; GÓMEZ-MARIN, 2005).

Queiroz-Andrade *et al.* (2001), em Belo Horizonte, observaram problemas na prevenção da toxoplasmose congênita devidos à morosidade e à dificuldade de acesso das pacientes ao sistema de saúde. Verificaram que os exames sorológicos eram feitos em laboratórios diferentes, impedindo o seguimento evolutivo dos títulos. Ressaltaram a necessidade de laboratórios de referência para melhor orientação ao médico e à gestante.

Pedreira, Camargo e Leser (2001), constataram que a taxa de gestantes soronegativas na primeira avaliação pré-natal e que se submetem à repetição sorológica para detectar soroconversão é baixa. Excetuando a soroconversão (aparência de anticorpos em uma mulher previamente soronegativa), a avaliação de uma segunda amostra coletada em intervalo de três a quatro semanas, com a observação de modificação significativa dos títulos, é a proposta que apresenta melhor poder discriminatório quando os resultados na sorologia inicial são duvidosos (PUJOL-RIQUE *et al.*, 2000; MONTOYA, 2002).

Pelas dificuldades laboratoriais descritas, vários esquemas de acompanhamento sorológico têm sido propostos e, recentemente, ensaios sorológicos para determinar a avidéz de anticorpos IgG para *T. gondii*, utilizando técnica imunoenzimática têm sido incorporados aos programas de rastreamento para auxiliar na diferenciação entre infecção aguda e crônica (CAMARGO *et al.*, 1991). Estudos da cinética de IgG em gestantes que soroconverteram constataram que a baixa avidéz indica infecção entre 12 a 16 semanas (LIESENFELD *et al.*, 2001b; MONTOYA, 2002; MONTOYA *et al.*, 2002) e os valores empregados para caracterizar avidéz baixa, intermediária e elevada variam em função da técnica sorológica e do ensaio comercial. É um teste simples que pode complementar a definição de um perfil sorológico, especialmente quando insuficientemente avaliados

pelos demais marcadores sorológicos (REIS; TESSARO; D'AZEVEDO, 2006). No entanto, a baixa avidéz de IgG não pode ser interpretada como infecção recentemente adquirida porque ela pode persistir por mais do que cinco meses, dependendo do método utilizado. Entretanto, a alta avidéz de IgG no primeiro trimestre da gestação exclui a infecção recentemente adquirida, o que torna este teste útil no início da gestação. Já a alta avidéz na fase tardia da gestação não exclui infecção adquirida no primeiro trimestre (REMINGTON *et al.*, 2001).

Estudo realizado por Figueiró-Filho *et al.* (2005), com teste de avidéz dos anticorpos IgG mostrou-se útil para orientar a terapêutica e avaliar o risco de transmissão vertical, quando associado à idade gestacional e data de realização do exame, permitindo afastá-lo quando havia avidéz elevada previamente a 12 semanas. Os autores, verificaram em sua pesquisa uma relação estatisticamente significativa ($p=0,001$) entre o teste de avidéz (IgG) baixo ($<30\%$) e presença de infecção fetal, além de ausência de toxoplasmose fetal quando a avidéz apresentava-se elevada ($>60\%$).

O diagnóstico da infecção fetal pode ser realizado por meio da cordocentese, realizada até a 22ª semana de gestação para detecção da resposta imune fetal (pesquisa de anticorpos IgM). Além deste, dispõe-se da amniocentese para realização da PCR no líquido amniótico, cuja sensibilidade atinge 97,4%, bem como a ecografia, cuja sensibilidade é de 20% (SANTANA; ANDRADE; MORON, 2003).

Quanto ao diagnóstico pré-natal de infecção fetal pelo *T. gondii*, a técnica de PCR, por amniocentese, tem sido avaliada em alguns estudos. Holfeldt *et al.* (1989) encontrou sensibilidade de 92% e especificidade de 100%, ao passo que Jenum *et al.* (1998) encontraram 33% e 94%, respectivamente.

Se os resultados indicam infecção materna aguda, o estabelecimento do envolvimento fetal torna-se crítico (WONG, REMINGTON, 1994). O diagnóstico da infecção fetal pelo *T. gondii*, classicamente, baseava-se na análise conjunta do sangue fetal e do líquido amniótico, colhidos a partir da 20ª semana de gestação aliada à avaliação ultra-sonográfica da morfologia fetal (DAFFOS *et al.*, 1988). Os achados ultra-sonográficos que podem surgir devido à infecção incluem: hidrocefalia, calcificações intracranianas, aumento da circunferência abdominal pela hepatoesplenomegalia, ascite fetal e aumento da espessura placentária.

A análise do sangue fetal obtido por cordocentese após a 20ª semana de gravidez pode demonstrar a presença de IgM específica para toxoplasmose, assim como no líquido amniótico. Utilizando estes parâmetros, Daffos *et al.* (1988) puderam diagnosticar 90% dos fetos acometidos intra-útero. Porém, a ausência da correlação destes dados com a gravidade da infecção fetal e, principalmente, pela morbidade e letalidade causada pela cordocentese, tem levado a seu abandono.

Para o diagnóstico da infecção fetal, há necessidade de testes para a detecção do *T. gondii*. Esta detecção pode ser feita por cultura em células ou inoculação em camundongos, por determinação dos antígenos parasitários através de técnica imuno-histoquímica ou, principalmente por identificação de seqüências de ácidos nucleicos através da técnica da PCR em qualquer tipo de tecido ou fluido corporal (GROVER *et al.*, 1990; CAZENAVE *et al.*, 1992; HOHLFELD *et al.*, 1994).

A pesquisa do *Toxoplasma* no líquido amniótico, antes da 20ª semana, através da PCR apresenta sensibilidade de até 100% (HOHLFELD *et al.*, 1994).

Castro *et al.* (2001), avaliaram a eficácia da PCR no líquido amniótico para a detecção da infecção fetal pelo *T. gondii* em gestantes com infecção aguda, correlacionando-a com a técnica de inoculação em camundongo e a histologia da placenta. Foram calculadas medidas de sensibilidade e especificidade das três técnicas estudadas, obtendo-se os seguintes resultados: para PCR uma sensibilidade de 66,7% e uma especificidade de 87,1%; os valores para a inoculação em camundongo foram 50 e 100% e para a histologia da placenta foram 80 e 66,7%. Concluíram que, embora a PCR não deva ser utilizada isoladamente para diagnóstico de toxoplasmose congênita, é um método promissor e necessita de maiores estudos para melhorar sua eficácia.

Como não existe uma técnica comercial padronizada de PCR, cada centro deve validar as etapas de sua técnica. As estatísticas de sensibilidade e especificidade são muito dependentes das condições técnicas e ainda é difícil fazer comparações (PELLOUX, 2003).

2.7.3 Diagnóstico no recém-nascido

A maioria das crianças infectadas no período pré-natal não apresenta sintomas ao nascimento, mas há probabilidade de apresentarem seqüelas no futuro.

Assim, o diagnóstico depende dos métodos sorológicos utilizados (JONES *et al.*, 2001).

O diagnóstico da toxoplasmose no recém-nascido baseia-se principalmente no acompanhamento sorológico, interpretado de forma criteriosa e sempre associado aos dados clínicos e epidemiológicos (HOLLIMAN, 1990).

A pesquisa de anticorpos IgM tem sido amplamente executada como marcador de toxoplasmose congênita pós-natal. Devido ao seu peso molecular, a IgM não atravessa a barreira placentária íntegra. Por esse motivo, a IgM é ideal para o diagnóstico de infecção neonatal aguda, porque permite a separação dos anticorpos IgM produzidos pela criança daqueles anticorpos IgG transferidos passivamente pela mãe (NAESSENS *et al.*, 1999).

Os anticorpos maternos IgG transmitidos ao feto podem persistir por seis a doze meses no lactente; em casos de passagem de altos títulos de anticorpos maternos, este período pode se estender por mais de um ano. A síntese de anticorpos IgG contra o *Toxoplasma* geralmente se inicia no terceiro mês de vida se o lactente não é tratado. Nos casos em que o lactente é submetido à terapêutica precoce, tal síntese poderá se iniciar somente após o sexto mês de vida. Desta maneira, é possível fazer o diagnóstico da infecção congênita através da monitorização seqüencial das dosagens de anticorpos IgG contra o *Toxoplasma* (SÁFADI; FARHAT, 1999)

Os títulos de anticorpos IgG para *T. gondii* caem progressivamente, nos recém-nascidos não infectados, até a negatificação em prazos de poucos meses a um ano. Porém, nos infectados, estes títulos são ascendentes (LEBECH *et al.*, 1996).

A detecção 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 o sangue materno, tanto nos casos sintomáticos como nas infecções subclínicas (REMYINGTON *et al.*, 2001). Um resultado falso-positivo pode ser devido à lesão com escape placentário de IgM materno. Nesse caso a sua duração no sangue do recém-nascido é curta, pois a meia-vida da IgM é de 5 dias (CAMARGO, 2001). 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 (REMYINGTON *et al.*, 2001). Portanto, um

resultado IgM não reagente com 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 (CAMARGO, 2001). Além disso, a pesquisa de IgM pode dar resultados falso-negativos em até 25% dos casos, devido à grande quantidade de anticorpos IgG maternos que podem suprimir a produção neonatal específica de IgM. Da mesma forma, pode haver resultados falso-positivos na presença de fator reumatóide e anticorpos antinucleares (SÁFADI; FARHAT, 1999; REMINGTON *et al.*, 2001). Para evitar essas falsas reações, utilizam-se testes de captura de IgM, mais sensíveis e específicos (CAMARGO, 2001).

A pesquisa de Lebech *et al.* (1999) verificou 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 de 5 - 10% a identificação dos neonatos infectados.

Em relação à análise do líquido de recém-nascidos, a presença de anticorpos para *T. gondii* é altamente sugestiva de infecção no sistema nervoso central, uma vez que o anticorpo materno não atravessa a barreira hematoencefálica normal e sua presença indica uma lesão. Mas, o diagnóstico definitivo se estabelece a partir da evidenciação do parasito por PCR (REMINGTON *et al.*, 2001).

2.8 Prevenção

A prevenção da toxoplasmose congênita pode ser realizada com a implementação de medidas de prevenção primária, secundária e terciária (AMBROISE-THOMAS, 2003).

A prevenção primária caracteriza-se basicamente por programas de educação e saúde pública, recomendando às gestantes suscetíveis à infecção e imunossuprimidas que evitem contato com materiais potencialmente contaminados com fezes de gatos e a ingestão de água que não tenha sido filtrada ou fervida, além de carne crua ou mal cozida. Recomenda-se também lavar bem as frutas e legumes antes do consumo, além do uso de luvas ao manusear a terra e cuidadosa lavagem das mãos após preparo dos alimentos com carne crua. Os gatos domésticos devem

ser alimentados com ração ou carnes bem cozidas. Estas orientações, quando aplicadas no pré-natal, contribuem com a redução de 63% da primoinfecção na gravidez (FOULON, 1992).

Kapperud *et al.* (1997), também, relataram em sua pesquisa que uma das medidas mais efetivas é a prevenção da doença aguda na gestação, evitando os fatores de risco para infecção, através de programas de educação em saúde. Semelhante conceito é defendido por Rorman *et al.* (2006), afirmando que a instrução às gestantes, como forma de prevenção, apresenta melhor custo-benefício na redução da toxoplasmose congênita.

Segundo Jones *et al.* (2001), fatores protetores para toxoplasmose incluem dieta livre de carnes, morar em altas altitudes e climas áridos e, também, em climas com freqüente congelamento e degelo.

A prevenção secundária consiste na realização do “screening” sorológico durante o pré-natal com a finalidade de detectar e tratar infecções agudas pelo *T. gondii*, a fim de reduzir as seqüelas da toxoplasmose congênita. O tratamento na gestante com infecção aguda é realizado através da administração de antibiótico, a espiamicina, ou de agentes quimioterápicos, a pirimetamina e a sulfadiazina. 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, Bélgica e Itália (FOULON; NAESSENS; HO-YEN, 2000).

Em 1978 e 1985, a Áustria e a França, respectivamente, devido à elevada prevalência de anticorpos IgG para *T. gondii*, implementaram programas nacionais para detecção imediata e tratamento de infecções pelo *T. gondii* durante a gestação (WALLON *et al.*, 1999; REMINGTON *et al.*, 2001). O objetivo dos programas é instituir medidas preventivas para mulheres soronegativas, assegurando diagnóstico precoce e tratamento da infecção adquirida na gestação.

Na França, desde o início do programa têm sido realizados exames médico pré-nupcial e pré-natal para detecção de anticorpos específicos para *T. gondii*. Quando uma mulher suscetível engravida, o teste é realizado no primeiro exame pré-natal, durante o primeiro trimestre; outros seis exames adicionais são realizados, mensalmente, para detectar soroconversão. Adicionalmente, as gestantes são orientadas sobre medidas preventivas. Na Áustria, quase todas as mulheres que

engravidam são submetidas ao “screening” no primeiro trimestre da gestação e, se os resultados forem negativos, são testadas novamente durante o 2º e o 3º trimestres. A taxa de soropositividade entre gestantes, na Áustria, 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 (THULLIEZ, 1992; JONES *et al.*, 2001).

A prevenção terciária é realizada no recém-nascido, através da execução do diagnóstico laboratorial e clínico. O “screening” neonatal é realizado através da detecção no sangue de anticorpos IgM para *T. gondii* e ,em alguns países, também de IgA que permitam a introdução de esquema terapêutico para prevenir ou minimizar os riscos de seqüelas (MAGORZATA,PETERSEN, SZCZAPA, 2001). 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 (AMBROISE-THOMAS, 2003).

Alguns países ou regiões, como Dinamarca, Polônia, Nova Inglaterra e Estados Unidos já incluíram a toxoplasmose nos programas oficiais de triagem neonatal, outros estão em fase de projetos piloto, cujos resultados irão ajudar na decisão de implantar ou não esta ou outra estratégia, como é o caso da Suécia, Irlanda e Itália (LEBECH *et al.*, 1999; GUERINA *et al.*, 1994; PAUL *et al.*, 2000; PAUL; PETERSEN; SZCZAPA, 2001; EVENGARD *et al.*, 2001; FINEGAN *et al.*, 2003; RICCI *et al.*, 2003).

