

Bárbara Araújo Marques

**Comparação entre ensaios imunoenzimáticos realizados em
amostras de sangue seco e soro para triagem pré-natal da
toxoplasmose: estudo de base populacional**

Belo Horizonte

2015

Bárbara Araújo Marques

Comparação entre ensaios imunoenzimáticos realizados em amostras de sangue seco e soro para triagem pré-natal da toxoplasmose: estudo de base populacional

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de Concentração: Saúde da Criança e do Adolescente

Orientadora: Prof^a Gláucia Manzan Queiroz de Andrade

**Belo Horizonte
2015**

Bárbara Araújo Marques

Comparação entre ensaios imunoenzimáticos realizados em amostras de sangue seco e soro para triagem pré-natal da toxoplasmose: estudo de base populacional

Orientadora: Profª Gláucia Manzan Queiroz de Andrade

Instituições envolvidas:

Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais (SES-MG)

Fundação Ezequiel Dias (FUNED)

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG)

Faculdade de Medicina

Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD)

Departamento de Pediatria

Belo Horizonte

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

REITOR

Prof. Jaime Arturo Ramírez

VICE-REITORA

Profa. Sandra Regina Goulart Almeida

PRÓ-REITOR DE PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Rodrigo Antônio de Paiva Duarte

PRÓ-REITORA DE PESQUISA

Prof^a. Adelina Martha dos Reis

DIRETOR DA FACULDADE DE MEDICINA

Prof. Tarcizo Afonso Nunes

VICE-DIRETOR DA FACULDADE DE MEDICINA

Prof. Humberto José Alves

COORDENADORA DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Profa. Sandhi Maria Barreto

SUBCOORDENADORA DO CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO

Profa. Ana Cristina Cortes

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA

Profa. Cláudia Regina Lindgren Alves

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

Prof. Eduardo Araújo Oliveira

SUBCOORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE – SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE

Prof. Jorge Andrade Pinto

Dedico este trabalho...

Aos meus pais, pelo apoio incondicional.

Aos meus irmãos, por tornarem tudo mais leve.

Ao Dedé, pelo incentivo e companheirismo.

À Denise, inspiração para a vida acadêmica.

Agradecimentos

À professora Gláucia Manzan, exemplo de médica e pesquisadora, obrigada pela serenidade e delicadeza em todos os ensinamentos, que foram muito além da ciência. Sinto-me honrada por ter sido sua mestranda.

Às queridas acadêmicas Isabela Marugeiro, Livia Lourenço e Talita Araújo pela ajuda preciosa.

À Mariza Talim, por ter me apresentado para o mundo da pesquisa bibliográfica com tanto carinho e paciência.

Ao Fernando Henrique Pereira, que com tranquilidade e disposição me conduziu pelos caminhos da estatística.

À professora Suzane Pretti, pela grande contribuição ao meu trabalho, obrigada pela disponibilidade e interesse.

Aos colegas do SCT, do Laboratório de Triagem Pré-Natal e da Central de Projetos do NUPAD-UFMG.

À Éricka Carellos, Maria Vitória Mourão e Flávia Alves Campos que trilharam este caminho primeiro, agradeço pelo apoio e incentivo. À Juliana Andrade, querida companheira do mestrado.

“Um modelo é a representação abstrata de um sistema do ponto de vista do criador. Isso ajuda a simular a realidade, a questioná-la e a compreendê-la... a arte diz respeito sobretudo ao ato de se dispor a questionar as coisas. Respostas são obtidas apenas no sentido em que são necessárias para continuar estimulando mais e novas perguntas.”

(Jochen Volz, sobre a Obra Fonte 193, 2007 de Cinthia Marcelle. In: Guia “Do objeto para o mundo” Coleção Inhotim, Palácio das Artes, Centro de Arte Contemporânea e Fotografia. 12 de dezembro de 2014 a 08 de março de 2015).

Lista de figuras

Figura 1	Fluxograma para estimar amostra de gestantes participantes do estudo - expectativa da distribuição dos perfis de resposta dos anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> .	13
Figura 2	Kits Imunoscreen Toxoplasmose -SS IgG e IgM, respectivamente, contendo placas de poliestireno descartáveis recobertas com anticorpos monoclonais anti-imunoglobulina humana, controles e reagentes para a reação ELISA de captura em sangue seco.	20
Figura 3	Sangue seco em papel filtro no picotador automático do Laboratório de Triagem Pré-Natal do NUPAD-UFGM e placa de ELISA abaixo (seta). O picote é depositado numa cavidade de placa específica, em posição determinada pelo esquema de placa gerado a partir da leitura do código de barras de identificação do papel filtro.	21
Figura 4	Placa de ELISA do teste Imunoscreen Toxoplasmose no Laboratório de Triagem Pré-Natal do NUPAD-UFGM durante a reação ELISA de captura: poços da placa contendo picotes de papel filtro com sangue seco eluído com tampão de eluição.	21
Figura 1 (artigo 1)	Diagrama de fluxo da revisão sistemática.	34
Figura 2 (artigo 1)	Países de origem da publicação de 47 estudos realizados entre 1966 e 2014 sobre triagem da toxoplasmose nas gestantes. Em laranja, programas de triagem pré-natal da toxoplasmose compulsórios no período estudado. Em azul, programas não compulsórios.	35
Figura 3 (artigo 1)	Métodos sorológicos mais utilizados para triagem da toxoplasmose nas gestantes em 47 estudos realizados entre 1966 e 2014, de acordo com a década de publicação.	41
Figura 1 (artigo 2)	Fluxograma para estimar amostra de gestantes participantes do estudo - expectativa da distribuição dos perfis de resposta dos anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> .	64

Figura 2 (artigo 2)	Curva ROC (<i>Receiver Operating Characteristic</i>) para IgM e IgG anti- <i>T. gondii</i> realizados em sangue seco (<i>Imunoscreen</i>) comparado com o padrão de referência ELFA-VIDAS realizado em soro em 743 gestantes usuárias do SUS em Minas Gerais, no período de 01 de julho a 31 de dezembro de 2014.	76
--------------------------------	---	-----------

Lista de tabelas e quadros

Tabela 1	Quantidade de kits de coleta a serem enviados por macrorregião.	14
Tabela 2	Unidades de Coleta necessárias para coleta de exames por macrorregião.	15
Tabela 3	Quantidade de amostras a serem triadas por macrorregião.	16
Quadro 1	Interpretação dos resultados do teste “Imunoscreen IgM – SS”.	19
Quadro 2	Interpretação dos resultados do teste “ELFA IgM”.	22
Quadro 3	Interpretação dos resultados do teste “ELFA IgG”.	23
Quadro 4	Interpretação dos resultados do teste avidéz de IgG realizado pela FUNED pela metodologia ELFA.	23
Quadro 5	Interpretação dos resultados do teste de avidéz de IgG realizado pelo laboratório Hermes Pardini por quimioluminescência.	24
Quadro 6	Interpretação do coeficiente de concordância de Kappa	24
Tabela 1 (artigo 1)	Dados sobre os 47 estudos de triagem pré-natal da toxoplasmose em gestantes realizados entre 1966 e 2014.	38
Tabela 2 (artigo 1)	Dados sobre o subgrupo de 17 estudos selecionados na revisão sistemática com programas de triagem de abrangência nacional, estadual ou municipal, que utilizaram teste confirmatório para o diagnóstico da toxoplasmose na gestação e descreveram os resultados de exames de todas as gestantes participantes.	43

Tabela 1 (artigo 2)	Determinação do número de exames a ser realizado em cada macrorregional do estado de Minas Gerais e por Unidade de Coleta, de acordo com a prevalência de infecções agudas para toxoplasmose (gestantes IgM e IgG positivas) encontrada no Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita entre agosto de 2013 e março de 2014.	66
Tabela 2 (artigo 2)	Quantidade de amostras esperadas e as recebidas de sangue seco e soro de gestantes entre 01 de julho e 31 de dezembro de 2014, por macrorregional do estado de Minas Gerais.	71
Tabela 3 (artigo 2)	Determinação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), razão de verossimilhança positiva (RVP), razão de verossimilhança negativa (RVN), coeficiente de concordância de Kappa e Kappa ajustado pela prevalência para o teste Imunoscreen (sangue seco) em comparação com o teste de referência ELFA (soro) em população de gestantes, usuárias do sistema SUS em Minas Gerais, divididas em grupos de acordo com a inclusão ou não dos resultados indeterminados na amostra analisada.	74
Tabela 4 (artigo 2)	Resultados discordantes entre sangue seco e soro para IgM em 15 gestantes do estudo de comparação entre o teste Imunoscreen (sangue seco) com o teste de referência ELFA (soro), em usuárias do sistema SUS em Minas Gerais, entre 01 de julho e 31 de dezembro de 2014.	75

Lista de abreviaturas

CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COEP	Comitê de Ética e Pesquisa
DP	Desvio-padrão
EIA	Enzyme Immunoassay
EUA	Estados Unidos da América
ELFA	Enzyme-Linked Fluorescent Assay
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FUNED	Fundação Ezequiel Dias
H_0	Hipótese nula
H_1	Hipótese alternativa
IC	Intervalo de confiança
IFI	Imunofluorescência indireta
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G

IgM	Imunoglobulina M
ISAGA	Immunosorbent Agglutination Assay
MEIA	Microparticle Enzyme Immunoassay
MG	Minas Gerais
MS	Mato Grosso do Sul
NUPAD	Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação de Cadeia da Polimerase
PCTC	Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita
ROC	<i>Receiver Operating Characteristic</i>
RVN	Razão de verossimilhança negativa
RVP	Razão de verossimilhança positiva
SCT	Setor de Controle do Tratamento
SES	Secretaria Estadual de Saúde
SISPRENATAL	Sistema de Acompanhamento do Programa de Humanização no Pré-Natal e Nascimento
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UBS	Unidade Básica de Saúde
UC	Unidade de Coleta
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
VPP	Valor Preditivo Positivo
VPN	Valor Preditivo Negativo

Resumo geral

INTRODUÇÃO: Há escassez de informações sobre o uso de amostras de sangue capilar para triagem pré-natal da toxoplasmose e sobre a acurácia dos testes de rastreamento em sangue seco. A existência de um programa de triagem pré-natal em Minas Gerais que utiliza sangue seco motivou este estudo. **OBJETIVOS:** Revisar de forma sistemática a evidência científica publicada sobre os métodos sorológicos utilizados em programas de triagem pré-natal da toxoplasmose. Determinar o desempenho do teste *Imunoscreen* (ELISA de captura) em sangue seco para detecção de IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* na gestação em comparação com o teste ELFA-VIDAS em soro, utilizado como método de referência, e avaliar a concordância entre eles. **MÉTODO:** Na primeira parte do estudo, realizou-se uma revisão sistemática da literatura de acordo com recomendações das diretrizes PRISMA e *Cochrane*, com busca nas bases de dados PUBMED e LILACS até 29 de março de 2015. Na segunda parte, realizou-se estudo transversal em gestantes do Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita em Minas Gerais (PCTC-MG) com coleta simultânea de sangue seco e soro entre 01 de julho e 31 de dezembro de 2014. Para elaboração do banco de dados e análise estatística, utilizou-se o *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 18.0. O projeto de pesquisa obteve apoio das Instituições envolvidas, foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG e contou com recursos do CNPq. **RESULTADOS:** Os programas de triagem pré-natal identificados na revisão sistemática empregaram o soro como amostra biológica e citaram, com maior frequência, os testes imunoenzimáticos para IgG e IgM como triagem, sendo o teste de avidéz de IgG o mais utilizado entre os testes confirmatórios. No estudo transversal, foram recebidas 750 amostras. Após

exclusão de 40 amostras (inadequadas ou com longos intervalos de coleta entre papel filtro e soro), restaram 710 gestantes, em que a prevalência da toxoplasmose foi de 45,2%. Para possibilitar avaliação da concordância, foram adicionadas 33 gestantes IgM positivas detectadas pelo PCTC-MG entre 01 de agosto e 31 de dezembro de 2014, sendo analisadas, finalmente, 743 amostras. Encontrou-se moderada concordância entre os testes para IgM (Kappa 60,0%) e muito boa concordância (91,1%) quando o Kappa foi ajustado pela prevalência de IgM. A concordância para IgG foi muito boa (Kappa 81,6%). A especificidade foi alta tanto para IgM (98,4%) quanto para IgG (96,9%) e a sensibilidade para IgG também foi alta (84,0%). A sensibilidade de IgM no teste em estudo foi mais baixa (55,3%). Um novo valor de *cut-off* obtido na curva ROC para IgM resultou em melhor performance do teste. **CONCLUSÃO:** A concordância para IgG entre sangue seco e soro foi muito boa, assim como para IgM após ajuste do Kappa pela prevalência. A menor sensibilidade observada para IgM deve ser melhor avaliada em estudos com maior tamanho de amostra. Ajuste no ponto de corte do teste *Imunoscreen-IgM* pode melhorar a sensibilidade e deve ser avaliado.

Palavras-Chave: Toxoplasmose congênita; Triagem; Cuidado pré-natal; Teste em amostras de sangue seco; Sorologia.

Abstract

INTRODUCTION: There is a shortage of information about the use of capillary blood samples for prenatal screening of toxoplasmosis and about the accuracy of screening tests in dried blood. The existence of a prenatal screening program in Minas Gerais that uses dried blood spot tests motivated this study. **OBJECTIVES:** To review systematically the published scientific evidence on the serological methods used in prenatal screening programs of toxoplasmosis. Determine the performance of Imunoscreen test (capture ELISA) in dried blood for the detection of IgM and IgG anti-Toxoplasma gondii during pregnancy compared with the ELFA-VIDAS test in serum, used as the reference method, and evaluate the correlation between them. **METHODS:** In the first part of the study, we performed a systematic review of the literature according to recommendations of the PRISMA guidelines and Cochrane, with search in PUBMED and LILACS until 29 March, 2015. The second part was a cross-sectional study in pregnant women from the Control Program of Congenital Toxoplasmosis in Minas Gerais (PCTC-MG) with simultaneous collection of dried blood and serum between July 1 and December 31, 2014. For the preparation of the database and statistical analysis was used the software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 18.0. The research project was supported by the institutions involved, was approved by the Ethics Committee of the UFMG and had the CNPq resources. **RESULTS:** Serum was the biological sample used by the prenatal screening programs identified in the systematic review. Enzyme immunoassays for IgG and IgM were the most cited as screening. The IgG avidity test was the most used among the confirmatory tests. In the cross-sectional study, 750 samples were received. After exclusion of 40 samples

(inadequate samples or with long intervals between collection of filter paper and serum), it remained 710 patients, in which the prevalence of toxoplasmosis was 45.2%. To enable evaluation of the agreement between dried blood and serum, were added 33 IgM positive pregnant women detected by PCTC-MG between August 1 and December 31, 2014. There were analyzed, finally, 743 samples. Moderate agreement was found between tests for IgM (Kappa 60.0%) and very good agreement (91.1%) when the Kappa was adjusted by the prevalence of IgM. The agreement for IgG was very good (Kappa 81.6%). Specificity was high for both IgM (98.4%) and IgG (96.9%), and sensitivity of IgG was also high (84.0%). The sensitivity of IgM in the test under study was lower (55.3%). A new value of cut-off obtained from the ROC curve for IgM resulted in better performance of the test. **CONCLUSION:** The agreement for IgG between dried blood and serum was very good, as well as for IgM when Kappa was adjusted for prevalence. The lower sensitivity observed for IgM should be better evaluated in studies with larger sample size. Adjusting the cut-off point of Imunoscreen-IgM test can improve the sensitivity and should be evaluated.

Keywords: Congenital Toxoplasmosis; Screening; Prenatal care; Serology.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
2	JUSTIFICATIVA	7
3	OBJETIVOS	8
4	MÉTODO	9
4.1	Artigo 1: revisão sistemática	9
4.1.1	Delineamento do estudo	9
4.1.2	Definições, variáveis estudadas e critérios de inclusão e exclusão	10
4.2	Artigo 2: estudo transversal	12
4.2.1	Delineamento do estudo	12
4.2.2	Casuística	12
4.2.3	Amostra	12
4.2.4	Local do estudo	13
4.2.5	Critérios de inclusão e exclusão	17
4.3	Procedimento de coleta das amostras	17
4.3.1	Contato com os municípios e unidades básicas de saúde	17
4.3.2	Kits de coleta	17
4.3.3	Procedimento para coleta do sangue venoso, simultaneamente à do sangue por punção digital	18
4.4	Testes laboratoriais utilizados no estudo	19
4.4.1	Teste em estudo, realizado em amostras de sangue seco	19
4.4.2	Teste padrão de referência, realizado em amostras de soro	22

4.4.3	Teste de Avidéz de IgG	23
4.5	Análise estatística	24
4.6	Considerações éticas	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	26
5.1	Artigo 1: Revisão sistemática dos métodos sorológicos utilizados em gestantes nos programas de triagem diagnóstica pré-natal da toxoplasmose	26
5.2	Artigo 2: Comparação entre ensaios imunoenzimáticos realizados em amostras de sangue seco e soro para triagem pré-natal da toxoplasmose: estudo de base populacional	57
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	84
7	ANEXOS	91
	ANEXO A: Lista de Unidades de Coleta (UC) selecionadas para cada macrorregião, quantidade de exames (soro e sangue seco) a serem realizados e UC reservas.	91
	ANEXO B: Informe para referências técnicas do município e da Unidade Básica de Saúde sobre o Projeto de Pesquisa.	105
	ANEXO C: Termos de Consentimento Livre e Esclarecido	108
	ANEXO D: Kappa ajustado pela prevalência	114
	ANEXO E: Termos de aprovação do projeto de pesquisa	117
	ANEXO F: Cópia da ata da defesa	122
	ANEXO G: Folha de aprovação	123

1-Introdução

A toxoplasmose é uma infecção parasitária que afeta cerca de um terço da população mundial (1). A transmissão transplacentária do *Toxoplasma gondii* ocorre quando há primoinfecção durante a gravidez e é causa importante de morbidade e mortalidade, podendo causar aborto, parto prematuro e comprometimento fetal, com desenvolvimento de sequelas motoras, cognitivas, auditivas e visuais na criança com toxoplasmose congênita. Estudo realizado em Minas Gerais utilizando a triagem neonatal para identificação das crianças com toxoplasmose congênita mostrou que a prevalência dessa infecção é alta (um infectado para cada 770 nascidos vivos) e as crianças apresentam elevado comprometimento visual (2).

A infecção pelo *T. gondii* é potencialmente prevenível e o pré-natal é um momento importante para intervenção educativa e diagnóstica para redução dos casos de infecção congênita. Programas de vigilância e controle da toxoplasmose congênita são desenvolvidos há décadas em alguns países ou regiões da Europa, como a França, Áustria, Itália, entre outras. Avaliações recentes têm mostrado redução dos casos de infecção congênita e diminuição do comprometimento das crianças quando as gestantes infectadas são identificadas e tratadas precocemente (3,4). Com base nesses resultados, os pesquisadores recomendam a adoção dessa estratégia para a vigilância e controle da toxoplasmose em países que apresentam elevada prevalência dessa infecção, como a observada no Brasil. Recentemente, têm sido publicados vários estudos mostrando a diversidade das cepas do parasito que circulam no Brasil, com maior patogenicidade em relação às cepas identificadas nos países do hemisfério norte (5,6), e esses achados reforçam a recomendação de programas para o controle da infecção congênita e a busca por alternativas que os tornem factíveis em países com grande extensão

territorial e recursos econômicos limitados.

No Brasil, estima-se a prevalência da toxoplasmose entre 50 e 90%, e em Belo Horizonte em 60% (7). A partir desses dados, estima-se que cerca de 20 a 40% das gestantes apresentam risco de infecção aguda. Esta cursa, geralmente, de forma assintomática, mas o diagnóstico pode ser feito pela determinação da resposta de anticorpos específica contra o parasito. É bem determinado o perfil sorológico para identificação da infecção crônica e aguda (8) e os testes para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* devem ser feitos o mais precocemente possível na gravidez para definir o perfil imunológico da gestante em relação à parasitose, o que permite adoção de condutas específicas para cada grupo.

Existem diversos métodos sorológicos utilizados para testar anticorpos anti-toxoplasma em gestantes. Nas primeiras décadas de triagem, os testes empregavam técnica ora trabalhosa e de alto risco biológico como o teste do corante de Sabin e Feldman que utiliza parasitos vivos, ora metodologias de baixa sensibilidade para imunoglobulina M (IgM) e baixa reprodutibilidade, como os testes de imunofluorescência e de aglutinação. Posteriormente, surgiram os testes imunoenzimáticos automatizados, de alta precisão e reprodutibilidade e o teste de avidéz de imunoglobulina G (IgG) para determinação da época de infecção da gestante quando realizado ainda no primeiro trimestre de gestação, através da detecção de anticorpos com forte ligação ao antígeno, os chamados anticorpos de alta avidéz, produzidos há 3 ou 4 meses (9). Atualmente, a maioria dos laboratórios clínicos utiliza testes imunoenzimáticos para a triagem rotineira de IgM e IgG anti-*T. gondii* (10). Em casos de suspeita de infecção aguda, são utilizados testes confirmatórios de alta especificidade, como o *Immunosorbent Agglutination Assay* (ISAGA) (especificidade 98,4%) (9) e o *Enzyme-Linked*

Fluorescent Assay (ELFA) (especificidade 98,4% para IgG e 90,9% para IgM) (11).

O soro é o material biológico tradicionalmente utilizado para a realização dos testes de detecção de anticorpos anti-*T. gondii*. O sangue colhido por punção digital e transportado seco em papel filtro, doravante chamado sangue seco, é descrito como amostra alternativa para realização dos testes sorológicos em gestantes (12), vantajoso pela coleta menos invasiva do que a punção venosa, baixo custo e a facilidade de transporte. Esta técnica foi descrita em programas de rastreamento brasileiros nos estados de Goiás (13) e Mato Grosso do Sul (MS) (14, 15) que possuem o Programa de Proteção à Gestante, implantado desde 2002-2003, que utiliza sangue seco para rastreamento de diversas doenças de transmissão congênita na gravidez, inclusive a toxoplasmose. Estudo realizado em mais de 30.000 gestantes deste programa em MS, utilizando amostra de sangue seco, encontrou prevalência de toxoplasmose prévia à gestação em 91,6% e concluiu que haveria menos gestantes susceptíveis neste estado e menor ocorrência de infecção congênita (14). Esta prevalência, consideravelmente maior do que as relatadas em outros estudos nacionais (59,8 a 77,1%) (16, 17), foi questionada pela pesquisadora Eliane Amaral em editorial (18), sendo levantada a hipótese de menor acurácia do teste em sangue seco, com possível aumento da taxa de falso-negativo de IgM, menor identificação das gestantes com infecção aguda e, consequentemente, de casos de infecção congênita. Ainda há poucos estudos sobre a acurácia dos testes de triagem na gestante quando se utiliza o sangue seco e há necessidade de trabalhos de comparação das amostras colhidas em papel filtro com o soro.

Cañedo-Solares et al. (19) descreveram 100 amostras pareadas de sangue seco e soro de gestantes selecionadas por conveniência em laboratório, analisadas para IgM anti-*T.gondii* com um teste

imunoenzimático *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) de captura e encontraram 92% de sensibilidade e 100% de especificidade.

Boa-Sorte N. et al. (20) compararam amostras em sangue seco e soro para triagem de diversas doenças de transmissão congênita, inclusive toxoplasmose, em uma população de 692 gestantes na prática clínica, de forma transversal. Encontraram prevalência de IgM de 1,88% (95% CI: 0.6–2.71) e acurácia de 99.7% (95% CI: 98.9–99.9) para diagnóstico da toxoplasmose com o sangue seco em comparação com o soro, porém foi analisada amostra única de cada gestante, sem seguimento longitudinal. Essa incerteza quanto ao desempenho do teste impõe a necessidade de compará-lo com imunoenaios convencionais para o diagnóstico da gestante, tanto para IgM quanto para IgG, de forma prospectiva e considerando os diferentes perfis sorológicos de infecção por *T. gondii*.

Resolução da Secretaria de Estado da Saúde de Minas Gerais (SES-MG) publicada em 20 de Junho de 2012 (21) definiu a realização do diagnóstico laboratorial em Rede da Toxoplasmose Aguda Gestacional e Congênita em gestantes e recém-nascidos do Estado de Minas Gerais. Parceiro da SES-MG na execução do Teste de Triagem Neonatal no Estado de Minas Gerais (Teste do Pezinho), o Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) é o executor dessa triagem diagnóstica no pré-natal desde fevereiro de 2013. A existência de um programa de triagem pré-natal no estado utilizando a coleta de sangue seco para realização dos testes IgM e IgG para toxoplasmose torna esse momento propício para avaliação da concordância entre os testes realizados em sangue seco e soro.

Referências

1. Sensini A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. Clin Microbiol Infect. 2006 Jun;12(6):504-12. PubMed PMID:

16700697. eng.

2. Vasconcelos-Santos DV, Machado Azevedo DO, Campos WR, Orefice F, Queiroz-Andrade GM, Carellos EV, et al. Congenital toxoplasmosis in southeastern Brazil: results of early ophthalmologic examination of a large cohort of neonates. *Ophthalmology*. 2009 Nov;116(11):2199-205 e1. Epub 2009/09/12. eng.
3. Prusa AR, Kasper DC, Olischar M, Husslein P, Pollak A, Hayde M. Evaluation of serological prenatal screening to detect *Toxoplasma gondii* infections in Austria. *Neonatology*. 2013;103(1):27-34. PubMed PMID: 23018152. eng.
4. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, et al. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. *Clin Infect Dis*. 2013 May;56(9):1223-31. Epub 2013/01/31. eng.
5. Carneiro AC, Andrade GM, Costa JG, Pinheiro BV, Vasconcelos-Santos DV, Ferreira AM, et al. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* revealed highly diverse genotypes for isolates from newborns with congenital toxoplasmosis in southeastern Brazil. *J Clin Microbiol*. 2013 Mar;51(3):901-7. PubMed PMID: 23284022. PMCID: 3592078. Epub 2013/01/04. eng.
6. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*. 139. England2012. p. 1375-424.
7. Couto JCF, Avelino MM, Ferreira QTM. Toxoplasmose: Toxoplasmose e gestação. In: Couto LCF, Andrade GM, Tonelli E. *Infecções Perinatais*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
8. Lebech M, Joynton DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, et al. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1996 Oct;15(10):799-805. PubMed PMID: 7493667. Epub 1996/10/01. eng.
9. Flori P, Chene G, Varlet MN, Sung RT. [Toxoplasma gondii serology in pregnant woman: characteristics and pitfalls]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2009 2009 Mar-Apr;67(2):125-33. PubMed PMID: 19297286. fre.
10. Robert-Gangneux F, Darde ML. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Apr;25(2):264-96. PMCID: 3346298. Epub 2012/04/12. eng.
11. Murat JB, Dard C, Fricker Hidalgo H, Darde ML, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. Comparison of the Vidas system and two recent fully automated assays for diagnosis and follow-up of toxoplasmosis in pregnant women and newborns. *Clin Vaccine Immunol*. 2013 Aug;20(8):1203-12. PubMed PMID: 22696530. PMCID: Pmc3754515. Epub 2013/06/07. eng.

12. Knaus BU, Halpick E. [Use of dried blood in the detection of primary Toxoplasma infection in pregnant patients]. *Z Med Lab Diagn.* 1987;28(3):167-9. Epub 1987/01/01. Einsatz von Trockenblut zum Nachweis einer Toxoplasma-Primoinfektion bei Schwangeren. ger.
13. Sartori AL, Minamisava R, Avelino MM, Martins CA. Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011;33(2):93-8.
14. Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Seneforte FRdA, de Souza Júnior VG, Botelho CA, Figueiredo MS, et al. 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. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(8):442-9.
15. Figueiró-Filho EA, Seneforte FRdA, Lopes AHA, de Moraes OO, Souza Júnior VG, Maia TL, et al. Frequência das infecções pelo HIV-1, rubéola, sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples, hepatite B, hepatite C, doença de Chagas e HTLV I/II em gestantes, do Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(2):181-7.
16. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Muller RW. [Seroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women]. *J Pediatr (Rio J).* 2003 Jan-Feb;79(1):69-74. PubMed PMID: 23648982. Epub 2003/09/16.
17. Meirelles Filho J. Toxoplasmose e gravidez. Inquérito sorológico em gestantes e seus recém-nascidos na Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *J Bras Ginec.* 1985;95(9):393-401.
18. Amaral E. Um programa de triagem populacional para toxoplasmose? *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(8):439-41.
19. Cañedo-Solares I, Ortiz-Alegría LB, Figueroa-Damián R, Bustos-Bahena ML, González-Henkel H, Calderón-Segura E, et al. Toxoplasmosis in pregnancy: determination of IgM, IgG and avidity in filter paper-embedded blood. *J Perinatol.* 2009 Oct;29(10):668-72. PubMed PMID: 19554010. eng.
20. Boa-Sorte N, Purificacao A, Amorim T, Assuncao L, Reis A, Galvao-Castro B. Dried blood spot testing for the antenatal screening of HTLV, HIV, syphilis, toxoplasmosis and hepatitis B and C: prevalence, accuracy and operational aspects. *Braz J Infect Dis.* 2014 Nov-Dec;18(6):618-24. Epub 2014/07/16. eng.
21. Secretaria de Estado de Saúde do Governo do Estado de Minas Gerais. Resolução SES nº 3.331, de 20 de junho de 2012. Dispõe sobre a realização de diagnóstico laboratorial da Toxoplasmose Aguda Gestacional e Congênita em gestantes e recém nascidos no Estado de Minas Gerais. In: http://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/resolucao_3331.pdf. Belo Horizonte 2012. p.1-7.

2- Justificativa do estudo

A vigilância e controle da toxoplasmose congênita através da estratégia de triagem pré-natal têm sido recomendados por pesquisadores para ser adotada em países com elevada prevalência da infecção. Nessa triagem pré-natal, busca-se identificar as gestantes em risco para adquirir a infecção aguda (suscetíveis) e aquelas agudamente infectadas, que serão tratadas. Tradicionalmente, são utilizadas amostras de soro para detecção de anticorpos IgM e IgG anti-*T. gondii*. Essa forma clássica de triagem exige infraestrutura do sistema de saúde e apresenta alto custo, considerando-se que vários testes serão repetidos nas gestantes suscetíveis. Na busca de alternativas que tornem possível a implantação de vigilância e controle da toxoplasmose congênita com menor custo, algumas regiões no Brasil têm adotado amostras de sangue seco para realização do rastreamento de gestantes, pois se trata de material biológico fácil de coletar, armazenar e transportar, o que diminui o custo dos programas. Porém, ainda são escassas as informações sobre o uso das amostras de sangue seco para o rastreamento da toxoplasmose em gestantes e sua acurácia. Faz-se necessário avaliar se existe boa concordância entre os resultados de IgM e IgG obtidos em amostras de sangue seco e amostras de soro.

A existência de um programa de triagem pré-natal para diagnóstico da toxoplasmose em gestantes no estado de Minas Gerais que utiliza o sangue seco para realização dos testes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* motivou este estudo de comparação entre ensaios imunoenzimáticos em amostras de sangue capilar e soro, este considerado como método de referência.

3-Objetivos

3.1-Objetivo geral

1. Avaliar a concordância entre dois imunoensaioenzimáticos para determinação de IgM e IgG anti-*T. gondii* na gestação, sendo um o método em estudo realizado em sangue seco (ELISA de captura) e outro, em soro (ELFA-VIDAS), considerado como método de referência.

3.2-Objetivos específicos

1. Determinar a prevalência da toxoplasmose nas gestantes de Minas Gerais.
2. Determinar o desempenho do teste imunoenzimático utilizado para triagem em sangue seco (sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positiva e negativa) quando comparado com o soro.
3. Avaliar a necessidade de definição de novos pontos de corte para os ensaios imunoenzimáticos em sangue seco adaptados para a população de gestantes mineiras.
4. Revisar de forma sistemática a evidência científica publicada sobre os métodos sorológicos utilizados para diagnóstico da toxoplasmose em gestantes nos programas de triagem pré-natal no mundo.

4- Método

4.1- Artigo 1: revisão sistemática

4.1.1- Delineamento do estudo

Trata-se de uma revisão sistemática da literatura para pesquisar os métodos sorológicos empregados em programas de triagem pré-natal da toxoplasmose no mundo e suas características principais. A pesquisa bibliográfica foi realizada em duas bases de dados de acesso gratuito na área da saúde, PUBMED e LILACS, utilizando os descritores: ‘Toxoplasmosis’, ‘Toxoplasmosis, Congenital’, ‘Pregnancy’, ‘Pregnant Women’, ‘Prenatal Care’, ‘Pregnancy Complications, Parasitic’, ‘Serologic Tests’, ‘Triage’, ‘Maternal Serum Screening Tests’ and ‘Serology’, sem restrição de linguagem ou desenho de estudo.

