

# 1. INTRODUÇÃO

---

A infecção pelo *Toxoplasma gondii* tem distribuição mundial com prevalência variável de região para região, de acordo com o clima e hábitos da população. É freqüente em regiões tropicais e no Brasil encontram-se prevalências variando de 54% a 75%<sup>1</sup>. Em Belo Horizonte, Guerra<sup>2</sup> estudou adultos clientes de laboratórios de análises clínicas, amostrados aleatoriamente, e encontrou uma prevalência de 50,5%. Em 1987, Camargo<sup>3</sup> pesquisou a população do município de Ribeirão das Neves e encontrou 59,4% de positividade para *T. gondii* em amostra aleatória de todas as idades.

A infecção ocorre principalmente em regiões quentes, úmidas e de menor altitude, e a população de gatos, hospedeiros definitivos do parasita, é importante para aumentar as chances de infecção da população<sup>1</sup>. As principais fontes de infecção para o ser humano são a ingestão de cistos contidos na carne crua ou mal cozida, a ingestão de oocistos presentes na terra e/ou areia e/ou água contaminadas com fezes de gatos infectados e a via transplacentária, quando a mulher adquire a infecção durante a gestação. No Brasil encontramos as condições propícias para que a toxoplasmose ocorra na gestante.

A infecção adquirida geralmente é assintomática em cerca de 70% dos casos, tornando o diagnóstico dependente, muitas vezes, de exames laboratoriais. Isso assume importância quando se considera que cerca de 30-40% das mulheres em idade fértil estarão susceptíveis a contrair a infecção.

A infecção aguda da gestante infecta o feto em 40% dos casos (transmissão transplacentária) e as conseqüências podem ser o aborto ou seqüela grave para o concepto, com déficit visual e

atraso no desenvolvimento neuropsicomotor<sup>4, 5</sup>. Cerca de 80% das crianças infectadas verticalmente não apresenta sintomas ao nascimento, vindo a manifestar sinais da doença tardiamente com acometimento principalmente ocular e do sistema nervoso central<sup>6</sup>. Estudos têm demonstrado que estes casos podem apresentar seqüelas significativas quando não tratados no primeiro ano de vida<sup>6, 7</sup>. Nos lactentes com doença manifesta ao nascimento e não-tratados, ou tratados por pouco tempo, espera-se uma morbidade substancial em longo prazo<sup>8-10</sup>. Estudo colaborativo realizado em Chicago mostrou, após um período médio de seguimento de  $10,5 \pm 4,8$  anos, que o tratamento prolongado (12 meses) de 120 crianças com toxoplasmose congênita, no primeiro ano de vida, esteve associado a melhor prognóstico visual, auditivo e neurológico,<sup>7</sup> quando comparado com controles históricos de crianças não tratadas ou tratadas por período de tempo muito curto<sup>6, 10</sup>.

Foram realizados vários estudos em todo o mundo para determinar a incidência da toxoplasmose congênita e formas de evitá-la. No hemisfério norte estima-se que nasçam de 1-10 crianças infectadas para cada 10.000 nascidos vivos, de acordo com o local de desenvolvimento do estudo<sup>4, 11</sup>. No Brasil as estimativas sofrem maior variação, pela dificuldade em realizar estudos com grandes amostragens. Recentemente, estudos utilizando a metodologia da triagem neonatal têm detectado taxas elevadas de infectados por nascidos vivos, com variações de 1/500 em Campos dos Goytacazes – RJ<sup>12</sup> a 1/3.000 no Rio Grande do Sul<sup>13, 14</sup>.

Vários são os fatores considerados de risco para a gestante adquirir a infecção pelo *Toxoplasma gondii*, sendo os mais citados: idade, baixa escolaridade, gestação ou maior paridade, contato com gatos, manuseio do solo, ingestão de carne crua ou mal-cozida, ingestão de água não fervida ou não filtrada, comer vegetais crus mal higienizados<sup>4</sup>.

Estima-se que a infecção congênita pelo *T. gondii* ocorra com frequência em nosso país, tornando necessário o conhecimento do seu impacto na saúde das crianças e discussão de propostas de abordagem profilática adequada para diminuir a ocorrência de casos e/ou seqüelas na infância e adolescência.