O Brasil, apesar de não incluir a toxoplasmose no programa nacional de triagem neonatal (Teste do Pezinho) na rede pública de saúde, possui uma das maiores experiências mundiais em termos de triagem neonatal para esta infecção. Este fato deve-se à existência de laboratórios que disponibilizam o teste comercialmente, aliada às dimensões continentais e à numerosa população do país. O Centro de Triagem Neonatal, em Porto Alegre, inclui desde 1995 a pesquisa de IgM anti-*T. gondii* entre os testes de triagem neonatal, quando solicitada pelos pediatras ou pelos pais, sendo paga pela família ou por planos de saúde (CAMARGO-NETO *et al.*, 2000).

Segundo Avelino, Campos-Junior e Castro (1999) a eficácia de um programa preventivo depende de vários fatores:

- Do período gestacional em que a primeira amostra sorológica foi coletada
- Do intervalo de tempo entre as sucessivas amostras sangüíneas;
- Do período gestacional e resultado da última sorologia. A soroconversão pode ocorrer no final da gravidez podendo ou não ser detectada no sangue do cordão umbilical do recém-nascido, porque os anticorpos produzidos pela mãe ou recém-nascidos ainda não são detectáveis a nível laboratorial;
- Da cooperação das equipes multidisciplinares que fornecem assistência à gestante.

A instituição de programas educacionais para gestantes e imunossuprimidos associada aos programas de triagem sorológica pré-natal deve reduzir de maneira significativa as taxas de infecção pelo *T. gondii*. Este investimento comprovadamente tem reduzido as taxas de infecção congênita e mostra resultados sociais e econômicos positivos (STRAY-PEDERSEN; JENUM, 1992).

Um programa de acompanhamento sorológico seriado das gestantes suscetíveis é de fundamental importância para a detecção de soroconversões e diagnóstico de infecção toxoplásmica aguda. Isso permite iniciar o tratamento materno precocemente, investigar o conceito e instituir o tratamento “in útero” do feto infectado (WONG; REMINGTON, 1994; WALLON *et al.*, 2002). Embora a terapia antenatal seja questionada quanto à sua eficácia para impedir ou limitar o risco de transmissão materno-fetal, parece indiscutível quanto ao seu papel de reduzir a gravidade das lesões congênitas (THULLIEZ, 2001).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Delineamento

No período de maio a novembro de 2006, foi realizado um estudo transversal para avaliar a soroprevalência para *T. gondii* em gestantes atendidas em Postos de Saúde do Município de Pelotas-RS, que realizaram exames laboratoriais para toxoplasmose durante o pré-natal no Laboratório de Análises Clínicas da UFPel.

3.2 Local de estudo e coleta das amostras

A análise dos soros pela técnica de Quimioluminescência para a dosagem de IgG e IgM para *T. gondii* foi realizada no Laboratório de Análises Clínicas da UFPel.

Os postos de saúde que fizeram parte do estudo foram Areal Fundos, Centro Social Urbano, Vila Municipal e Ambulatório da Faculdade de Medicina da UFPel.

O material foi utilizado mediante assinatura do termo de consentimento livre (Apêndice A), após esclarecimento da gestante. Em todas as gestantes que concordaram participar do estudo, foi aplicado um questionário epidemiológico (Apêndice B) referente aos prováveis fatores de exposição ao risco da infecção e conhecimento da zoonose. Os questionários foram aplicados pelo mesmo entrevistador. Posteriormente, foram distribuídos às gestantes que participaram do estudo folhetos educativos com medidas de prevenção para a toxoplasmose (Apêndice C).

As amostras foram coletadas por punção venosa, centrifugadas a 3.500 rpm, separadas do coágulo e encaminhadas ao setor de Imunologia do referido laboratório. Os testes de Quimioluminescência foram realizados no dia da coleta das amostras e, para os de Imunofluorescência Indireta (IFI), os soros foram congelados e armazenados a -20°C até a obtenção do número total de amostras.

Os testes de IFI foram processados no laboratório do Centro de Zoonoses e as leituras, realizadas no laboratório de Imunologia do Instituto de Biologia da UFPel.

Critérios para seleção das técnicas sorológicas:

- A técnica de Quimioluminescência é disponível no Laboratório de Análises Clínicas da UFPel para a realização da triagem sorológica dos pacientes, sendo automatizada, sem interferências que podem ocorrer nas técnicas manuais;
- A IFI é a mais utilizada para triagem sorológica, de menor custo e comparável ao teste de Sabin Feldman, ainda considerado como referência. Esta técnica foi utilizada como padrão ouro no presente estudo.
- Em revisão de literatura não foram encontrados estudos comparativos utilizando estas técnicas. Diante deste fato, houve o interesse em realizá-lo, com a finalidade de avaliar a sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo e negativo, a acurácia e o índice Kappa da Quimioluminescência em relação a IFI (padrão ouro).

3.3 Tamanho amostral

O tamanho amostral do presente estudo foi baseado em uma prevalência de 59,8%, encontrada em estudo conduzido por Varella *et al.* (2003) que trabalharam com gestantes no Hospital Nossa Senhora da Conceição, na cidade de Porto Alegre (RS). A amostra foi calculada com uma expectativa de 60% de prevalência, com um erro padrão de 5% e um nível de confiança de 95%, chegando a um tamanho amostral de 369 gestantes que, considerando perdas de 10%, totaliza um mínimo de 405 gestantes a serem estudadas utilizando a técnica de Quimioluminescência. O número de amostras coletadas foi de 425. Para comparar os resultados da Quimioluminescência com a Imunofluorescência Indireta, procedeu-se a uma reamostragem nos soros das 425 gestantes utilizando-se a mesma expectativa de prevalência (60%), o mesmo erro padrão de 5% e um nível de confiança de 99%, resultando no sorteio aleatório de 254 soros de gestantes.

3.4 Execução dos ensaios

Para a detecção de anticorpos IgG e IgM para *T. gondii* foram utilizadas as técnicas de Quimioluminescência e Imunofluorescência Indireta.

A análise das amostras pela técnica de Quimioluminescência foi realizada no equipamento de automação, IMMULITE (® DPC Medlab), existente no setor de Imunologia do laboratório de Análises Clínicas-UFPeL.

Para a análise por Imunofluorescência Indireta foram utilizados os kits comerciais Imuno-Con (® WAMA Diagnóstica) para as dosagens de anticorpos IgG para *T. gondii* e o FluoCon IgM (® WAMA Diagnóstica) para as dosagens de anticorpos IgM para *T. gondii*.

3.4.1 Técnica de Quimioluminescência

A técnica de Quimioluminescência foi executada no equipamento IMMULITE. Este equipamento é um analisador automatizado de imunoensaios, de acesso randômico, que realiza testes quimioluminescentes quantitativos. Utiliza unidades teste na dosagem de anticorpos IgG e IgM para *T. gondii*, reagentes de *Toxoplasma* quantitativo IgG e IgM e um substrato quimioluminescente. No interior de cada unidade teste contém uma pérola de plástico, onde o antígeno (cadeia RH de taquizóitos de peritônio de rato) está fixado. O reagente para a dosagem de anticorpos IgG é constituído por fosfatase alcalina conjugada com anticorpo monoclonal IgG anti-humano de murino em tampão com conservante e, o reagente para a dosagem de anticorpos IgM contém fosfatase alcalina conjugada com anticorpo policlonal IgM anti-humano de cabra. A reação antígeno-anticorpo ocorre através da hidrólise do substrato, gerando um produto quimioluminescente, cuja intensidade de luz emitida é proporcional à concentração de anticorpos existente na amostra. O tempo de reação para a liberação dos resultados é de 60 minutos. Antes das dosagens das amostras, foram processados os controles positivo e negativo dos kits, a fim de verificar a eficácia dos reagentes e a calibração do equipamento utilizado. Para a dosagem de anticorpos IgM, o método utilizado foi de imunocaptura, a fim de eliminar interferências que podem ocasionar resultados falso-positivos. Segundo o fabricante, a técnica de Quimioluminescência para dosagem de anticorpos IgG e IgM para *T. gondii* apresenta sensibilidade e especificidade de 98% e 100%, respectivamente.

3.4.1.1 Interpretação dos resultados para anticorpos IgG – *T. gondii*

- Positivo: Resultados com concentrações iguais ou superiores a 8 UI/mL.
- Indeterminado: Resultados com concentrações iguais ou superiores a 6,5 UI/mL e inferiores a 8 UI/mL.
- Negativo: Resultados com concentrações inferiores a 6,5 UI/mL.

3.4.1.2 Interpretação dos resultados para anticorpos IgM – *T. gondii*

- Positivo: Resultados com concentrações superiores a 1,1 UI/mL.
- Indeterminado: Resultados com concentrações entre 0,9 e 1,1 UI/mL.
- Negativo: Resultados com concentrações inferiores a 0,9 UI/mL.

3.4.2 Técnica de Imunofluorescência Indireta

- Dosagem de anticorpos IgG

A técnica foi executada de acordo com as instruções e recomendações do fabricante (® WAMA Diagnóstica).

As lâminas fixadas com antígeno (suspensão de *T. gondii*) foram preparadas com controle positivo e negativo. Inicialmente, foi realizado o teste qualitativo para triagem nas amostras a serem analisadas. Posteriormente, para as amostras positivas, procedeu-se o teste semi-quantitativo.

As amostras de soro foram diluídas 1:32 em PBS. Os controles positivos e negativos não foram diluídos, pois de acordo com o fabricante, são prontos para uso. Adicionou-se 25 µL dos controles positivo e negativo nas áreas um e dois de cada lâmina, respectivamente. Nas outras áreas das lâminas foram adicionados 25 µL das amostras diluídas a serem testadas. As lâminas, contendo as amostras e o antígeno, foram incubadas em câmara úmida por 30 minutos, à temperatura ambiente. Decorrido este tempo, as lâminas foram retiradas da câmara úmida e colocadas na jarra de Coplin, onde foram lavadas três vezes com PBS. O tempo de cada etapa da lavagem no PBS foi de cinco minutos. Durante as lavagens foi necessário realizar, algumas vezes, a agitação suave da jarra de Coplin. Após as lavagens, foi retirado o excesso de PBS das lâminas sobre um papel absorvente e os espaços em torno das áreas reativas foram cuidadosamente secos.

Foram adicionados 25 µL de antigamaglobulina IgG humana marcada com isotiocianato de fluoresceína em todas as áreas reativas das lâminas, inclusive no controle positivo e negativo. As lâminas foram, novamente, incubadas em câmara úmida por 30 minutos, à temperatura ambiente. Transcorrido os 30 minutos, foram repetidas as etapas de lavagem com PBS e adicionadas, na última etapa de lavagem, três gotas de azul de Evans.

Posteriormente, foi retirado o excesso de PBS das lâminas sobre um papel absorvente e os espaços em torno das áreas reativas foram cuidadosamente secos. Adicionou-se quatro gotas de glicerina entre as áreas reativas das lâminas e foi colocada uma lamínula sobre cada lâmina preparada, evitando a formação de bolhas para não prejudicar a leitura. A leitura das lâminas foi realizada sob objetiva de 40X, no microscópio de imunofluorescência (@NIKON E 400).

As amostras reagentes no teste qualitativo foram tituladas para determinação da concentração de anticorpos IgG para *T. gondii* existentes em cada uma (teste semi-quantitativo). Para a titulação procedeu-se a realização de diluições seriadas, obedecendo à razão de dois, a partir da diluição 1:32. Após a realização das diluições seriadas, repetiu-se todo o procedimento de execução realizado no teste qualitativo. Os resultados das amostras tituladas foram considerados positivos até a maior diluição que apresentou fluorescência amarelo-esverdeada em todo o contorno do *Toxoplasma*.

De acordo com as instruções do fabricante, a reação é considerada negativa quando ocorre ausência de fluorescência amarelo-esverdeada em todo o contorno do *Toxoplasma* em uma diluição inicial de 1:32. Os parasitos exibem uma coloração avermelhada. Na reação positiva ocorre, presença de fluorescência amarelo-esverdeada característica em todo o contorno do parasito.

Utilizando-se a técnica de imunofluorescência indireta foi considerado reagente o soro cujo título de anticorpos anti-*T. gondii* foi igual ou superior a 1:32.

- Dosagem de anticorpos IgM

A técnica foi executada de acordo com as instruções e recomendações do fabricante (@WAMA Diagnóstica).

Para a dosagem de anticorpos IgM utilizando o conjugado FluoCon IgM(@WAMA Diagnóstica), as amostras foram preparados antes da execução da técnica. O preparo das amostras é justificado para retirada de possíveis interferentes

que possam ocasionar resultados falso-positivos, como, por exemplo, amostras contendo concentrações de fator reumatóide.

Preparo do conjugado (FluoCon IgM): Foi preparado uma solução com diluição 1:10 com Azul de Evans e tampão PBS (100 µL de Azul de Evans e 9,9 mL de tampão PBS). Esta solução foi utilizada para a diluição do conjugado. O título do conjugado fornecido pela assessoria científica e pelo setor de controle de qualidade da WAMA Diagnóstica foi de 1:350. A partir do conhecimento do título do conjugado, o mesmo foi preparado para uso na técnica de imunofluorescência. Para isto, foram adicionados 3,5 mL da diluição 1:10 com Azul de Evans e 10 µL do conjugado FluoCon IgM.

Preparo das amostras: As amostras foram diluídas 1:8 com tampão PBS (100 µL de soro e 800 µL de tampão PBS). Após, foram adicionados em um tubo de ensaio 100 µL da diluição 1:8 e 100 µL do removedor de IgG fornecido pelo fabricante do kit. Nesta etapa, a diluição da amostra passa a ser de 1:16. Deixou-se em repouso à temperatura ambiente por 30 minutos e a cada 10 minutos foi realizado a homogenização do tubo. Transcorrido o tempo de 30 minutos, as amostras foram centrifugadas a 3.000 rpm durante 10 minutos. Após a obtenção do sobrenadante, foi realizada uma diluição 1:32, adicionando-se 50 µL da diluição anterior (1:16) e 50 µL de tampão PBS. A partir da diluição 1:32 das amostras, foi executada a técnica da dosagem de anticorpos IgM para *T. gondii* conforme descrição no item -Dosagem de anticorpos IgG.

O controle positivo da reação foi fornecido pelo setor de controle de qualidade da WAMA Diagnóstica, um soro humano com título de anticorpos IgM para *T. gondii* 1:1024 e, para controle negativo, um soro humano não-reagente para IgM anti-*T. gondii*.