As estratégias de busca bibliográfica utilizadas foram:

LILACS: ((MH: C03.752.250.800 OR Toxoplasmose OR Toxoplasmosis OR MH: C03.752.250.800.445 OR "Toxoplasmosis, Congenital" OR "Toxoplasmosis Congénita" OR "Toxoplasmose Congênita") AND (Gravidez OR Embarazo OR Pregnancy OR Gestantes OR "Mujeres Embarazadas" OR "Pregnant Women" OR "Cuidado Pré-Natal" OR "Atención Prenatal" OR "Prenatal Care" OR "Complicações Parasitárias na Gravidez" OR "Complicaciones Parasitarias del Embarazo" OR "Pregnancy Complications, Parasitic")) AND ("Testes Sorológicos" OR "Pruebas Serológicas" OR "Serologic Tests" OR triagem OR triaje Or triage OR "Testes para Triagem do Soro Materno" OR "Pruebas de Detección del Suero Materno" OR "Maternal Serum Screening Tests" OR Serology OR Serología OR Sorologia OR sorológic\$ OR serológic\$ OR serolog\$)

PUBMED: (((("Toxoplasmosis"[Mesh:NoExp]) OR "Toxoplasmosis, Congenital"[Mesh])) AND
 (((("Pregnancy Complications, Parasitic"[Mesh] OR "Pregnancy"[Mesh]) OR "Pregnant
 Women"[Mesh]) OR "Prenatal Care"[Mesh])) AND (((("Serologic Tests"[Mesh]) OR
 "Serology"[Mesh]) OR "Triage"[Mesh]) OR "Maternal Serum Screening Tests"[Mesh])

((((((("Toxoplasmosis"[Mesh:NoExp]) OR "Toxoplasmosis, Congenital"[Mesh])) AND
 (((("Pregnancy Complications, Parasitic"[Mesh] OR "Pregnancy"[Mesh]) OR "Pregnant
 Women"[Mesh]) OR "Prenatal Care"[Mesh])) AND (((("Serologic Tests"[Mesh]) OR
 "Serology"[Mesh]) OR "Triage"[Mesh]) OR "Maternal Serum Screening Tests"[Mesh]))) OR
 (((((Toxoplasmosis OR "Congenital Toxoplasmosis"[Title/Abstract])) AND (Pregnancy OR
 "Pregnant Women" OR "Prenatal Care"[Title/Abstract]))) AND ((Serology OR Triage OR "Maternal
 Serum Screening Tests" OR "Serologic Tests"[Title/Abstract]))) NOT
 (((("Toxoplasmosis"[Mesh:NoExp]) OR "Toxoplasmosis, Congenital"[Mesh])) AND (((("Pregnancy
 Complications, Parasitic"[Mesh] OR "Pregnancy"[Mesh]) OR "Pregnant Women"[Mesh]) OR
 "Prenatal Care"[Mesh])) AND (((("Serologic Tests"[Mesh]) OR "Serology"[Mesh]) OR
 "Triage"[Mesh]) OR "Maternal Serum Screening Tests"[Mesh]))

A estratégia de pesquisa dos artigos seguiu as recomendações publicadas pelas diretrizes PRISMA para revisões sistemáticas e *Cochrane Collaboration Group*. A busca foi feita até 29 de março de 2015. Foram selecionados artigos que se referissem a programas de triagem sorológica pré-natal da toxoplasmose, com descrição da amostra (sangue seco ou soro) e do teste sorológico utilizado.

4.1.2- Definições, variáveis estudadas e critérios de inclusão e exclusão

Considerou-se como programa de triagem o acompanhamento longitudinal da gestante com realização de um exame sorológico no início da gravidez para detecção de anticorpos anti-*T.gondii* em todas as

mulheres e repetição deste exame em pelo menos uma ocasião durante a gestação, em trimestre diferente da primeira sorologia, naquelas soronegativas. Foram incluídos artigos com informação do número total de gestantes envolvidas na triagem, que descreviam a amostra coletada em serviços de atenção pré-natal (sangue capilar por punção digital ou soro através de punção venosa) e o teste sorológico utilizado na triagem. Os artigos deveriam estar publicados nos idiomas inglês, português, espanhol, francês ou italiano. Os desfechos primários de interesse foram os testes sorológicos utilizados para triagem pré-natal, sua sensibilidade e especificidade, o caráter compulsório ou não do programa de triagem e sua abrangência territorial, o método de classificação das gestantes em relação ao seu estado imunitário ao *T. gondii* (Lebech ou NCCLS) e a periodicidade de repetição da sorologia nas gestantes soronegativas.

Foram excluídos, numa segunda etapa de seleção, os estudos sobre programas de triagem de abrangência hospitalar, com ausência de informação dos resultados dos exames de toda a população estudada (gestantes com infecção crônica ou aguda e as suscetíveis) ou com ausência de confirmação do diagnóstico da toxoplasmose, isto é, não repetição dos testes após duas a quatro semanas ou não utilização de testes de referência. Neste grupo selecionado após aplicação dos critérios de exclusão, foram avaliados os desfechos secundários de interesse: prevalência da infecção por *T. gondii* nas gestantes das diferentes populações estudadas, a taxa de infecção aguda na gravidez, o seguimento dos recém-nascidos destas mães e a taxa de transmissão congênita.

As seguintes variáveis foram registradas: país, ano de publicação, tempo de seguimento das gestantes, abrangência e obrigatoriedade do programa de triagem, tipos de testes sorológicos utilizados nas gestantes para triagem inicial e os confirmatórios, locais de coleta e processamento das amostras de sangue, intervalos de coleta de exames nas soronegativas, idade média das gestantes, sintomas de infecção aguda e drogas utilizadas para seu tratamento, número de gestantes com infecção crônica e

infecção aguda pelo *T. gondii*, época provável da infecção, número de fetos infectados sintomáticos e assintomáticos.

4.2- Artigo 2: estudo transversal

4.2.1- Delineamento do estudo

Estudo transversal de uma amostra populacional de gestantes do Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita (PCTC), implantado em Minas Gerais em fevereiro de 2013 pela Secretaria de Estado da Saúde, em parceria com o NUPAD- UFMG. Foi realizado no período entre 01 de julho e 31 de dezembro de 2014.

4.2.2- Casuística

Gestantes participantes do PCTC, atendidas nos 853 municípios do estado de Minas Gerais. Esta população é constituída de usuárias do Sistema Único de Saúde (SUS), atendidas para assistência pré-natal nas Unidades Básicas de Saúde (UBS).

4.2.3- Amostra

Elegeu-se a população de gestantes do estado como objeto do estudo. Estimou-se o tamanho da amostra em 1000 gestantes, número suficiente para reproduzir a distribuição habitual dos perfis sorológicos observados na prática clínica (Figura 1).

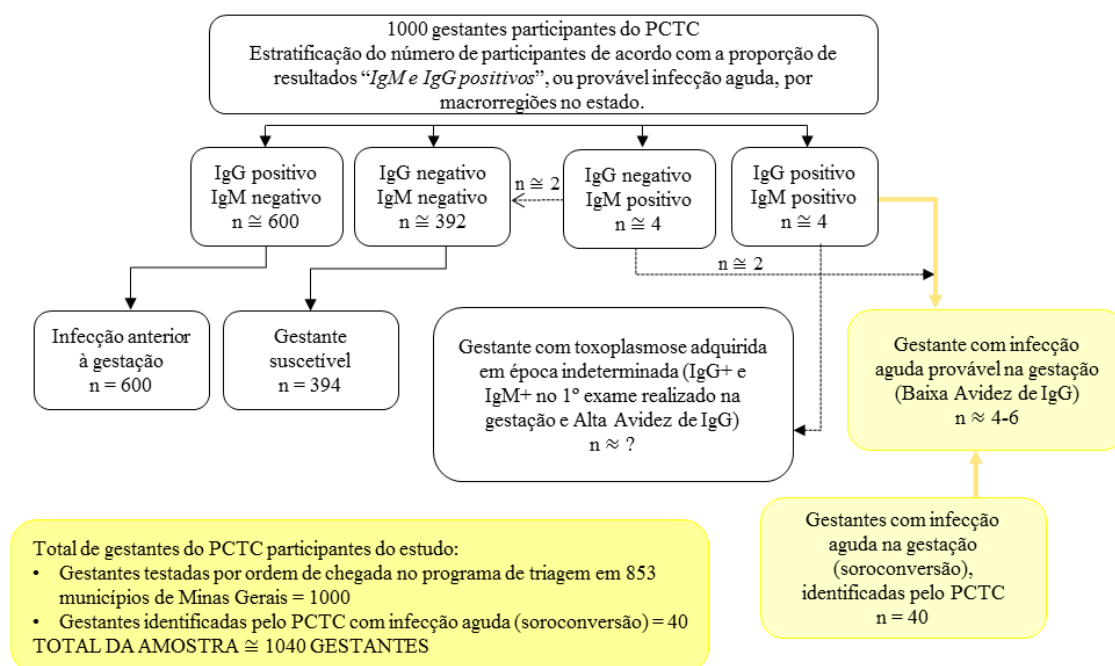


Figura 1: Fluxograma para estimar amostra de gestantes participantes do estudo – expectativa da distribuição dos perfis de resposta dos anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*.

PCTC: Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita de Minas Gerais

Como se estima em 40% o número de gestantes susceptíveis à toxoplasmose e em 1% a taxa de soroconversão na gravidez (COUTO et al. 2006), espera-se encontrar, em um total de 1000 gestantes, aproximadamente 390 susceptíveis e 4-6 com infecção aguda. Para que o número desse último grupo de gestantes fosse suficiente para diluir o viés de baixas frequências esperadas nas tabelas 2x2, optou-se pela inclusão de aproximadamente 40 gestantes com infecção aguda (soroconversão), admitidas no PCTC no mesmo período do estudo. Portanto, consideraram-se dois momentos para obtenção das amostras: 1) inquérito sorológico em gestantes participantes do PCTC; 2) inclusão de gestantes com IgM reagente em sangue seco detectadas pelo PCTC.

4.2.4- Local do estudo

Diante da dificuldade logística de coletar amostras de gestantes nos 853 municípios do estado, procedeu-se à seleção aleatória das UBS em cada uma das 13 macrorregiões de Minas Gerais. Para essa seleção, considerou-se a proporção de resultados “*IgM e IgG positivos*”, ou provável infecção

aguda, nas gestantes participantes do PCTC entre primeiro de agosto de 2013 e 31 de março de 2014. Em cada uma das 13 macrorregiões do estado de Minas Gerais verificou-se o quanto, em proporção, a prevalência de cada macrorregião representava da soma das prevalências das 13 macrorregiões. Assim, dividiram-se os 1000 elementos amostrais (kit soro + papel filtro) de forma proporcional às prevalências de provável infecção aguda das macrorregiões, de modo que em uma macrorregião com maior prevalência haverá uma maior quantidade de pacientes triados do que numa região com menor prevalência (Tabela 1). O número de Unidades de Coleta (UC) cadastrado e a prevalência de IgM e IgG positivos encontrados por macrorregião foi obtido da base de dados do PCTC no NUPAD.

Tabela 1: Quantidade de kits de coleta a serem enviados por macrorregião.

Região	Prevalência	Porcentagem das Prevalências	Kits a serem encaminhados
Jequitinhonha	0,0046768	8,9%	89
Nordeste	0,0027113	5,2%	52
Triângulo do sul	0,0046118	8,8%	88
Norte de Minas	0,0033214	6,4%	64
Leste	0,0047169	9,0%	89
Oeste	0,0029726	5,7%	57
Leste do Sul	0,0048494	9,3%	93
Triângulo do Norte	0,0039531	7,6%	76
Noroeste	0,0044493	8,5%	85
Sul	0,0041427	7,9%	79
Sudeste	0,0041254	7,9%	79
Centro Sul	0,0031725	6,1%	61
Centro	0,0045982	8,8%	88
Total	0,0523014	100,00	1000

Na tabela 2, encontram-se: o total de UC cadastradas e ativas em cada macrorregião; a média mensal de gestantes triadas por UC no período de 01/08/2013 a 31/03/2014 pelo PCTC; a quantidade de UC necessária para realizar a coleta da amostra calculada para o estudo em aproximadamente um mês e a porcentagem de UC necessária em relação ao total de UC presente em cada macrorregião.

Tabela 2: Unidades de Coleta necessárias para coleta de exames por macrorregião.

Região	UC ativas	Média de triagens/mês/UC (Ago/13 a Mar/14)	UC necessárias	% Unidades Necessárias do Total
Jequitinhonha	76	2,60	29	6,0%
Nordeste	207	2,43	26	25,0%
Triângulo do sul	109	2,84	35	47,4%
Norte de Minas	345	3,00	27	15,2%
Leste	184	3,43	38	34,2%
Oeste	269	2,69	22	11,1%
Leste do Sul	114	2,48	19	19,4%
Triângulo do Norte	134	3,78	22	6,7%
Noroeste	102	4,71	22	8,6%
Sul	441	3,37	38	16,4%
Sudeste	238	2,13	24	5,7%
Centro Sul	109	2,43	21	16,4%
Centro	502	3,22	32	30,3%
Total	2830	-	355	12,5%

Na tabela 3, está representada a quantidade de exames de soro e sangue seco a serem realizados em cada uma das UC selecionadas; a quantidade de UC necessárias para se realizar os exames em cada macrorregião e o número total de exames que serão realizados em cada macrorregião. Por questões de arredondamento no número médio mensal de exames realizados por UC, o número total de exames estimados para este estudo foi de 1038.

Tabela 3: Quantidade de amostras a serem triadas por macrorregião.

Macrorregião	Exames a serem realizados por UC	Unidades de Coleta necessárias	Total de exames
Jequitinhonha	3	30	90
Nordeste	2	27	54
Triângulo do sul	3	36	108
Norte de Minas	3	28	84
Leste	2	39	78
Oeste	2	23	46
Leste do Sul	5	20	100
Triângulo do Norte	3	23	69
Noroeste	3	23	69
Sul	2	39	78
Sudeste	3	25	75
Centro Sul	4	22	88
Centro	3	33	99
Total	-	368	1038

As UC dentro de cada macrorregião foram selecionadas de modo proporcional à quantidade média de triagens realizadas ao mês e por UC pelo PCTC durante o mesmo período de 01 de agosto de 2013 a 31 de março de 2014. Esse procedimento é conhecido como Amostragem do tipo P.P.S. (esta sigla vem do inglês: *sampling with probabilities proportional to size*), onde a UC que realizou um número maior de triagens tem uma probabilidade maior de ser sorteada do que uma UC que realiza um número inferior de triagens, para uma mesma macrorregião. Foi selecionada, também, uma quantidade de pelo menos 10% de UC a mais do que a quantidade necessária, para servir como destino dos kits de coleta de soro numa eventual impossibilidade de realização dos exames por alguma UC pré-selecionada. Essas UC foram designadas como reservas.

Assim, cada UC selecionada deverá realizar a quantidade de exames em soro e papel filtro determinada para sua macrorregião (Tabela 3). Os exames em cada UC deverão ser realizados por ordem de chegada das gestantes à unidade. No Anexo A, encontram-se listadas as UC selecionadas para cada macrorregião, bem como a quantidade de exames (soro e papel filtro) a serem realizados. Além disso, estão listadas também as UC reservas.

4.2.5- Critérios de inclusão e exclusão

Foram incluídas gestantes participantes do programa de triagem pré-natal de Minas Gerais que expressaram sua concordância em participar pela assinatura do termo de consentimento após esclarecimento (TCLE). Gestantes que se recusaram a participar do estudo foram excluídas, assim como aquelas cujas amostras foram inadequadas para a realização dos testes.

4.3- Procedimentos de coleta das amostras

4.3.1- Contato com os municípios e unidades básicas de saúde

Realizou-se contato telefônico com a referência técnica de cada UC sorteada para apresentação do estudo e esclarecimentos sobre os procedimentos de coleta de sangue em papel filtro e soro. Deveriam ser incluídas no estudo gestantes na ordem em que chegassem para iniciar o pré-natal, no momento da primeira coleta de sangue. A coleta de soro deveria ser simultânea ao sangue seco ou ocorrer com uma diferença de até 24 horas desta, já que nem todas as unidades de saúde dispõem de laboratório no mesmo local em que funcionam. Também foram contatadas as referências técnicas dos municípios participantes para informações sobre o projeto. Logo após o contato, foi enviado um e-mail para cada referência com o informe sobre o Projeto de Pesquisa (ANEXO B). Foram recebidos telefonemas com dúvidas das unidades participantes através da linha gratuita do Setor de Controle do Tratamento (SCT) do NUPAD durante o período de realização do estudo. Num segundo momento, realizou-se busca ativa das UBS que ainda não haviam enviado todas as amostras planejadas, através de novos telefonemas e contatos eletrônicos.

4.3.2- Kits de coleta

Cada unidade de saúde sorteada recebeu o número de kits de coleta determinado para sua

macrorregião (Tabela 3). Dentro da embalagem, foi enviada uma caixa de isopor com tubo para coleta de soro, gelo reciclável, envelope verde-claro do PCTC com papel filtro, Informe de Esclarecimento sobre a pesquisa (ANEXO B), Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO C) para gestantes menores de 18 anos e seus pais e para gestantes maiores de idade e Instrumento de Habilitação de Postagem dos Correios para o serviço de SEDEX sem custo para o município. O envelope e o papel filtro deveriam ser identificados com etiquetas impressas com código de barras provenientes do NUPAD. O tubo de soro deveria ser identificado com o mesmo código utilizado em ambos acima, sendo rotulado com esparadrapo preenchido com caneta esferográfica contendo nome e código da paciente e data da coleta. O envelope contém campos de identificação de preenchimento obrigatório (nome, data de nascimento, data de coleta da amostra, endereço, telefone, documento de identidade, número do cartão do SUS, SISPRENATAL e Unidade de Saúde) e campos com preenchimento desejável com informações do cartão da gestante (data da última menstruação, idade gestacional, número de gestações anteriores, número sequencial de coleta correspondente à amostra). As amostras deveriam ser encaminhadas para o NUPAD até o dia seguinte da coleta através de postagem nos Correios via SEDEX, conforme rotina do Programa.

4.3.3- Procedimento para coleta do sangue venoso, simultaneamente à do sangue por punção digital

Após esclarecimento sobre o estudo e convite para participar do mesmo, as gestantes assinaram Termo de Consentimento se houvesse concordância. Sangue venoso e sangue seco foram colhidos, respectivamente, através de punção venosa e punção digital, com posterior envio do material ao laboratório de referência do NUPAD em Belo Horizonte. As amostras foram coletadas entre 01 de julho de 2014 e 31 de dezembro de 2014.

O estudo foi cego para os profissionais responsáveis pela realização dos exames sorológicos. Os pesquisadores principais tiveram conhecimento dos resultados dos testes realizados nas duas

amostras, pois necessitaram adotar procedimentos clínicos de interesse do paciente. Todas as UBS foram orientadas a coletar, simultaneamente, os testes em sangue seco e em soro das gestantes para evitar viés de verificação.

4.4- Testes laboratoriais utilizados no estudo

4.4.1- Teste em estudo, realizado em amostras de sangue seco

Foram utilizados testes de imunoensaioenzimático da marca “Imunoscreen” do laboratório “MBiolog Diagnósticos Ltda.” para determinação de anticorpos IgM e IgG específicos anti-*T. gondii* em amostras de sangue seco coletadas em papel filtro. O “Imunoscreen IgM – SS” é um imunoensaio enzimático (ELISA) de captura para determinação qualitativa de anticorpos IgM anti-toxoplasma. Amostras de sangue seco em papel filtro (S&S 903) foram eluídas com o tampão de eluição na microplaca recoberta com anticorpos monoclonais anti-IgM humana. Os anticorpos IgM presentes na amostra eluída foram capturados pelas anti-IgM presentes na placa. Após lavagem, foram detectados pelo antígeno adicionado do *T. gondii* purificado complexado a anticorpos monoclonais específicos marcados com peroxidase. Foi adicionado peróxido de hidrogênio e o complexo capturado na fase sólida produziu um sinal óptico que foi captado em filtro azul 450nm, utilizando o filtro de 620nm como referência. Os resultados foram interpretados de acordo com a absorbância das amostras dividida pelo valor de cut-off (média aritmética dos controles negativos + 0,250): (Referência: bulas dos testes Imunoscreen IgM e IgG).

Quadro 1: Interpretação dos Resultados do teste “Imunoscreen IgM – SS”

IgM	
Negativo	< 0,9
Indeterminado	≥ 0,9 e < 1,1
Positivo	≥ 1,1

Fonte: Bula do teste Imunoscreen Toxoplasmose IgM- SS, MBiolog Diagnósticos Ltda.

O kit não sofre influência de fatores reumatóides e anticorpos anti-nucleares, se presentes na amostra. De acordo com o fabricante, o teste apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 98,1%.

O “Imunoscreen IgG – SS” é um imunoensaio enzimático para determinação quantitativa de anticorpos IgG anti-toxoplasma. Amostras de sangue seco em papel filtro (S&S 903) foram eluídas na microplaca recoberta com antígeno de *T. gondii* purificado. Anticorpos IgG anti-toxoplasma da amostra se ligaram a antígenos da placa, formando um complexo antígeno-anticorpo (Ag-Ac). Após lavagem, foram adicionados anticorpos anti-IgG marcados com peroxidase que se ligam ao complexo Ag-Ac. O complexo capturado na fase sólida foi revelado após adição de peróxido de hidrogênio, produzindo sinal óptico proporcional à quantidade de anticorpos IgG anti-toxoplasma presentes na amostra. Os resultados foram obtidos em UI/ml após interpolação dos valores de absorbância das amostras num gráfico com valores de absorbância dos calibradores (eixo y) contra a concentração correspondente (eixo x). Amostras com concentrações maiores que o calibrador 2 (cut-off), cuja concentração corresponde a 10UI/ml, foram interpretadas como reagentes para anticorpos IgG anti-*T. gondii*. O fabricante informa sensibilidade de 100% e especificidade de 99,1%.



Figura 2: Kits Imunoscreen Toxoplasmose –SS IgG e IgM, respectivamente, contendo placas de poliestireno descartáveis, controles e reagentes para a reação ELISA de captura em sangue seco.



Figura 3: Sangue seco em papel filtro no picotador automático do Laboratório de Triagem Pré-Natal do NUPAD-UFMG e placa de ELISA abaixo (seta). O picote é depositado numa cavidade de placa específica, em posição determinada pelo esquema de placa gerado a partir da leitura de código de barras de identificação do papel filtro.

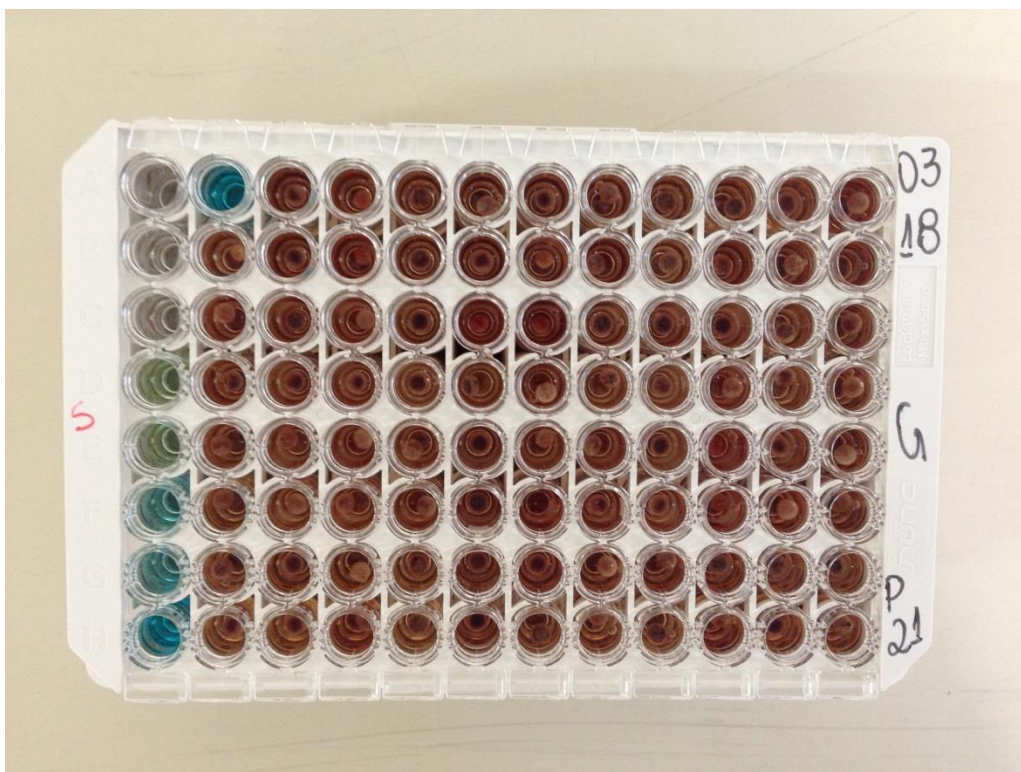


Figura 4: Placa de ELISA do teste Imunoscreen Toxoplasmose no Laboratório de Triagem Pré-Natal do NUPAD-UFMG durante a reação ELISA de captura: poços da placa contendo picotes de papel filtro com

sangue seco eluído com tampão de eluição.

4.4.2- Teste padrão de referência, realizado em amostras de soro

As amostras foram submetidas à pesquisa de anticorpos IgM e IgG para toxoplasmose, pela metodologia ELFA BioMérieux S.A., Lyon, France, utilizando-se o sistema VIDAS, automatizado, no Laboratório de Toxoplasmose da Fundação Ezequiel Dias do Estado de Minas Gerais (FUNED) e no Laboratório Hermes Pardini, em Belo Horizonte. ELFA-IgM é um método automatizado, de grande reprodutibilidade, que elimina as interferências do fator reumatóide. Devido à sua alta sensibilidade, pode detectar níveis baixos de anticorpos por longos períodos após fase aguda (cerca de 18 meses). As imunoglobulinas M são capturadas por anticorpos policlonais presentes na fase sólida do teste. Anticorpos antitoxoplasma (anti-P30) conjugados à fosfatase alcalina ligam-se ao complexo antes formado. A ação da enzima no substrato 4-metil-umbeliferil fosfato gera produto fluorescente, cuja fluorescência é medida em 450nm. O aparelho faz os cálculos automaticamente e libera um índice. O exame é útil para confirmação de IgM positivo em outros ensaios. Apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 98,6% (WILSON et al. 1997).

Quadro 2: Interpretação dos resultados do teste “ELFA IgM”

IgM	
Negativo	< 0,55
Indeterminado	$\geq 0,55 < 0,65$
Positivo	$\geq 0,65$

Fonte: Bula do teste ELFA IgM BioMérieux S.A.

Para pesquisa de anticorpos IgG pelo método ELFA-VIDAS, emprega-se a mesma metodologia, sendo os resultados interpretados conforme tabela 6. Títulos altos não predizem, de forma isolada, infecção recente. Apresenta sensibilidade de 98,1% e especificidade próxima a 100%.

Quadro 3: Interpretação dos resultados do teste “ELFA-IgG”

IgG	
Negativo	< 4,0
Indeterminado	$\geq 4,0 < 8,0$
Positivo	$\geq 8,0$

Fonte: Bula do teste ELFA IgG BioMérieux S.A.

4.4.3- Teste de Avidéz de IgG

É um ensaio imunoenzimático realizado em duplicata, em que uma das reações é tratada com um reagente, comumente uréia 6M, que desestabiliza as ligações iônicas entre anticorpos e antígenos. Estas ligações são fracas na fase aguda da doença, quando os anticorpos IgG ainda são imaturos e observa-se baixa avidéz. Na fase crônica, tem-se elevada avidéz, indicando que os anticorpos foram produzidos há mais de 12 a 16 semanas. Uma relação entre os dois ensaios é calculada e expressa em porcentagem. É um exame indicado para mulheres grávidas, principalmente no primeiro trimestre da gestação, que apresentam IgG e IgM positivos. A detecção de anticorpos de alta avidéz em pacientes com IgM positivo indica infecção adquirida há mais de 4 meses. Para a realização do teste de avidéz de IgG, foi utilizada a metodologia ELFA pela FUNED (Tabela 7), e quimioluminescência pelo Hermes Pardini (Tabela 8).

Quadro 4: Interpretação dos resultados do teste avidéz de IgG realizado pela FUNED pela metodologia ELFA.

Avidéz de IgG ELFA	
Baixa Avidéz	< 0,200
Avidéz Intermediária	$\geq 0,200$ e $\leq 0,300$
Alta Avidéz	> 0,300

Fonte: FUNED.

Quadro 5: Interpretação dos resultados do teste de avidéz de IgG realizado pelo laboratório Hermes Pardini por quimioluminescência.

Avidéz de IgG QUIMIOLUMINESCENCIA	
Baixa Avidéz	< 50%
Avidéz Intermediária	> 50% e < 60%
Alta Avidéz	> 60%

Fonte: Laboratório Hermes Pardini.

4.5- Análise estatística

Para elaboração do banco de dados e análises estatísticas, foi utilizado o software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 18.0. Na análise estatística foram comparados os dois testes (o teste em estudo e o padrão de referência) e calculadas medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positiva e negativa e concordância. Calculou-se também a prevalência da toxoplasmose nas gestantes de Minas Gerais. Utilizou-se o teste qui-quadrado de aderência ou teste de ajustamento para avaliar se a distribuição das amostras recebidas de cada macrorregião se aproximava da distribuição das amostras esperadas quando se realizou a alocação das unidades amostrais obtidas pelo tamanho amostral estabelecido. O coeficiente de concordância de Kappa foi utilizado para avaliar concordância entre os testes em sangue seco e soro (Quadro 6). Foi realizada curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para descrever quantitativamente o desempenho dos testes utilizados em sangue seco (triagem pré-natal) na classificação das gestantes em infectadas e não infectadas pelo *T. gondii*.

Quadro 6: Interpretação do coeficiente de concordância de Kappa

Kappa	Concordância
<0,20	Ruim
0,20- 0,40	Razoável
0,41- 0,60	Moderada
0,61- 0,80	Boa
0,81- 1,00	Muito boa

Fonte: Adaptado de Altman DG, *Practical Statistics for Medical Research*. London: Chapman & Hall; 1991.

4.6-Considerações éticas

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CAAE – 12760813.5.0000.5149). O planejamento das atividades obteve o apoio das Instituições envolvidas. Foi feito contato com as Secretarias Municipais de Saúde e Unidades Básicas de Saúde participantes com a finalidade de apresentação e discussão dos objetivos do trabalho e planejamento das atividades. Os resultados dos exames realizados foram disponibilizados na página virtual do NUPAD, conforme a rotina do PCTC. A participação na pesquisa foi voluntária e não houve compensação financeira por ela, assim como não houve nenhum custo para participar. Garantiu-se a continuidade do acompanhamento e tratamento dos pacientes independente da sua inclusão no estudo. Foi preservado o sigilo dos pacientes participantes da pesquisa.

5- Resultados e Discussão

5.1-Artigo 1

Esse artigo foi submetido ao periódico Revista Médica de Minas Gerais.

**REVISÃO SISTEMÁTICA DOS MÉTODOS SOROLÓGICOS UTILIZADOS EM GESTANTES NOS PROGRAMAS DE TRIAGEM DIAGNÓSTICA PRÉ-NATAL DA TOXOPLASMOSE
(MÉTODOS SOROLÓGICOS UTILIZADOS NA TRIAGEM PRÉ-NATAL DA TOXOPLASMOSE: REVISÃO SISTEMÁTICA)**

Bárbara Araújo Marques¹; Gláucia Manzan Queiroz de Andrade²; Suzane Pretti Figueiredo Neves³; Fernando Henrique Pereira⁴; Mariza Cristina Torres Talim⁵

¹Mestranda do Programa Saúde da Criança e do Adolescente – UFMG ²Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina – UFMG. ³Professora Adjunta do Departamento de Propedêutica Complementar da Faculdade de Medicina da UFMG. ⁴Estatístico do NUPAD e da Faculdade de Medicina da UFMG ⁵Bibliotecária do Campus Saúde da UFMG.

Contato: Bárbara Araújo Marques: Rua Pilar, 170/402, Grajaú, Belo Horizonte, Minas Gerais – Brasil. b.araujomarques@gmail.com

Resumo: Ainda são escassas as informações sobre a melhor estratégia para triagem sorológica da toxoplasmose em gestantes e poucos estudos mencionam o uso de amostras de sangue capilar. Foi realizada uma revisão sistemática da literatura para pesquisar os métodos sorológicos empregados em programas de triagem pré-natal da toxoplasmose no mundo e as características principais destes programas, com busca nas bases de dados PUBMED e LILACS. Foram selecionados artigos que se

referissem a programas de triagem sorológica pré-natal da toxoplasmose, com descrição da amostra (sangue capilar ou soro) e do teste sorológico utilizado. Foram encontrados 1558 artigos na base de dados PUBMED e 245 artigos na LILACS, sendo 58 em duplicata. Foram analisados 47 artigos finais. Os testes sorológicos de triagem citados com maior frequência foram os ensaios imunoenzimáticos para detecção de IgG (19, 40,4%) e IgM (18, 38,3%) e, entre os testes confirmatórios, o mais utilizado foi o teste de avidéz de IgG, (14, 29,8%). Todos os estudos analisados utilizaram amostras de soro para a triagem pré-natal da toxoplasmose. Há necessidade de trabalhos que avaliem testes e diferentes amostras em estudos longitudinais.

Abstract: The best strategy for toxoplasmosis serological screening in pregnant women is not completely defined and few studies mention the use of capillary blood samples. A systematic review of the literature was conducted to investigate the serological methods used in prenatal screening programs of toxoplasmosis in the world and the main features of these programs, with search in PubMed and LILACS databases. We selected articles that described their serological prenatal screening programs, with mention of the sample (capillary blood or serum) and of the serological tests used. We found 1558 articles in PubMed database and 245 articles in LILACS, with 58 duplicates. 47 final articles were analyzed. The serological screening tests most frequently cited were immunoassays for the detection of IgG (19, 40.4%) and IgM (18, 38.3%) and between confirmatory tests, the most used was IgG avidity test (14, 29.8%). All analyzed studies used serum samples for toxoplasmosis prenatal screening. There is need for studies assessing and testing different samples in longitudinal studies.

Introdução: A toxoplasmose congênita ocorre, em sua maioria, na primoinfecção da gestante. Como a maior parte dessas infecções é assintomática e o tratamento da gestante pode diminuir transmissão ou danos para o feto, justifica-se a triagem sorológica pré-natal, recomendada em regiões com elevada prevalência da doença ¹.