O momento ideal para o diagnóstico da infecção congênita é intra-útero, quando a gestante e o feto podem ser tratados, mas as dificuldades de abordagem sistematizada, além das dúvidas em relação à eficácia do tratamento<sup>15</sup>, estimulam outras propostas. Recentemente, a triagem neonatal tem sido avaliada como estratégia para o diagnóstico precoce da infecção e tratamento pós-natal. Os principais argumentos para utilização dessa estratégia são: a maioria das toxoplasmoses congênitas são subclínicas; essas crianças, se não tratadas, podem apresentar complicações neurológicas e/ou oculares tardiamente, ao longo da infância até a vida adulta; o tratamento precoce e prolongado da criança infectada (com doença clínica ou subclínica) diminui as chances dessas complicações.

Uma das condições necessárias para viabilização da triagem é a disponibilidade de métodos diagnósticos com elevada sensibilidade e fácil execução, para utilização em larga escala. A utilização da IgM anti-*Toxoplasma gondii* como teste de triagem está firmada no conceito bem estabelecido de que esta imunoglobulina não atravessa passivamente a placenta e, portanto, sua presença indica a infecção fetal. As técnicas atualmente utilizadas para exame garantem uma sensibilidade e especificidade de cerca de 80%, sendo o melhor teste disponível no momento para diagnóstico precoce da toxoplasmose congênita, podendo ser testado em sangue seco.

O New England Regional Newborn Screening Program (NERSP) desenvolve um programa de triagem neonatal para toxoplasmose desde 1986, utilizando a determinação da IgM específica pela técnica de ELISA-captura com bons resultados<sup>16</sup>. Os casos triados, após confirmação diagnóstica, são tratados durante um ano, e os autores acreditam que o custo desse programa é muito favorável quando comparado com o custo social e financeiro das perdas visuais e/ou intelectuais das crianças afetadas.

A escolha de qualquer programa de triagem requer estudo da doença, testes dos procedimentos, tratamento e suporte administrativo, de forma que uma relação dano-benefício possa ser estabelecida<sup>17</sup>. Apesar do número considerável de publicações, não existe consenso sobre a estratégia mais eficaz para triagem da toxoplasmose congênita<sup>18-23</sup>. No Brasil já se observam algumas experiências de triagem pré-natal e neonatal; os obstetras solicitam testes para pesquisar a infecção em consultórios privados ou públicos, embora de forma não sistematizada; e disponibiliza-se em laboratórios privados a possibilidade de pesquisar a infecção nos testes de triagem neonatal. Portanto, faz-se necessário desenvolver estudos que avaliem a melhor estratégia para profilaxia da infecção, aplicável a toda a população e respeitando as características da região.

Esse estudo foi motivado pela incerteza dos benefícios do tratamento pré-natal; pelas dificuldades na implantação de programas de triagem pré-natal em países em desenvolvimento; pela disponibilidade de programas organizados de triagem neonatal para outras doenças; pela possibilidade de utilizar um teste automatizado para identificar IgM anti-*T. gondii* em sangue seco; pela disponibilidade, no sistema público de saúde, da medicação recomendada para o tratamento das crianças; e pelos resultados de estudos de seguimento mostrando benefícios do tratamento pós-natal na diminuição de seqüelas visuais e

neurológicas. Também considerou-se que para adoção de uma profilaxia efetiva contra a toxoplasmose congênita, era necessário conhecer os principais fatores de risco para aquisição da infecção presentes na região, pois o excesso de informações oferecido às gestantes pode diminuir a capacidade de adesão às recomendações e, conseqüentemente, a eficácia do programa. Esperamos que os resultados desse estudo possam contribuir para a escolha de uma estratégia efetiva na diminuição das conseqüências da toxoplasmose congênita para as crianças em Minas Gerais.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

---

### 2.1. O parasita

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário, parasita intracelular obrigatório, que tem como hospedeiro definitivo os membros da família Felidae (gatos domésticos e selvagens) e como hospedeiros intermediários os mamíferos e aves<sup>1</sup>. Nesses últimos, incluindo o homem, ocorre a forma assexuada de reprodução do parasita. O ciclo sexuado ocorre apenas no intestino dos gatos, onde, após uma série de esquizogonias, acontece a diferenciação de gametas, fecundação e formação de oocistos. Os oocistos eliminados pelas fezes dos gatos não são infectantes (não esporulados), mas em ambiente favorável se tornam infectantes (esporulados) em um dia a semanas, assim permanecendo por cerca de um ano. Os oocistos esporulados contêm esporozoítos infectantes e podem contaminar o solo e a água, mas não suportam solo árido, clima frio com ciclos de degelo e podem ser destruídos pelo aquecimento.