3.5 Análise estatística

O cálculo do tamanho da amostra, os resultados da dosagem dos anticorpos IgG e IgM para *T. gondii* pela técnica de Quimioluminescência, assim como os dados das variáveis epidemiológicas obtidas através da aplicação do questionário às gestantes do estudo foram analisadas estatisticamente através do programa Epi-Info versão 6.04, efetuando-se o teste do Qui-quadrado. Neste estudo, os resultados

foram considerados estatisticamente significativos quando $p < 0,05$. Foi ainda, determinado o valor de OR (Odds Ratio) com intervalo de confiança (IC) de 95%. Um modelo de regressão logística foi aplicado para estudar de forma simultânea os múltiplos efeitos que podem estar envolvidos na prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. As variáveis epidemiológicas que apresentaram $p < 0,25$ na análise univariada foram incluídas no modelo multivariado. Os dados foram analisados com a utilização do programa Statistix 8.0.

A sensibilidade, a especificidade, os valores preditivos positivo e negativo e a acurácia dos testes foram determinados, segundo Coggon *et al.* (1993). A concordância entre os dois tipos de testes sorológicos, presentes no estudo, foi medida através do coeficiente Kappa, segundo Smith (1995) (Anexo A).

3.6 Questões éticas

O projeto de pesquisa, deste estudo, foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas, sob o protocolo 029/06(Anexo B).

4. RESULTADOS

4.1 Caracterização da amostra

Foram realizados testes sorológicos e entrevistas com 425 gestantes residentes em Pelotas, provenientes dos Postos de Saúde, não havendo recusa à participação no estudo.

Entre as mulheres que fizeram parte do estudo, 71 (17%) realizaram o pré-natal no Posto de Saúde da Vila Municipal, 91 (21%) no Areal Fundos, 234 (55%) no Ambulatório da Faculdade de Medicina da UFPel e 23 (7%) no Posto de Saúde Centro Social Urbano.

A caracterização da amostra, quanto à possível exposição a fatores de risco para infecção por *T. gondii*, encontra-se na tab. 1.

Constatou-se que 64,9% (276) das gestantes analisadas desconheciam a doença (tab 1). Entre as que relataram algum conhecimento (35,1%), associaram a infecção com convívio com gatos (69,8%), ao manuseio, consumo de carnes cruas ou mal cozidas (27,5%) e ao consumo de verduras cruas (2,7%). Os fatores de risco de infecção citados estão representados na tab. 2.

Tabela 1 – Distribuição das gestantes provenientes de Postos de Saúde de Pelotas/RS (n=425), segundo possíveis fatores de risco para infecção por *T. gondii*, no período de maio a novembro de 2006.

Variáveis	n (425)	%
Idade da gestante		
< 20 anos	94	22,1
20 a 25 anos	130	30,6
26 a 31 anos	109	25,6
32 a 36 anos	69	16,2
>37 anos	23	5,4
Conhecimento da doença		
Não	276	64,9
Sim	149	35,1
Consumo de carne crua		
Não	418	98,4
Sim	7	1,6
Consumo de carne mal cozida		
Não	266	62,6
Sim	159	37,4
Manuseio de carne crua		
Não	91	21,4
Sim	334	78,6
Consumo de vegetais crus		
Não	60	14,1
Sim	365	85,9
Consumo de água não tratada		
Não	397	93,4
Sim	28	6,6
Consumo de leite cru não pasteurizado		
Não	388	91,3
Sim	37	8,7
Contato direto com o solo		
Não	291	68,5
Sim	134	31,5
Atividade em horta / jardim/ lavoura		
Não	290	68,2
Sim	135	31,8
Presença de gato no domicílio		
Não	260	61,2
Sim	165	38,8
Contato com fezes de gato		
Não	401	94,4
Sim	24	5,6
Destino das fezes do gato		
Lixo	21	4,9
Sanitário	1	0,1
Ignorado	403	95,0

Tabela 2 – Frequência dos principais fatores de risco para toxoplasmose, citados pelas gestantes que referiram ter conhecimento da doença, no período de maio a novembro de 2006.

Fator de risco	Conhecem a doença	
	n°	%
Convívio com gatos	104	69,8
Manuseio, consumo de carne crua ou mal cozida	41	27,5
Consumo de verduras cruas	4	2,7
Total	149	100

4.2 Prevalência de soropositividade para *T. gondii*

Entre as gestantes estudadas, 54,8% (IC=95% 50,1 – 59,5) apresentaram IgG para *T. gondii* (soropositividade). O índice de suscetibilidade, representado pelas soronegativas, foi de 45,2% (IC=95% 40,5 – 49,9) (tab. 3).

A concentração de anticorpos IgG, avaliados pela técnica de Quimioluminescência, entre as gestantes soropositivas para *T. gondii* variou de 8,0 UI/mL até 8.140,0 UI/mL com média de 188,6 UI/mL.

Nenhuma das gestantes estudadas apresentou níveis detectáveis de IgM para *T. gondii*.

Tabela 3 – Prevalência de anticorpos IgG* para *T. gondii* em gestantes atendidas nos Postos de Saúde de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.

Desfecho	n	Prevalência	IC=95%**
Soropositividade	233	54,8%	50,1-59,5
Suscetibilidade	192	45,2%	40,5-49,9
Total	425	100%	

* Técnica de Quimioluminescência (cut- off $\geq$ 8,0 UI/mL)

** IC Intervalo de Confiança

4.3 Influência dos possíveis fatores de risco na soropositividade

Os possíveis fatores de risco que não apresentaram associação significativa ($p>0,05$) com a soropositividade para *T. gondii*, na população estudada foram: conhecimento da infecção, consumo de água não tratada, presença de gato no domicílio, contato com suas fezes e destino dado a elas (tab. 4). Para a análise da variável “destino das fezes do gato” foram utilizados dados das gestantes que possuíam gato na residência ($n=165$).

Tabela 4 - Exposição aos possíveis fatores de risco à infecção por *T. gondii* que não apresentaram associação significativa ($p>0,05$) com a soropositividade das gestantes analisadas ($n= 425$), nos Postos de Saúde do município de Pelotas/RS, de maio a novembro de 2006.

Variáveis	Reagente		Não Reagente		OR* (IC=95%)**	p valor
	n (233)	%	n (192)	%		
Conhecimento da doença						
Não	146	52,9	130	47,1	0,80 (0,52-1,23)	0,16
Sim	87	58,4	62	41,6		
Consumo de água não tratada						
Não	219	55,2	178	44,8	0,81 (0,35-1,88)	0,37
Sim	14	50,0	14	50,0		
Presença de gato no domicílio						
Não	143	55,0	117	45,0	0,98 (0,65-1,49)	0,50
Sim	90	54,5	75	45,5		
Contato com fezes de gato						
Não	224	55,9	177	44,1	0,47 (0,19-1,18)	0,08
Sim	9	37,5	15	62,5		
Destino das fezes do gato (n=165)	n (90)	%	n (75)	%		
Sanitário ou lixo	9	40,9	13	59,1	0,53 (0,19-1,43)	0,17
Desconhecido	81	56,6	62	43,4		

*OR Odds Ratio

** IC Intervalo de Confiança

Na tab. 5, podem ser observados os possíveis fatores de risco que foram estatisticamente significativos ($p<0,05$) com a soropositividade para *T. gondii* na população estudada ($n= 425$), proveniente de Postos de Saúde do município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.

Tabela 5 – Associação ($p<0,05$) dos fatores de risco à infecção por *T. gondii* com a soropositividade de gestantes ($n=425$), provenientes de Postos de Saúde do município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.

Variáveis	Reagente		Não Reagente		OR *(IC=95%)**	p valor
	n (233)	%	n (192)	%		
Idade da gestante						
< 20 anos	44	46,8	50	53,2	-	
20 a 25 anos	64	49,2	66	50,8	1,51 (0,93-2,47)	<0,001
26 a 31 anos	56	51,4	53	48,6	1,77 (1,17-2,66)	
32 a 36 anos	50	72,5	19	27,5	3,09 (1,78-5,40)	
>37 anos	19	82,6	4	17,4	4,17 (1,30-14,9)	
Manuseio de carne crua						
Sim	204	61,1	130	38,9		
Não	29	31,9	62	68,1	3,35 (1,99-5,69)	<0,001
Consumo de vegetais crus						
Sim	212	58,1	153	41,9		
Não	21	35,0	39	65,0	2,57 (1,40-4,76)	<0,001
Consumo de carne crua ou mal cozida						
Sim	106	66,7	53	33,3		
Não	127	47,7	139	52,3	2,19 (1,42-3,38)	<0,001
Consumo de leite cru não pasteurizado						
Sim	27	73,0	10	27,0		
Não	206	53,1	182	46,9	2,39 (1,06-5,47)	0,01
212/233						
Contato direto com o solo						
Sim	97	72,4	37	27,6		
Não	136	46,7	155	53,3	2,99 (1,87-4,79)	<0,001

*OR Odds Ratio

** IC Intervalo de Confiança

À medida que as pacientes aumentavam em faixa etária, aumentavam os riscos de terem adquirido a doença. As pacientes com idade superior a 37 anos quando comparadas com todas as outras, apresentaram risco de terem adquirido a infecção, 4,17 vezes maior do que o grupo com menos de 37 anos (tab. 5).

A idade das pacientes soropositivas para *T. gondii* variou entre 14 e 43 anos (média= 25,6 anos). A prevalência, em cada faixa etária é mostrada na Fig. 1. Foi

constatado aumento da prevalência, segundo a faixa etária da gestante ($p<0,001$).

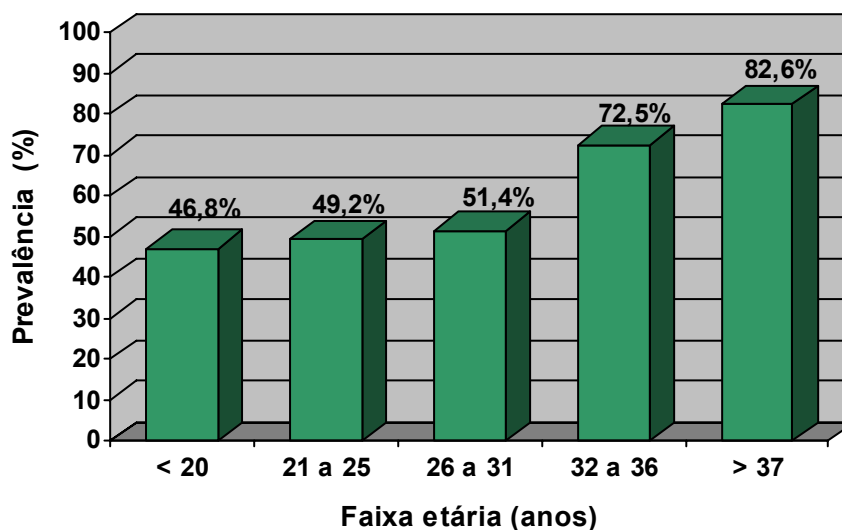


Figura 1 – Prevalência de soropositividade para *T. gondii*, segundo a faixa etária das gestantes atendidas nos Postos de Saúde de Pelotas-RS, no período de maio a novembro de 2006.

O manuseio de carne crua também influenciou significativamente ($p<0,001$) na soropositividade para *T. gondii* das gestantes estudadas. Aquelas que manipulam carnes cruas apresentaram 3,35 vezes mais chances de serem soropositivas do que as que não manipulam (tab. 5).

Da mesma forma, o consumo de carnes cruas ou mal cozidas foi um fator de risco estatisticamente significativo ($p<0,001$), que aumentou em 2,19 vezes o risco de adquirir essa infecção entre as mulheres que ingeriam este alimento (tab 5).

A influência do consumo de vegetais crus nessa soropositividade foi estatisticamente significativa ($p<0,001$). De acordo com os valores de OR, as gestantes que possuíam este hábito alimentar apresentaram 2,57 vezes mais chances de serem soropositivas para *T. gondii* do que as que não o possuíam (tab.5).

A associação entre o hábito de consumir de leite cru não pasteurizado e a soropositividade das gestantes também foi significativa ($p=0,01$). A chance de soropositividade entre as gestantes que consumiam leite cru não pasteurizado foi 2,39 vezes maior do que aquelas que não consumiam este alimento (tab. 5).

A análise dos dados revelou que o contato direto com o solo influenciou significativamente ($p<0,001$) na soropositividade das gestantes para *T. gondii*.

Gestantes que tinham este hábito representaram um risco de adquirir a infecção 2,99 vezes maior do que as demais (tab. 5).

A análise das variáveis epidemiológicas, após a aplicação do modelo de regressão logística, que mantiveram associação estatisticamente significativa ($p < 0,05$) com a soropositividade das gestantes para *T. gondii* está apresentada na tab. 6, e os prováveis fatores de risco que apresentaram significado estatístico foram o consumo de carnes cruas ou mal cozidas e o contato direto com o solo. A chance de soropositividade entre as gestantes que consumiam carnes cruas ou mal cozidas foi 1,85 vezes maior do que aquelas que não consumiam este alimento (tab. 6).

De acordo com OR, gestantes que mantinham o contato direto com o solo apresentaram 2,67 vezes mais chances de serem soropositivas para *T. gondii* do que as demais (tab. 6).

Tabela 6 - Associação ($p < 0,05$) dos prováveis fatores de risco à infecção por *T. gondii* com a soropositividade de gestantes ($n=425$), provenientes de Postos de Saúde do município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006, após a aplicação do modelo multivariado.

Variáveis	Reagente		Não Reagente		OR *(IC=95%)**	p valor
	n (233)	%	n (192)	%		
Consumo de carne crua ou mal cozida						
Sim	106	66,7	53	33,3		
Não	127	47,7	139	52,3	1,85 (1,21-2,81)	<0,001
Contato direto com o solo						
Sim	97	72,4	37	27,6		
Não	136	46,7	155	53,3	2,67 (1,70-4,19)	<0,001

*OR Odds Ratio

** IC Intervalo de Confiança

4.4 Comparação entre as técnicas de Quimioluminescência e Imunofluorescência Indireta (IFI)

A análise dos resultados para os anticorpos IgG para *T. gondii* obtidos pela técnica de Quimioluminescência em relação à IFI, no soro das 254 gestantes dos Postos de Saúde do Município de Pelotas está apresentada na tab. 7. Verificou-se

que oito amostras de soro analisadas apresentaram resultados positivos na IFI e, na Quimioluminescência, os resultados foram indeterminados. Constatou-se, também que duas amostras sorológicas apresentaram resultados indeterminados pela técnica de Quimioluminescência e, foram negativos na IFI. E, cinco amostras sorológicas foram negativas na Quimioluminescência e, positivas na IFI.