Diferentes métodos sorológicos são empregados com o objetivo de diagnosticar o estado imunitário da gestante em relação à infecção pelo *Toxoplasma gondii* durante a gravidez. Através da detecção de anticorpos contra este parasito no sangue materno, busca-se identificar as gestantes previamente infectadas e, para aquelas com provável infecção aguda na gestação, estimar a época em que a infecção foi adquirida.

Os primeiros testes utilizados para este propósito foram o teste de fixação de complemento em 1937 e o teste do corante descrito por Sabin e Feldman em 1948². Este é considerado, até o momento, o padrão de referência contra o qual os outros testes foram comparados e utiliza taquizoítos vivos de *T. gondii*, complemento e corante azul de metileno. Se houver presença de anticorpos, os parasitos são lisados e não incorporarão o corante³. Devido ao risco de infecção laboratorial acidental pelo uso de parasitos vivos, o teste do corante foi substituído por testes padronizados, de alto desempenho, sensibilidade e especificidade, como os ensaios de aglutinação, imunofluorescência indireta (IFI), testes imunoenzimáticos e mais recentemente, os quimioluminescentes.

A hemaglutinação e a aglutinação indireta detectam anticorpos séricos anti-*T. gondii* que reagem com hemácias ou partículas (látex, poliestireno), respectivamente, sensibilizadas com antígenos do parasito e a aglutinação direta consiste na aglutinação de parasitos inteiros na presença de anticorpos anti-toxoplasma. Os testes de aglutinação não exigem o uso de equipamentos, são baratos e rápidos, mas apresentam baixa reprodutibilidade⁴. A IFI utiliza toxoplasmas mortos fixados em lâmina de microscopia e anticorpos anti-imunoglobulinas humanas marcados com fluoresceína. A reação é observada em microscópio de fluorescência e possibilita distinção entre IgM e IgG anti-*T. gondii*⁵. Sua técnica é barata, porém trabalhosa e exige soros de referência para padronização. Por ser pouco sensível, não detecta a chamada IgM residual, que são anticorpos persistentes em títulos baixos por meses após a infecção aguda. A IFI e as reações de aglutinação apresentam resultados quantitativos através da diluição do soro do paciente. As amostras inicialmente reagentes são diluídas

sucessivamente e novamente incubadas com os toxoplasmas fixados nas lâminas. Os resultados são expressos em títulos representados pela maior diluição do soro que ainda apresenta reatividade.

Os imunoenaios enzimáticos, inicialmente representados pelo método de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) detectam várias classes de anticorpos (IgM, IgG, IgA, IgE) e permitem que o soro de vários pacientes sejam examinados de uma só vez. Os testes podem ser automatizados para uso populacional e têm resultados precisos, reproduzíveis e padronizados por leitura de cor em espectrofotômetro. Utilizam extratos, fragmentos ou proteínas recombinantes do parasito fixados em cavidades (poços) de placas de poliestireno para mensuração dos anticorpos com um anti-imunoglobulina humana específica contra o isotipo de interesse (IgG, IgM, etc) marcada com uma enzima. Após adição de substrato específico, sob ação da enzima, há desenvolvimento de cor. São variações da técnica original do ELISA, o ELISA de captura, o MEIA (*Microparticle Enzyme Immunoassay*) e o ELFA (*Enzyme-Linked Fluorescent Assay*), que são mais sensíveis e detectam IgM residual. A quimioluminescência, de alta sensibilidade, detecta anticorpos anti-*T. gondii* através de imunoglobulinas anti-IgG ou anti-IgM marcadas com composto luminescente e também detecta IgM residual. Os resultados destes testes são expressos em UI/ mL para IgG, em relação ao padrão de referência da Organização Mundial de Saúde (OMS). Para IgM, ainda não existe tal padrão e os resultados são expressos em índices (relação entre as densidades ópticas da amostra em um soro de reatividade mínima, limiar entre reagente e não reagente) ⁵.

O ISAGA (*Immunosorbent Agglutination Assay*) é um teste que detecta anticorpos IgM por captura, mas seu resultado é revelado por aglutinação direta de suspensão de organismos inteiros de toxoplasma. É mais sensível do que a IFI e os ensaios imunoenzimáticos para diagnóstico de infecção aguda ³.

O teste de avidéz de IgG é uma importante ferramenta na determinação da época da infecção pelo toxoplasma, quando realizado no primeiro trimestre de gestação. É um ensaio imunoenzimático

realizado em duplicata, em que uma das reações é tratada com um reagente caotrópico, mais comumente uréia 6M, para dissociar anticorpos de baixa avidéz. Uma relação entre os dois ensaios é calculada e expressa em porcentagem. Um exame com alta avidéz indica que os anticorpos foram produzidos há mais de 12 a 16 semanas, o que torna este ensaio um bom marcador para infecções crônicas ^{3,6}.

O rastreamento sorológico para diagnóstico da toxoplasmose na gestante iniciou-se há cerca de quarenta anos. Os primeiros países que a introduziram de forma compulsória foram a Áustria, que desde 1975 realiza vigilância trimestral das gestantes susceptíveis, e a França, que preconiza a sorologia para toxoplasmose em mulheres, desde 1978, como teste pré-nupcial, e desde 1985 no pré-natal, com acompanhamento mensal e gratuito das gestantes soronegativas. Outros três países europeus implantaram programas nacionais de rastreamento antenatal sistemáticos: Itália e Eslovênia desde 1995, com seguimento das gestantes negativas de forma mensal e trimestral, respectivamente, e Lituânia, que preconiza exames no primeiro trimestre de forma universal com repetição da sorologia no terceiro trimestre para a gestante suscetível ⁷. Vários outros países no mundo adotam rotinas para triagem das gestantes, porém não são regidos por uma política nacional regulatória, como Bélgica, Alemanha, Finlândia, Grécia, Argentina e Brasil. Nestes, há diferentes iniciativas locais, com serviços de triagem com abrangência estadual, municipal ou hospitalar.

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda a triagem pré-natal, mas cabe aos municípios decidir por sua realização. Alguns estados contam com programas bem estabelecidos de triagem para as gestantes através do Sistema Único de Saúde. Em Goiás e Mato Grosso do Sul, utilizam-se amostras de sangue capilar (punção digital) conservado em papel filtro para triagem de gestantes desde 2002-2003 como parte do “Programa de Proteção à Gestante”. Em Minas Gerais, a Secretaria de Estado da Saúde implantou em fevereiro de 2013 o “Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita” em parceria com o NUPAD/UFMG ⁸. Foi garantido o acesso universal das gestantes usuárias do sistema

público de saúde, como parte do Programa Mães de Minas, e serão utilizadas amostras de sangue capilar conservado em papel filtro para pesquisa dos anticorpos anti-*T. gondii*.

Ainda são escassas as informações sobre a melhor estratégia a ser adotada para triagem sorológica da toxoplasmose em gestantes e poucos estudos mencionam o uso de amostras de sangue capilar.

Neste estudo, foi realizada uma revisão sistemática para pesquisar os diferentes métodos sorológicos empregados em programas de triagem pré-natal da toxoplasmose no mundo e as características principais destes programas.

Metodologia: A estratégia de pesquisa dos artigos seguiu as recomendações publicadas pelas diretrizes PRISMA para revisões sistemáticas^{9, 10} e Cochrane Collaboration Group¹¹. A busca foi feita até 29 de março de 2015. A pesquisa bibliográfica foi realizada nas bases de dados PUBMED e LILACS utilizando os descritores: ‘Toxoplasmosis’, ‘Toxoplasmosis, Congenital’, ‘Pregnancy’, ‘Pregnant Women’, ‘Prenatal Care’, ‘Pregnancy Complications, Parasitic’, ‘Serologic Tests’, ‘Triage’, ‘Maternal Serum Screening Tests’ and ‘Serology’, sem restrição de linguagem ou desenho de estudo.

Foram lidos títulos e resumos para selecionar artigos que se referissem a programas de triagem sorológica pré-natal da toxoplasmose. Considerou-se como programa de triagem o acompanhamento longitudinal da gestante com realização de um exame sorológico no início da gravidez para detecção de anticorpos anti-*T. gondii* em todas as mulheres e repetição deste exame em pelo menos uma ocasião durante a gestação, em trimestre diferente da primeira sorologia, naquelas soronegativas. Outros critérios utilizados para inclusão foram: a) informação do número total de gestantes envolvidas na triagem; b) descrição da amostra (sangue capilar - punção digital, ou soro - punção venosa) coletada em serviços de atenção pré-natal; c) descrição do teste sorológico utilizado na triagem; d) estar publicado nos idiomas inglês, português, espanhol, francês ou italiano.

Os artigos completos selecionados foram lidos pela pesquisadora principal para confirmar a elegibilidade e para extrair dados. A extração de dados foi realizada pela pesquisadora principal e verificada por um segundo pesquisador. Buscaram-se artigos que respondessem sobre a estratégia diagnóstica adotada no programa de triagem, especificando o teste de triagem adotado. Foram excluídos estudos que se limitavam à determinação da prevalência da toxoplasmose.

Os desfechos primários de interesse foram os testes sorológicos utilizados para triagem pré-natal, sua sensibilidade/especificidade, o caráter compulsório ou não do programa de triagem e sua abrangência territorial, o método de classificação das gestantes em relação ao seu estado imunitário ao *T. gondii* (Lebech ¹² ou NCCLS ³) e a periodicidade de repetição da sorologia nas gestantes soronegativas. Os desfechos secundários de interesse foram a prevalência da infecção por *T. gondii* nas gestantes das diferentes populações estudadas, a taxa de infecção aguda na gravidez, o seguimento dos recém-nascidos destas mães e a taxa de transmissão congênita.

Em seguida, procedeu-se a um refinamento da seleção dos artigos pela utilização de critérios para identificar estudos de abrangência populacional (municipal, estadual ou nacional), com teste confirmatório do diagnóstico de toxoplasmose e com resultados dos perfis sorológicos de todas as gestantes. Portanto, foram excluídos do grupo inicial os artigos que relatavam: a) programas de triagem de abrangência hospitalar; b) ausência de informação dos resultados dos exames de toda a população estudada (gestantes com infecção crônica ou aguda e as suscetíveis); c) ausência de confirmação do diagnóstico da toxoplasmose, isto é, não repetição dos testes após duas a quatro semanas ou não utilização de testes de referência. Os desfechos secundários foram analisados nesse subgrupo de artigos que ofereciam dados completos.

As seguintes variáveis foram registradas: país, ano de publicação, tempo de seguimento das

gestantes, abrangência e obrigatoriedade do programa de triagem, tipos de testes sorológicos utilizados nas gestantes para triagem inicial e os confirmatórios, locais de coleta e processamento das amostras de sangue, intervalos de coleta de exames nas soronegativas, idade média das gestantes, sintomas de infecção aguda e drogas utilizadas para seu tratamento, número de gestantes com infecção crônica e infecção aguda pelo *T. gondii*, época provável da infecção, número de fetos infectados sintomáticos e assintomáticos.

Utilizou-se o software SPSS versão 18.0 para elaboração do banco de dados e análise. Foi utilizada estatística descritiva. O estudo foi aprovado pelo COEP-UFMG.

Resultados: A busca bibliográfica encontrou 1558 artigos na base de dados PUBMED e 245 artigos na LILACS, sendo 58 em duplicata. Cinco trabalhos foram adicionados após recuperação em referências bibliográficas. Após exclusão por análise de títulos e resumos, restaram 137 artigos que se tratavam de provável triagem sorológica da toxoplasmose na gestante (Figura 1). Destes, 26 foram excluídos pelo idioma em que foram publicados (doze alemães, cinco poloneses, três russos, dois húngaros, um dinamarquês, um chinês, um tcheco, um turco), dez por ausência de descrição do teste sorológico utilizado no estudo e 26 por terem acompanhado apenas gestantes com suspeita de infecção aguda por toxoplasmose. Foram, portanto, selecionados 75 estudos para leitura detalhada. Destes, 21 foram excluídos devido a informações incompletas sobre o programa que não permitiram classificá-los como triagem.

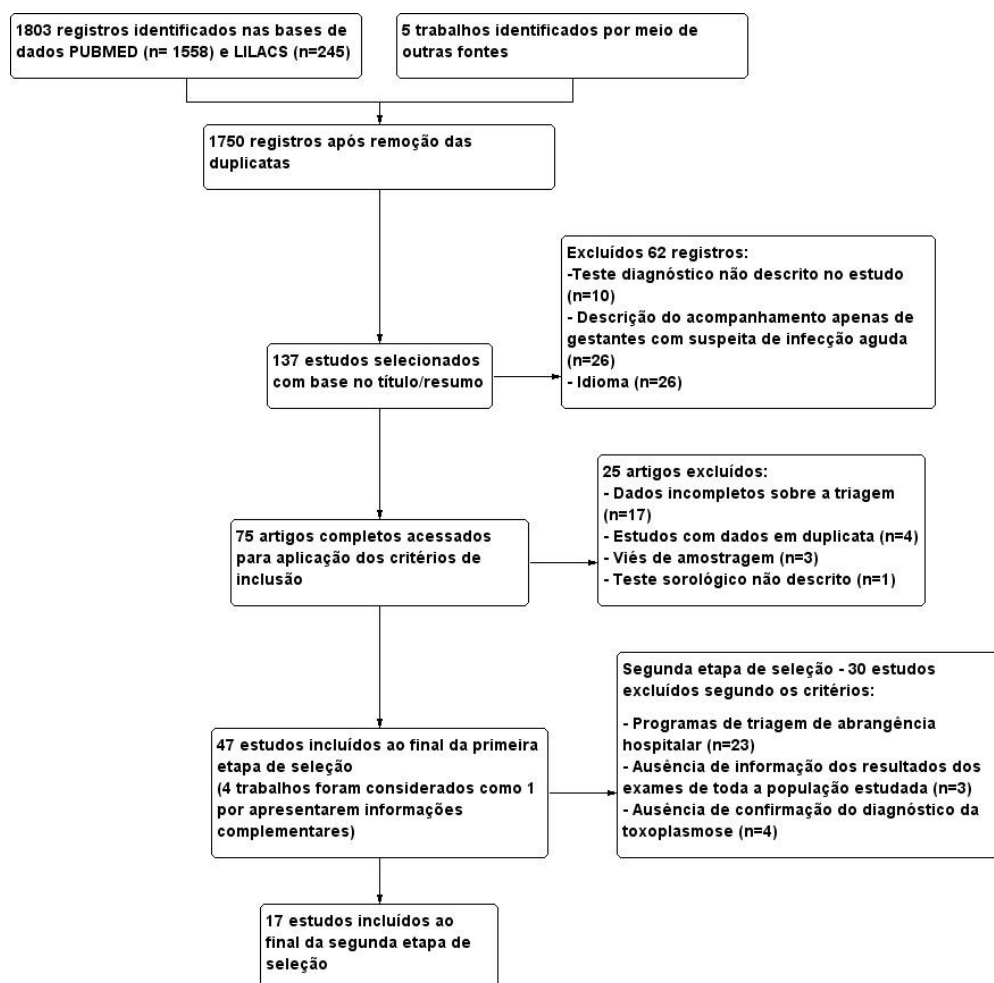


Figura 1: Diagrama de fluxo da revisão sistemática.

Quatro artigos¹³⁻¹⁶ foram excluídos porque houve sobreposição de dados com outros estudos¹⁷⁻²⁰. Outros quatro artigos se referiam à mesma população de gestantes e, por conterem informações complementares, foram considerados como um só estudo²¹⁻²⁴. Em conclusão, restaram 47 artigos para análise após a primeira etapa de seleção¹⁷⁻⁶⁶.

Destes 47, trinta foram excluídos na segunda etapa de seleção, após aplicação dos critérios para identificar estudos com abrangência populacional e realização de confirmação da infecção. Restaram dezessete artigos^{17-19, 21-24, 30, 34-36, 38, 40, 41, 43, 49, 58, 60-62} que foram analisados em relação às características demográficas como prevalência da infecção, número de infecções agudas e taxa de transmissão congênita.

Considerando todos os 47 estudos da primeira etapa de seleção, foram acompanhadas 623.054 gestantes. Os artigos foram publicados entre os anos de 1966 até 2014, em diversos países (Figura 2). O tempo de acompanhamento das gestantes triadas variou entre seis meses³⁶, no mínimo, e 203 meses³² no maior período de seguimento, com uma média de 48,32 meses (DP=7,17, IC95%: 33,85-62,78).



Figura 2: Países de origem da publicação de 47 estudos realizados entre 1966 e 2014 sobre triagem da toxoplasmose nas gestantes. Em laranja, programas de triagem pré-natal da toxoplasmose compulsórios no período estudado. Em azul, programas não compulsórios.

Dez artigos apresentavam programas de triagem de caráter compulsório e entre eles, oito avaliavam programas compulsórios nacionais da Eslovênia, Áustria, França, Itália ou Tunísia^{19, 28, 39, 41, 46, 49, 63, 64}.

O intervalo de coleta de amostras nas gestantes soronegativas foi mencionado por 44 estudos e quase metade deles relatou intervalo trimestral de coleta nas gestantes soronegativas (dezenove estudos; 43,2%). Intervalos mensais de vigilância das gestantes susceptíveis foram citados em sete trabalhos (15,9%), entre os quais se encontravam artigos dos programas de triagem compulsória nacional da

França, Tunísia e Itália^{19, 28, 39, 58}. Esquemas de coleta bimensais foram citados por outros sete estudos (15,9%) e em dois trimestres da gestação, em seis trabalhos (13,6%).

Dos oito artigos que relataram os locais de coleta de amostras sorológicas das gestantes, seis realizaram coletas em unidades de saúde descentralizadas (75%). O local de processamento das amostras foi citado por 23 estudos e foi realizado preferencialmente em laboratórios centrais (vinte estudos, 87%).

O critério de classificação das gestantes de acordo com o perfil sorológico para toxoplasmose foi citado em apenas um estudo⁴³ que utilizou os critérios de Lebech et al¹².

Utilizaram-se diversos testes sorológicos de triagem inicial nos 47 programas estudados, sendo os de maior frequência os imunoenzimáticos para detecção de IgG (ELISA, ELFA, MEIA), citados em dezenove estudos (40,4%). Foram seguidos pelos testes imunoenzimáticos para IgM e pela imunofluorescência indireta (IFI) IgG, citados em dezoito trabalhos cada (38,3%, cada). IFI IgM foi utilizada por doze programas (25,5%), assim como os testes de aglutinação que incluem aglutinação direta, microaglutinação, aglutinação em látex ou hemaglutinação indireta. O teste do corante foi citado em nove trabalhos (19,1%). Em menor parte dos estudos, foram utilizados para triagem o teste de fixação de complemento (três estudos ou 6,4%), reações imunoenzimáticas para detecção de IgA e ISAGA IgM (dois estudos ou 4,3%, cada), e quimioluminescência (um artigo, 2,1%).

Entre os testes confirmatórios, o mais utilizado foi o teste de avidéz de IgG, citado em quatorze estudos (29,8%), todos publicados a partir da década de 1990 e presente em 88,9% (oito entre nove estudos), daqueles publicados a partir de 2010 inclusive (Figura 2). A avidéz de IgG foi seguida por IFI IgM como exame confirmatório em treze estudos (27,7%), imunoensaios enzimáticos para IgM em doze trabalhos (25,5%) e ISAGA IgM em nove (19,1%). Os exames imunoenzimáticos para IgA e o teste do corante foram citados como confirmatórios em oito artigos (17,0%), cada. Os testes de

aglutinação (direta, diferencial HS/AC e/ou indireta) apareceram em cinco estudos (10,6%). Três trabalhos citaram o Western Blot como diagnóstico de certeza na gestante (6,4%), todos com metodologias *in house* não comerciais. Ainda foram descritos o uso de ISAGA IgA e IgE, teste de fixação de complemento (dois estudos cada, 4,3%) e imunoenzimáticos IgG e IgE (um estudo cada; 2,1%).

Nenhum trabalho avaliou a sensibilidade ou especificidade dos testes empregados nos programas de rastreamento.

As informações sobre os métodos sorológicos de rastreamento e confirmação do diagnóstico de toxoplasmose em gestantes citados nos 47 estudos incluídos, assim como tamanho da amostra, tempo de acompanhamento das gestantes e intervalos de coleta nas soronegativas são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Dados sobre os 47 estudos de triagem pré-natal da toxoplasmose em gestantes realizados entre 1966 e 2014.

Autor ^{Ref.} (Ano)	País	Tamanho da amostra	Tempo de seguimento das gestantes (meses)	Métodos sorológicos utilizados para rastreamento de toxoplasmose em gestantes	Métodos sorológicos confirmatórios do diagnóstico da toxoplasmose em gestantes	Intervalo de coleta de amostras nas gestantes soronegativas
Messerer ²⁵ (2014)	Algéria	1.028	47	MEIA IgM e IgG (ABBOTT Diagnostic)	Avidez de IgG (IA, RADIM, Réf. KITGA. Toxoplasmosse EIA. WELL)	Mensal
Capretti MC ²⁶ (2014)	Itália	10.347	36	EIA IgM, IgG e IgA (Enzygnost Toxoplasmosis)	ELFA (Vidas toxo IgM, bioMérieux) Avidez de IgG (Vidas Toxo IgG Avidity, bioMérieux)	Outro
Carral L ²⁷ (2013)	Argentina	12.035	143	Sabin Feldman IgG (in house; não comercial)	ISAGA IgM, IgA, IgE e Avidez de IgG (Vidas Toxo IgG Avidity, bioMérieux), IFI IgM	Trimestral
Abdallah RB ²⁸ (2013)	Tunísia	2.070	47	ELISA IgM e IgG (Platelia Toxo, Biorad)	ISAGA IgM (bioMérieux). Avidez de IgG (Platelia Toxo Avidity, Biorad)	Mensal
Sakikawa M ²⁹ (2012)	Japão	4.466	89	Aglutinação em látex (Toxotest-MT Eiken, Eiken Chemical Co.)	---	Em dois trimestres
Bittencourt LHFB ³⁰ (2012)	Brasil	422	15	ELISA IgM e IgG (DiaPro, Diagnostic Bioprobes) e ELISA de captura IgM e IgG (DiaPro, Diagnostic Bioprobes); MEIA IgM e IgG (ABBOTT Diagnostic)	Avidez de IgG (Vidas Toxo IgG Avidity, bioMérieux)	Trimestral
Deeb HKE ³¹ (2012)	Egito	323	12	ELFA IgM e IgG (Vitek ImmunoDiagnostic Assay Sysm VIDAS Toxo, bioMérieux)	Avidez de IgG (Vidas Toxo IgG Avidity, bioMérieux)	-
Roc ML ³² (2010)	Espanha	47.635	203	ELISA de captura IgG (Axyon Abbott até 2002; Advia Centauro Siemens de 2002-2008)	ISAGA IgM (bioMérieux) e ELISA de captura IgA (Platelia, Pasteur). Avidez de IgG (quimioluminescência, Diasorin).	Trimestral
Noya BA ³³ (2010)	Venezuela	678	12	ELISA IgM e IgG (in house; não comercial)	Avidez de IgG (in house; não comercial)	Outro
Carral L ³⁴ (2008)	Argentina	13.632	11	ELFA IgM e IgG (Vidas toxo, bioMérieux) Quimioluminescência IgM e IgG (DPC Immunolite), ELISA IgM e IgG (AxSYM, Abbott Diagnostics).	Sabin Feldman, ISAGA (in house, não comercial); IFI IgM (bioMérieux), ISAGA IgM, IgA e IgE (in house, não comercial), Avidez de IgG (Vidas Toxo IgG Avidity, bioMérieux)	Trimestral
Ribeiro AC ³⁵ (2008)	Brasil	832	43	ELISA IgM e IgG (Diesse)	Avidez de IgG (WAMA Diagnóstica)	Trimestral
Peña MSR ³⁶ (2006)	Cuba	181	6	IFI IgM e IgG (in house, não comercial)	PCR em sangue materno e líquido amniótico*	Trimestral
Szénási Z ¹⁷ (2005)	Hungria	31.759	167	CFT, ELISA IgM e IgG (Platelia toxo, Bio-Rad)	ELISA IgA (Platelia toxo, Bio-Rad)	Bimestral
Nóbrega OT ³⁷ (2005)	Brasil	2.636	11	ELISA IgM e IgG (in house, não comercial)	ELISA IgM e IgG (in house, não comercial) – repetição dos testes iniciais	Bimestral
Antoniou M ³⁸	Grécia	5.532	71	ELISA IgM, IgG e IgA (Alphadia)	IFA IgM e IgG (Biosna); ISAGA IgM (bioMérieux)	Mensal

(2004)						
Spalding SM ⁴⁰ (2003)	Brasil	2.126	17	IFI IgG (in house, não comercial), ELISA IgM (CAPTIA Toxo, Trinity Biotech).	MEIA IgA (IMx Toxo), Avidex de IgG (MEIA)	Trimestral
Ricci M ³⁹ (2003)	Itália	8.061	59	ELISA IgG (Dia-Sorin), ELISA IgM (Organon Teknika); Aglutinação Direta (bioMérieux)	---	Mensal
Logar J ⁴¹ (2002)	Eslovênia	21.270	47	IFA (in house, não comercial)	ELISA IGM e IgA (Platelia, Bio-Rad); Avidex de IgG (S.p.A. Italiana Laboratori Bouty)	Trimestral
Qublan HS ⁴² (2002)	Jordânia	280	16	IFI IgG e ELISA IgM (In house, não comerciais)	---	Trimestral
Jenum PA ⁴³ (1998)	Noruega	35.940	11	ELISA IGM e IgG (Platelia Toxo, Sanofi Diagnostics Pasteur)	Aglutinação direta para IgG (Toxo Screen DA, bioMérieux); ISAGA IgM (bioMérieux); Sabin Feldman	Trimestral
Rodríguez JC ⁴⁴ (1996)	Espanha	3.580	48	Microaglutinação (bioMérieux); ISAGA IgM (bioMérieux); Sabin Feldman (in house, não comercial). EIA IgM de captura (Enzyngost Toxoplasmosis-Behring; Bioelisa Toxo- Biokit; Captia Toxo- Mercia Diagnostic; ETI-TOXOK – Sorin, Biomedica; CorEIA Toxo – Clone Systems).	EIA IgA (Enzyngost Toxoplasmosis; e técnica in house, não comercial) ELISA de captura IgA (ETI-TOXOK – Sorin, Biomedica; CLONATEC TOXO A Ab EIA – Clone Systems). Avidex de IgG (Menarini diagnostics); Western Blot in house, não comercial.	-
Lappalainen M ²¹⁻²⁴ (1992-1995)	Finlândia	16.733	160	EIA IgG (Toxenz –G Northumbria Biologicals) e ELISA de captura IgM (Toxenz –M Northumbria Biologicals)	EIA IgM e IgG (Labsystems), Western Blot (in house), ISAGA IgM (bioMérieux), EIA IgA (Toxo A Ab EIA Clonatec), Aglutinação Diferencial, ELISA IgE, Avidex de IgG (in house, não comerciais)	Trimestral
Logar J ¹⁸ (1995)	Eslovênia	20.953	23	Sabin Feldman , IFI (in house, não comerciais)	EIA IgM e IgA (Sanofi Diagnostics Pasteur)	Trimestral
González-Morales T ⁴⁵ (1995)	Cuba	5.537	47	ELISA (in house, não comercial)	---	Trimestral
Valcavi PP ⁴⁶ (1995)	Itália	3.602	17	ELISA IgM e IgG (Eti-Toxo, Sorin)	---	Bimestral
Roos T ⁴⁷ (1993)	Alemanha	2.104	18	ISAGA IgM (bioMérieux); Aglutinação direta IgG (Toxo-Screen-direct agglutination test, bioMérieux).	Sabin Feldman, IFI (Toxo-Spot IF, bioMérieux), CFT, ELISA IgM ; Western Blot P30 IgM e IgA	Trimestral
Franklin DM ⁴⁸ (1993)	Israel	213	16	IFI; Sabin Feldman	IgM (não especifica o método)	Em dois trimestres
Aspöck H ⁴⁹ (1992)	Áustria	167.041	127	IFI, Sabin Feldman	IFI IgM, ISAGA IgM, ELISA IgM, CFT, ELISA IgA (não cita laboratório)	Trimestral
Santacruz MM ⁵⁰ (1992)	Colômbia	1.000	47	IFI IgG (in house, não comercial)	---	Bimestral

Molé JR ⁵¹ (1992)	Cuba	2.058	11	IFI (in house, não comercial)	---	Trimestral
Chatterton JMW ⁵² (1989)	Escócia	16.000	47	Sabin Feldman, hemaglutinação, ELISA IgG, IFI IgM (in house, não comerciais)	Sabin Feldman, hemaglutinação, ELISA de captura IgM (Toxonostika, Organon Teknika)	-
Foulon W ²⁰ (1988)	Bélgica	6.549	95	IFI IgM e IgG, hemaglutinação, CFT (não cita laboratório)	Sabin Feldman (não cita laboratório)	Outro
Jeannel D ¹⁹ (1988)	França	3.416	24	IFI IgM e IgG (in house, não comercial)	Aglutinação Direta, ISAGA (não cita laboratório)	Mensal
Sever JL ⁵³ (1988)	EUA	22.845	95	HAI (in house, não comercial)	IFI IgM (ELECTRO-Nucleonics Laboratories e Microbiological Research); ELISA IgM (in house, não comercial)	Bimestral
Billiault X ⁵⁴ (1987)	Gabão	268	.	Aglutinação Direta, IFI IgG e IgM	---	Trimestral
Boveda MIC ⁵⁵ (1986)	Espanha	3.251	48	IFI IgG (não cita laboratório)	IFI IgM, ELISA (não cita laboratório)	Trimestral
Meirelles Filho J ⁵⁶ (1985)	Brasil	131	6	IFI IgM e IgG (in house, não comercial)	IFI IgM e IgG (in house, não comercial)	Mensal
Sáenz RE ⁵⁷ (1984)	Panamá	878	24	IFI, ELISA (não cita laboratório)	---	Em dois trimestres
Lappierre J ⁵⁸ (1983)	França	15.132	71	IFI; Aglutinação Direta (não cita laboratório)	IFI IgM (não cita laboratório)	Mensal
Williams KA ⁵⁹ (1981)	Escócia	10.677	35	CFT, Hemaglutinação (in house, não comercial)	Sabin e Feldman, IFI IgM (in house, não comercial)	Em dois trimestres
Stray-Pedersen B ⁶⁰ (1980)	Noruega	8.043	.	Sabin Feldman, IFI IgG (Dakopatts A/S)	IFI IgM (Dakopatts A/S)	Em dois trimestres
Beach PG ⁶¹ (1979)	EUA	95.929	40	HAI (in house, não comercial)	HAI, IFI, IFI IgM (in house, não comercial)	Em dois trimestres
Viens P ⁶² (1977)	Canadá	4.136	.	IFI (in house, não comercial)	IFI IgM (in house, não comercial)	Outro
Roux C ⁶³ (1976)	França	6.269	23	Sabin e Feldman, IFI IgM (in house, não comercial)	---	Outro
Roux C ⁶⁴ (1975)	França	3.409	11	Sabin e Feldman, IFI IgM (in house, não comercial)	---	Bimestral
Morin P ⁶⁵ (1974)	França	189	6	Aglutinação Direta (in house, não comercial)	Aglutinação Direta para IgM (in house, não comercial)	Bimestral
Terris J ⁶⁶ (1966)	França	1.858	24	Sabin e Feldman	Sabin e Feldman	Trimestral

Ig: imunoglobulina; MEIA: Micro particule Enzyme Immuno Assay; EIA: Enzyme Immuno Assay; ELFA: Enzyme-Linked Fluorescent Assay; ISAGA: Immunosorbent Agglutination Assay; IFI: Imunofluorescência indireta= IFA: Indirect Fluorescent Antibody; CFT: teste de fixação de complemento; HAI: hemaglutinação indireta

* O PCR em líquido amniótico foi considerado como teste confirmatório apesar de não ser teste sorológico.

Considerando-se exames realizados por períodos de tempo divididos em décadas, os testes imunoenzimáticos são citados apenas a partir de 1980. Já os testes de imunofluorescência, quando utilizados para triagem inicial das gestantes, foram citados nos artigos publicados até o ano de 2009, não mais aparecendo nos artigos a partir de 2010 (Figura 3).

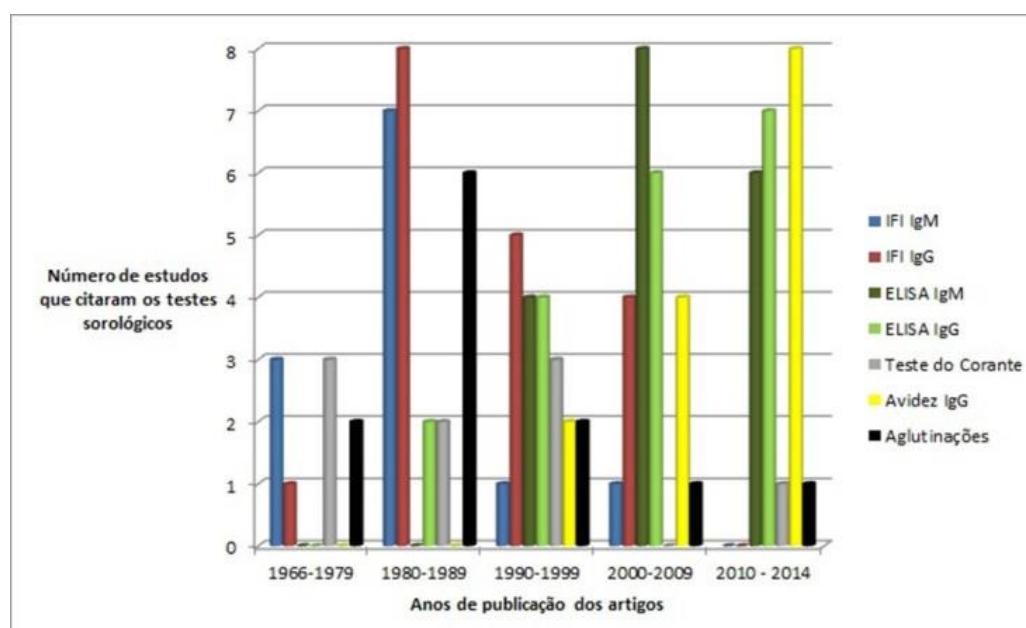


Figura 3: Métodos sorológicos mais utilizados para triagem da toxoplasmose nas gestantes em 47 estudos realizados entre 1966 e 2014, de acordo com a década de publicação.