O ciclo assexuado ocorre nos hospedeiros intermediários e definitivos e tem início, geralmente, com a ingestão de oocistos eliminados pelas fezes dos gatos ou cistos teciduais, contendo bradizoítos, presentes na carne crua ou mal cozida de alguns animais. Após ingestão, a parede externa dos cistos ou oocistos é rompida por degradação enzimática e as formas infectantes, bradizoítos e esporozoítos, respectivamente, são liberadas no lúmen intestinal onde rapidamente invadem as células do hospedeiro e se diferenciam em taquizoítos (formas de multiplicação rápida), por divisão assexuada. Os taquizoítos se propagam pelo rompimento de células infectadas, disseminando-se por via hematogênica ou linfática através dos macrófagos, neutrófilos e monócitos ou sob a forma livre, podendo sobreviver por breves períodos nos líquidos intersticiais e exsudatos<sup>24</sup>.

O período inicial da infecção caracteriza a fase aguda, onde os taquizoítos se multiplicam rapidamente e podem ser encontrados em vários órgãos do corpo, incluindo a placenta. A placentite pode levar à infecção fetal (transmissão vertical)<sup>4</sup>. A célula invadida morre e desencadeia reação inflamatória aguda, responsável pelas conseqüências da infecção no feto. Com o desenvolvimento da imunidade, a multiplicação é interrompida e ocorre a formação de cistos teciduais, que caracterizam a fase crônica da infecção<sup>1</sup>. Esses cistos contendo bradizoítos em multiplicação lenta, podem permanecer viáveis durante toda a vida do hospedeiro, provavelmente sem causar danos<sup>25</sup>, e se localizam principalmente nos músculos, sistema nervoso central e retina, mas podem ser encontrados em quase todos os tecidos. Indivíduos imunocomprometidos (AIDS, neoplasias linfáticas) podem ter bradizoítos transformados novamente em taquizoítos, causando recrudescência da doença<sup>4</sup>. É possível que nos casos de infecção subclínica ocorra uma fase intermediária, sub-aguda, entre as fases aguda e crônica, de duração incerta, na qual os cistos teciduais já formados coexistam com taquizoítos em multiplicação mais lenta do que na fase aguda. Esse processo explicaria a patogênese de algumas lesões observadas na toxoplasmose congênita<sup>4</sup>.

Análise molecular do *Toxoplasma gondii* distingue, principalmente, três genótipos ou linhagens clonais, conhecidas como cepas, em amostras de todo o mundo. Essas análises mostraram que a maioria das cepas, designadas tipos I, II e III, podem infectar animais e humanos e, aparentemente, diferem em sua virulência, comportamento biológico e padrões epidemiológicos de ocorrência<sup>26-28</sup>. Observam-se também, em muito menor proporção, cepas recombinantes (mistura dos gens das cepas dominantes) e exóticas (estrutura genética diversa). Uma das características das linhagens clonais é a capacidade de transmissão por via oral, nem sempre observada nas linhagens exóticas. Em relação à virulência, o genótipo I tem