Tabela 7 - Resultados da análise sorológica dos anticorpos IgG para *T. gondii* por Quimioluminescência, comparado com Imunofluorescência Indireta como Padrão Ouro, nas 254 gestantes de Postos de Saúde do município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.

IFI (IgG) Titulação	Quimioluminescência (IgG)			Total
	Positivo (≥8,0 UI/mL)	Negativo (< 6,5 UI/mL)	Indeterminado (6,5 a 7,9 UI/mL)	
<32*	0	117	2	119
32**	12	5	8	25
64	19	0	0	19
128	30	0	0	30
256	32	0	0	32
512	12	0	0	12
1024	7	0	0	7
2048	4	0	0	4
4096	6	0	0	6
Total	122	122	10	254

*Negativo (< 32)

** Positivo (≥ 32)

Para a comparação entre as técnicas, os resultados considerados indeterminados na Quimioluminescência foram considerados como negativos e comparados com o padrão ouro (tab.8)

Tabela 8- Resultados da análise sorológica dos anticorpos IgG para *T. gondii* por Quimioluminescência, considerando os resultados < 8 UI/mL como negativos, comparado com Imunofluorescência Indireta como Padrão Ouro, nas 254 gestantes de Postos de Saúde do município de Pelotas/RS, no período de maio a novembro de 2006.

Quimioluminescência	Imunofluorescência Indireta		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	122 (a)	0 (b)	122
Negativo	13 (c)	119 (d)	132
Total	135	119	254

Segundo Coggon *et al.* (1993):

Sensibilidade: $a / (a + c) \times 100 = 90,4\%$

Especificidade: $d / (b + d) \times 100 = 100\%$

Valor Preditivo Positivo: $a / (a + b) \times 100 = 100\%$

Valor Preditivo Negativo: $d / (c + d) \times 100 = 90,2\%$

Acurácia: $(a + d) / (a + b + c + d) \times 100 = 94,8 \%$

O coeficiente Kappa calculado foi de 0,89, indicando uma concordância quase perfeita entre as técnicas, segundo Smith (1995) (Anexo A).

A sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo, o valor preditivo negativo e a acurácia dos anticorpos IgM para *T. gondii* pela técnica de Quimioluminescência quando comparados com o padrão ouro foi de 100%.

5. DISCUSSÃO

O conhecimento de fatores de risco e hábitos de vida que favorecem a infecção por *Toxoplasma gondii* é importante para o planejamento de programas educativos visando reduzir a incidência da toxoplasmose durante a gestação.

Fator relevante, e pouco citado na literatura, é o nível de conhecimento sobre a doença por parte das pacientes. No presente estudo, constatou-se que 64,9% das gestantes relataram desconhecer a parasitose. Este alto percentual é comparável ao obtido em estudos realizados, em Cuiabá (MT) e em Ribeirão Preto (SP), por Leão, Meirelles-Filho e Medeiros (2004) e por Duarte *et al.* (1999), respectivamente. Os autores verificaram índices de desconhecimento de 78,1% e de 86%. Estes dados ressaltam a necessidade de uma orientação à população sobre a doença, devidamente realizada por profissionais da área da saúde.

O consumo de carnes cruas ou mal cozidas é um dos fatores de risco de infecção para *T. gondii* mais citados na literatura. De acordo com Cook *et al.* (2000), 26,8% das gestantes analisadas em vários países da Europa consumiam carnes cruas ou mal cozidas. Segundo Kapperud *et al.* (1996), na Noruega, esta frequência foi de 66%. No Brasil, Pinto (1998), em São Paulo, Avelino *et al.* (2004), em Goiânia (GO) e Spalding *et al.* (2003), na região do Alto Uruguai (RS) verificaram frequências de 20,6%, 62,7% e 63,4%, respectivamente. No presente estudo, constatou-se que 37,4% das pacientes consumiam carnes cruas ou mal cozidas, índice inferior ao verificado por Spalding *et al.* (2003), Avelino *et al.* (2004) e Kapperud *et al.* (1996). As diferenças observadas podem ser devido aos diferentes hábitos nutricionais característicos de cada país e regiões estudadas.

Outro fator de risco de infecção, verificado neste estudo e que merece ser salientado, é o elevado percentual (78,6%) de gestantes entrevistadas que manuseavam carnes cruas, o que representa risco de adquirir infecção. Este resultado pode ser comparado aos obtidos por Guedes (2003), em estudo realizado no Rio de Janeiro, onde verificou que 80,1% das gestantes manipulavam carnes cruas. A higiene inadequada das mãos e dos utensílios domésticos após o contato

com esta fonte de infecção pode ocasionar a ingestão de cistos ou taquizoítos de *T. gondii* presentes no alimento contaminado, o que representa outro importante risco de infecção.

O consumo de vegetais crus, também apresentou elevado percentual na amostra estudada. Constatou-se que 85,9% das gestantes ingeriam este alimento. Este resultado é compatível com os obtidos por Ertug *et al.* (2005), na Turquia e, por Diaz-Garcia *et al.* (2006), no México, onde verificaram que 70% e 66%, respectivamente, das gestantes consumiam verduras sem cozimento. Entretanto, são superiores aos obtidos por Avelino *et al.* (2004), em Goiânia, onde 41,2% das puérperas apresentavam este hábito nutricional. O elevado consumo de vegetais “in natura”, pode representar risco de infecção, uma vez que se não houver uma higiene adequada antes do seu consumo, poderá ocorrer a ingestão de oocistos presentes no alimento.

No estudo presente, verificou-se, que apenas 6,6% das pacientes consumiam água não tratada. Esse dado pode ser comparado com os resultados obtidos por Kapperud *et al.* (1996), na Noruega, onde 6,3% das gestantes analisadas ingeriam água de poço artesiano. Mas, diferem dos verificados por Avelino *et al.* (2004), em Goiânia, onde constataram que 29% das gestantes consumiam água não tratada. Este baixo percentual obtido pode ser devido ao número das puérperas estudadas serem procedentes da área urbana, que em Pelotas, tem abastecimento de água tratada na sua quase totalidade.

O consumo de leite cru não pasteurizado pode representar risco de infecção por *T. gondii* na gestação. Verificou-se que 8,7% das gestantes analisadas apresentavam o hábito de ingerir este alimento “in natura”. De acordo com Cook *et al.* (2000), na Europa, 6% a 17% das gestantes de diferentes países consumiam este alimento ou derivados dele. No Brasil, Pinto (1998), em estudo realizado em São Paulo, constatou que 10,9% das gestantes revelaram este hábito alimentar. Pesquisa realizada em Goiânia revelou que 18,6% das gestantes consumiam leite de cabra “in natura” (AVELINO *et al.*, 2004). Trata-se, pois, de um hábito bastante variável entre diferentes populações.

Com relação ao “contato direto com o solo”, constatou-se que 31,5% das gestantes apresentavam este hábito. Este dado é inferior aos obtidos por Avelino *et al.* (2004), em Goiânia e, por Alvarado *et al.* (2006), no México, onde constataram

um percentual de 44,6% e 54,2%, respectivamente. O solo pode representar um relevante foco de infecção por *T. gondii*, pois os oocistos podem sobreviver, em condições de umidade e temperaturas adequadas, por até 24 meses no ambiente (DUBEY, 2000).

A presença de gatos no domicílio, informada por 38,8% das gestantes estudadas, foi inferior à constatada por Alvarado *et al.* (2006), no México e, por Guedes (2003), no Rio de Janeiro, de respectivamente, 83,4% e 53,5%. No entanto, Ertug *et al.* (2005), na Turquia, Cook *et al.* (2000), na Europa e Pinto (1998), em São Paulo, avaliaram gestantes onde este contato com gatos é menos freqüente que o observado no presente estudo (2,3%, 15,8% e 18,9%, respectivamente). O convívio gato/gestante varia muito entre as populações estudadas e este fato pode ser devido às variações de preferência pela espécie de animal de estimação, ligadas a hábitos culturais.

Constatou-se que 95% das gestantes que possuem gatos, não têm o cuidado de remover suas fezes adequadamente do ambiente, o que pode representar um importante foco de infecção. Embora 69,8% (149) das gestantes que declararam conhecer a toxoplasmose tenham citado o convívio com gatos como principal fator de risco da infecção, apenas 0,7% delas, dão o destino adequado aos excrementos do gato, ou seja, os colocam no vaso sanitário.

A importância de determinar a prevalência da toxoplasmose em gestantes deve-se não somente à adoção de medidas profiláticas nas soronegativas, como também ao diagnóstico precoce da doença aguda na grávida e ao emprego da terapêutica adequada, com a finalidade de reduzir a agressão fetal naquelas onde ocorre a soroconversão (FOULON; NAESSENS; HO-YEN, 2000).

A prevalência de imunidade para *T. gondii* varia muito entre as diversas regiões do mundo, por vezes sem uma explicação aparente. Sabe-se que vários fatores podem interferir, como clima da região, idade, hábitos alimentares e higiênicos, nível socioeconômico e outros hábitos que possam propiciar maior contato com o *T. gondii* (KAPPERUD, 1997; HO-YEN, 2003; VARELLA *et al.*, 2003).

No presente estudo, a prevalência de soropositividade para *T. gondii* encontrada foi de 54,8%, similar aos resultados observados em outros trabalhos realizados no Brasil: em Belo Horizonte (50%), Porto Alegre (54% e 59,8%), Londrina (67%), São Paulo (58%, 65%, 65,1% e 67%), Bragança Paulista (55%),

Recife (69%) e em Uberlândia (57,6%) (ARAUJO, 1970; NEVES *et al.*, 1994; VARELLA *et al.*, 2003; REICHE *et al.*, 2000; PEDREIRA, 1995; INAGAKI, 1997; PINTO, 1998; VAZ *et al.*, 1990; BRISIGHELLI-NETO, 2006; NÓBREGA *et al.*, 1999; SEGUNDO *et al.*, 2004). No entanto, foi inferior às taxas verificadas na cidade e área metropolitana de Belém do Pará (71%, 73% e 81%), onde as condições climáticas são mais favoráveis à sobrevivência do oocisto e o consumo de carnes cruas ou mal cozidas é elevado (CARMO *et al.*, 1997; BICHARA, 2001; OLIVEIRA, 2002) e, na região do Alto Uruguai (RS) (74,5%), região de colonização italiana, germânica, polonesa e portuguesa, com grande consumo de carne suína não cozida (SPALDING *et al.*, 2003).

Em relação a outros países, a soroprevalência foi semelhante à observada entre as puérperas da França e Bélgica (54% e 49%, respectivamente), países com programa rígido de rastreamento e seguimento sorológico para toxoplasmose no pré-natal (JONES *et al.*, 2001; BREUGELMANS, M.; NAESSENS, A.; FOULON, 2004). Entretanto, foi superior a soroprevalência observada em países como Suécia (14% em Estocolmo e 25,7% em Skane), Noruega (10,9%), Estados Unidos (14,9%) e Turquia (30,1%), o que pode ser explicado pelas características climáticas e culturais das regiões estudadas (PETERSSON *et al.*, 2000; JENUM *et al.*, 1998; JONES *et al.*, 2001; ERTUG *et al.*, 2005).

Entre as 425 amostras sorológicas de gestantes avaliadas, 45,2% estavam suscetíveis à infecção por *T. gondii* e com risco de adquirirem a doença durante a gestação. Um programa de acompanhamento nestas gestantes é de fundamental importância para a detecção de soroconversões e diagnóstico de infecção toxoplásmica aguda, minimizando os riscos para o feto.

Durante o período de realização deste estudo não foram detectadas gestantes com suspeita de infecção aguda por *T. gondii*, ou seja, com sorologia positiva para anticorpos IgM. Este fato pode ser devido à não realização de um estudo de coorte prospectivo, não possibilitando a avaliação da taxa de soroconversão materna.

No presente estudo, não foi significativa a associação ($p > 0,05$) entre alguns fatores de risco para a infecção pelo *T. gondii* e a soropositividade das gestantes, tais como: o conhecimento da doença pelas pacientes, o consumo de água não tratada, a presença de gato no domicílio, o contato e destino das suas fezes.

Apesar de não ter apresentado associação estatisticamente significativa com a soropositividade, o “conhecimento da infecção pelas gestantes” dever ser salientado, pois o desconhecimento constatado em 64,9% das entrevistadas, pode levar a uma maior exposição às fontes de infecção e risco de soroconversão durante a gestação. Jones *et al.* (2003), em estudo realizado nos Estados Unidos verificaram que 61% das gestantes tinham conhecimento de que o *T. gondii* é excretado nas fezes de gatos infectados, mas somente 30% souberam que o parasito pode ser encontrado em carnes cruas ou mal cozidas e, 29% que podiam se infectar por meio da prática de jardinagem sem luvas. Na Bélgica, foi constatado que após a implantação de um programa de educação sanitária ocorreu 63% de redução da soroconversão por *T. gondii* (FOULON; NAESSENS; DERDE, 1994).

Um dos fatores que pode ter influenciado nos resultados da variável “consumo de água não tratada” com a soropositividade para *T. gondii* foi a procedência das gestantes estudadas, pois a maioria das pacientes era residente da área urbana, onde as condições de saneamento básico são mais adequadas. Provavelmente, se este estudo abrangesse gestantes da zona rural, em que as condições de saneamento são precárias ou inexistentes, esta associação com a soropositividade para *T. gondii* fosse significativa, conforme verificado por Bahia-Oliveira *et al.* (2003), em Campos dos Goytacazes (RJ). No entanto, o sistema de tratamento dos reservatórios de água municipais, muitas vezes não apresenta eficácia na eliminação dos oocistos, pois de acordo com Remington *et al.* (2001), esta forma infectante é resistente ao cloro, ao congelamento e aos ambientes secos, mas, podem ser removidos da água contaminada pela filtração, e mortos através do aquecimento a 70° C por 10 minutos. Para prevenir um possível surto da doença por veiculação hídrica, como ocorreu no Canadá, em 1995, no município de Santa Isabel do Ivaí (PR), em 2001 e, em São Luis (MA), em 2006, deve-se controlar a presença de felídeos nos locais próximos aos reservatórios de abastecimento de água dos municípios evitando, assim, que as fezes destes felídeos infectados e que estejam eliminando oocistos contaminem o local (FUNASA, 2002; SILVEIRA, 2002).