Todos os estudos analisados utilizaram amostras de soro para a triagem pré-natal da toxoplasmose. Quatro artigos⁶⁷⁻⁷⁰ selecionados com base no título e resumo fizeram o uso de amostras em papel filtro, mas não preencheram os critérios de inclusão da primeira etapa de seleção da revisão sistemática. Todos eram brasileiros e transversais, para determinação da prevalência da toxoplasmose em gestantes. Três se referiam ao Programa de Proteção à Gestante que utiliza testes imunoenzimáticos em amostras eluídas de papel filtro em Mato Grosso do Sul^{67, 68} e em Goiás⁶⁹. Boa-Sorte N et al determinou a acurácia dos testes em papel filtro quando comparados com o soro em amostra única de gestantes em Salvador⁷⁰.

Os dezessete trabalhos identificados a partir do refinamento da seleção dos 47 artigos iniciais foram analisados separadamente em relação aos perfis sorológicos maternos de infecção pelo *T. gondii* e aos aspectos da transmissão vertical da doença. Nestes estudos, houve o acompanhamento de 443.077 gestantes, o que representa 71% da amostra total dos 47 artigos selecionados na revisão sistemática. Nove dos dezessete trabalhos (53%) foram publicados antes do ano 2000.

A idade média das gestantes foi de 26,3 anos (DP 1,32, IC95%: 24,2- 28,4), e a mediana para idade foi de 26,2 anos. A maioria destes estudos (treze) apresentava um programa de rastreamento de abrangência municipal (76,5%). Três trabalhos eram nacionais (17,6%) e um estadual (5,9%).

O teste sorológico mais utilizado para triagem inicial nestes dezessete estudos foi a IFI IgG, citada em mais da metade dos artigos (nove, 52,9%), seguida pelos imunoenaios enzimáticos para IgM, citados em oito estudos (47,1%) e os testes imunoenzimáticos para IgG em sete trabalhos (41,2%), cinco deles publicados após o ano 2000. Quatro programas de triagem utilizaram a IFI IgM (23,5%) e três, o teste do corante (17,6%).

O teste mais citado como confirmatório foi a IFI IgM em oito trabalhos (47,1%), seguida por avidéz de IgG, testes imunoenzimáticos para IgA e ISAGA IgM em seis estudos cada (35,3%).

A taxa de prevalência de toxoplasmose na gestação variou desde 8,1% em Oregon (EUA) ⁶¹, até 75,1%, no Brasil ³⁵. O percentual de infecções agudas entre as gestantes soronegativas oscilou entre 0,0% até 14,2%. No total, foram descritas 156 soroconversões agudas e 64 fetos infectados, dos quais 21 eram sintomáticos (32,8%). Doze destes estudos realizaram seguimento dos recém-nascidos de mães com suspeita de toxoplasmose aguda na gravidez, o que provavelmente permitiu a detecção de 39 recém-nascidos infectados assintomáticos (60,9%). A taxa de transmissão vertical independente da idade gestacional variou entre zero e 33,3%, esta na França ¹⁹.

Na tabela 2, estão compilados os dados sobre o subgrupo dos 17 estudos descritos acima, com

informações sobre testes diagnósticos utilizados, abrangência dos programas de triagem, prevalência da infecção por *T. gondii* nas gestantes, número de infecções agudas e a taxa de transmissão vertical da toxoplasmose.

Tabela 2. Dados sobre o subgrupo de 17 estudos selecionados na revisão sistemática com programas de triagem de abrangência nacional, estadual ou municipal, que utilizaram teste confirmatório para o diagnóstico da toxoplasmose na gestação e descreveram os resultados de exames de todas as gestantes participantes.

Autor ^{Ref.} (Ano)	País	Abrangência do programa de triagem	Número de gestantes imunes à toxoplasmose e prevalência (%)	Número de gestantes com infecção aguda por toxoplasmose na gestação (% em relação às soronegativas)	Número de soroconversões agudas nas gestantes	Taxa TV
Bittencourt LHFB ³⁰ (2012)	Brasil	Municipal	253 (60,0)	0 (0,0)	0	0,0
Carral L ³⁴ (2008)	Argentina	Municipal	6.680 (49,0)	121 (1,7)	-	4,1
Ribeiro AC ³⁵ (2008)	Brasil	Municipal	624 (75,1)	2 (1,0)	1	0,0
Peña MSR ³⁶ (2006)	Cuba	Municipal	80 (44,2)	1 (1,0)	1	-
Szénási Z ¹⁷ (2005)	Hungria	Municipal	18.420 (58,0)	225 (1,7)	20	0,0
Antoniou M ³⁸ (2004)	Grécia	Municipal	1.628 (29,4)	185 (4,7)	6	0,0
Spalding SM ⁴⁰ (2003)	Brasil	Municipal	1.583 (74,5)	77 (14,2)	0	3,9
Logar J ⁴¹ (2002)	Eslovênia	Municipal	7.151 (33,6)	132 (0,9)	-	8,3
Jenum PA ⁴³ (1998)	Noruega	Nacional	3.907 (10,9)	47 (0,2)	17	23,4
Logar J ¹⁸ (1995)	Eslovênia	Nacional	18.420 (45,0)	225 (1,7)	-	-
Lappalainen M ²¹⁻²⁴ (1992-1995)	Finlândia	Municipal	9.430 (20,3)	69 (0,6)	13	9,5
Aspöck H ⁴⁹ (1992)	Áustria	Nacional	70.692 (42,3)	1.136 (1,2)	-	-
Jeannel D ¹⁹ (1988)	França	Municipal	1.200 (35,1)	33 (1,5)	26	33,3
Lappierre J ⁵⁸ (1983)	França	Municipal	8333 (55,0)	81 (1,2)	39	17,3
Stray- Pedersen B ⁶⁰ (1980)	Noruega	Municipal	1038 (12,9)	54 (0,8)	9	7,4
Beach PG ⁶¹ (1979)	EUA	Estadual	7791 (8,1)	-	22	-
Viens P ⁶² (1977)	Canadá	Municipal	1688 (40,8)	52 (2,1)	2	7,7

Discussão:

Os métodos sorológicos mais utilizados para triagem pré-natal da toxoplasmose na gestante foram os testes imunoenzimáticos para IgG e IgM. Estiveram presentes nos estudos publicados a partir da década de 1980 identificados pela revisão sistemática e foram utilizados de forma crescente, sendo a forma de triagem inicial mais citada a partir do ano 2000, como se vê na Figura 3. Os testes da família do ELISA se consagraram desde o seu surgimento devido às características de precisão, reprodutibilidade e automação, permitindo a realização de exames de alta sensibilidade e especificidade em larga escala e de forma padronizada.

Os testes de imunofluorescência para IgM e IgG foram os segundos mais citados, e predominaram nos estudos publicados antes da década de 1990 (Figura 3), assim como os testes de aglutinação, terceiros mais citados entre os 47 estudos de triagem das gestantes para toxoplasmose. Ambos, IFI e aglutinações, foram importantes substitutos do teste do corante, por serem de fácil execução e apresentarem baixo custo e menor risco biológico.

O teste do corante, quarto mais mencionado para diagnóstico pré-natal de toxoplasmose, é considerado até os dias atuais como teste de referência. Provavelmente por este motivo, nunca deixou de ser utilizado, tendo sido citado desde os estudos mais antigos até os mais atuais.

O teste de avidéz de IgG foi empregado pelos estudos publicados a partir de 1990 e apareceu como o teste confirmatório mais utilizado entre todos os programas de triagem da revisão sistemática, principalmente a partir de 2010, inclusive (oito entre nove estudos, 88,9%) (Figura 3). Este teste revolucionou a triagem das gestantes para toxoplasmose por auxiliar na determinação de quadros de infecção recente ou tardia com IgM residual.

Portanto, foi possível notar uma evolução histórica nas técnicas citadas para diagnóstico da toxoplasmose em gestantes ao longo das cinco décadas que a revisão sistemática abrangeu (desde

1966 até 2014, Figura 3), refletindo o aperfeiçoamento tecnológico que ocorreu nos laboratórios para acompanhar os desafios diagnósticos da toxoplasmose em gestantes na prática clínica.

O PCR em líquido amniótico, apesar de não ser teste sorológico, foi considerado como teste confirmatório em um trabalho do grupo dos dezessete artigos com abrangência populacional e resultados completos de todas as gestantes. São conhecidas as limitações deste método como teste de referência por depender da idade gestacional da sua realização para confirmação da infecção por *T. gondii* na gestante e falta de padronização dos primers, mas o mesmo é bastante sensível e, se positivo, confirma o diagnóstico de infecção materna e fetal⁷¹.

Acompanhando uma tendência mundial de propedêutica diagnóstica, pode-se perceber uma tendência de descentralização da atenção à saúde da gestante em relação à toxoplasmose com coletas de amostras biológicas em centros de atenção pré-natal periféricos, mantendo a análise concentrada nos laboratórios de referência.

A maioria dos trabalhos encontrados é proveniente de países do Velho Mundo (Figura 2), onde as infecções se dão por cepas menos virulentas do toxoplasma e causam doença de menor gravidade⁷². No Brasil e em outros países latino-americanos, encontram-se cepas mais patogênicas do parasito⁷³⁻⁷⁵, além de situação socioeconômica menos favorecida e alta prevalência da doença. Justifica-se, nas Américas, a busca por programas de triagem adaptados à sua extensão territorial com grandes regiões em desenvolvimento, onde os testes diagnósticos frequentemente não são realizados. O uso de amostras de sangue seco em papel filtro torna a triagem acessível ao universo da população, pois a coleta não necessita ser realizada por pessoal de laboratório especializado, dispensa o deslocamento da gestante, pode ser conservada na temperatura ambiente e transportada pelo correio, resultando em exames com baixo custo.

Não houve, nesta revisão sistemática, publicações comparando testes utilizados para triagem da

toxoplasmose em amostras de papel filtro e soro. Todos os programas utilizaram amostras em soro e os artigos com programas que utilizam amostras de sangue em papel filtro não preencheram os critérios de inclusão adotados nessa revisão, já que realizaram a comparação pontual entre os dois tipos de amostras e não acompanharam as gestantes de forma longitudinal. Cañedo-Solares fez essa comparação em ambiente controlado de laboratório e observou ótima concordância ⁷⁶ entre os testes (IgG e IgM) realizados nas duas amostras. Boa-Sorte N. et al compararam amostras em sangue seco e soro para triagem de diversas doenças de transmissão congênita em uma população de 692 gestantes na prática clínica, de forma transversal ⁷⁰. Encontraram acurácia de 99.7% (IC95% 98.9–99.9) para diagnóstico da toxoplasmose com o papel-filtro (em comparação com o soro), em amostra única de cada gestante, sem seguimento longitudinal.

Há necessidade de trabalhos que avaliem testes e diferentes amostras em coortes de gestantes para o sucesso dos programas de triagem brasileiros.

O assunto proposto para a revisão sistemática foi ousado e abrangente. Foi necessário criar uma estratégia de busca que restringisse o número de trabalhos sobre o tema para objetivar a pesquisa. Se por um lado estes critérios podem levar a um viés de amostragem por diminuírem o universo pesquisado, eles também permitem a exequibilidade da pesquisa, proporcionando a manipulação dos dados destes artigos finitos.

Apenas um artigo citou o uso da classificação de Lebech et al para definir os perfis imunológicos das gestantes. É desejável a padronização dos perfis sorológicos da toxoplasmose durante a gestação para que estudos de triagem sejam comparáveis de forma fidedigna. Apesar disto, foi possível dividir as gestantes em grupos (infecção passada, infecção aguda e suscetível), de acordo com informações encontradas no corpo dos artigos.

Os trabalhos selecionados apresentam populações e tamanhos de amostras diversos, assim como

diferentes épocas de publicação e pluralidade dos testes diagnósticos, o que pode dificultar a comparação entre os estudos. Porém, a heterogeneidade permitiu uma constatação evolutiva das técnicas sorológicas de triagem para toxoplasmose, utilizadas ao longo dos anos de pesquisas clínicas, com um olhar abrangente entre os diferentes países, com diversas condições econômicas e sociais, o que enriqueceu o estudo.

Referências Bibliográficas:

1. Couto JCF, Avelino MM, Ferreira QTM. Toxoplasmose: Toxoplasmose e gestação. In: Couto LCF, Andrade GM, Tonelli E. Infecções Perinatais. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 445-71.
2. Fulton JD. Micro-agglutination test for toxoplasma antibodies. *Immunology*. 1965;9(5):491-5.
3. Garcia LS, Fritsche TR, Grady KK, Healy GR, McAuley J, Rocha A, et al. Clinical Use and Interpretation of Serologic Tests for *Toxoplasma gondii*; Approved Guideline Wayne, Pennsylvania: NCCLS; 2004. p. 1-23.
4. Murat JB, Hidalgo HF, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. Human toxoplasmosis: which biological diagnostic tests are best suited to which clinical situations? *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(9):943-56.
5. Camargo ME. Toxoplasmose. In: Ferreira AW, Ávila SLM. Diagnóstico laboratorial: avaliação de métodos de diagnóstico das principais doenças infecciosas e parasitárias e auto-imunes. Correlação clínico laboratorial. 2 ed. São Paulo: Guanabara Koogan; 2001. p. 278-88.
6. Couto JCF, Neves SPF. Investigação laboratorial do paciente com infecção pelo *Toxoplasma*

- gondii*. In: Medicina laboratorial para o clínico. Belo Horizonte: COOPMED/UFMG; 2009. p. 639-50.
7. Leroy V, Raeber P-A, Petersen E, Salmi L-R, Kaminski M, Villena I, et al. National public health policies and routine programs to prevent congenital Toxoplasmosis. Panel 3: prevention and screening issues. Bordeaux (France): The Eurotox Group, 2005.
 8. Secretaria de Estado de Saúde do Governo do Estado de Minas Gerais. Resolução SES nº 3.331, de 20 de junho de 2012. Dispõe sobre a realização de diagnóstico laboratorial da Toxoplasmose Aguda Gestacional e Congênita em gestantes e recém nascidos no Estado de Minas Gerais. In: http://www.saude.mg.gov.br/images/documentos/resolucao_3331.pdf. Belo Horizonte 2012. p.1-7.
 9. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gotzsche PC, Ioannidis JP, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. PLoS Med. 2009;6(7):e1000100.
 10. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. PLoS Med. 2009;6(7):e1000097.
 11. Higgins JPT, Green S. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. . COLLABORATION C, editor. Chichester, England 2008.
 12. Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert RE, Dutton GN, et al. Classification system and case definitions of Toxoplasma gondii infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996;15(10):799-805.
 13. Szénási Z, Ozsvár Z, Nagy E, Jeszenszky M, Szabó J, Gellén J, et al. Prevention of congenital toxoplasmosis in Szeged, Hungary. Int J Epidemiol. 1997;26(2):428-35.

14. Logar J, Novak-Antolic Z, Zore A, Cerar V, Likar M. Incidence of congenital toxoplasmosis in the Republic of Slovenia. *Scand J Infect Dis.* 1992;24(1):105-8.
15. Jeannel D, Niel G, Costagliola D, Danis M, Traore BM, Gentilini M. Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in the Paris area. *Int J Epidemiol.* 1988;17(3):595-602.
16. Foulon W, Naessens A, Volckaert M, Lauwers S, Amy JJ. Congenital toxoplasmosis: a prospective survey in Brussels. *Br J Obstet Gynaecol.* 1984;91(5):419-23.
17. Szénási Z, Horváth K, Sárkány E, Melles M. Toxoplasmosis surveillance during pregnancy and quality assurance of methods in Hungary. *Wien Klin Wochenschr.* 2005;117 Suppl 4:29-34.
18. Logar J, Novak-Antolic Z, Zore A. Serological screening for toxoplasmosis in pregnancy in Slovenia. *Scand J Infect Dis.* 1995;27(2):163-4.
19. Jeannel D, Niel G, Danis M, Gentilini M. Sérodiagnostic de la toxoplasmose évolutive en cours de grossesse et de la toxoplasmose congénitale. *Rev Fr Gynecol Obstet.* 1988;83(3):133-6, 9-44.
20. Foulon W, Naessens A, Lauwers S, De Meuter F, Amy JJ. Impact of primary prevention on the incidence of toxoplasmosis during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1988;72(3 Pt 1):363-6.
21. Lappalainen M, Koskela P, Koskiniemi M, Ammälä P, Hiilesmaa V, Teramo K, et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. *J Infect Dis.* 1993;167(3):691-7.
22. Lappalainen M, Koskela P, Hedman K, Teramo K, Ammala P, Hiilesmaa V, et al. Incidence of primary toxoplasma infections during pregnancy in southern Finland: a prospective cohort study. *Scand J Infect Dis.* 1992;24(1):97-104.
23. Lappalainen M, Koskela P, Hedman K, Teramo K, Ammala P, Hiilesmaa V, et al. Screening of

toxoplasmosis during pregnancy. *Isr J Med Sci.* 1994;30(5-6):362-3.

24. Lappalainen M, Koskiniemi M, Hiilesmaa V, Ammala P, Teramo K, Koskela P, et al. Outcome of children after maternal primary *Toxoplasma* infection during pregnancy with emphasis on avidity of specific IgG. The Study Group. *Pediatr Infect Dis J.* 1995;14(5):354-61.

25. Messerer L, Bouzbid S, Gourbdji E, Mansouri R, Bachi F. Seroprevalence de la toxoplasmose chez les femmes enceintes dans la wilaya d'Annaba, Algérie. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 2014;62(2):160-5.

26. Capretti MG, De Angelis M, Tridapalli E, Orlandi A, Marangoni A, Moroni A, et al. Toxoplasmosis in pregnancy in an area with low seroprevalence: is prenatal screening still worthwhile? *Pediatr Infect Dis J.* 2014;33(1):5-10.

27. Carral L, Kaufer F, Olejnik P, Freuler C, Durlach R. Prevencion de la toxoplasmosis congenita en un hospital de Buenos Aires. *Medicina (B Aires).* 2013;73(3):238-42.

28. Ben Abdallah R, Siala E, Bouafsoun A, Maatoug R, Souissi O, Aoun K, et al. Dépistage de la toxoplasmose materno-foetale: etude des cas suivis a l'Institut Pasteur de Tunis (2007-2010). *Bull Soc Pathol Exot.* 2013;106(2):108-12.

29. Sakikawa M, Noda S, Hanaoka M, Nakayama H, Hojo S, Kakinoki S, et al. Anti-*Toxoplasma* antibody prevalence, primary infection rate, and risk factors in a study of toxoplasmosis in 4,466 pregnant women in Japan. *Clin Vaccine Immunol.* 2012;19(3):365-7.

30. Bittencourt LH, Lopes-Mori FM, Mitsuka-Bregano R, Valentim-Zabott M, Freire RL, Pinto SB, et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gestantes a partir da implantação do Programa de Vigilância da Toxoplasmose Adquirida e Congênita em municípios da região oeste do Paraná. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2012;34(2):63-8.

31. El Deeb HK, Salah-Eldin H, Khodeer S, Allah AA. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in antenatal population in Menoufia governorate, Egypt. *Acta Trop*. 2012;124(3):185-91.
32. Roc ML, Palacián MP, Lomba E, Monforte ML, Rebaje V, Revillo Pinilla MJ. Diagnóstico serológico de los casos de toxoplasmosis congénita. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28(8):517-9.
33. Noya BAd, Romero J, Sánchez E, Lugo J, Salinas R, Ortiz L, et al. Depistaje de toxoplasmosis y enfermedad de Chagas en la Consulta Prenatal del Hospital Universitario de Caracas. *Revista de obstetricia e ginecología de Venezuela*. 2010;70(2):75-81.
34. Carral L, Kaufer F, Durlach R, Freuler C, Olejnik P, Nadal M, et al. Estudio multicéntrico para la prevención de la toxoplasmosis prenatal en Buenos Aires. *Medicina (B Aires)*. 2008;68(6):417-22.
35. Ribeiro AC, Mutis MS, Fernandes O. Association of the presence of residual anti-*Toxoplasma gondii* IgM in pregnant women and their respective family groups in Miracema, Northwest Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2008;103(6):591-4.
36. Peña MSR, Rodríguez García D, Ginorio Gavito D, Martínez Sánchez R, Casanova Areas P, Fraga Nodarse J, et al. Primoinfección por *Toxoplasma gondii* durante el embarazo / First infection with *Toxoplasma gondii* during pregnancy. *Revista panamericana de infectología*. 2006;8(3):43-6.
37. Nobrega OT, Karnikowski MG. An estimation of the frequency of gestational toxoplasmosis in the Brazilian Federal District. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2005;38(4):358-60.
38. Antoniou M, Tzouvali H, Sifakis S, Galanakis E, Georgopoulou E, Liakou V, et al. Incidence of toxoplasmosis in 5532 pregnant women in Crete, Greece: management of 185 cases at risk. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004;117(2):138-43.

39. Ricci M, Pentimalli H, Thaller R, Rava L, Di Ciommo V. Screening and prevention of congenital toxoplasmosis: an effectiveness study in a population with a high infection rate. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003;14(6):398-403.
40. Spalding SM, Amendoeira MR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2003;36(4):483-91.
41. Logar J, Petrovec M, Novak-Antolic Z, Premru-Srsen T, Cizman M, Arnez M, et al. Prevention of congenital toxoplasmosis in Slovenia by serological screening of pregnant women. *Scand J Infect Dis.* 2002;34(3):201-4.
42. Qublan HS, Jumaian N, Abu-Salem A, Hamadelil FY, Mashagbeh M, Abdel-Ghani F. Toxoplasmosis and habitual abortion. *J Obstet Gynaecol.* 2002;22(3):296-8.
43. Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Kapperud G, Whitelaw A, Eskild A, et al. Incidence of *Toxoplasma gondii* Infection in 35,940 Pregnant Women in Norway and Pregnancy Outcome for Infected Women. *Journal of clinical microbiology.* 1998;36(10):2900-6.
44. Rodríguez JC, Alcántara MJ, Royo G. Toxoplasmosis en el embarazo: nuevas técnicas diagnósticas. *Enfermedades Infecciosas e Microbiología Clínica.* 1996;14(3):145-9.
45. González-Morales T, Bacallo-Gallestey J, García-Santana CA, Molina-García JR. Prevalencia de anticuerpos anti-*Toxoplasma gondii* en una población de mujeres embarazadas en Cuba. *Gaceta médica de México.* 1995;131(5-6):499-503.
46. Valcavi PP, Natali A, Soliani L, Montali S, Dettori G, Cheezi C. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in the population of the area of Parma (Italy). *Eur J Epidemiol.* 1995;11(3):333-7.

47. Roos T, Martius J, Gross U, Schrod L. Systematic serologic screening for toxoplasmosis in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1993;81(2):243-50.
48. Franklin DM, Dror Z, Nishri Z. The prevalence and incidence of *Toxoplasma* antibodies in pregnant women. *Isr J Med Sci.* 1993;29(5):285-6.
49. Aspöck H, Pollak A. Prevention of prenatal toxoplasmosis by serological screening of pregnant women in Austria. *Scand J Infect Dis Suppl.* 1992;84:32-7.
50. Santacruz MM, Heredia R, Arjona AC. Efecto de medidas preventivas contra la toxoplasmosis en embarazadas. *Biomédica.* 1992;12(2):61-7.
51. Molé JR, Suárez D, Alonso F, Piquera G. Lo que hacemos para prevenir la toxoplasmosis congénita en Manzanillo. *Rev Cubana Med Gen Integral.* 1992;8(4):330-2.
52. Chatterton JM, Skinner LJ, Joss AW, Ho-Yen DO. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in Scotland. *J Infect.* 1989;18(3):249-55.
53. Sever JL, Ellenberg JH, Ley AC, Madden DL, Fuccillo DA, Tzan NR, et al. Toxoplasmosis: maternal and pediatric findings in 23,000 pregnancies. *Pediatrics.* 1988;82(2):181-92.
54. Billiault X, Collet M, Dupont A, Lefevre S. Toxoplasmose chez la femme enceinte dans la Province du Haut Ogooué (Gabon). *Bull Soc Pathol Exot Filiales.* 1987;80(1):74-83.
55. Boveda MIC, Bartolomé OL, Molin PO, Beato MLP, Contreras EF, Garrido JA. Un estudio sobre toxoplasmosis en mujeres gestantes. Experiencia de cuatro años. *Revista Clinica Española.* 1986;179(8):397-400.
56. Meirelles Filho J. Toxoplasmose e gravidez. Inquérito sorológico em gestantes e seus recém-nascidos na Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *J Bras Ginec.*

1985;95(9):393-401.

57. Sáenz RE, Narváez E, Quiróz E. Seroprevalencia de la toxoplasmosis durante el primer trimestre del embarazo. Informe preliminar de estudio prospectivo de toxoplasmosis adquirida durante el embarazo. *Revista Medica de Panama*. 1984;9(1):1-7.

58. Lapierre J, Tourte-Schaefer C, Heyer F, Nessmann C, Timbart MF, Beaujouan L. Toxoplasmose congénitale. Réflexions à propos de la surveillance sérologique de quinze mille femmes enceintes. *Sem Hop*. 1983;59(40):2741-5.

59. Williams KA, Scott JM, Macfarlane DE, Williamson JM, Elias-Jones TF, Williams H. Congenital toxoplasmosis: a prospective survey in the West of Scotland. *J Infect*. 1981;3(3):219-29.

60. Stray-Pedersen B. A prospective study of acquired toxoplasmosis among 8,043 pregnant women in the Oslo area. *Am J Obstet Gynecol*. 1980;136(3):399-406.

61. Beach PG. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in pregnant women in Oregon. *J Infect Dis*. 1979;140(5):780-3.

62. Viens P, Auger P, Villeneuve R, Stefanescu-Soare I. Serological survey for congenital toxoplasmosis among 4,136 pregnant women. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1977;71(2):136-9.

63. Roux C, Desmont G, Mulliez N, Gaulier M, Tufferaud G, Marmor D, et al. Toxoplasmose et grossesse. Bilan de deux ans de prophylaxie de la toxoplasmose congénitale à la maternité de l'hôpital Saint-Antoine (1973-1974). *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 1976;5(2):249-64.

64. Roux C, Desmonts G, Gaulier M, Mulliez N, Hery D. Prophylaxie de la toxoplasmose congénitale. Bilan à la maternité de l'hôpital Saint-Antoine (1972). *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*. 1975;4(4):557-69.

65. Morin P, Larivière M, Koenig-Loiseau MA, Beauvais B. Bilan de 6 mois de dépistage et de prévention de la toxoplasmose congénitale a la maternité de l'hôpital Lariboisière. *Sem Hop.* 1974;50(20):1359-63.
66. Terris J, Musset R. Enquête sur la toxoplasmose chez 1.858 femmes enceintes. *Gynecol Obstet (Paris).* 1969;68(1):25-34.
67. Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Seneforte FRA, Souza Júnior VG, Botelho CA, Figueiredo MS, et al. 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. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(8):442-9.
68. Figueiró-Filho EA, Seneforte FRA, Lopes AHA, Morais OO, Souza Júnior VG, Maia TL, et al. Frequência das infecções pelo HIV-1, rubéola, sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples, hepatite B, hepatite C, doença de Chagas e HTLV I/II em gestantes, do Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(2):181-7.
69. Sartori AL, Minamisava R, Avelino MM, Martins CA. Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011;33(2):93-8.
70. Boa-Sorte N, Purificacao A, Amorim T, Assuncao L, Reis A, Galvao-Castro B. Dried blood spot testing for the antenatal screening of HTLV, HIV, syphilis, toxoplasmosis and hepatitis B and C: prevalence, accuracy and operational aspects. *Braz J Infect Dis.* 2014;18(6):618-24.
71. Belaz S, Gangneux J, Dupret P, Guiguen C, Robert-Gangneux F. A 10-year retrospective comparison of two target sequences, REP-529 and B1, for *Toxoplasma gondii* detection by quantitative PCR. *J Clin Microbiol.* 2015 Apr;53(4):1294-300. doi: 10.128/JCM.02900-14. Epub

2015 Feb 4.

72. Sauer A, de la Torre A, Gomez-Marin J, Bourcier T, Garweg J, Speeg-Schatz C, et al. Prevention of retinochoroiditis in congenital toxoplasmosis: Europe versus South America. *Pediatr Infect Dis J*. 2011;30(7):601-3.

73. Gilbert RE, Freeman K, Lago EG, Bahia-Oliveira LM, Tan HK, Wallon M, et al. Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(8):e277.

74. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*. 139. England 2012. p. 1375-424.

75. Vasconcelos-Santos DV, Azevedo DOM, Campos WR, Oréface F, Andrade GMQ, Carellos EVM, et al. UFMG Congenital Toxoplasmosis Brazilian Group. Congenital Toxoplasmosis in Southeastern Brazil: Results of Early Ophthalmologic Examination of a Large Cohort of Neonates. *Ophthalmol* 2009;116(11):2199–2205.

76. Cañedo-Solares I, Ortiz-Alegría LB, Figueroa-Damián R, Bustos-Bahena ML, González-Henkel H, Calderón-Segura E, et al. Toxoplasmosis in pregnancy: determination of IgM, IgG and avidity in filter paper-embedded blood. *J Perinatol*. 2009;29(10):668-72.

5.2-Artigo 2

Esse artigo será submetido ao periódico Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.

COMPARAÇÃO ENTRE ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS REALIZADOS EM AMOSTRAS DE SANGUE SECO E SORO PARA TRIAGEM PRÉ-NATAL DA TOXOPLASMOSE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

Bárbara Araújo Marques¹; Gláucia Manzan Queiroz de Andrade²; Vânia Maria Novato Silva³; Fernando Henrique Pereira⁴; Maria Regina Lage Guerra⁵; **Jacqueline Áraujo Domingos Iturra⁵**; José Nélío Januário⁶

¹Mestranda do Programa Saúde da Criança e do Adolescente – UFMG ²Professora Adjunta do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina – UFMG. ³Chefe do Laboratório de Análises Clínicas do NUPAD/Faculdade de Medicina da UFMG. ⁴Estatístico do NUPAD e da Faculdade de Medicina da UFMG ⁵ Servidora no Serviço de Doenças Parasitárias da FUNED e ⁶ Professor Adjunto do Departamento de Clínica Médica da FM-UFMG e Diretor do NUPAD/ UFMG.

Contato: Bárbara Araújo Marques: Rua Pilar, 170/402, Grajaú, Belo Horizonte, Minas Gerais – Brasil. b.araujomarques@gmail.com

Resumo: A triagem pré-natal para identificação de toxoplasmose aguda em gestantes tem sido utilizada em programas europeus como estratégia para evitar a transmissão vertical da toxoplasmose ou reduzir os danos da toxoplasmose congênita. Nesse rastreamento, são utilizados principalmente os imunoenaios em amostras de soro para identificar as imunoglobulinas M (IgM) e G (IgG) anti-*Toxoplasma gondii* e ainda são escassas as informações sobre o uso de amostras de sangue capilar para essa triagem. Poucos estudos avaliam a acurácia dos testes de triagem pré-natal em sangue capilar seco transportado em papel filtro, embora esse tipo de amostra seja utilizado em programas de rastreamento em gestantes no Brasil, pois se trata de material biológico fácil de coletar, armazenar e transportar, o que diminui o custo dos programas. A existência de um programa de triagem pré-natal

no estado de Minas Gerais utilizando a coleta de sangue seco para realização dos testes IgM e IgG para toxoplasmose motivou este estudo. **OBJETIVOS:** Avaliar a concordância do teste *Imunoscreen* (ELISA), em sangue seco, para determinação de IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* na gestação, com o teste ELFA-VIDAS, em soro, utilizado como método de referência. Determinar o desempenho do teste em sangue seco quando comparado com o soro. **MÉTODO:** Realizou-se estudo transversal em gestantes do Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita em Minas Gerais (PCTC-MG) com coleta simultânea de sangue seco e soro entre 01 de julho e 31 de dezembro de 2014 para avaliar a concordância (Kappa) entre o teste *Imunoscreen* (imunoensaioenzimático de captura) utilizado para determinação de IgM e IgG anti-*T. gondii* em amostra de sangue seco na gestação e o teste ELFA-VIDAS, realizado em soro e considerado como o método de referência. Foi avaliado o desempenho do teste *Imunoscreen*-IgM e IgG em relação ao padrão de referência (ELFA) e calculadas medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positiva e negativa. Foi realizada curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para descrever quantitativamente o desempenho dos testes realizados em sangue seco para classificação das gestantes em infectadas e não infectadas pelo *T. gondii*. Para elaboração do banco de dados e análise estatística utilizou-se o *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 18.0. O projeto de pesquisa obteve apoio das Instituições envolvidas, foi aprovado pelo Comitê de Ética da UFMG e contou com recursos do CNPq. **RESULTADOS:** Foram recebidas, no total, 750 amostras. 40 gestantes foram excluídas devido a amostras inadequadas de sangue seco ou soro (apenas soro sem papel filtro) ou longos intervalos de coleta entre as duas amostras (*outliers*). Restaram 710 gestantes no estudo, amostra com distribuição semelhante à amostra estimada de 1038 gestantes, de acordo com o teste qui-quadrado de aderência ($p=0,126$). A prevalência da toxoplasmose foi de 45,2%. Para possibilitar avaliação da concordância entre testes em sangue seco e soro, foram adicionadas 33 gestantes IgM positivas detectadas pelo PCTC-MG entre 01 de agosto e 31 de dezembro de 2014, às 710 do estudo. Finalmente, foram analisadas amostras de 743 gestantes. Encontrou-se moderada concordância entre

o teste Imunoscreen-IgM em sangue seco quando comparado com o soro (Kappa 60,0%) e muito boa concordância (91,1%) quando o Kappa foi ajustado pela prevalência de IgM. A concordância para IgG foi muito boa (Kappa 81,6%). A especificidade foi alta tanto para IgM (98,4%) quanto para IgG (96,9%) e a sensibilidade para IgG também foi alta (84,0%). A sensibilidade de IgM no teste em estudo foi mais baixa (56,8%). Um novo valor de *cut-off* obtido na curva ROC para IgM resultou em melhor performance do teste. A área sob a curva ROC foi maior que 95% tanto para IgM quanto para IgG. **CONCLUSÃO:** A implantação da triagem pré-natal para toxoplasmose em Minas Gerais utilizando amostra de sangue seco minimizou dificuldades de logística e custos, possibilitando o acesso ao programa de todas as gestantes usuárias do SUS no estado. Nessa população, o teste *Imunoscreen-IgM* e *IgG anti-T. gondii* em sangue seco mostrou bom desempenho (elevada especificidade para IgM e IgG e sensibilidade para IgG) e discriminou bem os resultados positivos e negativos. A menor sensibilidade observada para IgM deve ser melhor avaliada em estudos com maior tamanho de amostra. Ajuste no ponto de corte do teste *Imunoscreen-IgM* pode melhorar a sensibilidade e deve ser avaliado. Novos estudos são necessários, com maior tamanho de amostra, para avaliar o desempenho do teste na identificação da toxoplasmose aguda na gestante.