Os estudos epidemiológicos nacionais e internacionais não são uniformes quanto à associação entre a infecção por *T. gondii* e o convívio com gatos. Em relação às pesquisas nacionais, os resultados deste estudo concordam com os obtidos por Pinto (1998), em São Paulo, Brisighelli-Neto (1998), em Bragança

Paulista e Guedes (2003), no Rio de Janeiro, nos quais essa associação também não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$). Entretanto, divergem dos resultados obtidos por Avelino *et al.* (2004), em Goiânia e, Spalding *et al.* (2003), na região do Alto Uruguai, os quais verificaram associação significativa ($p<0,05$) com a soropositividade das gestantes, sendo que o segundo estudo revelou ter maior associação com gestantes procedentes da zona urbana do que as da zona rural.

Em relação aos estudos realizados no exterior, os resultados do presente estudo podem ser comparados aos obtidos por Cook *et al.* (2000), na Europa, Bracho; Sanoja e Granadillo (2001), na Venezuela, Jones *et al.* (2001), nos Estados Unidos, que não revelaram associação da soropositividade com o convívio com este animal de estimação. Segundo os autores, a possibilidade de transmissão da infecção através do ato de tocar nos gatos é mínima ou inexistente. O risco de infecção poderá existir somente quando ocorrer o contato direto com as fezes dos gatos que estejam eliminando oocistos após a primoinfecção, sendo que, as fezes desses animais devem estar no ambiente, no mínimo por 24 horas para que o oocisto sofra o processo de esporulação e se torne infectante. O recolhimento das fezes recém emitidas por estes animais e o seu despejo no vaso sanitário, não representam risco de infecção, bem como, a limpeza diária da caixa de areia. Igualmente, animais que são mantidos confinados, que não caçam e são alimentados com carne cozida e ração, não correm o risco de se infectar. É de fundamental importância que os profissionais da área da saúde conheçam as formas de transmissão da toxoplasmose e não transmitam informações infundadas e preconceituosas em relação ao convívio com estes animais de estimação (FARIAS, 2002).

Através dos resultados deste estudo, constatou-se que o aumento da soroprevalência para *T. gondii* com a idade foi estatisticamente significativo ($p<0,05$), concordando com a maioria dos levantamentos que incluíram esse tipo de análise, não somente nas gestantes e mulheres em idade reprodutiva, mas também na população em geral (OLIVEIRA-BAHIA *et al.*, 2001; VARELLA *et al.*, 2003; ERTUG *et al.*, 2005).

Nesta pesquisa, assim como na maioria dos estudos publicados, o aumento é mais relevante após os 31 anos de idade. Este fato pode ser explicado pelo maior tempo de exposição aos fatores de risco (VARELLA *et al.*, 2003; SPALDING *et al.*,

2003; ASPINALL *et al.*, 2003; ERTUG *et al.*, 2005). Entretanto, comparando os resultados deste estudo em relação à soroprevalência na faixa etária inferior a 20 anos com a soropositividade para *T. gondii* (46,8%) e de outros trabalhos nacionais (58,7% e 33,1% e 70,8%, respectivamente), constatou-se que as adolescentes brasileiras já apresentam prevalência elevada para *T. gondii*; (VARELLA *et al.*, 2003; SPALDING *et al.*, 2003; LEÃO; MEIRELLES-FILHO; MEDEIROS *et al.*, 2004). Esta elevada prevalência pode estar relacionada ao freqüente contato com o solo, hábitos higiênicos e alimentares que, segundo Oliveira-Bahia *et al.* (2003), representam importantes vias de transmissão para nossa população.

Outros fatores de risco analisados neste estudo, referentes a hábitos alimentares e higiênicos das pacientes, que também apresentaram associação significativa ($p < 0,05$) entre a soropositividade das gestantes e a infecção para *T. gondii* foram: manuseio de carnes cruas, consumo de carnes cruas ou mal cozidas, de vegetais crus e de leite não pasteurizado, e o contato direto com o solo.

Um importante fator de risco e pouco relatado nas pesquisas é a associação entre o manuseio de carnes cruas pelas gestantes com a infecção por *T. gondii*. Os resultados deste estudo estão de acordo com os verificados por Kapperud *et al.* (1998), na Noruega, Guedes (2003), no Rio de Janeiro e Ertug *et al.* (2005), na Turquia, os quais constataram associação significativa das gestantes com a infecção por *T. gondii*. Esta variável epidemiológica analisada é muito difícil de ser evitada, pois está relacionada com o preparo dos alimentos para o consumo familiar. Um aconselhamento eficaz na orientação destas pacientes a desenvolverem o hábito de lavar as mãos após o manuseio de carnes cruas e não degustá-las durante o seu preparo, seria uma forma de evitar uma possível infecção pelo parasito.

Em relação ao consumo de carnes cruas ou mal cozidas e de vegetais crus pelas gestantes, os resultados do presente estudo são similares aos estudos realizados no Brasil e no exterior, onde os pesquisadores constataram serem importantes vias de transmissão para toxoplasmose nas mulheres suscetíveis durante a gestação, pois estão diretamente ligadas à preferência alimentar da população. No Brasil, os resultados dos estudos que são compatíveis com os deste trabalho foram os realizados por Brisighelli-Neto (1998), em Bragança Paulista (SP), Avelino *et al.* (2004), em Goiânia, Spalding *et al.* (2003), na região do Alto Uruguai e Oliveira-Bahia *et al.* (2003), em Campos dos Goytacazes (SP), os quais constataram

associação entre a soropositividade das gestantes e a ingestão de carnes e vegetais crus. No exterior, os resultados obtidos por Kapperud *et al.* (1998), na Noruega, Cook *et al.* (2000), na Europa, Jones *et al.* (2001), nos Estados Unidos também são comparáveis ao do presente estudo.

Atualmente, o consumo leite cru não pasteurizado aparenta não ser um hábito alimentar costumeiro, devido à maioria da população urbana, principalmente nas grandes cidades, ter acesso ao leite pasteurizado e ser um alimento com controle sanitário. No entanto, seu consumo na zona rural é habitual e, muitas vezes preferencial. Embora nesta pesquisa, a maioria das puérperas estudadas foi de procedência urbana, constatou-se associação significativa entre o consumo de leite cru pelas gestantes e a infecção por *T. gondii*. Estes resultados se assemelham aos verificados por Cook *et al.* (2000), na Europa e diferem dos obtidos por Pinto (1998), em São Paulo, que não constatou associação significativa entre a imunidade das gestantes e esse hábito alimentar.

Outro importante fator de risco associado à imunidade/infecção prévia pelo *T. gondii* foi o contato direto com o solo, através de atividades ligadas à terra contaminada. No presente estudo, constatou-se associação significativa entre esse contato e a soropositividade das gestantes, concordando com os resultados das pesquisas realizadas por Cook *et al.* (2000), na Europa, Spalding *et al.* (2003), na região do Alto Uruguai e Avelino *et al.* (2004), em Goiânia. O manuseio do solo, sem os devidos cuidados de proteção, representa importante foco de infecção por *T. gondii*, pois neste local é freqüente a presença de oocistos, os quais podem permanecer infectantes por vários meses.

Entre todas as variáveis epidemiológicas estudadas, após aplicação no modelo de regressão logística, as que mostraram risco de maior magnitude foram o consumo de carnes cruas ou mal cozidas e o contato direto com o solo. Isto demonstra a importância na realização de programas de prevenção primária em nosso meio, como forma de educação da população.

Apesar do consumo de carnes cruas ou mal cozidas e o contato direto com o solo durante a gestação nas mulheres suscetíveis, serem comprovadamente as principais vias de transmissão para a toxoplasmose humana, Kravetz e Federman (2005) constataram, em estudo realizado nos Estados Unidos, que existe pouco

conhecimento sobre as mesmas, tanto entre os profissionais de saúde, quanto entre as mulheres estudadas.

É importante que os obstetras tenham conhecimento da ampla gama de exposições que as gestantes devem evitar, e que as instruções sobre prevenção façam parte integrante do acompanhamento pré-natal. Como as condições são variáveis entre as diversas populações, é importante que cada comunidade investigue os principais fatores de risco a que suas gestantes estão expostas. Com dados locais, os programas de prevenção primária no pré-natal poderão tornar-se mais dirigidos e, conseqüentemente, mais eficazes (KAPPERUD *et al.*, 1996).

A técnica de IFI foi utilizada como padrão ouro no presente estudo, pois, segundo Camargo (2001) apresenta sensibilidade e especificidade semelhantes ao teste de Sabin Feldman, que apesar de sua utilização apresentar restrições pelo uso de toxoplasmas vivos, ainda é considerado um teste de referência para diagnóstico sorológico da toxoplasmose (REITER-OWONA *et al.*, 1999).

Os resultados deste estudo se assemelham ao estudo realizado por Hovanec *et al.* (1998), que compararam a Quimioluminescência com o teste de Sabin Feldman (padrão ouro), constatando uma sensibilidade de 94%, especificidade de 100% e uma acurácia de 97,3% em relação ao padrão ouro do estudo. Embora a técnica utilizada como padrão ouro neste estudo tenha sido a IFI, segundo a literatura, apresenta sensibilidade e especificidade semelhantes ao Sabin Feldman (CAMARGO, 2001).

Atualmente os testes de Imunofluorescência Indireta, por serem manuais e necessitarem de profissionais treinados para a sua realização, estão sendo substituídos por tecnologias automatizadas. Entretanto, estas novas técnicas, apesar da facilidade de realização, apresentam o inconveniente de detectar níveis mínimos de anticorpos circulantes. Estes novos fatos tornaram mais complexa a interpretação dos resultados de exames laboratoriais, em especial quando aplicados em uma rotina, como forma de rastreamento, como é o pré-natal (BARINI *et al.*, 2000).

6. CONCLUSÕES

O estudo revelou que a população de gestantes estudada está exposta à infecção por *T. gondii*, uma vez que 54,8% das mesmas são soropositivas para o agente.

Existe risco de transmissão congênita porque 45,2% das gestantes estudadas são suscetíveis à infecção por *T. gondii* (soronegativas).

Há elevado desconhecimento sobre a infecção e exposição aos possíveis fatores de risco nas pacientes entrevistadas.

O convívio com gatos de estimação não representa um fator de risco para infecção por *T. gondii* na população estudada.

Não foram detectadas gestantes com suspeita de infecção aguda por *T. gondii*, ou seja, com sorologia positiva para anticorpos IgM.

A ingestão de carnes cruas ou mal cozidas e o contato direto com o solo representam os fatores de risco mais importantes para a infecção por *T. gondii* na população de gestantes estudadas.

A técnica de Quimioluminescência é adequada para utilização em rotinas laboratoriais para “screening” e diagnóstico de infecção por *T. gondii* por ter apresentado índices de sensibilidade, especificidade e acurácia comparáveis aos da Imunofluorescência Indireta, padrão ouro.

7. RECOMENDAÇÕES

Após o término deste estudo, torna-se evidente a necessidade de implantação de programas de educação em saúde na prevenção primária para infecção por *T. gondii*, através da orientação verbal ou por escrito às gestantes durante o pré-natal, quanto às medidas preventivas sobre as reais fontes de infecção, com conseqüente redução dos riscos de transmissão congênita.

8. REFERÊNCIAS

- ALVARADO, E. C.; SIFUENTES, A. A.; NARRO, D. S.G.; ESTRADA, M. S.; DIAZ, G. S. G. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in a public hospital in north Mexico. **BioMed Central Infectious Diseases**, v.13, p.113-120, 2006.
- AMATO-NETO, V.; MEDEIROS, E. A. S.; LEVI, G. C.; DUARTE, M. I. S. **Toxoplasmose**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.154p.
- AMATO, N. V.; MARCHI, C. R. Toxoplasmose. In. Cimerman B. & Cimerman. **Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p.160-177.
- AMBROISE-THOMAS, P.; SCHWEITZER, M.; PINON, J. M.; THIEBAUGEORGES, O. La Prevention de la toxoplasmose congénitale en France. Évaluation des risques. Résultats et perspectives du dépistage antenatal et suivi du nouveau-né. **Bulletin de Academie Nationale de Medicine**, v.185, p.665-688, 2001.
- AMBROISE-THOMAS, P. Toxoplasmose congénitale: les différentes stratégies préventives. **Archives of Pediatrics**, v. 10, p. 12-14, 2003.
- ANDRADE, G. M. Q.; CARVALHO, A. L.; CARVALHO, I. R.; MELLO, B.F.; TIBÚRCIO, F.R.; CASTRO, F. C. Toxoplasmose na gestante e no recém-nascido. Estudo de 86 pares de mãe-filho atendidos no período de 1996-1999 no ambulatório de Infectologia Pediátrica do HCUFMG. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.11, p.202-207, 2001.
- ARAÚJO, F. G. Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em doadores de sangue. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.12, p.105-111, 1970.
- ARAÚJO, F. A. P.; SOUZA, W. J. S. Prevalência de toxoplasmose em suínos da região de Erechim (RS), detectados pela Imunofluorescência Indireta. Congresso Panamericano de Ciências Veterinárias, 15, 1996, Campo Grande. **Anais do...** Campo Grande: Associação Pan-americana de Ciências Veterinárias e Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária, 1996. 335p.
- ASPINALL, T. V.; GUY, E. C.; ROBERTS, K. E.; JOYNSON, D. H.; HYDE, J. E.; SIMS, P. F. Molecular evidence for multiple *Toxoplasma gondii* infections in individual patients in England and Wales: public health implications. **International Journal for Parasitology**, v.33, p.97-103, 2003.

AUBERT, D.; MAINE, G.T.; VILLENA, I.; HUNT, J. C.; HOWARD, L.; SHEU, M.; BROJANAC, S.; CHOVAN, L. E.; NOWLAN, S. F.; PINON, J. M. Recombinant Antigens to detect *Toxoplasma gondii* – specific immunoglobulin G and immunoglobulin M in Human sera by Enzyme Immunoassay. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.3, p.1144-1150, 2000.

AVELINO, M. M.; CAMPOS-JUNIOR, D.; CASTRO, A. M. Fatores de risco relacionados com a toxoplasmose. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.1, p.74-79, 1999.

AVELINO, M. M.; CAMPOS-JUNIOR, D.; PARADA, J. B.; CASTRO, A. M. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of childbearing age. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.8, n.2, p.164-174, 2004.

BARIL, L.; ANCELLE, T.; GOULET, V.; TULLIEZ, P; TIRARD-FLEURY, V.; CARME, B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case control study in France. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v.31, n.3, p.305-309, 1999.

BARINI, R.; BIANCHI, M. O.; MELLONE, M.; CAMARGO, E. A.; FREITAS, S.; MARBA, S. T. Toxoplasmose: um diagnóstico difícil com testes sorológicos automatizados. In: 19th **Annual Meeting da Fetal Medicine and Surgery Society**, Nantucker, USA, Setembro, 2000.

BICHARA, C. N. C. **Perfil epidemiológico da toxoplasmose humana na área metropolitana de Belém/PA: a experiência no serviço de parasitologia do Instituto Evandro Chagas** 2001.160f. Dissertação (Mestrado em Parasitologia)-Universidade Federal do Pará, Belém.

BOBIC, B.; JEVREMOVIC, I.; MARINKOVIC, J.; SIBALIC, D.; DJURKOVIC-DJAKOVIC, O. Risk factors for *Toxoplasma* infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia. **European Journal of Epidemiology**, v.14, p.605-610, 1998.

BOBIC, B.; NIKOLIC, A.; DJURKOVIC-DJAKOVIC, O. Identification of risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* in Serbia as a basis of a program for prevention of congenital toxoplasmosis. **Srpski Arhivza Celokupno Lekarstvo.**, v.131,n.3, p.162-167, 2003.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K.; MACEDO, Z. S. Probable transmission of acute toxoplasmosis through breast feeding. **Journal of Tropical Pediatrics**, v.43, n.2, p. 43- 116, 1997a.

BONAMETTI, A. M.; PASSOS, J. N.; SILVA, E. M. K.; BORTOLIERO, A. L. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.30, n.1, 1997b.

BRACHO, L.; SANOJA, C. L.; GRANADILLO, A. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* Infection in pregnant women. **Kasmera**, v.29, n.2, 2001.

BREUGELMANS, M.; NAESSENS, A.; FOULON, W. Prevention of toxoplasmosis during pregnancy – an epidemiologic survey over 22 consecutive years. **Journal Perinatal Medicine**, v.32, p.211-214, 2004.

BRISIGHELLI-NETO, A. Prevalence of toxoplasmosis in pregnant women in Bragança Paulista city, São Paulo state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**, v.48, n.2, 1998.

BROJANAC, S.; CHOVAN, L. E.; NOWLAN, S. F.; PINON, J. M. Recombinant Antigens to detect *Toxoplasma gondii* – specific immunoglobulin G and immunoglobulin M in Human sera by Enzyme Immunoassay. **Journal of Clinical Microbiology**, v.38, n.3, p.1144-1150, 2000.

CAMARGO, M. E.; FERREIRA, A. W.; MINEO, J. R. Immunoglobulin G and immunoglobulin M enzyme-linked immunosorbent assays and defined toxoplasmosis serological patterns. **Infection and Immunity**, v.21, p.55-58, 1978.

CAMARGO, M. E.; SILVA, S. M.; LESER, P. G.; GRANATO, C. H. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.33, p. 213-218, 1991.

CAMARGO-NETO, E. ; ANELE, E.; RUBIM, R.; BRITES, A.; SCHULTE, J.; BECKER, D.; TUUMINEN, T. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3 year prospective neonatal screening study. **International Journal of Epidemiology**, v.29, n.5, p.941-947, 2000.

CAMARGO, M. E. Toxoplasmose. In: FERREIRA, A. W.; ÁVILA, S. L. M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 278-287.

CARMO, E. L.; POVOA, M. M.; TRINDADE, D. B.; MACHADO, L. D.; MESQUITA, M. P. M. Levantamento da prevalência de *Toxoplasma gondii*; através de diferentes métodos sorológicos, em um grupo de grávidas e crianças (0-2 anos) da cidade de Belém/PA. In: Congresso Brasileiro de Parasitologia, 14, 1997, Salvador. **Anais do...** Salvador: 1997, p. 107.

CARVALHO, K. M.; MINGUINI, N.; MOREIRA-FILHO, D. C.; KARA, J. N. Characteristics of a pediatric low-vision population. **Journal of Pediatric Ophthalmology**, v.35, p.162-165, 1998.

CASTRO, F. C.; CASTRO, M. J. B. V.; CABRAL, A. C. V.; FILHO, G. B.; VITOR, R. W. A.; LANA, A. M. A.; ANDRADE, G. M. Q. Comparação dos Métodos para Diagnóstico da Toxoplasmose Congênita. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria**, v.23, n.5, p. 277-282, 2001.

CAZENAVE, J.; FORESTIER, F.; BESSIERES, M. H.; BROUSSIN, B.; BEGUERET, J. Contribution of a new PCR assay to the prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. **Prenatal Diagnosis**, v.12, n.2, p. 119-127, 1992.

COGGON, T.; ROSE, G.; BARKER, D. J. Measurement error and bias. In: COGGON, T.; ROSE, G.; BARKER, D. J. **Epidemiology for the Uninitiated**. 3 ed. London: BMJ Publishing Group, 1993; p.20-25.

CONTRERAS, M. D.; SANDOVAL, M. L.; SALINAS, P.; MUÑOZ, P.; VARGAS, S. Utilidad diagnóstica de ELISA IgG, IgM, IgA y ELISA avidéz de IgG em toxoplasmosis reciente y cronica. **Boletin Chileno de Parasitologia**, v.55, n.1/2, p.1-10, 2000.

COOK, A. J.; GILBERT, R. E.; BUFFOLANO, W.; ZUFFEREY, J.; PETERSEN, E.; JENUM, P. A.; FOULON, W.; SEMPRINI, A. E.; DUNN, D. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: European multicentre case-control study., **British Medical Journal** v.321, p.142-147, 2000.

COUVREUR, J. Le probleme de la toxoplasmose congenitale. L'evolution sur quatre decennies. **Presse Medicale**, v.28, p.753-757, 1999.

DAFFOS, F.; FORESTIER, F.; CAPELLA-PAVLOVSKY, M.; THULLIEZ, P.; AUFRANT, V.; VALENTI, D.; COX, W. L. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. **New England Journal of Medicine**, v.318, n.5, p.271-275, 1988.

DEAN, A. G; DEAN, J. A.; COLULOMBIER, D.; BRENDDEL, K. A.; SMITH, D. C.; BURTON, A. H.; DICKER, R. C.; SULLIVAN, K. M.; FARGAN, R. F.; ARNER T. G. **Epi Info version 6:04 a word processing database, and statistics program for public health on IBM – compatible microcomputer**. Atlanta, Georgia, 1995.

DESMONTS, G.; COUVREUR, J. Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. **Bulletin of New York Academy of Medicine**, v.50, p.146-156, 1974.

DESMONTS, G.; NAOT, Y.; REMINGTON, J. S. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases: diagnosis of acute congenital and acquired *Toxoplasma* infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v.14, p.486-491, 1981.

DIAS, R. A. F.; NAVARRO, I. T.; RUFFOLO, B. B.; BUGNI, F. M.; CASTRO, M.V.; FREIRE, R. L. *Toxoplasma gondii* in fresh pork sausage and seroprevalence in butchers from factories in Londrina, Paraná State, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, p. 185-189, 2005.

DUARTE, G.; PASCHOINI, M. C.; MARTINEZ, R.; RAMOS, D. M.; TURCO, F. Soroprevalência para toxoplasmose em puérperas do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo. 48º Congresso Brasileiro de Ginecologia e Obstetrícia, 1999, Goiânia. In: **Anais do...**, Goiânia: 1999, [Tema Livre número 126, apresentação oral].

DUBEY, J.P.; MURREL, K. D.; FAYER, R. Persistence of encysted *T. gondii* in tissues of pigs fed oocysts. **American Journal of Veterinary Research**, v. 45, p. 1941-1943, 1984.

DUBEY, J. P.; BEATTIE, C.P. Toxoplasmosis of animals and man. **Boca Raton, FL: CRC Press.**, p. 220, 1988.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 205, n. 11, p. 1593-1598, 1994.

DUBEY, J.P. Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. **Journal of Parasitology**, v.81, n.3, p.410-415, 1995.

DUBEY, J. P.; LAPPIN, M. R.; THULLIEZ, P. Long term antibody responses of cats fed *Toxoplasma gondii* tissue cysts. **Journal of Parasitology**, v. 81, n. 6, p. 887-893, 1995.

DUBEY, J. P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, v. 64, p. 65-70, 1996.

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **Clinical Microbiology Reviews**, v.11, n.2, p. 267-299, 1998.

DUBEY, J. P. Sources of *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. Until rates of congenital toxoplasmosis fall, control measures are essential. **British Medical Journal**, v.321, p. 127-128, 2000.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis-a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUBEY, J. P.; SUNDAR. N.; GENNARI, S. M.; MINERVINO, A H. H.; FARIAS, N. A. da R.; RUAS, J. L.; SANTOS, T. R. B.; CAVALCANTE, G. T.; KWOK, O. C. H.; SU, C. Biologic and genetic comparison of *Toxoplasma gondii* isolates in free-range chickens from the northern Para state and the southern state Rio Grande do Sul, Brazil revealed highly diverse and distinct parasite populations. **Veterinary Parasitology**, v.143, p.182-188, 2007.

EVENGARD, B.; PETERSSON, K.; ENGMAN, M. L.; WIKLUND, S.; IVARSSON, S. A.; TEAR-FAHNEHJELM, K. Low incidence of *Toxoplasma* infection during pregnancy and in newborns in Sweden. **Epidemiology and Infection**, v.127, p.121-127, 2001.

ERTUG, S.; OKYAY, P.; TURKMEN, M.; YUKSEL, H. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. **BioMed Central Public Health**, v.5, p.66-76, 2005.

FARIAS, N. A. R Toxoplasmose: Realidade e Preconceitos. **Revista Acadêmica de Medicina Veterinária** [da] Universidade Federal de Pelotas, v.1, n.2, fev.,2002.

FIALHO, C. G.; ARAÚJO, F. A. P. Comparison between Indirect immunofluorescence and Indirect Haemagglutination techniques for the detection of antibodies against. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.30, n.3, p.185-189, 2002.

FIGUEIRÓ-FILHO, A. E.; LOPES, A. H. A.; ALMEIDA, F. R. S.; SOUZA JÚNIOR, V. G.; BOTELHO, C. A.; FIGUEIREDO, M. S.; DUARTE, G. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.27, n.8, 2005.

FOULON, W.; NAESSENS, A.; VOLCKAERT, M.; LAUWERS, S.; AMY, J. J. Congenital toxoplasmosis: a prospective survey in Brussels. **British Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.91, p.419-23, 1984.

FOULON, W. Congenital toxoplasmosis: is screening desirable? **Journal of Infectious Diseases**, n. 84, p. 11-17, 1992.

FOULON, W.; NAESSENS, A.; DERDE, M. P. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. **American Journal of Perinatology**, v.11, p.57-62, 1994.

FOULON, W.; PINON, J. M.; STRAY-PEDERSEN, B.; POLLAK, A.; LAPPALAINEN, M.; DECOSTER, A. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: a multicenter evaluation of different diagnostic parameters. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, n.181, p.843-847, 1999.

FOULON, W.; NAESSENS, A.; HO-YEN, D. Prevention of congenital toxoplasmosis. **Journal Perinatal Medicine**, v.28, n.5, p.333-345, 2000.

FREIJ, B. J.; SEVER, J. L. Toxoplasmosis. **Pediatric Case Reviews**, v.12, p. 227-236, 1991.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. K.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. **Science**, v.167, p. 893-896, 1970.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. v. 2, p. 1310-1325.

Fundação Nacional de Saúde-FUNASA Boletim Eletrônico Epidemiológico p.01-03, 2002. Disponível em: < <http://www.funasa.com.br> > Acesso em: 15 jan. 2007.

GALLEGO-MARIN, C.; HENAO, A. C.; GOMEZ-MARIN, J. E. Clinical validation of a western blot assay for congenital toxoplasmosis and newborn screening in a hospital in Armênia(Quindío) Colombia. **Journal of Tropical Pediatrics**, v.52, n.2, p.107-12, 2006.

GILBERT, R. E. ; TOOKEY, P. A.; CUBITT, W. D.; ADES, A. E.; MASTERS, J.; PECKHAM, C. S. Prevalence of *Toxoplasma* IgG among pregnant women in west London according to country of birth and ethnic group. **British Medical Journal**, v. 306, p.185, 1993.

GILBERT, R.E.; STANFORD, M.R. Is ocular toxoplasmosis caused by prenatal or post natal infection? **British Journal of Ophthalmology**, v.84, p.224-6, 2000.

GROVER, C. M.; THULLIEZ, P.; REMINGTON, J. S.; BOOTHROYD, J. C. Rapid prenatal diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n.10, p. 2297-2301, 1990.

GUEDES, A. L. L. **Contribuição ao estudo da toxoplasmose congênita num hospital de referência na cidade do Rio de Janeiro**. 2003. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas e Parasitárias)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

GUERINA, N. G.; HSU, H. W.; MEISSNER, H. C.; MAGUIRE, J. H.; LYNFIELD, R.; STECHENBERG, B. Neonatal Serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection: The New England Regional *Toxoplasma* Working Group. **New England Journal of Medicine**, v.330, p.1858-1863, 1994.

HASSL, A.; TUMA, W. Toxoplasmosis diagnosis in pregnant women infected with human immunodeficiency virus I. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v.14, p.1016-1017, 1995.

HOFGARTNER, W. T.; SWANZY, S. R.; BACINA, R. M.; CONDON, J.; GUPTA, M.; MATLOCK, P.E. Detection of immunoglobulin G (IgG) and IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: evaluation of four commercial immunoassay systems. **Journal of Clinical Microbiology**, v.35, p.3313-3315, 1997.

HOHLFELD, P.; DAFFOS, F.; THULLIEZ, P.; AUFRANT, C.; COUVREUR, J.; MAC-ALEESE, J. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. **Journal of Pediatrics**, v.115, p.765-769, 1989.

HOHLFELD, P.; DAFFOS, F.; COSTA, J. M.; THULLIEZ, P.; FORESTIER, F.; VIDAUD, M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase chain reaction test on amniotic fluid. **New England Journal of Medicine**, v.331, p. 695-699, 1994.