Palavras-Chave: Toxoplasmose congênita; Triagem; Cuidado pré-natal; Teste em amostras de sangue seco; Sorologia.

Summary: The prenatal screening for toxoplasmosis has been used in European programs as a strategy to prevent vertical transmission of toxoplasmosis or reduce damage from congenital toxoplasmosis. In this screening are used mainly immunoassays in serum samples to identify immunoglobulin M (IgM) and G (IgG) anti-Toxoplasma gondii. Information on the use of dried blood spot testing for this screening is still scarce. Few studies assess the accuracy of prenatal screening tests in dried blood, although this type of sample is used in screening programs for pregnant women in Brazil, since it is a biological material easy to collect, store and transport, which decreases the cost of the programs. The existence of a prenatal screening program in the state of

Minas Gerais using dried blood for IgM and IgG testing for toxoplasmosis motivated this study.

OBJECTIVES: To evaluate the agreement between Imunoscreen assay (ELISA) in dried blood and ELFA-VIDAS test in serum, used as the reference method, for determination of IgM and IgG anti-Toxoplasma gondii during pregnancy. Determine the performance of the dried blood test when compared with the serum. **METHODS:** we performed a cross-sectional study in pregnant women from the Control Program of Congenital Toxoplasmosis in Minas Gerais (PCTC-MG) with simultaneous collection of dried blood and serum between July 1 and December 31, 2014. To prepare the database and statistical analysis we used the software Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 18.0. The research project was supported by the institutions involved, was approved by the Ethics Committee and had the CNPq resources. **RESULTS:** There were a total of 750 samples. 40 patients were excluded because of inadequate samples of dried blood or serum (serum without filter paper) or long intervals between the two samples collection (outliers). 710 pregnant women remained in the study, sample with similar distribution to the estimated sample of 1038 pregnant women, according to the Chi-square adherence test ($p = 0.126$). The prevalence of toxoplasmosis was 45.2%. To enable evaluation of the agreement between tests in dried blood and serum, there were added 33 IgM positive pregnant women detected by PCTC-MG between August 1 and December 31, 2014, to the 710 of the study. Finally, 743 samples of pregnant women were analyzed. Moderate agreement was found between Imunoscreen-IgM in dried blood compared to serum (Kappa 60.0%) and very good agreement (91.1%) when the Kappa was adjusted by the prevalence of IgM. The agreement for IgG was very good (Kappa 81.6%). Specificity was high for both IgM (98.4%) and IgG (96.9%), and sensitivity to IgG was also high (84.0%). The sensitivity of IgM in the test under study was lower (55.3%). A new cut-off value obtained from the ROC curve for IgM resulted in better performance of the test. The area under the ROC curve was greater than 95% for both IgM and IgG. **CONCLUSION:** The implementation of prenatal screening for toxoplasmosis in Minas Gerais using dried blood sample minimized logistical difficulties and costs, enabling access to the program for all

pregnant women users of SUS in the state. In this population, the Imunoscreen IgM and IgG anti-*T. gondii* in dried blood showed good performance (high specificity for IgM and IgG and sensitivity to IgG) and can discriminate positive and negative results. The lower sensitivity observed for IgM should be better evaluated in studies with larger sample size. Adjust the cutoff point of Imunoscreen-IgM test can improve the sensitivity and should be evaluated. Further studies are needed with larger sample size to evaluate the test results in the identification of acute toxoplasmosis in pregnant women.

Introdução: A primoinfecção pelo *Toxoplasma gondii* durante a gestação acarreta risco de transmissão vertical do parasito para o concepto. Quando a infecção materna ocorre no primeiro trimestre da gestação, o risco de transmissão é baixo, mas as sequelas são graves se o feto for acometido, podendo haver comprometimento do sistema nervoso central e de tecidos oculares. Por outro lado, se a infecção materna ocorre no final da gravidez, há maior probabilidade de contaminação fetal devido à alta vascularização da placenta, porém as consequências são, geralmente, menos graves e muitas crianças nascem assintomáticas, embora isso não impeça que a maioria delas desenvolva sequelas oculares tardias.

O pré-natal é um momento importante para implantação de medidas de prevenção da transmissão vertical da toxoplasmose. Como a infecção aguda em gestantes é assintomática na maioria das vezes, a vigilância é realizada por meio de exames sorológicos, que avaliam quantitativamente os anticorpos produzidos em resposta à parasitose. O teste para detecção de anticorpos IgM e IgG anti-*T. gondii* deve ser feito o mais precocemente possível na gravidez para definir, com maior segurança, o perfil imunológico da gestante em relação ao parasito. Anticorpos IgM sugerem infecção aguda, mas podem ser detectáveis vários meses após a infecção. Os anticorpos IgG, principalmente quando em títulos persistentemente baixos, indicam infecção crônica, ocorrida há meses ou anos. Esta mesma classe de anticorpos pode indicar infecção aguda quando em títulos elevados ou ascendentes e

associados à baixa avidéz, que significa uma baixa afinidade das imunoglobulinas jovens pelo antígeno. Gestantes que nunca tiveram contato com o parasito (suscetíveis) são consideradas em risco para adquirir a infecção e devem ser orientadas sobre as medidas profiláticas, além de serem submetidas à repetição periódica dos testes de triagem, a fim de se detectar uma possível infecção aguda.

Há várias metodologias para detecção de anticorpos séricos anti-*T. gondii* e, tradicionalmente, os exames são realizados no soro obtido através de punção venosa. Para o uso deste material biológico em programas de triagem deve-se dispor de pessoal treinado para coleta com seringa, centrífuga para separação do plasma e insumos para armazenar e transportar sob congelamento, o que gera altos custos de implantação e manutenção desses programas. A realização de exames sorológicos em eluído de sangue seco, transportado em papel filtro, tem sido utilizada com sucesso em programas de triagem neonatal há cerca de cinco décadas (1) e é uma alternativa promissora para programas de triagem pré-natal da toxoplasmose em gestantes. A coleta de sangue para transporte em papel filtro é realizada através de técnica pouco invasiva de punção capilar com lanceta e o material seco é estável em diversas temperaturas, podendo ser transportado com baixo custo. Dessa forma, amplia o acesso dos pacientes de regiões distantes e economicamente desfavorecidas aos serviços de saúde. Cañedo-Solares et al compararam 100 amostras pareadas de sangue seco e soro de gestantes para detectar IgM e IgG anti-*T. gondii* e avidéz de IgG através de ensaios imunoenzimáticos e encontraram boa correlação entre as amostras, com sensibilidade de 92% e especificidade de 100% para IgM (2).

Já existem programas de triagem pré-natal para toxoplasmose no Brasil que adotam o sangue seco para pesquisa de anticorpos em gestantes. Desde 2002-2003, está implantado o Programa de Proteção à Gestante em Goiás e Mato Grosso do Sul para diagnóstico de toxoplasmose na gravidez com o uso de imunoensaioenzimático para IgM e IgG anti-*T. gondii* e teste de avidéz de IgG. Figueiró-Filho et al (3) encontraram elevada prevalência da toxoplasmose (92%) em estudo com gestantes deste Programa entre novembro de 2002 e outubro de 2003 em Mato Grosso do Sul e 0,4% de resultados

IgM positivos. Sartori et al (4) estudaram gestantes do mesmo programa em Goiânia em 2008 e observaram prevalência de 67,7%, com 0,7% de mulheres com anticorpos IgM e IgG reagentes.

Amaral (5) questionou, em editorial, a possibilidade de menor acurácia do teste em sangue seco devido à baixa prevalência de amostras reagentes para IgM detectada pelo estudo de Figueiró-Filho citado acima (3). A professora aponta para um possível aumento da taxa de falso-negativo de IgM, com menor identificação das gestantes com infecção aguda e, conseqüentemente, de casos de infecção congênita com o uso do papel filtro e propõe uma revisão do desempenho dos testes em sangue seco comparados com o soro.

Boa-Sorte et al (6) encontraram 1,88% de exames IgM positivos por ensaio imunoenzimático em sangue seco e em soro de gestantes de Salvador acompanhadas entre novembro de 2009 e março de 2010. A acurácia dos testes em sangue seco quando comparados com o soro foi de 99,7% (IC95%: 98,9–99,9%), com sensibilidade de 92,3% (IC95%: 66,7–98,6%) e especificidade 99,9% (IC95%: 99,2–100%).

Em Minas Gerais (MG), está implantado o Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita (PCTC) pela Secretaria de Estado de Saúde em parceria com o Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico da Universidade Federal de Minas Gerais (NUPAD/UFMG) desde fevereiro de 2013 (7). A utilização de amostras de sangue seco para triagem de gestantes para toxoplasmose tornou possível o rastreamento universal em Minas Gerais. Porém, o número escasso de publicações avaliando a concordância entre os resultados dos anticorpos IgG e IgM anti-*T. gondii* avaliados em amostras de sangue seco e soro torna o momento propício para o estudo comparativo entre essas duas amostras e justifica o estudo em gestantes mineiras. Nessa população, propõe-se determinar a prevalência da toxoplasmose e avaliar o desempenho do imunoensaio utilizado para triagem em sangue seco (sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positiva e negativa) em relação a um teste sorológico comercial considerado como

referência para o diagnóstico da infecção.

Metodologia: Estudo transversal com gestantes participantes do PCTC, atendidas nos 853 municípios do estado de Minas Gerais. Estimou-se o tamanho da amostra em 1000 gestantes, número suficiente para reproduzir a distribuição habitual dos perfis sorológicos observados na prática clínica (Figura 1). Como se estima em 40% o número de gestantes susceptíveis à toxoplasmose (8) e em 1% a taxa de soroconversão na gravidez, espera-se encontrar, em um total de 1000 gestantes, aproximadamente 390 susceptíveis e quatro a seis com infecção aguda. Para que o número desse último grupo de gestantes fosse suficiente para diluir o viés de baixas frequências esperadas nas tabelas 2x2, optou-se pela inclusão de aproximadamente 40 gestantes com infecção aguda, admitidas no PCTC no mesmo período do estudo. Portanto, consideraram-se dois momentos para obtenção das amostras: 1) inquérito sorológico em gestantes participantes do PCTC; 2) inclusão de gestantes com IgM reagente em sangue seco detectadas pelo PCTC.

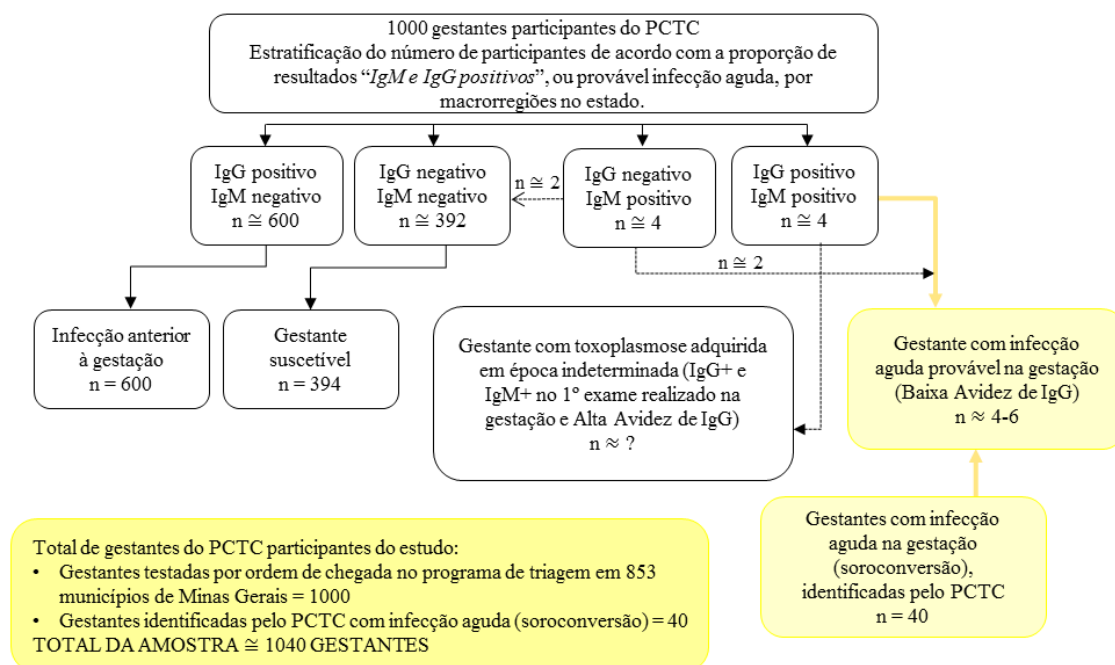


Figura 1: Fluxograma para estimar amostra de gestantes participantes do estudo - expectativa da distribuição dos perfis de resposta dos anticorpos anti- *Toxoplasma gondii*.

Diante da dificuldade logística de coletar amostras de gestantes nos 853 municípios do estado, procedeu-se à seleção aleatória das Unidades Básicas de Saúde (UBS) em cada uma das 13

macrorregiões de Minas Gerais. Para essa seleção, considerou-se a proporção de resultado “*IgM e IgG positivos*”, ou provável infecção aguda, nas gestantes participantes do PCTC entre 01 de agosto de 2013 a 31 de março de 2014. Em cada uma das macrorregiões, verificou-se o quanto a sua prevalência representava, em proporção, da soma das prevalências das 13 macrorregiões. Assim, dividiram-se os 1000 elementos amostrais (kit soro e papel filtro) de forma proporcional às prevalências de provável infecção aguda das macrorregiões, de modo que, em uma macrorregião com maior prevalência, houvesse uma maior quantidade de pacientes rastreadas do que numa região com menor prevalência. As Unidades de Coleta (UC) dentro de cada macrorregião foram selecionadas de modo proporcional à quantidade média de triagens realizadas ao mês e por UC pelo PCTC durante o mesmo período de 01 de agosto de 2013 a 31 de março de 2014. Esse procedimento é conhecido como Amostragem do tipo P.P.S. (*sampling with probabilities proportional to size*), onde a UC que realizou um número maior de triagens tem uma probabilidade maior de ser sorteada do que uma UC que realiza um número inferior de triagens, para uma mesma macrorregião. O número de UC cadastradas e a prevalência de IgM e IgG positivos encontrados por macrorregião foi obtido da base de dados do PCTC em Minas Gerais no NUPAD/UFMG.

Na Tabela 1, encontram-se as prevalências de gestantes com provável infecção aguda em cada macrorregião, a quantidade de gestantes que farão exames em soro e sangue seco em cada UC, a quantidade de UC necessária para atingir a amostra calculada para o estudo em aproximadamente um mês, e o número total de gestantes que farão exames em cada macrorregião. Por questões de arredondamento no número médio mensal de gestantes que farão exames por UC, o total da amostra calculada foi igual a 1038. Foi selecionada, também, uma quantidade de pelo menos 10% de UC a mais do que o necessário para servir como destino dos kits de coleta numa eventual impossibilidade de realização dos exames por alguma UC pré-selecionada, sendo as mesmas designadas como UC reservas. Foram incluídas gestantes participantes do PCTC-MG. As gestantes que se recusaram a participar do estudo foram excluídas, assim como aquelas que apresentaram amostras inadequadas.

Tabela 1: Determinação do número de gestantes necessárias para realização de pesquisa de IgM e IgG anti-*T. gondii* em cada macrorregional do estado de Minas Gerais e por Unidade de Coleta, de acordo com a prevalência de infecções agudas (gestantes IgM e IgG positivas) encontrada no Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita entre agosto de 2013 e março de 2014.

Região	Prevalência de infecções agudas (resultados IgM e IgG positivos)	Proporção percentual de provável infecção aguda em relação ao total das prevalências	Número de gestantes por UC	Número de UC necessárias	Número de gestantes por região
Jequitinhonha	0,0046768	8,9	3	30	90
Nordeste	0,0027113	5,2	2	27	54
Triângulo do Sul	0,0046118	8,8	3	36	108
Norte de Minas	0,0033214	6,4	3	28	84
Leste	0,0047169	9,0	2	39	78
Oeste	0,0029726	5,7	2	23	46
Leste do Sul	0,0048494	9,3	5	20	100
Triângulo do Norte	0,0039531	7,6	3	23	69
Noroeste	0,0044493	8,5	3	23	69
Sul	0,0041427	7,9	2	39	78
Sudeste	0,0041254	7,9	3	25	75
Centro Sul	0,0031725	6,1	4	22	88
Centro	0,0045982	8,8	3	33	99
Total	0,0523014	100	-	368	1038

* UC = Unidade de Coleta

Realizou-se contato telefônico com a referência técnica dos municípios participantes e de cada UC sorteada para apresentação do estudo e esclarecimento sobre os procedimentos de coleta de sangue em papel filtro e soro. Deveriam ser incluídas no estudo gestantes na ordem em que chegassem para iniciar o pré-natal, no momento da primeira coleta de sangue. A coleta de soro deveria ser simultânea ao papel-filtro ou ocorrer com uma diferença de até 24 horas desta, levando em conta que nem todas as unidades de saúde dispõem de laboratório no mesmo local em que funcionam. Logo após o contato, foi enviado um *e-mail* para cada referência com o informe sobre o Projeto de Pesquisa. Telefonemas com dúvidas das unidades participantes foram recebidos através da linha gratuita do Setor de Controle do Tratamento (SCT) do NUPAD durante o período de realização do estudo. Num segundo momento do estudo, realizou-se busca ativa das UBS que ainda não haviam enviado todas as amostras planejadas, através de novos telefonemas e contatos eletrônicos.

Após esclarecimento sobre o estudo e convite para participar do mesmo, as gestantes que concordaram assinaram Termo de Consentimento. Sangue venoso e sangue seco foram colhidos, respectivamente, através de punção venosa e punção digital, com posterior envio do material ao laboratório de referência do NUPAD em Belo Horizonte.

As amostras foram coletadas entre 01 de julho de 2014 e 31 de dezembro de 2014.

O estudo foi cego para os profissionais responsáveis pela realização dos exames sorológicos. Os pesquisadores principais tiveram conhecimento dos resultados dos testes realizados nas duas amostras, pois necessitaram adotar procedimentos clínicos de interesse do paciente.

Foram utilizados testes de imunoensaioenzimático da marca *Imunoscreen* do laboratório “MBiolog Diagnósticos Ltda.” para determinação de anticorpos IgM e IgG específicos antitoxoplasma em amostras de sangue seco no laboratório do NUPAD na Faculdade de Medicina da UFMG. Para IgM, os resultados são fornecidos em índices, que representam a absorbância das amostras dividida pelo valor de *cut-off* (média aritmética dos controles negativos de cada placa + 0,250), e são interpretados da seguinte forma: amostra reagente maior ou igual a 1,1; indeterminada $\geq 0,9$ e $< 1,1$; não reagente menor que 0,9. De acordo com o fabricante, o teste apresenta sensibilidade de 100% e especificidade de 98,1%. Para IgG, os resultados foram obtidos em UI/ml após interpolação dos valores de absorbância das amostras num gráfico com valores de absorbância dos calibradores (eixo y) contra a concentração correspondente (eixo x). Amostras com concentrações maiores que o calibrador 2 (*cut-off*), cuja concentração corresponde a 10UI/ml, deverão ser interpretadas como reagentes para anticorpos IgG anti-*T. gondii*. O fabricante informa sensibilidade de 100% e especificidade de 99,1%.

Foi utilizado como teste de referência para pesquisa de anticorpos IgM e IgG anti-*T. gondii*, em soro, a metodologia ELFA (*Enzyme Linked Fluorescent Assay*) BioMérieux S.A., Lyon, France, utilizando-se o sistema VIDAS, automatizado, que é utilizada em testes de rotina para laboratórios que executam pequenos volumes de testes ou como técnicas de segunda linha para confirmação em

laboratórios de referência (9), apresentando ótimas sensibilidade (93.8 a 98.4% para IgG; 81.8 a 90.9% para IgM) e especificidade (>99.0% para IgG; 100.0% para IgM). Os resultados são interpretados como negativos se menores do que 0,55, indeterminados entre 0,55 e 0,64 e positivos se maiores ou iguais a 0,65. Para IgG, o resultado é negativo se menor que 4,0, indeterminado entre 4,0 e 7,9 e positivo se maior ou igual a 8,0. Por motivos operacionais, parte dos testes em soro foi processada no Laboratório de Toxoplasmose da Fundação Ezequiel Dias do Estado de Minas Gerais (FUNED), que testou 642 amostras (85,6% do total), e parte no Laboratório Hermes Pardini, em Belo Horizonte, que testou o restante. Foi utilizada a mesma metodologia ELFA em ambos os laboratórios.

O teste de avididade de IgG foi realizado em soro para todas as gestantes com resultados reagentes para IgG. Foram utilizadas as metodologias quimioluminescência pelo laboratório Hermes Pardini (avididade forte se maior ou igual a 60%, intermediária entre 50 e 59% e fraca se menor que 50%) que testou 491 amostras (66% do total) e ELFA pela FUNED (avididade forte acima de 0,300, intermediária se $\geq 0,200$ e $\leq 0,300$ e fraca se menor que 0,200), que testou o restante das amostras, também por motivos operacionais. Na fase aguda da doença, anticorpos IgG ligam-se fracamente ao antígeno (baixa avididade) e na fase crônica (mais de 12 a 16 semanas), tem-se elevada avididade. A detecção de anticorpos de alta avididade em pacientes com IgM positivo indica infecção adquirida há mais de quatro meses, e, portanto, o exame deve ser realizado ainda no primeiro trimestre da gravidez para definição da época de infecção da gestante.

Durante a análise, a população estudada foi dividida em quatro grupos de acordo com os resultados indeterminados nos testes para IgG e IgM. No primeiro grupo, foram considerados para a análise os resultados reagentes, os não reagentes e os indeterminados. No grupo 2, consideramos apenas os resultados reagentes e não reagentes, não sendo contabilizados os indeterminados. Tal determinação é coerente com o programa, uma vez que um resultado indeterminado em sangue seco é sempre confirmado em amostra de soro. No terceiro grupo, os resultados indeterminados foram considerados como positivos e no quarto grupo, os indeterminados foram considerados como resultados negativos.

Calculou-se também a prevalência da toxoplasmose nas gestantes de Minas Gerais. Utilizou-se o teste qui-quadrado de aderência ou teste de ajustamento para avaliar se a distribuição das amostras recebidas de cada macrorregião se aproximava da distribuição das amostras esperadas quando se realizou a alocação das unidades amostrais obtidas pelo tamanho amostral estabelecido. O coeficiente de concordância de Kappa foi utilizado para avaliar concordância entre os testes em sangue seco e soro. Como é possível encontrar baixos valores desta medida devido à baixa prevalência do evento (no caso, IgM reagente), que costuma estar associada a baixos níveis de reprodutibilidade, e não devido a erros substanciais relacionados ao teste que se deseja aferir, procedeu-se ao ajuste do Kappa de acordo com a prevalência de IgM (vide ANEXO D). Foi realizada curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para descrever quantitativamente o desempenho dos testes utilizados em sangue seco (triagem pré-natal) na classificação das gestantes em infectadas e não infectadas pelo *T. gondii*.

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (CAAE – 12760813.5.0000.5149) e contou com recursos do CNPq (Processo 456491/2014-7). O planejamento das atividades obteve o apoio das Instituições envolvidas.

Para elaboração do banco de dados e análises estatísticas, foi utilizado o software *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) 18.0. Na análise estatística foi avaliado o desempenho do teste *Imunoscreen* em relação ao padrão de referência (ELFA) e calculadas medidas de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e negativo, razão de verossimilhança positiva e negativa. Para cada um desses parâmetros, o valor foi calculado excluindo os resultados indeterminados, incluindo os resultados indeterminados como resultados positivos e incluindo os resultados indeterminados como resultados negativos.

Resultados:

Foram recebidas, no total, 750 amostras. Não foi possível mensurar as perdas por recusas de participação de gestantes, uma vez que o convite para fazer parte da pesquisa e a leitura do termo de consentimento foram realizados nas próprias UBS, mas o grupo de pesquisa não foi informado pelas UBS de nenhuma recusa das gestantes em participar. Dezesseis gestantes foram excluídas porque possuíam apenas amostras de soro, com ausência de papel filtro, e oito foram excluídas porque tiveram amostras inadequadas de papel filtro ou soro. Foram excluídas, ainda, 13 gestantes com longos intervalos de coleta entre sangue seco e soro, consideradas *outliers*, e três gestantes por não serem participantes do projeto e terem sido cadastradas inadvertidamente no recebimento de seus soros, que se tratavam de confirmatórios de resultados discordantes prévios detectados pelo PCTC. Restaram 710 gestantes no estudo. Para avaliar se a distribuição das amostras recebidas de cada macrorregião se aproximava da distribuição das amostras esperadas pela alocação das unidades amostrais obtidas pelo tamanho amostral estabelecido, foi utilizado o teste qui-quadrado de aderência ou teste de ajustamento. Considerou-se como Hipótese nula (H_0) que a distribuição entre amostras recebidas e esperadas era semelhante de acordo com a procedência por macrorregiões; e como Hipótese alternativa (H_1), que havia diferença nessa distribuição probabilística entre as amostras da mesma macrorregião. O resultado das diferenças entre a quantidade de amostras recebidas e esperadas por cada macrorregião elevadas ao quadrado e divididas pelo número de amostras esperadas foram somados, chegando ao resultado do teste qui-quadrado de aderência (17,68 para $\chi^2_{12} = 21,03$ para nível de significância de 5%) (Tabela 2), que não rejeitou H_0 ($p=0,126$). Portanto, a distribuição das 710 amostras recebidas mostrou-se estatisticamente semelhante à distribuição das 1038 amostras esperadas, em relação à sua procedência por macrorregiões.

Tabela 2: Comparação entre a distribuição das amostras de gestantes recebidas e as esperadas de sangue seco e soro por macrorregional do estado de Minas Gerais entre 01 de julho e 31 de dezembro de 2014.

Índice da fórmula do qui- quadrado (i)	Macrorregional	Número de amostras esperadas	Proporção percentual da amostra esperada por região em relação ao total da amostra	Número de amostras esperadas (E) em relação ao total de 710 amostras recebidas	Número de amostras observadas (O) por região	$\chi^2_{12} = \sum_{i=1}^{13} \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$
1	Jequitinhonha	90	8,7	61,56	62	0,01
2	Nordeste	54	5,2	36,94	27	2,67
3	Triângulo do Sul	108	10,4	73,87	89	3,10
4	Norte de Minas	84	8,1	57,46	57	0,01
5	Leste	78	7,5	53,35	47	0,76
6	Oeste	46	4,4	31,46	37	0,97
7	Leste do Sul	100	9,6	68,40	80	1,97
8	Triângulo do Norte	69	6,6	47,20	58	2,47
9	Noroeste	69	6,6	47,20	38	1,79
10	Sul	78	7,5	53,35	57	0,25
11	Sudeste	75	7,2	51,30	39	2,95
12	Centro Sul	88	8,5	60,19	58	0,08
13	Centro	99	9,5	67,72	61	0,67
	Total	1038	100%	710	710	17,68

Teste qui-quadrado de aderência, $p = 0,126$

O valor de referência para distribuição de qui-quadrado com 12 graus de liberdade, considerando nível de significância de 5%, é igual a 21,03.

A prevalência da toxoplasmose entre as gestantes estudadas foi igual a 45,2%, restando 54,8% de gestantes suscetíveis ao parasito, considerando os resultados de IgM e IgG em sangue seco e sem contabilizar os resultados indeterminados.

Trinta e três gestantes IgM positivas detectadas pelo PCTC entre 01 de agosto e 31 de dezembro de 2014 foram adicionadas às 710 do estudo para possibilitar a avaliação da concordância entre testes em sangue seco e soro, pois como esperado, houve baixa frequência de gestantes com infecção aguda (IgM positiva) na amostra do estudo. Finalmente, foram analisadas amostras de 743 gestantes.

A idade média das gestantes foi 25 anos (IC95%: 24,28 – 25,20) e a mediana de 24 anos. A idade

mínima encontrada foi de 12 anos e a máxima, 47 anos.

A idade gestacional média foi de 11,78 semanas (IC95%: 11,27 – 12,30) e a mediana, 10 semanas, ambas dentro do primeiro trimestre de gestação. Na maioria das vezes, a amostra estudada referia-se à primeira amostra coletada da gestante para o pré-natal (mediana de 1 para número ordinal de coleta). Houve 32 gestantes em que a amostra analisada não era a primeira do pré-natal (segunda amostra em 26 casos, terceira amostra em cinco casos e quarta amostra em um caso), e destas, apenas cinco eram gestantes IgM positivas adicionadas do PCTC.

A média para intervalo de coleta entre as amostras de sangue seco e soro foi de apenas um dia (IC95%: 0,87- 1,42), com mediana de zero.

Tendo o soro como teste de referência (ELFA), a sensibilidade para IgM em sangue seco (ELISA de captura) foi de 56,8% (IC95%: 40,6- 73,0%) e a especificidade de 98,4% (IC95%: 97,5- 99,3%). O valor preditivo positivo (VPP) foi de 63,6% (IC95%: 55,0- 72,3%) e o valor preditivo negativo (VPN), 97,5% (IC95%: 96,3- 98,6%).

Para IgG em sangue seco, nessa mesma população, quando comparado com o soro como referência, encontramos sensibilidade de 84,0% (IC95%: 80,1-87,9%) e especificidade de 96,9% (IC95%: 95,4- 98,4%), com VPP de 97,3% (IC95%: 95,5- 99,0%)e VPN de 96,4% (IC95%: 94,4- 98,3%).

A razão de verossimilhança positiva (RVP) do teste para IgM foi 35,5 (IC95%: 18,1- 69,7%) e para IgG 27,1 (IC95%: 14,2- 51,6%), e a razão de verossimilhança negativa (RVN), 0,44 para IgM (IC95%: 0,30- 0,65%) e 0,16 para IgG (IC95%: 0,09- 0,29).

A medida do coeficiente de concordância de Kappa para IgM em sangue seco e soro foi de 57,5%, classificada como moderada concordância entre os dois testes. Por sua vez, o Kappa para IgM ajustado pela prevalência foi de 91,1%, indicando muito boa concordância. O Kappa para IgG foi de 81,6%, considerada muito boa concordância (10).

Numa segunda análise, consideramos apenas os resultados reagentes e não reagentes (Grupo 2), não sendo contabilizados os indeterminados (Tabela 3). Nesta situação, a medida do coeficiente de concordância de Kappa para IgM foi de 60,9%, classificada como boa, e 93,9% para IgG, muito boa. Já o Kappa para IgM ajustado pela prevalência foi 93,2%, indicando muito boa concordância. As medidas de sensibilidade e especificidade para IgM foram de 58,3% (IC95%: 42,2- 72,9%) e 98,6% (IC95%: 97,4- 99,2%), respectivamente, e para IgG 96,4% (IC95%: 94,4- 98,4%) e 97,5% (IC95%: 95,3- 98,7), respectivamente. O VPP para IgM foi 67,7% (IC95%: 51,3- 84,2%), e para IgG 97,3% (IC95%: 95,5- 99,0%). Já o VPN foi de 97,9% (IC95%: 96,8- 98,9%) para IgM e 96,6% (IC95%: 94,8- 98,5%) para IgG. A RVP do teste para IgM foi 40,8 (IC95%: 20,8- 80,0%) e para IgG 38,02 (IC95%: 19,9- 72,5%). RVN foi de 0,42 para IgM (IC95%: 0,29- 0,62%) e 0,04 (IC95%: 0,02- 0,06%) para IgG (Tabela 3).

Na tabela 3, pode-se observar os resultados para o grupo 3, em que os resultados indeterminados foram considerados como positivos e o grupo 4, com indeterminados considerados como resultados negativos, tanto no sangue seco quanto em soro (Tabela 3).