HOLLIMAN, R. E. The diagnosis of toxoplasmosis. Serodiagnosis and immunotherapy in infectious disease. **New England Journal of Medicine**, v.4, p.83-93, 1990.

HOVANEC, D. B.; CERVANTES, C.; GERSTENECKER, B.; SOLL, H. J.; JANITSCHKE, J.; SHAMI, A. S. Detection of *Toxoplasma gondii*-Specific IgG by Immulite. Atlanta. Poster 11386, **American Society for Microbiology**, May, 1998.

HO-YEN, D. O. Epidemiology of toxoplasmosis. **Archives of Pediatrics**, v.10, p.03-04, 2003.

HUTCHINSON, W. M. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. **Nature**, v.206, p.961-962, 1965.

INAGAKI, A. D. M. **Toxoplasmose e gravidez**. 1997. Dissertação (Mestrado em Medicina)-Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

ISRAELKI, D. M.; REMINGTON, J. S.; DANNEMANN, B. R.; LEOUNG, G.S ; MCGRAW, T.; MILLS, J. *Toxoplasma* serology, parasitemia and antigenemia in patients at risk for toxoplasmic encephalitis. **AIDS**; v. 5, p.1363-1365, 1991.

JANKÜ, J. Pathogenes a patologická anatomie taknazvaného vrozeného kolobomu žluté skvrny v oku normálně velikém a mikrophthalmickém s nálezem parazitu v sítnici. **Casopis Lékárů Ceských**, v. 62, p.1021-1027, 1054-1059, 1081-1085, 1111-1115, 1138-1144, 1923.

JAUREGUI, L. H.; HIGGINS, J.; ZARLENGA, D.; DUBEY, J. P.; LUNNEY, J.K. Development of a real-time PCR assay for detection of *Toxoplasma gondii* in pig and mouse tissues. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, p. 2065-2071, 2001.

JEFFREY, J. L.; LOPEZ, A.; WILSON, M.; SCHULKIN, J.; GIBBS, R. Congenital toxoplasmosis: a review. **Obstetrics and Gynecology**, v.56, p.296-300, 2001.

JENUM, P. A.; KAPPERUD, G.; STRAY-PEDERSEN, B.; MELBY, K. K.; ESKILD, A.; ENG., J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. **Epidemiology and. Infection**, v.120, p.87-92, 1998.

JONES, J. L.; KRUSZON-MORAN, D.; MCQUILLAN, G.; NAVIN, T.; MCAULEY, J. B. *Toxoplasma gondii* in the United States: Soroprevalence and risk factores. **American Journal of Epidemiology**, v.154, n.4, p.357-365, 2001.

JONES, J. L.; LOPEZ, A.; WILSON, M.; SCHULKIN, J.; GIBBS, R. Congenital toxoplasmosis: a review. **Obstetrics and Gynecology**, n.56, p.296-305, 2001.

JONES, J. L; OGUNMODEDE, F.; SCHEFTEL, J.; KIRKLAND, E.; LOPEZ, A.; SCHULKIN, J.; LYNFIELD, R. Toxoplasmosis-related knowledge and practices among pregnant women in the United States. **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, n. 11, p. 139-145, 2003.

JOYNSON, D. H.; PAYNE, R. A.; RAWAL, B. K. Potencial role of IgG avidity for diagnosing toxoplasmosis. **Journal of Clinical Pathology**, n. 43, p. 1032-1033, 1990.

JUMAIAN, N. F. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnant women in Jordan. **Eastern Mediterranean Health Journal**, vol. 11, n. 1/2, 2005.

KAPPERUD, G.; JENUM, P. A.; STRAY-PEDERSEN, B.; MELBY, K. K.; ESKILD, A.; Eng., J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: results of a prospective case-control study in Norway. **Obstetrics and Gynecology**, n. 52, p.158-159, 1997.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves D. P. **Parasitologia Humana**. 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2002; p. 147-156.

KODJIKIAN, L.; WALLON, M.; FLEURY, J.; DENIS, P.; BINQUET, C.; PEYRON, F.; GARWEG, J. G. Ocular manifestations in congenital toxoplasmosis. **Archives of Ophthalmology**, v.244, n.1, p.14-21, 2006.

KOPPE, J. G.; LOWER, S. D. H.; ROEVER, B. H. Results of 20-year follow up of congenital toxoplasmosis. **Lancet**, p.254-256, 1986.

KOSKI, V. H. Evaluation of ELISA for the detection of *Toxoplasma* antibodies in swine sera. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.31, p.413-422, 1990.

KIJLSTRA, A.; EISSEN, O. A.; CORNELISSEN, J.; MUNNIKSMA, K.; EIJCK, I.; KORTBEEK, T. *Toxoplasma gondii* infection in animal-friendly pig production systems. **Investigative Ophthalmology and Visual Science**, v.45, p.3165-3169, 2004.

KRAVETZ, J. D.; FEDERMAN, D. G. Toxoplasmosis in pregnancy. **American Journal of Medicine**, n.118, v.3, p.212-216, 2005.

LANGER, B.; CANEVA, M. P.; SCHLAEDER, G. Routine prenatal care in Europe: the comparative experience of nine departments of gynecology and obstetrics in eight different countries. **European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology**, v.85, p.191-198, 1999.

LAPPALAINEN, M.; KOSKELA, P.; KOSKINIEMI, M.; AMMALA, P.; HIILEMAA, V.; TERAMO, K. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. **Journal of Infectious Diseases**, v.167, p. 691-697, 1993.

LEÃO, P. R. D.; MEIRELLES-FILHO, J.; MEDEIROS, S. F. Toxoplasmose: soroprevalência em puérperas atendidas pelo Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 26, n.8, 2004.

LEBECH, M.; JOYNSON, D. H.; SEITZ, H. M.; THULLIEZ, P.; GILBERT, R. E.; DUTTON, G. N.; OVLISEN, B.; PETERSEN, E. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, v.15, p.799-805, 1996.

LEBECH, M.; ANDERSEN, O.; CHRISTENSEN, N. C.; HERTEL, J.; NIELSEN, H. E.; PEITERSEN, B. Feasibility of neonatal screening for *Toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. **Lancet**, v.353, p.1834-1837, 1999.

LESER, P. G.; SMEGE, M.; OKAYAMA, N. S.; TATANI, T.; GRANATO, C. F. H.; CAMARGO, E. A. Utilização do teste de avidéz de IgG para auxiliar a interpretação das reações sorológicas para a toxoplasmose com IgM positiva. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Fetal**, v.5, p.6-20, 2000.

LESER, P. G.; ROCHA, L. S. A.; MOURA, M. E. G.; FERREIRA, A. W. Comparison of semi-automatized assays for anti-*T. gondii* IgG detection in low reactivity serum samples: importance of the results in patients counseling. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, n.39, p.107-110, 2003.

LIESENFELD, O.; MONTOYA, J. G.; TATHINENI, N. J.; DAVIS, M.; BROWN, B. W.; COBB, K. L. Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma* immunoglobulin antibody titers. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, n.184, p.140-145, 2001a.

LIESENFELD, O.; MONTOYA, J. G.; KINNEY, S.; PRESS, C.; REMINGTON, J. S. Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women: experience in a US reference laboratory. **Journal of Infectious Diseases**, v.183, p.1248-1253, 2001b.

LOGAR, J.; PETROVEC, M.; NOVAK-ANTOLIC, Z.; PREMUR-SRSEN, T.; CIZMAN, M.; ARNEZ, M.; KRAUT, A. Prevention of congenital toxoplasmosis in Slovenia by serological screening of pregnant women. **Scandinavian Journal Infectious Diseases**, v.34, p.201-214, 2002.

LÓPEZ-CASTILLO, C. A.; DIAZ-RAMÍREZ, J.; GÓMEZ-MARIN, J.E. Factores de riesgo en mujeres embarazadas, infectadas por *Toxoplasma gondii* en Armenia-Colombia. **Revista de Salud Pública**, v.7, p.180-190, 2005.

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. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, n.5, p. 1912-1916, 2001.

Manual de Instruções de Uso do Fluocon-IgM produzido pela WAMA Diagnóstica, São Carlos (SP)-Brasil, 2005.

Manual de Instruções de Uso do IMUNO-CON produzido pela WAMA Diagnóstica, São Carlos (SP)-Brasil, 2005.

Manual de Instruções de Uso do Sistema IMMULITE Toxo IgG e IgM, produzido por Diagnostic Products Corporation Corporate Offices, Los Angeles, 2005.

MARTINS, C. S.; VIANA, J. A. Toxoplasmose - o que todo profissional de saúde deve saber – Revisão. **Revista Clínica Veterinária**, n.15, p.33-37, 1998.

MATSUI, D. Prevention, diagnosis and treatment of fetal toxoplasmosis. **Clinics in Perinatology**, v.21, p.675-689, 1994.

MEIRELES, L. R. **Estudos das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do Estado de São Paulo**. 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências)- Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

MONTOYA, J. G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, v.185, p. 573-582, 2002.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O.; KINNEY, S.; PRESS, C.; REMINGTON, J. S. Vidas Test for avidity of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, p.2504-2508, 2002.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **Lancet.**, v. 363, p. 1965-1976, 2004.

MOZZATO, L.; PROCIANOY, R. S. Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil a prospective study. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**, v.45, n.3, p.147-151, 2003.

NAESSENS, A.; JENUN, P. A.; POLLAK, A.; DECOSTER, A.; LAPPALAINEN, A.; VILENA, I. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period: a multicenter evaluation. **Journal of Pediatrics**, v.135, n.6, p. 714-719, 1999.

NAOT, Y.; REMINGTON, J. S. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, v.142, p.757-766, 1980.

NICOLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une infection a corps de leishman (ou organismes voisins) du gondi. **Comptes Rendus de Academie des Sciences**, v.147, p. 763-766, 1908.

NEVES, J. M.; NASCIMENTO, L. B.; RAMOS, J. G. L.; MARTINS-COSTA, S. H. Toxoplasmose na gestação. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.16, n.6, p.197-202, 1994.

NÓBREGA, M. C.; 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. **Revista Brasileira Médica (Caderno de Ginecologia e Obstetrícia)**, n.56, p.23-29, 1999.

OLIVEIRA-BAHIA, L. M. G.; ABREU, A. M. W.; AZEVEDO-SILVA, J., ORÉFICE, F. Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. **International Journal for Parasitology**, v.31, p.115-144, 2001.

OLIVEIRA-BAHIA, L. M. G; JONES, J. L.; SILVA, J. A.; ALVES, C. C. F.; ORÉFICE, F.; ADDISS, D. G. Highly Endemic, Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. **Emerging Infectious Diseases Journal**, v. 19, n.1, 2003.

OLIVEIRA, B. C. **Toxoplasmose: Perfil Sorológico durante a Gravidez e Repercussões Neonatais em Maternidade Pública de Referência na cidade de Belém do Pará.** 2002. Dissertação (Mestrado em Medicina)-Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

PAUL, M.; PETERSEN, E.; PAWLOWSKI, Z. S.; ZBIGNIEW, S.; SZCZAPA, J. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in the Poznan region of Poland by analysis of *Toxoplasma gondii* specific IgM antibodies eluted from paper blood spots. **Pediatric Infectious Diseases Journal**, v.19, p.30-36, 2000.

PAUL, M.; PETERSEN, E.; SZCZAPA, J. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznań region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. **Journal of Clinical Microbiology**, v.39, p.1912-1916, 2001.

PEDREIRA, D. A. L. **Contribuição ao estudo da toxoplasmose congênita**. 1995. 78f. Dissertação (Mestrado em Obstetrícia)-Faculdade de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

PEDREIRA, D. A. L.; CAMARGO, M. E.; LESER, P. G. Toxoplasmosis: will the time ever come? Ultrasound. **Obstetrics and Gynecology**, n.17, p.459-463, 2001.

PELLOUX, H.; GUY, E.; ANGELICI, M. C.; ASPOCK, H.; BESSIERES, M. H.; BLATZ, R.; DEL PEZZO, M.; GIRAULT, V.; GRATZL, R.; HOLBERG-PETERSEN, M.; JOHNSON, J.; KRUGER, D.; LAPPALAINEN, M.; NAESSENS, A.; OLSSON, M. A second European collaborative study on polimerase chain reation for *Toxoplasma gondii*, including 15 teams. **FEMS Microbiology Letters**, v.165, n.2, p. 231-237, 1998.

PELLOUX, H.; FRICKER-HIDALGO, H.; PONS, J. C.; BOST-BRU, C.; BRENIER-PINCHART, M. P.; JOUK, P. S. Toxoplasmose congénitale:prévention chez la femme enceinte et prise en charge du nouveau-né. **Archives of Pediatrics**, n.9, p.206-212, 2002.

PELLOUX, H. Diagnostic biologique prenatal de la toxoplasmose congénitale: intérêt et limites. **Archives of Pediatrics**; v.10, n.1, p.33-34, 2003.

PEREIRA, I. C. **Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em suínos e características epidemiológicas de estabelecimentos de criação industrial e artesanal da região de Pelotas-RS**. 2005. Dissertação (Mestrado em Veterinária)-Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

PEYRON, F.; WALLON, M.; LIOU, C.; GARNER, P. Treatments for toxoplasmosis in pregnancy. **Cochrane Database System Review**, v.2, CD001684, 2000.

PETERSSON, K.; STRAY-PEDERSEN, B.; MALM, G.; FORSGREN, M.; EVENGARD, B. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in Sweden. **Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica**, v.79, p.824-829, 2000.

PINKERTON, H.; WEINMAN, D. Toxoplasmosis infection in man. **Archives of Pathology**; v.30, p. 374- 392, 1940.

PINTO, A. D. M. **Toxoplasmose e gravidez**. 1998. 80p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)- Faculdade de Enfermagem, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo.

PUJOL-RIQUÉ, M.; QUINTÓ, L.; DANÉS, C.; VALLS, M. E.; COLL, O.; JIMÉNEZ, DE ANTA M. T. Datación de IgM anti-*Toxoplasma* en el embarazo com métodos VIDAS-ELFA. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología**, v.18, p.274-278, 2000.