Na amostra estudada, observou-se 15 resultados discordantes com IgM positivo em soro, porém negativo em sangue seco. Em todos estes casos, as coletas de sangue seco e soro foram realizadas no mesmo dia ou com até 24 horas de diferença entre elas. Em 77% dessas gestantes a coleta da amostra foi realizada no primeiro trimestre de gestação (dez entre 13 casos com informação sobre idade gestacional). Todas as amostras foram positivas para IgG em soro e sangue seco, exceto uma amostra em sangue seco que apresentou resultado de IgG indeterminado. Houve alta avidéz de IgG em 12 casos (80,0%), avidéz intermediária em dois casos (13,3%) e baixa avidéz de IgG em apenas um caso (6,6%), em destaque na tabela 4. Além disso, 14 amostras (93,3%) apresentaram valores de IgM em soro muito próximas ao *cut-off* do teste (Tabela 4).

Tabela 3: Determinação da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP), valor preditivo negativo (VPN), razão de verossimilhança positiva (RVP), razão de verossimilhança negativa (RVN) e coeficiente de concordância de Kappa para o teste Imunoscreen (sangue seco) em comparação com o teste de referência ELFA (soro) em população de gestantes, usuárias do sistema SUS em Minas Gerais, divididas em grupos de acordo com a inclusão ou não dos resultados indeterminados na amostra analisada.

Divisão da amostra em grupos de acordo com os resultados indeterminados	Resultado do teste Imunoscreen (IgM; IgG)	Sensibilidade % (IC95%)		Especificidade % (IC95%)		VPP % (IC95%)		VPN % (IC95%)		RVP (IC95%)		RVN (IC95%)		Coeficiente de Concordância de Kappa %		Kappa % ajustado pela prevalência para IgM
		IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	
Grupo 1 Inclui resultados indeterminados	VP (21; 321)															
	FP (10; 9)	56,8	84,0	98,4	96,9	63,6	97,3	97,5	96,4	35,5	27,1	0,44	0,16			
	FN (15; 12)	(35,6-	(80,0-	(97,5-	(95,1-	(55,0-	(95,5-	(96,3-	(94,4-	(18,1-	(14,2-	(0,30-	(0,09-	57,5	81,6	91,1
	VN (689; 346)	78,0)	88,0)	99,3)	98,7)	72,3)	99,0)	98,6)	98,3)	69,7)	51,6)	0,65)	0,29)			
	Total (743; 740)															
Grupo 2 Exclui resultados indeterminados	VP (21; 321)															
	FP (10; 9)	58,3	96,4	98,6	97,5	67,7	97,3	97,9	96,6	40,8	38,0	0,42	0,04			
	FN (15; 12)	(42,2-	(94,4-	(97,4-	(95,3-	(51,3-	(95,5-	(96,8-	(94,8-	(20,8-	(19,9-	(0,29-	(0,02-	60,9	93,9	93,2
	VN (689; 346)	72,9)	98,4)	99,2)	98,7)	84,2)	99,0)	98,9)	98,5)	80,0)	72,5)	0,62)	0,06)			
	Total (736; 740)															
Grupo 3 Considera resultados indeterminados como positivos	VP (25; 370)															
	FP (11; 11)	58,1	96,6	98,4	96,9	69,4	97,1	97,5	96,4	37,0	31,3	0,43	0,03			
	FN (18; 13)	(43,3-	(94,3-	(97,2-	(94,6-	(54,4-	(95,4-	(96,3-	(94,4-	(19,5-	(17,5-	(0,30-	(0,02-	61,2	93,5	92,2
	VN (689; 346)	71,6)	98,0)	99,1)	98,3)	84,5)	98,8)	98,6)	98,3)	70,1)	56,1)	0,60)	0,06)			
	Total (736; 740)															
Grupo 4 Considera resultados indeterminados como negativos	VP (21; 321)															
	FP (12; 9)	56,8	84,0	98,3	97,5	63,6	97,3	97,7	85,1	33,4	33,4	0,44	0,16			
	FN (16; 61)	(40,9-	(80,0-	(97,0-	(95,3-	(47,2-	(95,5-	(96,7-	(81,7-	(17,8-	(17,5-	(0,30-	(0,13-	58,0	81,1	92,2
	VN (694; 349)	71,3)	87,4)	99,0)	98,7)	80,0)	99,0)	98,8)	88,6)	62,5)	63,8)	0,64)	0,21)			
	Total (736; 740)															

VP: verdadeiro positivo; FP: falso positivo; FN: falso negativo; VN: verdadeiro negativo

Tabela 4: Resultados de IgM discordantes entre sangue seco e soro em 15 gestantes dentre 743 participantes do estudo de avaliação da concordância entre o teste Imunoscreen (sangue seco) e o teste de referência ELFA (soro) em Minas Gerais, no período de 01 de julho a 31 de dezembro de 2014.

Gestante	Idade	IG (semanas)	Intervalo entre coleta de sangue seco e soro (dias)	IgM em sangue seco (Imunoscreen) ¹	IgM em Soro (ELFA-VIDAS) ²	IgG em sangue seco (Imunoscreen) ³ (UI/ml)	IgG em soro (ELFA-VIDAS) ⁴	Avidez de IgG ⁵
1	36	9	0	0,26	1,02	18,1 (Ind)	70	54,8 (int)
2	20	-	-1	0,45	0,97	166,3	2651	90,0 (forte)
3	29	8	0	0,31	0,70	74,7	210	82,8 (forte)
4	29	9	0	0,41	3,90	123,9	1614	35,0 (fraca)
5	24	8	-1	0,24	0,72	132,1	1220	82,0 (forte)
6	25	4	0	0,29	0,67	141,6	366	80,4 (forte)
7	31	5	0	0,62	1,09	113,6	136	55,2 (int)
8	23	9	0	0,40	0,90	143,3	300	88,8 (forte)
9	33	22	0	0,27	0,94	51,9	268	0,402 (forte)
10	34	6	1	0,29	1,05	57,9	258	0,426 (forte)
11	22	-	0	0,57	0,68	130,6	229	0,495 (forte)
12	28	7	0	0,49	1,07	76,7	151	0,540 (forte)
13	25	14	0	0,33	0,85	127,9	>300	0,489 (forte)
14	22	14	0	0,27	0,69	87,3	>300	0,494 (forte)
15	36	7	0	0,79	0,70	79,0	243	0,499 (forte)

IG = idade gestacional; Ind = Indeterminado; int = Intermediária.

¹ Valores de referência para IgM em sangue seco (Imunoscreen): amostra reativa se maior ou igual a 1,1; indeterminada se $\geq 0,9$ e $< 1,1$; não reativa se menor que 0,9. Todos os resultados apresentados nesta tabela para IgM em sangue seco foram negativos.

² Valores de referência para IgM em soro (ELFA-VIDAS): reativo se maior ou igual a 0,65; indeterminado entre 0,55 e 0,64 e não reativo se menor do que 0,55. Todos os resultados apresentados nesta tabela para IgM em soro foram positivos.

³ Valores de referência para IgG em sangue seco (Imunoscreen): negativo $< 6,2$; indeterminado de 6,3 a 20; positivo > 20 . Todos os resultados nesta tabela foram positivos para IgG em sangue seco, exceto a gestante número 1 que teve IgG indeterminado.

⁴ Valores de referência para IgG em soro: negativo se menor que 4,0, indeterminado entre 4,0 e 7,9 e positivo se maior ou igual a 8,0. Todos os resultados nesta tabela foram positivos pra IgG em soro.

⁵ Avidez de IgG realizada pelo método quimioluminescência (Hermes Pardini) nas gestantes de 1 a 8 (Valores de referência: avides forte se maior ou igual a 60%, intermediária entre 50 e 59% e fraca se menor que 50%) e por ELFA (FUNED) nas gestantes 9 a 15 (Valores de referência: avides forte acima de 0,300, intermediária se $\geq 0,200$ e $\leq 0,300$ e fraca se menor que 0,200).

Nas curvas ROC, observou-se que o teste *Imunoscreen*, realizado em sangue seco, foi capaz de discriminar as gestantes positivas e negativas quando comparado com o teste de referência, uma vez que ele apresentou área sob a curva igual 98,2% para IgG e 95,8% para IgM (Figura 2). Na avaliação da curva ROC para IgM, determinou-se o ponto com maior proporção de resultados verdadeiro-positivos e menor proporção de resultados falso-positivos e foi realizada uma simulação considerando-se esse ponto (índice 0,40) como um novo valor de referência do teste. De acordo com esse novo ponto de corte para o imunoensaio em sangue seco para IgM, as amostras foram reclassificadas, analisadas e apresentaram sensibilidade de 78,8% e especificidade 94,8%, com valor de Kappa de 52,7% (moderada concordância).

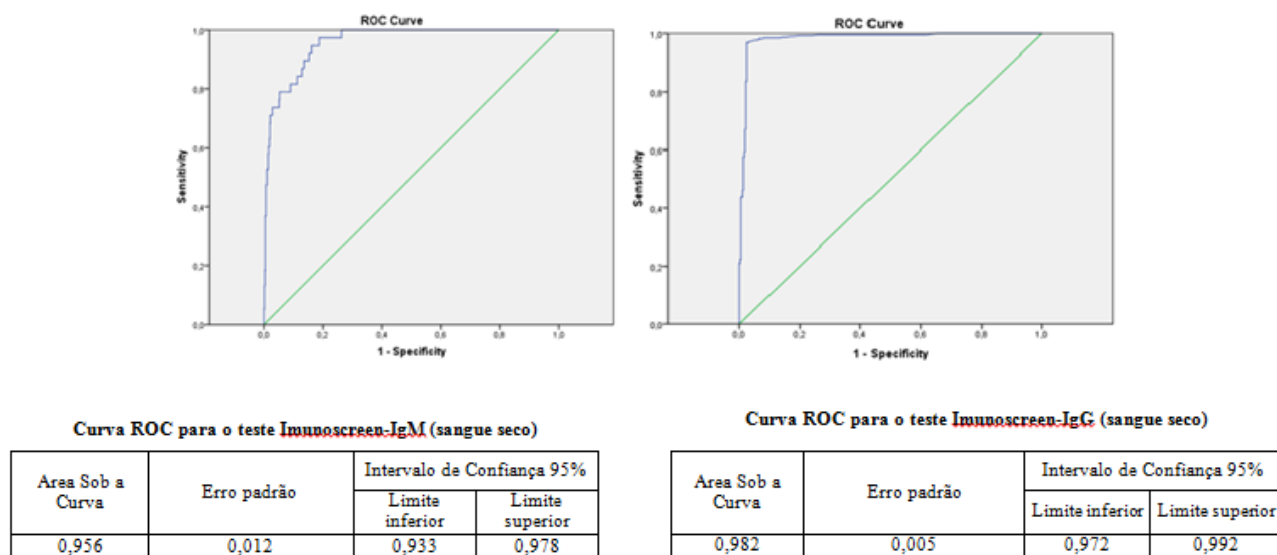


Figura 2: Curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para IgM e IgG anti-*T. gondii* realizado em sangue seco (*Imunoscreen*) comparado com o padrão de referência ELFA-VIDAS realizado em soro em 743 gestantes usuárias do SUS em Minas Gerais, no período de 01 de julho a 31 de dezembro de 2014.

Discussão:

A população estudada não apresentou diferença na procedência das gestantes por macrorregionais em relação à distribuição estimada ($p = 0.126$). A prevalência da toxoplasmose nesse grupo foi 45,2%, compatível com o resultado geral do programa no Estado, mas inferior aos achados em Belo Horizonte (11) e estimados para Minas Gerais (12). A diminuição nas taxas de prevalência da

toxoplasmose em gestantes tem sido relatada, principalmente na Europa, e relacionada aos avanços na qualidade de vida econômica e educacional da população (13). Estudo em Minas Gerais mostrou grande heterogeneidade no desenvolvimento econômico e educacional, e maior prevalência da toxoplasmose nos pequenos municípios com pior índice de desenvolvimento humano (14). Os dados disponíveis nesse momento não permitem associar o achado de prevalência do presente estudo com melhoria das condições de vida da população. Outra hipótese para explicar a prevalência encontrada é a possibilidade de a população ter adquirido maior conhecimento da parasitose e suas fontes de infecção, mas também não estão disponíveis dados que corroborem essa afirmativa em Minas Gerais. Avaliação realizada em outra região endêmica no Brasil (15) mostra o desconhecimento dos profissionais de saúde responsáveis pela assistência pré-natal em relação à toxoplasmose. Novos estudos são necessários para esclarecer esse achado.

Observou-se que a coleta de amostras de sangue das gestantes participantes do estudo ocorreu no final do primeiro trimestre de gestação (média de idade gestacional de 11,78 semanas, IC95%: 11,27-12,30), período que permite maior segurança na avaliação dos perfis sorológicos para definição da época de ocorrência da infecção pelo *T. gondii* e vigilância da toxoplasmose aguda em gestantes. O início do pré-natal foi mais precoce neste trabalho do que em estudo anterior realizado em Belo Horizonte, que encontrou início do pré-natal em média com 16 semanas (11). Esse início precoce dos cuidados de pré-natal tem sido observado nos dois anos do programa de controle da toxoplasmose congênita em Minas Gerais e pode estar associado ao trabalho de saúde pública para redução da morbimortalidade materno-infantil. Esse resultado reforça o momento propício para a triagem pré-natal para toxoplasmose em Minas Gerais.

Como a determinação da sensibilidade e especificidade, assim como a curva ROC, independe da prevalência do evento em estudo, o acréscimo das amostras obtidas em gestantes do programa à amostra original não interferiu com os cálculos das estimativas destes parâmetros (16). A especificidade foi alta tanto para IgM (98,4%, IC95%: 97,5-99,3%) quanto para IgG (96,9%, IC95%:

95,1-98,7%), o que significa que exames negativos apresentam grande probabilidade de representar as gestantes verdadeiramente negativas. Portanto, o teste em sangue seco com resultados não reagentes simultâneos para IgM e IgG pode ser interpretado, com boa chance de acerto, como indicativo de suscetibilidade e indicar a repetição da sorologia no pré-natal. A sensibilidade para IgG também foi alta (84,0%, IC95%: 80,0-88,0%), assim como a área sob a curva ROC, mostrando que o teste discrimina bem os resultados positivos e negativos. A sensibilidade de IgM no teste em estudo foi mais baixa (56,8%, IC95%: 35,6-78,0%), podendo ocorrer resultados falso negativos, o que é preocupante em testes de rastreamento. Em geral, quanto maior a especificidade, maior será o valor preditivo positivo (VPP do teste *Imunoscreen-IgG* = 97,3%; VPP do teste *Imunoscreen-IgM* = 63,6%), isto é, maior será a probabilidade de, perante um resultado positivo, haver infecção. Quanto maior a sensibilidade, maior será o valor preditivo negativo (VPN do teste *Imunoscreen-IgG* = 96,4%; VPN do teste *Imunoscreen-IgM* = 97,5%), isto é, maior será a probabilidade de, perante um resultado negativo, não haver doença. Mas, os cálculos de valor preditivo sofrem interferência da prevalência da infecção na população em estudo. Quanto maior a prevalência da infecção, maior será o valor preditivo positivo e menor será o valor preditivo negativo, isto é, quanto mais frequente for a ocorrência da infecção, mais provável será o encontro de verdadeiros positivos (aumentando o valor preditivo positivo), mas também será mais provável encontrar falsos negativos (diminuindo o valor preditivo negativo). Portanto, um resultado isolado de IgG positivo no primeiro trimestre de gestação representa, com grande chance de acerto, uma infecção adquirida previamente. Mas, para IgM, anticorpo menos prevalente (1-2 % em gestantes) (17), que reflete a ocorrência de infecção aguda, é menos provável encontrar os verdadeiros positivos (menor VPP do teste). Por este motivo, foi realizado o cálculo do kappa ajustado pela prevalência. Como o coeficiente de kappa depende da concordância devido ao acaso, é possível encontrar baixos valores desta medida devido à baixa prevalência do evento (no caso, IgM reagente), que costuma estar associada a baixos níveis de reprodutibilidade, e não devido a erros substanciais relacionados ao teste que se deseja aferir (18). O

Kappa de 60,9% para IgM anti-*T. gondii*, desconsiderados os resultados indeterminados, teve resultado de 93,2% quando ajustado pela prevalência, evidenciando a influência da baixa prevalência do anticorpo IgM no cálculo daquele parâmetro.

Importante considerar que estamos comparando o teste em estudo com um teste de referência que, embora apresente elevada sensibilidade e especificidade, pode não representar todos os indivíduos verdadeiros positivos e negativos.

Quando foram avaliados os resultados obtidos nas 15 amostras em que houve discordância do resultado de IgM entre os testes realizados nas amostras de sangue seco e soro, coletadas no primeiro trimestre de gestação, observou-se que em 93,3% dos casos as gestantes apresentavam títulos de IgM próximos ao *cut-off* nos resultados em soro, com alta avidéz de IgG em 80,0% dos casos. Embora o teste *Imunoscreen*, em sangue seco, tenha falhado na identificação de algumas gestantes com resultados de IgM muito baixos, possivelmente residuais, os dados desse estudo são insuficientes para avaliar a performance do teste para o diagnóstico das infecções agudas. Os imunoensaios realizados em soro estão cada vez mais sensíveis e frequentemente detectam “IgM não específicas” e “IgM residuais” (associado com IgG positiva em título estável). Nesses casos discordantes entre diferentes metodologias é indispensável a realização de outros testes, como ISAgA IgM e aglutinação diferencial, em laboratórios experientes no diagnóstico de toxoplasmose, assim como a repetição da sorologia em duas semanas para avaliar a evolução dos títulos de anticorpos e evitar erro de interpretação (17).

O cálculo simulado dos parâmetros de sensibilidade e especificidade para o teste *Imunoscreen*-IgM a partir de um novo valor de *cut-off* obtido na curva ROC, resultou em melhor performance do teste. De uma maneira geral, quanto menor for o *cut-off*, maior será a habilidade do teste em classificar os doentes como positivos, ou seja, maior será a sensibilidade e menor a especificidade. Para escolha do novo *cut-off* considerou-se o ponto onde a sensibilidade e a especificidade foram simultaneamente

maiores, o que nem sempre é adequado. Em algumas situações, quando não se pode correr o risco de não diagnosticar, é melhor privilegiar a sensibilidade. A realização de outros imunoensaios em sangue seco e o acréscimo de outros testes em soro, além de estudos com amostras maiores poderiam contribuir para esclarecer esses achados.

As razões de verossimilhanças positivas para IgM e IgG (40,8 e 38,0, respectivamente) indicam que os resultados dos testes positivos são mais prováveis de serem verdadeiros-positivos do que falsos-positivos. Por sua vez, a razão de verossimilhança negativa para IgG (0,04), com resultado muito próximo a zero, indica que o resultado negativo para esse teste é mais provavelmente verdadeiro-negativo do que falso negativo. Para IgM (0,42) não observamos um resultado tão bom, indicando a possibilidade de encontrarmos resultados falsos negativos.

Das 743 gestantes incluídas no estudo, houve registro de 144 nascimentos até o momento do término da coleta de dados. Realiza-se no PCTC o exame de rastreamento de IgM em sangue seco obtido no Teste de Triagem Neonatal de todos os filhos de mães suscetíveis e com suspeita de infecção aguda durante a gestação. Pretende-se realizar o seguimento dos recém-nascidos com indicação de realização de IgM em papel filtro das gestantes participantes neste estudo para confirmar ou descartar a infecção congênita ao final de 12 meses de vida. Dessa forma, teremos mais um dado para estudar a acurácia do exame em sangue seco para a detecção de infecção aguda em gestantes.

Concluindo, a implantação da triagem pré-natal para toxoplasmose utilizando amostra de sangue seco minimiza dificuldades de logística e custos, possibilitando o acesso de todas as gestantes do estado ao programa. No presente estudo observou-se concordância boa e muito boa, respectivamente para IgM e IgG, e concordância muito boa para IgM quando o kappa foi ajustado pela prevalência entre o teste *Imunoscreen* e o teste de referência em soro. Novos estudos são necessários, com maior tamanho de amostra, para avaliar o desempenho do teste na identificação da toxoplasmose aguda na gestante.

Agradecimentos

Este artigo é parte integrante da Dissertação de Mestrado de Bárbara Araújo Marques no Programa de Pós-graduação em Saúde da Criança e do Adolescente da Universidade Federal de Minas Gerais. Os autores agradecem ao CNPq pelo financiamento (MCTI/CNPQ/Universal 14/2014, processo Nº456491/2014-7), e ao Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) e à Fundação Ezequiel Dias (FUNED) pelo apoio para o desenvolvimento do estudo.

Referências Bibliográficas

1. Gonzalez J, Willis MS. Robert Guthrie, MD, PhD. Lab Medicine. 2009;40(12):748-9.
2. Cañedo-Solares I, Ortiz-Alegría LB, Figueroa-Damián R, Bustos-Bahena ML, González-Henkel H, Calderón-Segura E, et al. Toxoplasmosis in pregnancy: determination of IgM, IgG and avidity in filter paper-embedded blood. J Perinatol. 2009 Oct;29(10):668-72. PubMed PMID: 19554010. eng.
3. Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Seneforte FRdA, de Souza Júnior VG, Botelho CA, Figueiredo MS, et al. 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. Rev Bras Ginecol Obstet. 2005;27(8):442-9.
4. Sartori AL, Minamisava R, Avelino MM, Martins CA. Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás. Rev Bras Ginecol Obstet. 2011;33(2):93-8.
5. Amaral E. Um programa de triagem populacional para toxoplasmose? Rev Bras Ginecol Obstet. 2005;27(8):439-41.
6. Boa-Sorte N, Purificacao A, Amorim T, Assuncao L, Reis A, Galvao-Castro B. Dried blood spot testing for the antenatal screening of HTLV, HIV, syphilis, toxoplasmosis and hepatitis B and C: prevalence, accuracy and operational aspects. Braz J Infect Dis. 2014 Nov-Dec;18(6):618-24. Epub 2014/07/16. eng.

7. Resolução SES nº 3.331, de 20 de junho de 2012. Dispõe sobre a realização de diagnóstico laboratorial da Toxoplasmose Aguda Gestacional e Congênita em gestantes e recém nascidos no Estado de Minas Gerais. In: Gerais GdEdM, editor. Belo Horizonte: Secretaria de Estado de Saúde do Governo do Estado de Minas Gerais; 2012. p. 7.
8. Couto JCF, Avelino MM, Ferreira QTM. Toxoplasmose: Toxoplasmose e gestação. In: Couto LCF, Andrade GM, Tonelli E. Infecções Perinatais. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.
9. Murat JB, Dard C, Fricker Hidalgo H, Darde ML, Brenier-Pinchart MP, Pelloux H. Comparison of the Vidas system and two recent fully automated assays for diagnosis and follow-up of toxoplasmosis in pregnant women and newborns. Clin Vaccine Immunol. 2013 Aug;20(8):1203-12. PubMed PMID: 22696530. PMCID: Pmc3754515. Epub 2013/06/07. eng.
10. Altman DG. Practical Statistics for Medical Research. London: Chapman & Hall; 1991.
11. Carellos EVM, Andrade GMQd, Aguiar RALPd. Avaliação da aplicação do protocolo de triagem pré-natal para toxoplasmose em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil: estudo transversal em puérperas de duas maternidades. Cad Saude Publica. 2008;24(2):391-401.
12. Vasconcelos-Santos DV, Machado Azevedo DO, Campos WR, Orefice F, Queiroz-Andrade GM, Carellos EV, et al. Congenital toxoplasmosis in southeastern Brazil: results of early ophthalmologic examination of a large cohort of neonates. Ophthalmology. 2009 Nov;116(11):2199-205 e1. Epub 2009/09/12. eng.
13. Peyron F, Wallon M, Kieffer F, Garweg J. Toxoplasmosis. In: Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, Remington JS, Klein JO, editors. Remington and Klein's Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 8 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015.
14. Carellos EV, Caiaffa WT, Andrade GM, Abreu MN, Januario JN. Congenital toxoplasmosis in the state of Minas Gerais, Brazil: a neglected infectious disease? Epidemiol Infect. 2014 Mar;142(3):644-55. PubMed PMID: 23823156. Epub 2013/07/05. eng.
15. da Silva LB, de Oliveira Rde V, da Silva MP, Bueno WF, Amendoeira MR, de Souza Neves

E. Knowledge of toxoplasmosis among doctors and nurses who provide prenatal care in an endemic region. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2011;2011:750484. PubMed PMID: 21747644. PMCID: 3124125. Epub 2011/07/13. eng.

16. Martinez EZ, Louzada-Neto F, Pereira BdB. A curva ROC para testes diagnósticos. *Cadernos de Saúde Coletiva*. 2003;11(1):7-31.

17. Flori P, Chene G, Varlet MN, Sung RT. [Toxoplasma gondii serology in pregnant woman: characteristics and pitfalls]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2009 2009 Mar-Apr;67(2):125-33. PubMed PMID: 19297286. fre.

18. Brito C, Margareth Crisóstomo, Vasconcellos MTLd. Avaliação da concordância de dados clínicos e demográficos entre Autorizações de Procedimento de Alta Complexidade Oncológica e prontuários de mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2005;21(6):1829-35.

6- Considerações finais

Os métodos sorológicos mais utilizados para triagem pré-natal da toxoplasmose, identificados na revisão sistemática, foram os testes imunoenzimáticos para IgG e IgM, determinados a partir de amostras de soro. Estiveram presentes nos estudos publicados a partir da década de 1980 e foram utilizados de forma crescente, sendo a forma de triagem inicial mais citada a partir do ano 2000. O teste de avididade de IgG foi empregado pelos estudos publicados a partir de 1990 e apareceu como o teste confirmatório mais utilizado entre todos os programas de triagem da revisão, principalmente a partir de 2010, inclusive. Este teste revolucionou a triagem das gestantes para toxoplasmose por auxiliar na determinação da época da infecção pelo toxoplasma.

A maioria dos trabalhos encontrados na revisão sistemática foi proveniente de países do Velho Mundo, onde as infecções se dão por cepas menos virulentas do toxoplasma e causam doença de menor gravidade (1). No Brasil e em outros países latino-americanos, encontram-se cepas mais patogênicas do parasito, além de situação socioeconômica menos favorecida e alta prevalência da doença (2-4). Justifica-se, nas Américas, a busca por programas de triagem adaptados à sua extensão territorial com grandes regiões em desenvolvimento, onde os testes diagnósticos frequentemente não são realizados. O uso de amostras de sangue seco em papel filtro torna a triagem acessível ao universo da população, pois a coleta não necessita ser realizada por pessoal de laboratório especializado e dispensa o deslocamento da gestante, além de a amostra poder ser conservada na temperatura ambiente e transportada pelo correio, o que resulta em exames com baixo custo.

Na revisão sistemática, não houve publicações comparando testes utilizados para triagem da toxoplasmose em amostras de soro e sangue seco. Todos os programas utilizaram amostras em soro.

O uso do sangue seco para rastreamento da toxoplasmose em gestantes é utilizado por programas pré-natais brasileiros desde a década de 2000 e este material biológico representa uma alternativa minimamente invasiva para a punção venosa, com baixo custo e alcance populacional. Há poucos trabalhos publicados sobre a acurácia de testes imunoenzimáticos realizados em eluído de sangue seco quando comparado com o soro ou plasma para diagnosticar toxoplasmose em gestantes. O sangue seco, que é o sangue total capilar colhido em papel filtro, tem sido utilizado desde a década de 1960 principalmente para rastreamento neonatal de doenças metabólicas e infecciosas e está consagrado para este fim (5). Desde então, vários analitos clínicos têm sido medidos utilizando esta amostra biológica. Sabe-se que o sangue seco requer adaptações nas técnicas de processamento de amostras, já bem estabelecidas para o soro, mas ainda pouco padronizadas para o sangue seco. Devem ser adaptados reagentes, materiais de calibração, protocolos de eluição e controle de qualidade para otimizar a quantidade da amostra (6). Para triagem da toxoplasmose em gestantes com sangue seco em papel filtro, alia-se a estas particularidades a complexidade do diagnóstico desta parasitose na gravidez, em que a análise dos testes sorológicos deve levar em consideração diversos aspectos como o perfil imunológico da gestante antes da concepção ou no início da gestação, a idade gestacional em que o exame foi colhido, a repetição de testes de triagem inicial e uso de testes confirmatórios, o que forma um conjunto de dados que deve ser interpretado por equipe de referência especializada.

Encontramos apenas dois estudos publicados até o momento que realizaram a comparação entre os dois materiais biológicos (soro e sangue seco) para diagnosticar toxoplasmose em gestantes, sendo o primeiro em laboratório, que utilizou amostras selecionadas por conveniência (7) e o segundo que realizou a comparação na prática clínica (8). Ambos relataram alta sensibilidade (92,0% e 92,3%, respectivamente) e especificidade (100% e 99,9% respectivamente) para detecção de anticorpos IgM anti-*T. gondii*.

Realizamos um estudo transversal de base populacional estadual com gestantes do Programa de Controle da Toxoplasmose Congênita de Minas Gerais para avaliar o desempenho do sangue seco comparado com soro. Encontrou-se boa concordância entre os testes de imunoensaioenzimático de captura em eluído de sangue seco quando comparados com o método ELFA-VIDAS de referência em soro para IgM (Kappa 60,9%) e concordância muito boa para IgG (Kappa 93,9%), quando os resultados indeterminados não foram computados. A análise do Kappa, isoladamente, tem sido questionada para avaliar a concordância entre dois examinadores, ou no caso, dois testes, porque possui sérias restrições, em determinadas situações (9) e não leva em consideração as discordâncias presentes nos dados. Além disso, o Kappa pode ser influenciado pela prevalência. Uma vez que o valor de kappa depende da concordância devido ao acaso, é possível encontrar baixos valores desta medida devido à baixa prevalência do evento, que costuma estar associada a baixos níveis de reprodutibilidade, e não devido a erros substanciais relacionados ao teste que se deseja aferir (10). Esta é uma possível explicação para o Kappa de 60,9% para IgM anti-*T. gondii* em sangue seco quando comparado com o soro, uma vez que este anticorpo é de baixa prevalência na população, entre 1 a 2% (11), o que também foi verificado no presente estudo. Por este motivo, foi realizado o cálculo do Kappa ajustado pela prevalência de IgM, que indicou muito boa concordância (93,2%) entre os testes, desconsiderados os resultados indeterminados, evidência da influência da baixa prevalência deste anticorpo no cálculo daquele parâmetro.

A especificidade foi alta tanto para IgM (98,4%, IC 95% 97,5- 99,3%) quanto para IgG (96,9%, IC95% 95,4- 98,4%) e a sensibilidade para IgG também foi alta (84,0%, IC95% 80,1-87,9%), assim como a área sob a curva ROC, que foi maior que 95% tanto para IgM quanto para IgG, mostrando que o teste tem bom desempenho e discrimina bem os resultados positivos e negativos. Porém, a

sensibilidade de IgM no teste em estudo foi mais baixa (56,8%, IC 95%: 40,6- 73,0%), podendo ocorrer resultados falso negativos, o que é preocupante em testes de rastreamento. O cálculo simulado dos parâmetros de sensibilidade e especificidade para o teste Imunoscreen-IgM a partir de um novo valor de *cut-off* obtido na curva ROC resultou em melhor performance do teste. Uma adaptação no ponto de corte dos testes utilizados no PCTC deve ser considerada num estudo com maior tamanho de amostra, a fim de estabelecer com maior precisão um valor de *cut-off* com sensibilidade suficientemente alta, que não inviabilize o programa por detectar muitos casos falso-positivos, o que aumentaria o volume de testes confirmatórios necessários. Existe a possibilidade de o teste Imunoscreen em sangue seco não detectar bem a IgM residual como os testes realizados em soro e este pode ser um dos motivos para haver divergências entre as duas amostras. Na avaliação das 15 gestantes com resultados discordantes para IgM, com IgM positivo em soro, porém negativo em sangue seco, em 93,3% dos casos os resultados de IgM no soro tiveram títulos muito próximos ao *cut-off*, e alta avidéz de IgG em 80,0% dos casos. Testar um novo imunoensaio enzimático, de outro laboratório, é uma perspectiva que deve ser considerada. Por utilizar outros insumos para reagentes e calibradores, pode haver modificação nos resultados de desempenho do teste em sangue seco.

A força do nosso estudo inclui o tamanho da amostra estudada, que incluiu gestantes participantes do PCTC em todo o estado. O PCTC, implantado em 852 municípios de Minas Gerais (apenas Belo Horizonte não aderiu inicialmente), permitiu que a coleta fosse realizada de forma descentralizada, em todas as 13 macrorregiões do estado, com unidades de coleta determinadas aleatoriamente, e interpretação centralizada dos resultados no laboratório de referência do NUPAD-UFMG, FUNED e Hermes Pardini, todos em Belo Horizonte. Além disso, houve credibilidade nas amostras que foram coletadas, na maioria dos casos, simultaneamente (ou com até 24 horas de diferença) e no primeiro trimestre do pré-natal.

O Grupo Brasileiro de Toxoplasmose Congênita da UFMG realiza o seguimento das crianças filhas de mães detectadas no pré-natal com suspeita de infecção aguda. Pretende-se realizar um estudo longitudinal com acompanhamento das crianças filhas das gestantes incluídas neste estudo, até completarem um ano de idade, para esclarecer de forma mais fidedigna os resultados da comparação entre sangue seco e soro, pois dados adicionais sobre a taxa de transmissão congênita aumentam o poder de diagnóstico da infecção em gestantes.

Limitações do estudo incluem a realização de coleta de amostra única de soro e papel filtro de cada gestante, sem seguimento longitudinal, e o uso de um teste de referência que não pode ser considerado um padrão-ouro verdadeiro, por ser outro teste sorológico com acurácia inferior a 100%.

Como a triagem para toxoplasmose em gestantes com o sangue seco no Brasil acontece há menos de 15 anos, e há menos de três anos em Minas Gerais, ainda são necessários mais estudos sobre estes programas de rastreamento. Uma perspectiva seria a organização de um estudo multicêntrico entre os serviços que já possuem triagem implantada com o sangue seco no Brasil, o que possibilitaria amostra mais robusta para avaliação comparativa entre soro e sangue seco, com validade externa para o país. O resultado de um estudo de tamanha magnitude poderia levar a uma proposta de rastreamento pré-natal brasileiro padronizado para toxoplasmose. A toxoplasmose tem alta prevalência no Brasil e o país ainda não possui uma política nacional regulatória compulsória de triagem em gestantes, o que é um passo determinante para a prevenção da toxoplasmose congênita.

Referências Bibliográficas

1. Sauer A, de la Torre A, Gomez-Marin J, Bourcier T, Garweg J, Speeg-Schatz C, et al. Prevention of retinochoroiditis in congenital toxoplasmosis: Europe versus South America. *Pediatr Infect Dis J*. 2011 Jul;30(7):601-3. Epub 2011/02/24. eng.
2. Vasconcelos-Santos DV, Machado Azevedo DO, Campos WR, Orefice F, Queiroz-Andrade GM, Carellos EV, et al. Congenital toxoplasmosis in southeastern Brazil: results of early ophthalmologic examination of a large cohort of neonates. *Ophthalmology*. 2009 Nov;116(11):2199-205 e1. Epub 2009/09/12. eng.
3. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*. 139. England2012. p. 1375-424.
4. Gilbert RE, Freeman K, Lago EG, Bahia-Oliveira LM, Tan HK, Wallon M, et al. Ocular sequelae of congenital toxoplasmosis in Brazil compared with Europe. *PLoS Negl Trop Dis*. 2008;2(8):e277. PMCID: PMC2493041. Epub 2008/08/14. eng.
5. Gonzalez J, Willis MS. Robert Guthrie, MD, PhD. *Lab Medicine*. 2009;40(12):748-9.
6. McDade TW. Development and validation of assay protocols for use with dried blood spot samples. *Am J Hum Biol*. 2014 Jan-Feb;26(1):1-9. Epub 2013/10/17. eng.
7. Cañedo-Solares I, Ortiz-Alegría LB, Figueroa-Damián R, Bustos-Bahena ML, González-Henkel H, Calderón-Segura E, et al. Toxoplasmosis in pregnancy: determination of IgM, IgG and avidity in filter paper-embedded blood. *J Perinatol*. 2009 Oct;29(10):668-72. PubMed PMID: 19554010. eng.
8. Boa-Sorte N, Purificacao A, Amorim T, Assuncao L, Reis A, Galvao-Castro B. Dried blood

spot testing for the antenatal screening of HTLV, HIV, syphilis, toxoplasmosis and hepatitis B and C: prevalence, accuracy and operational aspects. *Braz J Infect Dis*. 2014 Nov-Dec;18(6):618-24. Epub 2014/07/16. eng.

9. Silva EF, Pereira MG. Avaliação das estruturas de concordância e discordância nos estudos de confiabilidade. *Rev Saude Publica*. 1998;32(4):383-93.

10. Brito C, Margareth Crisóstomo, Vasconcellos MTLd. Avaliação da concordância de dados clínicos e demográficos entre Autorizações de Procedimento de Alta Complexidade Oncológica e prontuários de mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cad Saude Publica*. 2005;21(6):1829-35.

11. Flori P, Chene G, Varlet MN, Sung RT. [Toxoplasma gondii serology in pregnant woman: characteristics and pitfalls]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2009 2009 Mar-Apr;67(2):125-33. PubMed PMID: 19297286. fre.

7- Anexos

ANEXO A: Lista de Unidades de Coleta (UC) selecionadas para cada macrorregião, quantidade de exames (soro e sangue seco) a serem realizados e UC reservas.

- **Macrorregião 1 - Jequitinhonha:**

Na macrorregião Jequitinhonha, será necessário enviar três kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 1, encontra-se a lista das 30 UC's desta macrorregião. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 1: Unidades de Coleta Selecionadas - Jequitinhonha

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	SEC. MUNIC./POLICLÍNICA MUNICIPAL DOMINGOS MOTA	14,25
2	CENTRO DE SAUDE DE COLUNA	9,625
3	UNIDADE BASICA DE SAUDE JULIA RODRIGUES PEREIRA	7,25
4	ESF VILA OPERÁRIA	6,5
5	POSTO DE SAÚDE DR. HUGO LOPES DE MACEDO	6,125
6	ESF PIEDADE I	6
7	UNIDADE MISTA DE SAÚDE	5,875
8	POSTO DE SAÚDE JOSÉ DE SOUZA LIMA/ESF BEIJA-FLOR	5,75
9	PSF PRIMEIRO DE MAIO	5,75
10	ESF PIEDADE II	5,5
11	ESF VISTA ALEGRE	5,25
12	ESF CHAPADINHA	5
13	CENTRO DE SAÚDE VIDA NOVA	4,875
14	POSTO DE SAUDE SANTA LUZIA	4,625
15	ESF LAVRAS VELHAS	4,375
16	ESF MARIA LÚCIA	4,375
17	CENTRO DE SAÚDE DE TURMALINA	3,75
18	CENTRO DE SAÚDE DE LEME DO PRADO	3,625
19	ESF APARECIDA	3,5
20	POSTO DE SAÚDE DE CHAPADA DO NORTE	3,5
21	ESF CAZUZA	3,125
22	POSTO DE SAÚDE TIA ANINHA	2,75
23	PSF SAO GERALDO	2,75
24	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE	2,75
25	ESF VILA DO PRÍNCIPE	2,625
26	ESF CAMINHOS DO IVITURUY	2,5
27	SEC. MUNIC./PSF DE CRUZINHA	2,5

28	ESF BARÃO DE SERRO	2,25
29	ESF SERRO FRIO	2,25
30	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE MANGABEIRAS	2,25
1ª R	CENTRO DE SAÚDE CRISTO REI	2
2º R	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SERRINHA	1,5
3ª R	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SOL	1,25

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas. Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

• **Macrorregião 2 - Nordeste:**

Na macrorregião Nordeste, será necessário enviar dois kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 2, encontram-se as 27 UC's selecionadas. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 2: Unidades de Coleta Selecionadas - Nordeste

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	POLICLÍNICA MUNICIPAL DE ARAÇUAÍ	36,75
2	CENTRO DE SAÚDE SEDE	12,125
3	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE DE DIVISA ALEGRE	8,125
4	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO PEDRO	7,625
5	UNIDADE MISTA CARLITO MURTA	7,5
6	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA JARDIM I E II	6,875
7	UNIDADE PSF LUZ DE AGUAS FORMOSAS	6,5
8	POSTO DE SAUDE DE SAO PEDRO DO JEQUITINHONHA	6,25
9	U S F MACHADO MINEIRO	6,125
10	PSF CENTRAL DE CATUJI	5,875
11	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA ESPERANÇA	5,5
12	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA BELA VISTA	5,25
13	CENTRO DE SAÚDE PROFESSORA EUTÁLIA DIAS NEVES	4,875
14	U S F PROGRESSO	4,75
15	CENTRO DE SAÚDE DE CATUJI	4,625
16	PSF ENFERMEIRA DONA NANA DE PADRE PARAISO	4,125
17	PSF DR DOMINGOS SAVIO PEREIRA	4
18	UNIDADE DE SAUDE DA FAMILIA SAUDE E CIDADANIA	4
19	POSTO DE SAÚDE DE PONTO DOS VOLANTES	3,875
20	UNIDADE BASICA DE SAUDE DE JORDANIA	3,875
21	CENTRO DE SAÚDE DE CRISÓLITA	3,625
22	CENTRO DE SAÚDE DE FRONTEIRA DOS VALES	3,25
23	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DARWIN CORDEIRO	3
24	PSF DONA AGOSTINHA RAMALHO DE MALACACHETA	3
25	UNIDADE DE SAUDE SAO BENTO	2,875
26	CENTRO DE SAÚDE JOSÉ BENEDITO DE ALMEIRA SANTANA	2,75
27	UNIDADE BASICA DE SAUDE MARIO PEREIRA DOS	2,75

SANTOS BITIU		
1ª R	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO CRISTÓVÃO	2,625
2ª R	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE DE FELISBURGO	2,125
3ª R	UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA CENTRAL	1,625

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas.
Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

• **Macrorregião 3 – Triângulo do Sul:**

Na macrorregião Triângulo do Sul, será necessário enviar três kits de coletas para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 3, encontram-se as 36 UC's selecionadas. As quatro últimas UC's são as reservas.

Tabela 3: Unidades de Coleta Selecionadas – Triangulo do Sul.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês
1	UBS TIRADENTES	31,625
2	LABORATÓRIO MUNICIPAL DE PATOLOGIA CLÍNICA	26,125
3	CAISM- Centro de atenção integral à saúde da mulher	16,75
4	UBS LUIZ MENEGHELLO	16,125
5	Hospital Universitário- Centro de atendimento à gestante	15
6	UBS GERALDO AFONSO DA SILVA	8
7	CENTRO DE SAÚDE DE CAMPO FLORIDO	7
8	UBS ROSA MARIA FRANGE MONTES DO NASCIMENTO	6,75
9	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE ÁGDA BORGES	6,75
10	PSF I DR. VITOR VIEIRA DA SILVA	6,25
11	ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SANTA MARIA	5,75
12	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE DR. ALEXANDRE ALVES	5,125
13	ESF NOVO HORIZONTE PSF I	5
14	UBS JULIETA ANDRADE CUNHA	4,875
15	UBS ALVARO GUARITA	4,75
16	ESF Bairro de Lourdes	4,625
17	PSF II ANTÔNIO BARBOSA LEÃO	4,375
18	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO FRANCISCO	4,25
19	PSF III - ALDERICO ANTÔNIO ALVES	4,125
20	ESF Parque das Américas II	4
21	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA PRIMAVERA	4
22	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE JOSÉ RIBEIRO DE SILVA	3,875
23	Estrategia Saude da Familia	3,75
24	ESF SAUDE EM CASA	3,5
25	UNIDADE DE SAUDE DR JOSE OLIMPIO DIAS	3,5
26	ESF Maringá	3,125
27	USF RESIDENCIAL 2000	3,125

28	CENTRO DE SAÚDE DE LIMEIRA DO OESTE	3
29	ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO JOSÉ	2,875
30	ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO LUCAS	2,875
31	CENTRO DE SAÚDE DE COMENDADOR GOMES	2,625
32	ESF II PERDIZES	2,625
33	HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA UFTM	1,875
34	URS Nídia Modesto Veludo	1,875
35	ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO PEDRO	1,75
36	CENTRO DE SAÚDE DE UNIÃO DE MINAS	1,375
1ª R	ESF JOSÉ ALVES GONDIM SOBRINHO	1
2ª R	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA PLANALTO	1
3ª R	ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SANTA RITA	0,875
4ª R	ESF Vila Arquelau	0,375

- **Macrorregião 4 – Norte de Minas**

Na macrorregião Norte de Minas, será necessário enviar três kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 4, encontram-se as 28 UC's selecionadas. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 4: Unidades de Coleta Selecionadas – Norte de Minas.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	CENTRO DE SAÚDE DR. OSCAR MAURÍCIO PORTO	15,25
2	ZACARIAS FARIAS VIEIRA	13,25
3	AMBULATÓRIO MUNIC. DE SAÚDE/PSF	13
4	UNIDADE DE SAÚDE HERLINDA SILVEIRA DIAS BRITO	12,75
5	PREFEITURA MUNICIPAL	12
6	CENTRO DE SAÚDE SAGRADA FAMÍLIA	10,5
7	CENTRO DE SAÚDE ALMERINDO ALVES DE BRITO FARIAS	8,625
8	PSF SAÚDE PARA TODOS	8,625
9	SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE VÁRZEA DA PALMA	8,625
10	CENTRO DE SAÚDE DE CAPITÃO ENÉAS	8,25
11	UNIDADE BASICA DE SAUDE CENTRAL	7,875
12	POSTO DE SAUDE COLONIA DOS PESCADORES	7,375
13	PSF VILA FORMOSA/PSF NOSSA SRA. DE FÁTIMA	7,25
14	CENTRO DE SAÚDE DR. VALDIR SILVEIRA	7,125
15	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA CENTRAL	7,125
16	PSF SAÚDE NO CAMPO/PSF MATO VERDE	7,125
17	POSTO DE SAÚDE PEDRAS GRANDES	6,375
18	UNIDADE PROG. SAÚDE DA FAMÍLIA /VIDA E SAÚDE	6,375
19	CENTRO SAÚDE DE GAMELEIRAS	5,75
20	CENTRO DE SAUDE SANTA LUZIA	5,625
21	UBS DELSON PINHEIRO DE AGUIAR	5,625
22	CENTRO DE SAÚDE DE SÃO JOÃO DO PACUÍ	5,5

23	UBS BRAZ JOAQUIM RIBEIRO	5,5
24	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO JOÃOZINHO	5,25
25	UAPS NOSSA SENHORA FATIMA	4,75
26	POSTO DE SAUDE DE BOA VISTA	4,5
27	PSF VALE DAS CANCELAS/UBS BOCAÍUVA	4,375
28	UNID. SAÚDE MILTON BOREM DE ALMEIDA JÚNIOR	4,375
1ª R	UAPS JOSEILSON FONSECA DA SILVA (CÍCERO PASSOS)	3,875
2ª R	UNIDADE PROGRAMA SAUDE DA FAMILIA BONFIM	3,75
3ª R	UBS MARIA FERREIRA NASCIMENTO	3,625

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas. Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

- **Macrorregião 5 – Leste:**

Na macrorregião Leste, será necessário enviar dois kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 5, encontram-se as 39 UC's selecionadas. As quatro últimas UC's são as reservas.

Tabela 5: Unidades de Coleta Selecionadas – Leste.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	UNIDADE SAÚDE BETHÂNIA I - II	27,875
2	UNIDADE DE SAÚDE VENEZA	25,5
3	UNIDADE II DE SAÚDE	22,375
4	UNIDADE DE SAÚDE JARDIM PANORAMA	19,5
5	UNIDADE DE SAÚDE CANAÃ	17,5
6	UNIDADE DE SAÚDE VILA CELESTE	16,25
7	CENTRO DE SAÚDE DE PEÇANHA	13,5
8	CENTRO DE SAÚDE DE SANTA MARIA DO SUAÇUI	11,625
9	CENTRO DE SAÚDE DE MANTENA	11,5
10	SEC. DE SAÚDE/ CENTRO DE SAÚDE DE CONSELHEIRO PENA	11
11	UNIDADE DE SAÚDE LIMOEIRO	10,375
12	USF ESPERANÇA II	10,25
13	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE	8
14	UNIDADE DE SAÚDE CIDADE NOBRE (UISA)	6,625
15	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE UDSON MARQUES	6,25
16	PSF VILA DOS OPERÁRIOS	6,125
17	ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA ADÃO SABINO	5,625
18	UNIDADE DE SAÚDE DE SÃO SEBASTIÃO DO ANTA	5,625
19	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA CALADÃO- cob contente	5
20	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SEDE	4,75
21	ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA OSVALDO CRUZ	4,5
22	CENTRO DE SAUDE DE CUPARAQUE	4,25
23	CENTRO DE SAÚDE DE CANTAGALO	4,125

24	CENTRO DE SAÚDE MARIA DE LOURDES GUIMARÃES	4,125
25	ESTRATÉGIA SAÚDE DA FAMÍLIA SANTA LUZIA	4
26	CENTRO DE SAÚDE SÃO GERALDO	3,875
27	CENTRO DE SAÚDE DE ALVARENGA	3,75
28	UBS PERPÉTUO SOCORRO- SALA DE VACINA	3,75
29	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DE COROACI	3,625
30	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DONA JUPIRA	3,375
31	PSF II SÃO VICENTE	3,125
32	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE MODESTO CHAGAS	3
33	ESTRATEGIA DE SAUDE DA FAMILIA RESIDENCIAL	2,875
34	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SANTO ANTÔNIO	2,625
35	PROGAMA SAUDE DA FAMILIA NACOES	2,375
36	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA N. SRA. APARECIDA I	2,25
37	UNIDADE BÁSICA DE SAUDE DE PERIQUITO	2,25
38	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE JAGUARAÇU	2
39	CENTRO DE SAÚDE GERALDO CATARINA	1,875
1 ^a	PROGRAMA SAUDE DA FAMILIA PANTANAL	1,875
R		
2 ^a	UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA PADRE LUIZ	0,75
R	BARROSO	
3 ^a	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA ESPERANÇA II	0,625
R		
4 ^a	CENTRO DE CONVIVÊNCIA LIBERATO DE PAULA E	0,25
R	SILVA	

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas. Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

- **Macrorregião 6 – Oeste:**

Na macrorregião Oeste, será necessário enviar dois kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 6, encontram-se as 23 UC's selecionadas. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 6: Unidades de Coleta Selecionadas – Oeste.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO GERALDO	13,625
2	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA PADRE LIBÉRIO	12,625
3	POLICLÍNICA DR. GÊ	11,625
4	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA BELA VISTA	10,375
5	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DOM BOSCO	9,25
6	PSF ANTÔNIO FERREIRA DO AMARAL	9
7	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA NOVO HORIZONTE	8,25
8	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA CENTRO	8,125
9	CENTRO DE SAÚDE NITERÓI	7,875

10	CENTRO DE SAÚDE DE ITAGUARA	7,375
11	PSF JOSÉ VAZ SOBRINHO SOUZA E SILVA	7,25
12	CENTRO DE SAÚDE MÁRIO LUIZ SILVA/PSF SÃO PEDRO	6,375
13	PSF JOSÉ EUSTÁQUIO DE AZEVEDO	6,25
14	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DIMAS GUIMARÃES	5,75
15	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA VARGEM GRANDE	5,625
16	CENTRO DE SAÚDE DANILO PASSOS	4,875
17	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO SEBASTIÃO	4,75
18	PSF JOSÉ EMÍDIO FERNANDES	4,75
19	ESF ESTRATEGIA SAUDE DA FAMILIA II DE S S DO OESTE	4,375
20	CENTRO DE SAÚDE ITAÍ	4,125
21	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA CENTRAL	3,625
22	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA MIGUEL SABINO	3,375
23	CENTRO DE SAÚDE DE CONCEIÇÃO DO PARÁ	2,875
1 ^a R	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA CIDADE NOVA	2,25
2 ^a R	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO JOSÉ DO SALGADO	2,25
3 ^a R	PSF 01 - CENTRO MÉDICO EDUCACIONAL LÁZARO MEDEIROS	2,125

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas. Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

- **Macrorregião 7 – Leste do Sul:**

Na macrorregião Leste do Sul, será necessário enviar cinco kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 7, encontram-se as 20 UC's selecionadas. As duas últimas UC's são as reservas.

Tabela 7: Unidades de Coleta Selecionadas – Leste do Sul.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	CENTRO MUNICIPAL SANTA MARGARIDA	16,625
2	POLICLÍNICA MUNICIPAL	13,125
3	Centro Municipal de Saúde de Ipanema	11,375
4	CENTRO DE SAÚDE DE LUISBURGO	8,375
5	POLICLÍNICA MUNICIPAL DE VIÇOSA	8
6	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA AMIGOS DA SAÚDE	6,5
7	CENTRO DE SAÚDE DE SIMONÉSIA	5,25
8	PSF SANTO ANTONIO	4,875
9	CENTRO DE SAÚDE DE ARAPONGA	4,75

10	CENTRO DE SAÚDE DE CHALÉ	4,75
11	AMBULATORIO SETTE DE BARROS	4,625
12	SEC. MUNIC. SAÚDE/PSF MATINHA	4,5
13	UBS NESTOR ANTÔNIO GOMES	4,5
14	PRONTO SOCORRO GIL MARTINS PINHEIRO	4,125
15	UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA RURAL	4,125
16	SEC. MUNIC. SAÚDE/P. S. REALEZA	4
17	PROGRAMA DE SAUDE DA FAMILIA I CANAA	3,875
18	UNIDADE DE SAÚDE VENÂNCIO LANA	3,875
19	Psf penha	3,375
20	Unid. Básica de Saude-Laboratorio Municipal	3,375
1 ^a	SEC. MUNIC. SAÚDE/PSF DOM	3,25
R	DORRÊA	
2 ^a	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA	1
R	DISTRITO SÃO DOMINGOS	

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas. Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

• **Macrorregião 8 – Triângulo do Norte:**

Na macrorregião Triângulo do Norte, será necessário enviar três kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 8, encontram-se as 23 UC's selecionadas. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 8: Unidades de Coleta Selecionadas – Triangulo do Norte.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	UAI PLANALTO	39,25
2	UAI PAMPULHA	28,875
3	UAI ROOSEVELT	23
4	CS NOSSA SENHORA DAS GRACAS UBS NOSSA SENHORA DAS GRACAS	15,875
5	CENTRO DE ATEND. ACOMPANHAMENTO MATERNO INFANTIL	14,625
6	UNIDADE DE ATENDIMENTO INTEGRADO LUIZOTE	12,625
7	UAPS GUARANI	11,75
8	CS TOCANTINS UBS DR FAUSTO GONZAGA DE FREITAS	10,125
9	UAPS SANTA ROSA	9,75
10	UBSF SHOPPING PARK	8,375
11	UBSF MORADA NOVA	7,25
12	UAPSF SÃO JORGE II E III	7
13	PSF NASF E AMBULATORIO MEDALHA MILAGROSA DE CAMPINA VERDE	6,875

14	UBSF CAMPO ALEGRE	6,625
15	UBS MORADA NOVA	5,875
16	UBSF JARDIM BOTANICO	5,5
17	UAPSF SÃO JORGE V	4,625
18	UAPS DONA ZULMIRA DR LAERTE ALVARENGA DE FIGUEIREDO	4,375
19	UAPSF MORUMBI II	4,375
20	C. S. ELIAS DE MORAIS	4,25
21	UAPSF SÃO JORGE IV	4,125
22	UAPSF SÃO GABRIEL	3,75
23	UBS SAO VICENTE	3,5
1 ^a	UBSF MORUMBI III	3,375
2 ^a	UBSF GRAVATAS	3,25
3 ^a	PSF3 HERMENEGILDO DE FREITAS	2,25

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas. Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

• **Macrorregião 9 – Noroeste:**

Na macrorregião Noroeste, será necessário enviar três kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 9, encontram-se as 23 UC's selecionadas. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 9: Unidades de Coleta Selecionadas – Noroeste.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	CENTRO DE SAÚDE CACHOEIRA	20,875
2	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE DE CHAPADA GAÚCHA	19,5
3	Centro de Saúde da Mulher e da Criança	14
4	PSF SÃO JOÃO EVANGELISTA	12,75
5	CASA SAUDE E MULHER	10,625
6	C. S. ANA TEODORO ALVES	9,875
7	UNIDADE MISTA DE SAÚDE DE FORMOSO	9,625
8	UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA ANDRÉ LUIZ I	9,375
9	PSF CHAPADINHA	8,875
10	UAPS SEBASTIÃO MANUEL LUIZ	7,375
11	PSF AMOREIRAS	6,75
12	CENTRO DE SAÚDE DR. ERIVAL ALBINO DE OLIVEIRA	6,625
13	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE DR. PAULO CORRÊA SILVA	6,5
14	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA BOA ESPERANÇA	5,875
15	PSF NOSSA SENHORA DE FÁTIMA	5,375
16	PSF NOVO HORIZONTE	5,25
17	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA MAMOEIRO	4,875

18	PSF NOSSA SRA. DE FÁTIMA	4,75
19	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SEBASTIÃO AMORIM II	4,25
20	P S F D ANDREZINA SEVERINO DE RESENDE	4
21	PSF AMIGOS DA SAÚDE	3,75
22	SECRET. MUNICIPAL DE SAÚDE/ PSF ALVORADA	3,25
23	SEC. MUNICIPAL DE SAÚDE/ PSF NITERÓI	3,125
1ª R	CENTRO DE SAÚDE DE CABECEIRA GRANDE	2,625
2ª R	PSF SANTANA EQ 25	2,125
3ª R	UNIDADE DE SAÚDE EUZÉBIO DE SIQUEIRA	1,375

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas.
Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

• **Macrorregião 10 – Sul:**

Na Macrorregião Sul, será necessário enviar dois kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 10, encontram-se as 39 UC's selecionadas. As quatro últimas UC's são as reservas.

Tabela 10: Unidades de Coleta Selecionadas – Sul.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	POLICLÍNICA DR. ANTÔNIO CÂNDIDO DE FIGUEIREDO	37,5
2	POSTO SAUDE DR JEREMIAS ZERBINI	33,125
3	POLICLÍNICA OSWALDO CRUZ	32
4	UNID MATERNO INFANTIL DE ANDRADAS	30,125
5	CLINICA DA MULHER MARIA MONICA DA SILVEIRA	28,375
6	MARIA DO ROSARIO RIBEIRO REIS	18,25
7	Policlínica Dr. Antônio Penha Nunes	17,75
8	POSTO DE SAUDE RISOLETA NEVES	16,75
9	POSTO DE SAÚDE PEDRO DE PERNA	15,875
10	UNIDADE MUNICIPAL DE ATENÇÃO À MULHER E A CRIANÇA - MATERNO INFANTIL	15,125
11	POSTO DE SAÚDE DO CAMPINHO	15
12	CENTRO CLÍNICO VEREADOR SEBASTIÃO BACCI	14,875
13	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE DE CALDAS	13
14	CENTRO DE SAÚDE DR. ANTÔNIO CÂNDIDO DE OLIVEIRA	11,875
15	AMBULATÓRIO MUNICIPAL DONA ITÁLIA FRANCO	11,5
16	MATERNO INFANTIL	11,25
17	CENTRO DE SAÚDE DE CAMANDUCAIA	11,125
18	CLÍNICA DE PRONTO ATENDIMENTO DR.MANOEL BRANDÃO	10,375
19	POSTO SAÚDE JOSÉ CARNEIRO CRUZ	10,25
20	SALA DE IMUNIZAÇÃO DR. PAULO ROBERTO VIANNA DE AND	9,875
21	UAPS DR. JOÃO EUGÊNIO DO PRADO	9,625

22	POSTO DE SAÚDE DE PEDRALVA	9,25
23	CENTRO DE SAÚDE	9
24	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE MANOEL GONÇALVES	9
25	POLICLÍNICA MUNICIPAL SÃO CAMILO	8,25
26	ESF AGENOR	6
27	UBS ELIZEU R DE BARROS GONCALVES	6
28	CENTRO DE SAÚDE DE GUAPÉ	5,25
29	PSF NOVO HORIZONTE	5,25
30	PSF PARQUE PINHEIROS	4,875
31	UNIDADE BASICA DE HELIDORA	4,875
32	POLICLÍNICA DE ITAJUBÁ	4,75
33	UNIDADE DE SAUDE DA FAMILIA CENTRAL	4,625
34	CENTRO DE SAÚDE SÃO JOÃO	4,375
35	UAPS DR. JACY FIGUEIREDO/USF IMACULADA I	4,375
36	CS DR CARLOS DAYRELL FRANCA	4,25
37	CENTRO COMUNITARIO PENHA	4,125
38	CENTRO DE ATENDIMENTO INTEGRAL A CRIANCA ITAJUBA	4,125
39	CENTRO DE SAÚDE DE TOCOS DO MOJI	4,125
1ª R	PSF DR MANOEL JOAQUIM RIOS	3,875
2ª R	SEC. DE SAÚDE/COORDENAÇÃO DA ATENÇÃO PRIMÁRIA	3
3ª R	C. DE SAÚDE CARLOS FELDMANN / PSF UNIDOS DA SAÚDE	2,875
4ª R	SÃO JUDAS TADEU	2,5

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas. Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

- **Macrorregião 11 – Sudeste:**

Na macrorregião Sudeste, será necessário enviar três kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 11, encontram-se as 25 UC's selecionadas. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 11: Unidades de Coleta Selecionadas – Sudeste.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	POLICLÍNICA MUNICIPAL DE CARANGOLA	19,75
2	CENTRO MUNICIPAL DE ATENÇÃO INTEGRAL A MULHER	17,125
3	UBS TARCÍSIO CAMPOS COUTINHO	12,375
4	SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE	11,25
5	ESF SÃO JOÃO DA SERRA/ CONCEIÇÃO DO FORMOSO	9,875
6	POLICLÍNICA MICRORREGIONAL DE SÃO JOÃO NEPOMUCENO	9,125
7	UNIDADE DE SAÚDE SÃO JOSÉ	8,875
8	CENTRO INTEGRADO DE SAÚDE	8
9	CENTRO DE SAÚDE LÊDA MARIA CAMPOS	6,875

10	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO BAIRRO GLÓRIA	6
11	UBS PROGRESSO PSF	5,875
12	UAPS VALE VERDE	5
13	ESF PONTE PRETA	4,625
14	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA PIONEIRA	4,625
15	UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA LUZ	4,625
16	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA VANGUARDA	4,5
17	MODULO DE PSF GOIABAL	4,375
18	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA HARMONIA	3,5
19	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE SANTO ANTÔNIO	3,5
20	ESF SÃO DOMINGOS	3,375
21	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA JAQUEIRA	3,25
22	PSF TRES MARIAS UNIDADE DE SAUDE DA FAMILIA TRES MARIAS	3,125
23	UNIDADE DO PSF DE PATROCINIO DO MURIAE	3
24	ESF RURAL I	2,75
25	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA NORDESTE	2,25
1ª	CENTRO DE SAÚDE SEBASTIÃO DIAS FILHO	1,75
2ª	PSF PROF. ROSA FANNI/UBS FARMACÊUTICO NICANOR BARBOSA DO AMARAL	1,75
3ª	UBS CRUZEIRO DO SUL	1,75

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas.
Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

- **Macrorregião 12 – Centro Sul:**

Na macrorregião do Centro Sul, será necessário enviar quatro kits de coleta para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 12, encontram-se as 22 UC's selecionadas. As três últimas UC's são as reservas.

Tabela 12: Unidades de Coleta Selecionadas – Centro Sul.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	HOSPITAL RAYMUNDO CAMPOS	18,75
2	CASA DA GESTANTE	11,5
3	PSF SAUDE PREVENTIVA	8,125
4	CENTRO DE SAÚDE DE RESSAQUINHA	6,875
5	UBS IPANEMA	6,625
6	UNIDADE DE SAÚDE DE SANTA CRUZ DE MINAS	6,25
7	NÚCLEO MATERNO INFANTIL	5,5
8	PSF URDINDO CUIDADO TECENDO SAUDE	5,375
9	PSF BAIRRO PROGRESSO	5
10	POSTO DE SAÚDE JARDIM BANDEIRANTES	4,75
11	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE WALTER FERNANDES	4,75

12	UBS - MUNICIPAL	4,5
13	CENTRO DE SAUDE DE PRADOS	4,375
14	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA VALE TUDO	3,625
15	PSF SAO JOAO I	3,375
16	PSF CACHOEIRA	3,25
17	UBS DR. EDSON FAGUNDES DO NASCIMENTO	3
18	PSF MORRO DA MINA	2,75
19	PSF SANTA MATILDE II	2,75
20	UBS VILA DO CARMO	2,625
21	PSF AMARO RIBEIRO	2,5
22	CENTRO DE SAÚDE DE CATAS ALTAS DA NORUEGA	2,25
1ª R	CENTRO DE SAÚDE DE ALTO RIO DOCE	2,125
2ª R	UNIDADE DO PROGRAMA DE SAUDE DA FAMILIA	1,875
3ª R	UNIDADE DE VACINAÇÃO	1,5

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas.
Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

- **Macrorregião 13 - Centro:**

Na macrorregião do Centro, será necessário enviar três kits de coletas para cada UC selecionada. A seguir, na Tabela 13, encontram-se as 33 UC's selecionadas. As quatro últimas UC's são as reservas.

Tabela 13: Unidades de Coleta Selecionadas – Centro.

Id	Unidade de Coleta	Média Coleta/Mês*
1	SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE	39,125
2	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA PALMITAL/CELSO DIANA	16,375
3	POLICLÍNICA MUNICIPAL DE CAETÉ	15,625
4	UAPS - POLICLÍNICA MUNICIPAL	14,875
5	POLICLINICA MUNICIPAL SIDERÚRGICA	14,375
6	UBS CRISTOVINA C. G. SOUZA - TERESÓPOLIS	11,625
7	CENTRO DE SAÚDE CAIC	10,375
8	UAPS VEREADOR VALTER TAVARES BAHIA	10,375
9	UNIDADE DE SAUDE ALCIDES CAMPOS	10,25
10	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO GERALDO	9,625
11	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA VÁRZEA DAS FLORES	9,5
12	CENTRO DE SAUDE ALCINA CAMPOS TAITSON	9,125
13	UNIDADE BÁSICA DE SAÚDE VILA CRISTINA	9,125
14	UBS DOMINGOS FERREIRA VALADARES	7,625
15	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA TIA LITA	7,25
16	UBS BENJAMIM CAMPOLINA DE AVELAR	6,5

	MARQUES	
17	UNIDADE DE SAÚDE DUVAL DE BARROS	6,25
18	CENTRO DE SAÚDE GENERAL CARNEIRO	5,75
19	CENTRO DE SAÚDE SANTA LUZIA DE BUENOPOLIS	5,75
20	UBS GILDA BATISTA	5,625
21	CENTRO DE SAÚDE AMÉLIA COTTA HOSKEN	5,25
22	CENTRO DE SAÚDE DE BALDIM	5,25
23	UBS JOSÉ FELICIANO HENRIQUES	5
24	UNIDADE DE SAÚDE RITA VIDIGAL MARTINS DA COSTA	4,875
25	CENTRO DE SAÚDE ALVORADA	4,375
26	PSF ARACI DE AMORIM PEREIRA LAGOA II	4,375
27	Estratégia de Saúde da Família Santa Filomena	4,25
28	JUATUBA UBS DE VILA MARIA REGINA	4,25
29	PROGRAMA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SÃO LUIZ I	4
30	CENTRO DE SAÚDE PINHÕES	3,375
31	PSF DONA AUREA PEREIRA GONCALVES LAGOA III	3,125
32	UBS MASTERVILLE	3,125
33	ESF ESPERANCA	3
1ª R	PSF DR. HÉLVIO MOREIRA SANTOS	3
2ª R	SEC. MUNICIPAL DE SAÚDE/C. S. STA MARIA DE ITABIRA	2,75
3ª R	ESF OITIS - EQUIPE 83 - DISTRITO RESSACA	2,125
4ª R	ESF NOVA CIDADE	1,75

*Representa uma média do valor mensal de coletas realizadas pelas UC's selecionadas.
Período considerado: Agosto/2013 a Março/2014.