QUEIROZ-ANDRADE, G. M.; CARVALHO, A. L.; CARVALHO, I. R.; MELLO, B. F.; TIBÚRCIO, F. R.; CASTRO, F.C. Toxoplasmose na gestante e no recém-nascido. Estudo de 86 pares de mãe-filho atendidos no período de 1996-99 no ambulatório de Infectologia Pediátrica do HCUFMG. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.11, p.202-207, 2001.

REIS, M. M.; TESSARO, M. M.; D'AZEVEDO, P. A. Aidez de IgM e IgG de *Toxoplasma* em amostras de áreas com alta taxa de infecção pode determinar risco de transmissão materno-fetal. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.48, n.2, 2006.

REITER-OWONA, I.; PETERSEN, E.; JOYNSON, D.; ASPÖCK, H.; DARDÉ, M. L.; DISKO, R.; DREAZEN, O.; DUMON, H.; GRILLO, R.; GROSS, U.; HAYDE, M.; HOLLIMAN, R.; HO-YEN, D. O.; JANITSCHKE, K.; JENUM, P. A.; NASER, K.; OLSZEWSKI, M.; THULLIEZ, P.; SEITZ, H. M. The past and present role of the Sabin-Feldman dye test in the serodiagnosis of toxoplasmosis. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 77, n. 11, p. 929-935, 1999.

REMYINGTON, J. S.; CAVANAUGH, E. N. Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. **New England Journal of Medicine**, v. 273, p. 1308-1310, 1965.

REMYINGTON, J. S.; McLEOD, R.; THULLIEZ, P.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: REMINGTON, J. S.; KLEIN, J. O. **Infectious diseases of the fetus and newborn infant**. 5 ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p.205-346.

RICCI, M.; PENTIMALLI, H.; THALLER, R.; RAVA, L.; DI-CIOMMO, V. Screening and prevention of congenital toxoplasmosis: an effectiveness study in a population with a high infection rate. **Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine**, v.14, p.398-403, 2003.

REY, L. *Toxoplasma gondii* e Toxoplasmose. **Parasitologia**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991, 274p.

ROBERT, J. A. D.; HISKE, D. H.; JORIEN, K. D. H.; FER, V. Antenatal Screening for Hepatitis B and Antibodies to *Toxoplasma gondii* and Rubella virus: Evaluation of two commercial immunoassay systems. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.8, n.4, p. 785-787, 2001.

RORMAN, E.; ZAMIR, C. S.; RILKIS, I.; BEN-DAVID, H. Congenital toxoplasmosis prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. **Reproductive Toxicology**, v. 21, n.4, p. 458-472, 2006.

SABIN, A. B.; FELDMAN, H. A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v.108, p. 660-663, 1948.

SÁFADI, M. A. P.; FARHAT, C. K. Toxoplasmose. In: FARHAT, C. K., CARVALHO, E. S.; CARVALHO, L. H. F. R.; SUCCI, R. C. M. **Infectologia pediátrica**. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1999. p. 612-619.

SÁFADI, M. A. P. Toxoplasmose. **Pediatria Moderna**. v. 36, p.9-19, 2000.

SÁFADI, M. A. P.; BEREZIN, E. N.; FARHAT, C. K.; CARVALHO, E. S. Clinical presentation and follow up of children with congenital toxoplasmosis in Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, n. 7, p.325-331, 2003.

SANTANA, R. M.; ANDRADE, F. M.; MORON, A. F. Infecções TORCH e gravidez. In: PRADO, F. C.; RAMOS, J.; RIBEIRO, V. J. **Atualização Terapêutica**. 21 ed. São Paulo: Artes Médicas, 2003. p. 1111-1112.

SEMA, E.; PINAR, O.; MUNEVVER, T.; HASAN, Y. Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma* infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. **BioMed Central Public Health**, v.5, p.66, 2005.

SCHMIDT, M. I; DUNCAN, B.B. Epidemiologia clínica e a medicina embasada em evidências. In: ROUQUAYROL, M.Z.; ALMEIDA-FILHO, N. **Epidemiologia e saúde**. 5 ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999. p.183-206.

SCHMIDT, D. R.; HOGH, B.; ANDERSEN, O.; FUCHS, J.; FLEDELIUS, H.; PETERSEN, E. The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark results from the initial four years, 1999-2002. **Archives of Disease in Childhood**, v.91, n.8, p. 629-631, 2006.

SEGUNDO, G. R. S.; SILVA, D. A. O.; MINEO, J. R.; FERREIRA, M. S. A. Comparative study of congenital toxoplasmosis between public and private hospitals from Uberlândia, MG, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v.99, p.:292-299, 2004.

SILVA, J. C. R.; OGASSAWARA, S.; ADANIA, C. H.; FERREIRA, F.; GENNARI, S. M.; DUBEY, J. P.; FERREIRA-NETO, J. S. Soroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 102, p. 217-224, 2001.

SILVEIRA, C. A. M. In: Toxoplasmose - **Dúvidas e Controvérsias. Avanço no Diagnóstico e Tratamento**. 1 ed. Erechim: Edifapes, 2002. p. 18-97.

SMITH, K. E.; ZIMMERMAN, J. J.; PATTON, S.; BERAN, G. W.; HILL, H. T. The epidemiology of toxoplasmosis on Iowa swine farms with an emphasis on the roles of free-living mammals. **Veterinary Parasitology**, v.42, p.199-211,1992.

SMITH, R. D. **Veterinary Clinical Epidemiology: A problem-Oriented Approach**.2 ed. CCR Press, 1995. 279p.

SOCCOL, V. T.; GUBERT, I. C.; CARZINO, L. C.; MASSUQUETTO, S. C.; SOCCOL, A. C. Prevalência de toxoplasmose em gestantes através da padronização da técnica de ELISA / Toxoplasmosis in pregnancy: serological ELISA evaluation. **Revista Médica do Paraná**, v.61, n.1, p.15-17, 2003.

SPALDING, S. M.; AMENDOEIRA, M. R. R.; KLEIN, C. H.; RIBEIRO, L. C. Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among women in South of Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.2, 2003.

SPLENDRE, A. Un nuovo protozoa parassita de conigli encontrado nelle lesioni anatomiche d'une malattia che ricorda in moltoprinti il kalazar dell'uomo: nota preliminare pel. **Revista da Sociedade Científica de São Paulo**, v. 3, p. 109-112, 1908.

STRAY-PEDERSEN, B.; JENUM, P. Economic evaluation of preventive programs against congenital toxoplasmosis. **Scandinavian Journal Infectious Diseases**, v.84, p. 86-98, 1992.

SUAREZ-ARANDA, F.; GALISTEO, J. R.; A. J.; HIRAMOTO, R. M.; CARDOSO, R. P. A.; MEIRELES, L. R.; MIGUEL, O.; ANDRADE, J. R. The prevalence and avidity of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in pigs from Brazil and Peru. **Veterinary Parasitology**, v. 91, p.23-32, 2000.

TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**; v.30, p.1217-1258, 2000.

THULLIEZ, P. Screening programme for congenital toxoplasmosis in France. **Scandinavian Journal Infectious Diseases**, p.84:43-5, 1992.

THULLIEZ, P. Commentary: Efficacy of prenatal treatment for toxoplasmosis: a possibility that cannot be ruled out. **International Journal of Epidemiology**, v.30, p.1315-1318, 2001.

TSUTSUI, V. S. **Soroepidemiologia e fatores associados à transmissão do *Toxoplasma gondii* em suínos do norte do Paraná. 2000.** Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)- Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

WALLON, M.; LIOU, C.; GARNER, P.; PEYRON, F. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. **British Medical Journal (London)**, v.318, p.1511-1514, 1999.

WALLON, M.; GAUCHERAND, P.; KURDI, M. A.; PEYRON, F. Infection toxoplasmique de début de grossesse: conséquences et conduite à tenir. **Journal de Gynecologie, Obstetrique et Biologie de la Reproduction**, v.31, p.478-484, 2002.

VLASPOLDER, F.; SINGER, P.; SMIT, A.; DIEPERSLOOT, R. J. A. Comparison of Immulite with Vidas for detection of infection in a low-prevalence population of pregnant women in the Netherlands. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.8, n.3, p. 552-555, 2001.

VAZ, A. J.; GUERRA, E. M.; FERRATO, L. C. C.; TOLEDO, L. A. S.; AZEVEDO-NETO, R. S. Sorologia positiva para Sífilis, Toxoplasmose e Doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em Centros de Saúde de área metropolitana, Brasil. **Revista de. Saúde Pública**; v.24, n.5, p. 373-379, 1990.

VARELLA, I. S.; WAGNER, M. B.; DARELA, A. C.; NUNES, L. M.; MÜLLER, R. W. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. **Jornal de Pediatria**, v. 79, p.69-74, 2003.

WILSON, C. B.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmosis. In: FEIGIN, R. D.; CHERRY, J. D. **Textbook of Pediatric Infectious Diseases**. 3 ed. Philadelphia: Saunders, 1992, p.2057-2069.

WILSON, M.; REMINGTON, J. S.; CLAVET, C.; VARNEY, G.; PRESS, C.; WARE, D. Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii*: the FDA Toxoplasmosis ad hoc Working Group. **Journal Clinical Microbiology**; v.35, p.3112-3115, 1997.

WOLF, A.; COWEN, D. Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalytozoon (encephantozic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. **Bulletin Neurology Instituto.**, v.6, p. 306-371, 1937.

WOLF, A.; COWEN, D.; PAIGE, B. H. Toxoplasmic encephalitis III. A new case of granulomatous encephalomyelitis due to a protozoan. **American Journal of Pathology**, v. 15, p. 657-694, 1939.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Biology of *Toxoplasma gondii*. **AIDS**, v. 7, n. 3, p.299-316, 1993.

WONG, S. Y.; REMINGTON, J. S. Toxoplasmosis in pregnancy. **Clinical Infectious. Diseases**, v.18, p.853-862, 1994.

APÊNDICES

APÊNDICE A**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE, APÓS ESCLARECIMENTO.**

Você está sendo convidada para participar da pesquisa realizada pela mestranda em Parasitologia, pela Universidade Federal de Pelotas, Farmacêutica-Bioquímica, Beatris González Cademartori, sobre “Toxoplasmose: Perfil Sorológico em Gestantes dos Postos de Saúde do Município de Pelotas-Rs”.

O objetivo deste estudo é mostrar a importância da realização de exames pré-natais para toxoplasmose na rede pública a fim de evitar o nascimento de crianças com toxoplasmose congênita e, quando diagnosticada na gestação a possibilidade de tratamento, diminuindo as seqüelas para o feto. Avaliar associações de soropositividade com fatores de risco à infecção toxoplásmica através do preenchimento de um questionário epidemiológico respondido pela gestante. Esta pesquisa está sendo realizada sob a orientação do Prof. Dr Claudiomar Brod e co-orientação da Prof. Dr^a Nara Amélia da Rosa Farias.

Você poderá ter todas as informações que quiser e sua participação será voluntária e poderá interrompê-la a qualquer momento, sem prejuízo no seu atendimento. Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro. Terá a segurança de não ser identificada e que serão mantidos todos os preceitos éticos e legais após o término do trabalho.

Pelotas,...../...../.....

Assinatura do voluntário

Assinatura do pesquisador

Assinatura do orientador

Telefone do pesquisador: (53)3278-3724

APÊNDICE B
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO

IDENTIFICAÇÃO		CODIFICAÇÃO
NUM _____		QNUM: _____
Nome: _____	Idade: _____	Idade: _____
Endereço: _____	Data: _____	Mês: _____
FATORES DE RISCO		
1. Consumo de carne crua: _____	1. Ovino 2. Suíno 3. Bovino 4. Não	CRUA: _____
2. Consumo de carne mal cozida: _____	1. Ovino 2. Suíno 3. Bovino 4. Não	MALCOZ: _____
3. Manuseio de carne crua: _____	1. Sim 2. Não	MANUCA: _____
4. Consumo de vegetais crus: _____	1. Sim 2. Não	VECRU: _____
5. Trabalha com as mãos diretamente no solo? _____	1. Sim 2. Não	SOLOMA: _____
6. Trabalha em: _____	1. Hortas 2. Jardins 3. Lavouras 9. Não se aplica	TRAB: _____
7. Consumo de água não tratada: _____	1. Sim 2. Não	AGUNAO: _____
8. Tem gatos em casa? _____	1. Sim 2. Não	GATCAS: _____
9. Remove as fezes dos gatos? _____	1. Não 2. Sim	FEZGAT: _____
10. Qual o destino? _____	1. Lixo 2. Vaso sanitário 3. Outros 9. Não se aplica	DESFEZ: _____
11. Consumo de leite não pasteurizado: _____	1. Sim 2. Não	LEITNAP: _____
12. Sabe o que é toxoplasmose? _____	1. Não 2. Sim	TOXO: _____
13. Quais as formas de transmissão para o homem? _____	1. Carne crua 2. Verduras 3. Gato 4. Outras 9. Não se aplica	FORTR: _____

APÊNDICE C

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS INSTITUTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

MEDIDAS DE PREVENÇÃO PARA TOXOPLASMOSE

1. Lave bem as mãos antes e após o manuseio de alimentos.



4. Não coma carne crua ou mal cozida.



2. Ao mexer com a terra ou caixa de areia lave bem as mãos ou use luvas.



5. Só beba água filtrada ou fervida.



3. Frutas, verduras e legumes crus devem ser bem lavados.



6. Alimentar os gatos com ração ou carnes bem cozidas.



ANEXOS

ANEXO A

Cálculo do coeficiente Kappa:

	Positivo	Negativo
Positivo	a	b
Negativo	c	d

$$\text{Concordância observada} = \frac{a+d}{a+b+c+d} = \frac{(\text{observação a}) + (\text{observação d})}{a+b+c+d} = \%$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula a} = \frac{(a+b) \times (a+c)}{a+b+c+d} =$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula b} = \frac{(c+d) \times (b+d)}{a+b+c+d} =$$

Probabilidade de concordância completa

$$= \frac{(\text{probabilidade a}) + (\text{probabilidade b})}{a+b+c+d} = \%$$

$$\text{KAPPA} = \frac{\text{Concordância observada} - \text{Probabilidade de concordância completa}}{100\% - \text{Probabilidade de concordância completa}} =$$

Resultados:

0,0 = rara probabilidade de concordância

0,0 - 0,2 = fraca

0,2 - 0,4 = regular

0,4 - 0,6 = moderada

0,6 - 0,8 = substancial

0,8 - 1,0 = concordância quase perfeita entre os testes

+ 1,0 = Concordância perfeita