ANEXO B: Informe para referências técnicas do município e da Unidade Básica de Saúde sobre o Projeto de Pesquisa.

À REFERÊNCIA TÉCNICA DO MUNICÍPIO _____

INFORME SOBRE O PROJETO DE PESQUISA “AVALIAÇÃO DOS EXAMES PARA DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE NA GESTANTE”

A toxoplasmose é uma infecção que pode acontecer durante a gestação e comprometer a visão e o cérebro da criança em formação no útero da mãe. A maioria das gestantes que adquirem a toxoplasmose na gravidez não tem sintomas, o que atrasa o diagnóstico e o início do tratamento. Para que o tratamento da gestante seja eficaz, o diagnóstico deve ser realizado o mais rapidamente possível durante o pré-natal. A realização de exames de sangue (sorologia) durante a gravidez é a forma mais comum de fazer o diagnóstico da infecção na gestante. Em Minas Gerais, está sendo realizada a sorologia para toxoplasmose o mais cedo possível após início da gestação, em todas as grávidas, como parte do “PROGRAMA DE CONTROLE DA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM MINAS GERAIS”. Nesse programa a triagem diagnóstica é realizada em sangue colhido em papel filtro.

Após um ano do início do programa, pretendemos avaliar a performance do teste na identificação das gestantes com infecção aguda. Para isso, vamos testar a sorologia em amostra de sangue seco e soro, colhidos ao mesmo tempo na primeira coleta de sangue no pré-natal, em apenas 1000 gestantes. Essa avaliação será realizada em todo Estado durante aproximadamente um a três meses. Para seleção da amostra, realizou-se sorteio entre os Centros de Saúde de cada uma das 13 Macrorregiões do Estado de Minas Gerais e o seu município foi um dos sorteados para participar dessa pesquisa.

UBS PARTICIPANTE(s): _____

Serão incluídas apenas..... gestantes, na ordem em que chegarem para iniciar o pré-natal nas Unidades Básicas de Saúde. Nesse momento, será colhido sangue por punção digital (papel filtro), que faz parte da rotina do programa de triagem, e uma amostra de sangue por punção venosa (soro). O Nupad enviará os kits para coleta do soro na primeira semana de julho. Se a coleta do soro não puder ser realizada na sua unidade de saúde, solicitamos **se possível** que o soro seja colhido em até 24 horas após a coleta do papel filtro. Não há

impedimento para a realização da coleta do soro após 24 horas da coleta do sangue em papel filtro, **mas é muito importante para a avaliação do teste que esse intervalo entre as duas coletas seja o menor possível.**

Todas as gestantes que participarem do estudo deverão assinar o termo de consentimento, que está sendo enviado junto com o kit para coleta do soro e deverá ser devolvido para o Nupad junto com o mesmo kit.

A rotina do Programa não será alterada e os resultados dos exames serão disponibilizados na página do Nupad.

Não haverá cobrança por nenhum exame oferecido como parte deste estudo.

Estamos à disposição para atender suas dúvidas através do telefone do NUPAD: 08007226500.

À UBS _____

INFORME SOBRE O PROJETO DE PEQUISA “AVALIAÇÃO DOS EXAMES PARA DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE NA GESTANTE”

A toxoplasmose é uma infecção que pode acontecer durante a gestação e comprometer a visão e o cérebro da criança em formação no útero da mãe. A maioria das gestantes que adquirem a toxoplasmose na gravidez não tem sintomas, o que atrasa o diagnóstico e o início do tratamento. Para que o tratamento da gestante seja eficaz, o diagnóstico deve ser realizado o mais rapidamente possível durante o pré-natal. A realização de exames de sangue (sorologia) durante a gravidez é a forma mais comum de fazer o diagnóstico da infecção na gestante. Em Minas Gerais, está sendo realizada a sorologia para toxoplasmose o mais cedo possível após início da gestação, em todas as grávidas, como parte do “PROGRAMA DE CONTROLE DA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM MINAS GERAIS”. Nesse programa a triagem diagnóstica é realizada em sangue colhido em papel filtro.

Após um ano do início do programa, pretendemos avaliar a performance do teste na identificação das gestantes com infecção aguda. Para isso, vamos testar a sorologia em amostra de sangue seco e soro, colhidos ao mesmo tempo na primeira coleta de sangue no pré-natal, em apenas 1000 gestantes. Essa avaliação será realizada em todo Estado durante aproximadamente um a três meses. Para seleção da amostra, realizou-se sorteio entre os

Centros de Saúde de cada uma das 13 Macrorregiões do Estado de Minas Gerais e a sua UBS foi uma das sorteadas para participar dessa pesquisa.

NÚMERO DE GESTANTES A SEREM INCLUÍDAS NA SUA UBS: _____

Serão incluídas apenas..... gestantes, na ordem em que chegarem para iniciar o pré-natal nas Unidades Básicas de Saúde. Nesse momento, será colhido sangue por punção digital (papel filtro), que faz parte da rotina do programa de triagem, e uma amostra de sangue por punção venosa (soro). O Nupad enviará os kits para coleta do soro na primeira semana de julho. Se a coleta do soro não puder ser realizada na sua unidade de saúde, solicitamos **se possível** que o soro seja colhido em até 24 horas após a coleta do papel filtro. Não há impedimento para a realização da coleta do soro após 24 horas da coleta do sangue em papel filtro, **mas é muito importante para a avaliação do teste que esse intervalo entre as duas coletas seja o menor possível.**

Todas as gestantes que participarem do estudo deverão assinar o termo de consentimento, que está sendo enviado junto com o kit para coleta do soro e deverá ser devolvido para o Nupad junto com o mesmo kit.

A rotina do Programa não será alterada e os resultados dos exames serão disponibilizados na página do Nupad.

Não haverá cobrança por nenhum exame oferecido como parte deste estudo.

Estamos à disposição para atender suas dúvidas através do telefone do NUPAD: 08007226500.

ANEXO C: Termos de Consentimento Livre e Esclarecido**TERMO DE ESCLARECIMENTO****SUBGRUPO FAIXA ETÁRIA IGUAL A OU MAIOR DE 18 ANOS – (GESTANTES)**

Título do projeto de pesquisa: AVALIAÇÃO DO IMUNOENSAIOENZIMÁTICO IMUNOSCREEN IGM E IGG EM SANGUE SECO PARA TRIAGEM DIAGNÓSTICA DA TOXOPLASMOSE AGUDA NA GESTANTE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

Investigadores: Bárbara Araújo Marques
Gláucia Manzan Queiroz de Andrade

Nome do indivíduo: _____ **Data:** _____

Convite para participar do estudo

Você está sendo convidado a participar como voluntário de um projeto de pesquisa que estamos realizando para avaliar se o teste realizado no sangue seco em papel filtro identifica todas as gestantes com toxoplasmose aguda identificadas no teste em soro. Você foi escolhida para participar da pesquisa porque está grávida e participa da “Triagem Pré-Natal para Toxoplasmose em Minas Gerais” e os resultados dos seus exames contribuirão para melhorar o programa de triagem.

Proposta de Pesquisa

Seu objetivo principal é avaliar um teste sorológico que pode ser realizado em sangue seco e utilizado na triagem pré-natal da gestante. Este teste utiliza a coleta de sangue em papel filtro, mesmo material do teste do pezinho. Ele é mais barato que o teste de triagem em soro, é fácil de armazenar e transportar, e tem coleta mais simples com punção da ponta do dedo. Será importante nos certificar se ele pode substituir o teste de referência com segurança. Esse conhecimento pode contribuir para a melhor estruturação da triagem pré-natal e ampliação do programa para outras populações. Adicionalmente, caso haja suspeita de toxoplasmose aguda, será feita uma tentativa de isolamento do parasito *Toxoplasma gondii* de seu sangue coletado com o anticoagulante EDTA.

Seus direitos

Sua participação neste estudo é estritamente voluntária. A recusa em participar não irá resultar em nenhuma penalidade ou perda de benefícios. Para se retirar imediatamente do estudo você poderá entrar em contato com a Dra. Bárbara Araújo (31-3889-4645; 31-8865-0988) e Dra. Gláucia Andrade (31-3283-2448; 31-3409-9772). Você e o profissional de saúde responsável pelo seu pré-natal serão informados dos resultados dos exames realizados devido ao estudo.

Procedimento

A sua inclusão nesta pesquisa envolverá a coleta de sangue venoso no mesmo momento em que for coletado sangue por punção digital (papel filtro). Para sua inclusão neste estudo, você (ou seu responsável legal) deverá assinar o Termo de Consentimento.

Se, você decidir não participar, mesmo depois de colher amostra de sangue, você tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase do estudo, independente do motivo e sem prejuízo do atendimento que está recebendo.

Riscos

Os riscos que você corre devido à coleta de sangue venoso são mínimos e, em geral, restritos a dor leve e desconforto local.

Benefícios

Não há nenhum benefício direto por sua inclusão neste estudo. Entretanto, sua participação poderá resultar em avanços nos exames de triagem na gravidez, com contribuição na prevenção da toxoplasmose congênita.

Custos

Não haverá nenhum custo adicional por sua participação neste estudo. Você não receberá nenhum pagamento por sua participação.

Confidencialidade

Os resultados dos seus exames serão fornecidos apenas a você e ao responsável por seu pré-natal. Os resultados dos exames também serão anotados no banco de dados dessa pesquisa, mas não haverá identificação do seu nome e o anonimato será garantido de acordo com a legislação atual.

Questões

Por favor, sinta-se à vontade para fazer qualquer pergunta sobre esta pesquisa ou sobre seus direitos como participante do estudo. Se outras perguntas surgirem mais tarde, você poderá entrar em contato com a Dra Bárbara Araújo (31-3889-4645; 31-8865-0988) e/ou Dra. Gláucia Andrade (31-3283-2448; 31-3409-9772), investigadores principais deste projeto. Se em qualquer período, durante ou após a pesquisa, você desejar discutir o estudo ou seus direitos na pesquisa com alguém que não está associado com o projeto proposto, você poderá entrar em contato com o coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. O número do telefone de contato é (31) 3409-4592. O COEP funciona no Campus da UFMG, na Unidade Administrativa II (prédio da Fundep), 2º andar, sala 2005.

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DO PROJETO DE PESQUISA

A proposta e procedimentos deste projeto de pesquisa, assim como o desconforto previsível, riscos e benefícios que podem ocorrer, foram explicados para mim. Eu tive a oportunidade de esclarecer minhas dúvidas com o médico responsável pelo estudo. Todas as minhas perguntas foram respondidas.

Adulto (maior de 18 anos)

Eu, _____, RG nº _____, concordo com a minha participação, como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito. Eu fui informado que a minha participação no estudo poderá ser interrompida a qualquer momento. Eu recebi uma cópia deste Termo de Consentimento.

_____ Data:

Assinatura do Indivíduo

DECLARAÇÃO DO INVESTIGADOR

O Investigador Principal explicou para o indivíduo mencionado acima a natureza e propósito dos procedimentos descritos acima e possíveis riscos, desconfortos e benefícios que podem ocorrer. Eu perguntei ao indivíduo se qualquer pergunta lhe ocorreu em relação aos procedimentos empregados e respondi essas perguntas da melhor forma possível.

_____ Data:

Assinatura do Pesquisador Responsável

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - Campus da UFMG, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005. Telefones de contato: (31) 3409-4592; 3409-4027.

TERMO DE ESCLARECIMENTO

SUBGRUPO FAIXA ETÁRIA 10 A 17 ANOS – (GESTANTE E SEUS RESPONSÁVEIS)

Título do projeto de pesquisa: AVALIAÇÃO DO IMUNOENSAIOENZIMÁTICO IMUNOSCREEN IGM E IGG EM SANGUE SECO PARA TRIAGEM DIAGNÓSTICA DA TOXOPLASMOSE AGUDA NA GESTANTE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

Investigadores: Bárbara Araújo Marques
Gláucia Manzan Queiroz de Andrade

Nome do Indivíduo: _____ **Data:** _____

Convite para participar do estudo

Você está sendo convidado a participar como voluntário de um projeto de pesquisa que estamos realizando para avaliar se o teste realizado no sangue seco em papel filtro identifica todas as gestantes com toxoplasmose aguda identificadas no teste em soro. Você foi escolhida para participar da pesquisa porque está grávida e participa da “Triagem Pré-Natal para Toxoplasmose em Minas Gerais” e os resultados dos seus exames contribuirão para melhorar o programa de triagem.

Proposta de Pesquisa

Seu objetivo principal é avaliar um teste sorológico que pode ser realizado em sangue seco e utilizado na triagem pré-natal da gestante. Este teste utiliza a coleta de sangue em papel filtro, mesmo material do teste do pezinho. Ele é mais barato que o teste de triagem em soro, é fácil de armazenar e transportar, e tem coleta mais simples com punção da ponta do dedo. Será importante nos certificar se ele pode substituir o teste de referência com segurança. Esse conhecimento pode contribuir para a melhor estruturação da triagem pré-natal e ampliação do programa para outras populações. Adicionalmente, caso haja suspeita de toxoplasmose aguda, será feita uma tentativa de isolamento do parasito *Toxoplasma gondii* de seu sangue coletado com o anticoagulante EDTA.

Seus direitos

Sua participação neste estudo é estritamente voluntária. A recusa em participar não irá resultar em nenhuma penalidade ou perda de benefícios. Para se retirar imediatamente do estudo você poderá entrar em contato com a Dra. Bárbara Araújo (31-3889-4645; 31-8865-0988) e Dra. Gláucia Andrade (31-3283-2448; 31-3409-9772). Você e o profissional de saúde responsável pelo seu pré-natal serão informados dos resultados dos exames realizados devido ao estudo.

Procedimento

A sua inclusão nesta pesquisa envolverá a coleta de sangue venoso no mesmo momento em que for coletado sangue por punção digital (papel filtro). Para sua inclusão neste estudo, você (ou seu responsável legal) deverá assinar o Termo de Consentimento.

Se, você decidir não participar, mesmo depois de colher amostra de sangue, você tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase do estudo, independente do motivo e sem prejuízo do atendimento que está recebendo.

Riscos

Os riscos que você corre devido à coleta de sangue venoso são mínimos e, em geral, restritos a dor leve e desconforto local.

Benefícios

Não há nenhum benefício direto por sua inclusão neste estudo. Entretanto, sua participação poderá resultar em avanços nos exames de triagem na gravidez, com contribuição na prevenção da toxoplasmose congênita.

Custos

Não haverá nenhum custo adicional por sua participação neste estudo. Você não receberá nenhum pagamento por sua participação.

Confidencialidade

Os resultados dos seus exames serão fornecidos apenas a você e ao responsável por seu pré-natal. Os resultados dos exames também serão anotados no banco de dados dessa pesquisa, mas não haverá identificação do seu nome e o anonimato será garantido de acordo com a legislação atual.

Questões

Por favor, sinta-se à vontade para fazer qualquer pergunta sobre esta pesquisa ou sobre seus direitos como participante do estudo. Se outras perguntas surgirem mais tarde, você poderá entrar em contato com a Dra. Bárbara Araújo (31-3889-4645; 31-8865-0988) e/ou Dra. Gláucia Andrade (31-3283-2448; 31-3409-9772), investigadores principais deste projeto. Se em qualquer período, durante ou após a pesquisa, você desejar discutir o estudo ou seus direitos na pesquisa com alguém que não está associado com o projeto proposto, você poderá entrar em contato com o coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG. O número do telefone de contato é (31) 3409-4592. O COEP funciona no Campus da UFMG, na Unidade Administrativa II (prédio da Fundep), 2º andar, sala 2005.

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR DO PROJETO DE PESQUISA

A proposta e procedimentos deste projeto de pesquisa, assim como o desconforto previsível, riscos e benefícios que podem ocorrer, foram explicados para mim. Eu tive a oportunidade de esclarecer minhas dúvidas com o médico responsável pelo estudo. Todas as minhas perguntas foram respondidas.

Eu, _____, RG nº _____, responsável legal por _____, RG nº _____

concordo com a sua participação, como voluntário, no projeto de pesquisa acima descrito. Eu fui informado que a participação do meu filho(a) no estudo poderá ser interrompida a qualquer momento. Eu recebi uma cópia deste Termo de Consentimento. Caso eu concorde, as informações obtidas a partir desta pesquisa poderão ser repassadas para o médico de meu filho (a) ou criança que cuido e isto poderá auxiliá-lo no tratamento.

_____ Data:

Assinatura do Pai, Mãe ou Responsável

_____ Data:

Assinatura da gestante de 10 a 17 anos

DECLARAÇÃO DO INVESTIGADOR

O Investigador Principal explicou para o indivíduo mencionado acima a natureza e propósito dos procedimentos descritos acima e possíveis riscos, desconfortos e benefícios que podem ocorrer. Eu perguntei ao indivíduo se qualquer pergunta lhe ocorreu em relação aos procedimentos empregados e respondi essas perguntas da melhor forma possível.

_____ Data:

Assinatura do Pesquisador Responsável

Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - Campus da UFMG, Unidade Administrativa II, 2º andar, sala 2005. Telefones de contato: (31) 3409-4592; 3409-4027.

ANEXO D: Kappa ajustado pela prevalência

A prevalência de uma dada condição na população pode afetar o resultado final da estatística Kappa. Por depender da concordância devida ao acaso, o Kappa pode ter um pequeno valor devido à baixa prevalência do evento, que está associada à baixa reprodutibilidade, e não a erros substanciais relacionados ao procedimento de aferição empregado (1).

São descritos dois paradoxos na interpretação do Kappa, levando em consideração que as medidas de concordância são afetadas de maneiras complexas pela presença de bias entre os observadores (diferença entre as proporções de respostas “sim” entre eles) e pela distribuição de dados nas tabelas 2x2 (“prevalência”, ou proporção de respostas “sim” dadas pelos observadores) (2).

Considere a seguinte tabela 2x2:

		Observador A		
		Sim	Não	Total
Observador B	Sim	a	b	G_1
	Não	c	d	G_2
	Total	F_1	F_2	N

O primeiro paradoxo descreve que diante de valores iguais de concordância observada [$p_o = (a+d)/N$], o Kappa pode variar substancialmente com diferentes valores de concordância esperada pelo acaso (p_e), principalmente se p_e é grande. O segundo paradoxo descreve que totais marginais desbalanceados na tabela 2x2 produzem

resultados mais altos de kappa do que totais balanceados, mesmo que aqueles mostrem pior concordância (2).

Diante disto, foi proposto um kappa ajustado pela prevalência e pelo bias. Ele ajusta o kappa para diferenças nas prevalências de respostas “sim” e “não” entre os observadores e para bias entre os observadores, através da obtenção do valor de Kappa após substituição dos valores de b e c por sua média [$m = (b+c)/2$], assim como os valores de a e d [$n = (a+d)/2$]. A tabela do Kappa ajustado pela prevalência pode, portanto, ser representada da seguinte maneira:

		Observador A	
		Sim	Não
Observador B	Sim	n	m
	Não	m	n

Como nesta tabela $p_e = 0,5$, obtém-se:

$$\text{Kappa ajustado: } \frac{(2n/N) - 0,5}{1-0,5} = 2p_o - 1$$

O Kappa ajustado pela prevalência também varia de -1 a +1, como o Kappa de Cohen, e tem valor zero quando a concordância é de 50% (2).

Referências:

1. Brito C, Margareth Crisóstomo, Vasconcellos MTLd. Avaliação da concordância de dados clínicos e demográficos entre Autorizações de Procedimento de Alta Complexidade Oncológica e prontuários de mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Cad Saude Publica. 2005;21(6):1829-35.
2. Byrt T, Bishop J, Carlin JB. Bias, Prevalence and Kappa. J CLin Epidemiol. 1993;46(5):423-429.

ANEXO E: Termos de aprovação do projeto de pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DO IMUNOENSAIOENZIMÁTICO IMUNOSCREEN IGM E IGG EM SANGUE SECO PARA TRIAGEM DIAGNÓSTICA DA TOXOPLASMOSE AGUDA NA GESTANTE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

Pesquisador: Glaucia Manzan Queiroz Andrade

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 12760813.5.0000.5149

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina ((UFMG))

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 257.199

Data da Relatoria: 26/04/2013

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um estudo observacional, transversal, prospectivo, com 1078 gestantes participantes do Programa de Triagem Pré-Natal (PTPN) para Toxoplasmose Congênita, atendidas nos 853 municípios do estado de Minas Gerais, locais nos quais serão convidadas e recrutadas e submetidas à coleta de sangue. Destas gestantes, 40 serão gestantes com infecção aguda por toxoplasmose, as quais serão submetidas também à coleta de amostra após soroconversão documentada (IgM e IgG negativos em teste prévio na gestação, que apresentarem resultados positivos para os dois anticorpos, associado a baixa avididade de IgG), além da coleta habitual referente ao pré-natal, à qual todas as gestantes serão submetidas. Foi realizada a seleção aleatória das UBS. Haverá uso de dados do cartão de pré-natal das gestantes participantes do estudo para preenchimento de uma ficha de identificação. A pesquisa de anticorpos em soro será realizada no laboratório da FUNED e o teste Western-Blot será realizado no Laboratório de Toxoplasmose do Departamento de Parasitologia do ICB-UFMG. Há cronograma com início da coleta de dados em 01/04/2013, descrição de análise estatística e orçamento de noventa e três mil, novecentos e setenta e sete reais e quarenta centavos, com financiamento de agências de fomento.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário: - Avaliar a acurácia do teste de triagem em sangue seco, comparado ao teste de

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Andar 30120-005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS



referência realizado em soro, para identificar gestantes com toxoplasmose aguda na gestação.

Objetivos Secundários: - Determinar a prevalência da toxoplasmose nas gestantes mineiras; - Avaliar a concordância entre dois imunoenaios para determinação de IgM e IgG anti-T. gondii na gestação, sendo um realizado em sangue seco e outro em soro com a metodologia ELISA; - Avaliar a concordância entre dois imunoenaios para determinação de IgM e IgG anti-T. gondii na gestação, sendo um realizado em sangue seco e outro em soro com o método de referência ELFA-VIDAS; - Avaliar a concordância entre o imunoenso em sangue seco para determinação de IgM e IgG anti-T. gondii na gestação e o Western-Blot em soro; - Avaliar sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) do Western-Blot em soro para o diagnóstico da toxoplasmose aguda (soroconversão) em gestantes suspeitas".

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

As gestantes serão submetidas à punção venosa para realização dos testes de triagem, "o que pode representar risco físico e psíquico devido ao procedimento invasivo. Porém, a coleta poderá ser realizada juntamente com exames de rotina do pré-natal, sem necessidade de punção venosa suplementar exclusiva para a pesquisa. Além disso, serão necessários apenas 10ml de sangue (um tubo) para os exames, quantia pouco significativa, considerando-se a volemia da paciente adulta. Os resultados da pesquisa serão tornados públicos, sejam eles favoráveis ou não. Garante-se a continuidade do acompanhamento e tratamento das pacientes independente da sua inclusão no estudo. Será preservado o sigilo das pacientes participantes da pesquisa".

Quanto aos benefícios, "a pesquisa poderá trazer benefícios principalmente coletivos para as gestantes mineiras. Seus resultados poderão ratificar o uso de um método simples e barato para rastreamento de toxoplasmose na gravidez, com aumento da cobertura de triagem pré-natal. Isso levará à maior eficiência no diagnóstico de infecções agudas em gestantes, objetivando diminuir as taxas de transmissão congênita. Além disso, o conhecimento da prevalência da infecção por toxoplasmose em gestantes de Minas Gerais será importante para o planejamento de ações de saúde pública, com possíveis melhorias no estado em relação à condução da toxoplasmose na gravidez".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo proporcionará a análise da acurácia do exame do sangue seco comparado ao exame convencional para toxoplasmose em gestantes. Trata-se de um exame de punção digital, de baixo custo e com praticidade no armazenamento e transporte, havendo poucos estudos sobre esta comparação de testes na literatura.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O título do termo de esclarecimento foi modificado para Termo de Consentimento Livre e

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad 31 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Esclarecido e está em linguagem adequada, com riscos, benefícios e direitos. Foi devidamente providenciado TCLEs diferentes para diferentes faixas etárias. Para gestantes entre 10 e 12 anos, o TCLE documento único e ser assinado pelos pais ou responsáveis e também pela criança - que será verbalmente informada sobre a pesquisa no limite de sua capacidade.

Para gestantes adolescentes entre 13 e 17 anos, assinatura em documentos separados - um TCLE para os adolescentes e outro para seus pais ou responsáveis. Foi revisto o cronograma da pesquisa, com início da coleta de dados após a aprovação do COEP, mais exatamente para início da coleta de dados reprogramada para 01/06/2013.

O documento que contém as respostas às diligências consta que: Foi retirada a afirmativa sobre apoio da Secretaria de Saúde do Estado de Minas Gerais (SES-MG), pois embora a SES-MG seja parceira do NUPAD no programa de triagem, a pesquisa está sendo desenvolvida no NUPAD.

Recomendações:

Foram devidamente observadas as solicitações da diligência.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Somos pela aprovação do projeto "AVALIAÇÃO DO IMUNOENSAIO ENZIMÁTICO IMUNOSCREEN IGM E IGG EM SANGUE SECO PARA TRIAGEM DIAGNÓSTICA DA TOXOPLASMOSE AGUDA NA GESTANTE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL" da pesquisadora Glaucia Manzan Queiroz Andrade e da orientadora Bárbara Araújo Marques.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita apreciação da CONEP:

Não

Considerações finais a critério do CEP:

Aprovado conforme parecer.

BELO HORIZONTE, 26 de Abril de 2013

Assinador por:
Maria Teresa Marques Amaral
(Coordenador)

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad 31 2005
Bairro: Unidade Administrativa II CEP: 31.270-901
UF: MG Município: BELO HORIZONTE
Telefone: (31)3409-4532 E-mail: coep@prpq.ufmg.br

**Departamento de Pediatria
Faculdade de Medicina da UFMG**

Parecer N° 05/2013

Pesquisador: Profa. Gláucia Manzan Queiroz de Andrade e Bárbara Araújo Marques

Departamento: Pediatria

Título do Projeto: Avaliação do Imunoensaioenzimático Imunoscreen Igm e Igg Em Sangue Seco para Triagem Diagnóstica da Toxoplasmose Aguda na Gestante: Estudo de Base Populacional

Mérito:

Trata-se de estudo transversal com o objetivo avaliar a acurácia do teste de triagem em sangue seco, comparado ao teste de referência realizado em soro, para identificar gestantes com toxoplasmose aguda na gestação.

O teste com sangue seco em papel filtro tem uso consagrado para triagem neonatal e tem sido proposto como método de triagem em gestantes. Tem como vantagens o baixo custo e a praticidade no armazenamento e transporte, além de técnica pouco invasiva de coleta sanguínea (punção digital na gestante). O seu uso no pré-natal pretende facilitar a coleta de exames, com objetivo de implantar a triagem sorológica universal da toxoplasmose nas gestantes. Há poucos estudos em relação à precisão e acurácia do sangue seco comparada ao soro convencional para esta sorologia, sendo necessária a investigação de não inferioridade da amostra coletada em papel filtro, comparada com soro. Propõe-se um estudo transversal para avaliação da acurácia diagnóstica entre o teste de triagem em sangue seco e o teste de referência em soro para toxoplasmose nas gestantes mineiras. O estudo tem delineamento transversal, sua base de estudo é populacional, com cegamento para os executores dos exames (sangue seco e soro). Os resultados do estudo poderão contribuir para o bom desempenho da triagem pré-natal no Estado.

O estudo é muito bem descrito contendo uma revisão sobre o tema, as etapas do estudo e o possível impacto dos seus resultados. O estudo tem vários pontos positivos, como a relevância do tema da pesquisa, seu delineamento e metodologia. Os princípios básicos da ética em pesquisa foram adequadamente contemplados. Além disso, pelo material enviado ao relator fica evidente a experiência e a capacidade da equipe em executar esse projeto. Concluindo, o projeto está bem delineado e tem inegável importância clínica e de saúde pública, podendo contribuir para o conhecimento do tema. Sou pela aprovação sem ressalvas do referido projeto.

Voto:

Aprovação do projeto pela Câmara Departamental sem diligências para envio ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG.

**APROVADO EM REUNIÃO DE
CÂMARA DEPARTAMENTAL**

08 / 03 / 13

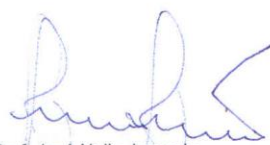

Profª Benigna Maria de Oliveira
Chefe do Departamento de Pediatria
Faculdade de Medicina - UFMG

DECLARAÇÃO DE APOIO INSTITUCIONAL

Declaramos que o projeto intitulado **"AVALIAÇÃO DO IMUNOENSAIOENZIMÁTICO IMUNOSCREEN IGM E IGG EM SANGUE SECO PARA TRIAGEM DIAGNÓSTICA DA TOXOPLASMOSE AGUDA NA GESTANTE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL"**, coordenado pela Profa. Gláucia Manzan Queiroz Andrade foi considerado exequível no âmbito do Núcleo de Pesquisa em Apoio Diagnóstico da Faculdade de Medicina da UFMG – NUPAD.

Conforme normas regimentais do NUPAD e cumpridas às diretrizes da sua Central de Projetos, o projeto receberá o apoio logístico, solicitado e aprovado pela coordenação do núcleo, detalhado no corpo do projeto base.

Belo Horizonte, 26 de outubro de 2012.



Prof. José Nelio Januario
Diretor Geral do NUPAD
Faculdade de Medicina - UFMG

ANEXO F: Cópia da ata da defesa

	UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE SAÚDE DA CRIANÇA E DO ADOLESCENTE	UFMG
---	--	-----------------------------------

ATA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DA ALUNA BÁRBARA ARAÚJO MARQUES

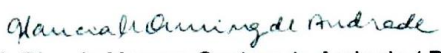
Realizou-se, no dia 14 de julho de 2015, às 14:00 horas, na sala 60/62, andar térreo da Faculdade de Medicina da UFMG, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de dissertação, intitulada **"COMPARAÇÃO ENTRE ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS REALIZADOS EM AMOSTRAS DE SANGUE SECO E SORO PARA TRIAGEM PRÉ-NATAL DA TOXOPLASMOSE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL"**, apresentada por **BÁRBARA ARAÚJO MARQUES**, número de registro 2013650439, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde - Saúde da Criança e do Adolescente, à seguinte Comissão Examinadora formada pelos Professores Doutores Gláucia Manzan Queiroz de Andrade - Orientadora (UFMG), Ricardo Wagner de Almeida Vitor (UFMG) e Waleska Teixeira Caiaffa (UFMG).

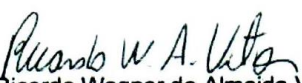
A Comissão considerou a dissertação:

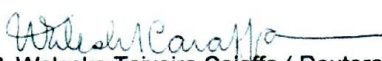
☒ Aprovada

☐ Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 14 de julho de 2015.

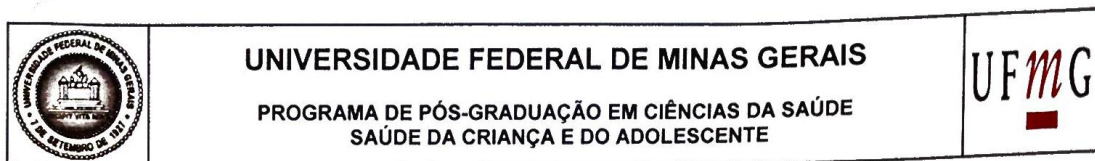

 Profª. Gláucia Manzan Queiroz de Andrade (Doutora)


 Prof. Ricardo Wagner de Almeida Vitor (Doutor)


 Profª. Waleska Teixeira Caiaffa (Doutora)


 CONFERE COM ORIGINAL
 Centro de Pós-Graduação
 Faculdade de Medicina - UFMG

ANEXO G: Folha de aprovação



FOLHA DE APROVAÇÃO

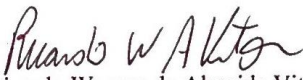
COMPARAÇÃO ENTRE ENSAIOS IMUNOENZIMÁTICOS REALIZADOS EM AMOSTRAS DE SANGUE SECO E SORO PARA TRIAGEM PRÉ-NATAL DA TOXOPLASMOSE: ESTUDO DE BASE POPULACIONAL

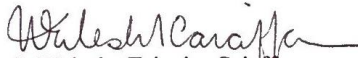
BÁRBARA ARAÚJO MARQUES

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Saúde da Criança e do Adolescente, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde - Saúde da Criança e do Adolescente, área de concentração Ciências da Saúde

Aprovada em 14 de julho de 2015, pela banca constituída pelos membros:


Prof.^a. Glauca Manzan Queiroz de Andrade - Orientadora
UFMG


Prof. Ricardo Wagner de Almeida Vitor
UFMG


Prof.^a. Waleska Teixeira Caiá
UFMG

Belo Horizonte, 14 de julho de 2015.