se mostrado mais virulento que o II e III, em modelos experimentais. Quanto ao comportamento biológico, as cepas I e II têm sido associadas à infecção congênita e a cepa III à infecção animal. Os genótipos também apresentam distribuição geográfica diferente, predominando o tipo II na América do Norte e França<sup>29</sup>; os tipos II e III na Índia<sup>30</sup> e Egito; os três tipos, predominando o tipo III na África<sup>31</sup>; os três tipos na Argentina e México<sup>32</sup> e o tipo I no Brasil<sup>33, 34</sup>, Colômbia e Peru<sup>35</sup>. Experimentos realizados no laboratório de Toxoplasmose do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG) para identificar as cepas de *T. gondii* isoladas no Brasil, permitiu caracterizá-las como recombinantes naturais, fato ainda não registrado em outros locais do mundo<sup>36</sup>. Estes achados foram confirmados mais recentemente em isolados de *T. gondii* obtidos em Erechim, no estado do Rio Grande do Sul<sup>37</sup>. Estudos futuros esclarecerão o significado dessas diferenças em relação ao risco de transmissão, manifestações clínicas e resposta terapêutica na toxoplasmose congênita.

## 2.2. Infecção na gestação

A infecção pelo *T. gondii* tem distribuição mundial, mas a prevalência é variável de região para região, de acordo com características da população: idade, meio social ou étnico, tipo de alimentação, hábitos de higiene pessoal e de trabalho, cuidados com a água consumida e formas de cultivo e criação de animais utilizados no consumo humano, acesso à informação (educação)<sup>5</sup>. Nas regiões em que ocorre maior transmissão, a prevalência da infecção congênita é maior e a priminfecção ocorre precocemente, ainda na infância. Esse é o cenário observado nos países em desenvolvimento. Nos países desenvolvidos, a priminfecção geralmente ocorre na adolescência ou vida adulta. A prevalência da infecção aumenta com a idade, resultado do risco acumulado de exposição, e não varia entre os sexos. A toxoplasmose



pode ocorrer em surtos associados ao consumo de água contaminada com oocistos<sup>38, 39</sup> ou de carne contendo cistos do parasita e ingerida crua ou mal cozida<sup>40</sup>. Nessa ocasião ocorrem inúmeros casos de toxoplasmose aguda e muitos de toxoplasmose congênita.

Nas mulheres imunocompetentes, apenas a priminfecção durante a gestação constitui risco significativo de infecção do feto, embora já tenham sido relatados raros casos de transmissão materno-fetal em gestantes imunocompetentes com infecção crônica<sup>41, 42</sup>. Por isso, Couvreur<sup>5</sup> recomenda, empiricamente, aguardar seis meses após a infecção aguda antes de engravidar e Desmonts<sup>4</sup> recomenda tratar aqueles casos de infecção periconcepcional como infecção aguda na gestação. Pode ocorrer reinfecção em humanos<sup>4</sup>, mas esse fato está documentado principalmente em animais<sup>43</sup>, não sendo possível avaliar, até o momento, o impacto dessa ocorrência na infecção congênita humana.

Em imunocomprometidos (AIDS, quimioterapia para câncer, transplantes) a toxoplasmose geralmente decorre da reativação de uma infecção latente pré-existente, as manifestações clínicas podem ser graves e, embora incomum, pode ocorrer infecção fetal<sup>4</sup>. Mulheres imunocompetentes, infectadas pelo *T. gondii* previamente à gestação, podem apresentar reativação de lesão ocular durante a gravidez, mas essa reativação não parece significar risco de infecção para o feto<sup>44</sup>.

A toxoplasmose adquirida na infância ou vida adulta, é geralmente assintomática em indivíduos imunocompetentes. O período de incubação varia de acordo com a fonte de infecção, sendo de 10 a 23 dias quando decorrente do consumo de carne crua ou mal cozida e de 5 a 20 dias devido à ingestão de oocistos<sup>1</sup>. Em cerca de 10-20% das infecções pode ocorrer manifestação leve e incomum como linfadenopatia cervical, febre, mal estar e astenia,

com resolução espontânea dentro de semanas a meses<sup>4</sup>. Acredita-se que a linfadenomegalia ocorra cerca de um a dois meses após a infecção<sup>4</sup>. A toxoplasmose adquirida é uma infecção benigna e de resolução espontânea em adultos imunocompetentes. Estudo recente avaliando 131 crianças com toxoplasmose congênita observou que mais de 50% das mães dessas crianças não se recordavam de exposição a fatores de risco conhecidos para toxoplasmose, nem da presença de sinais e/ou sintomas sugestivos da parasitose durante a gestação<sup>45</sup>.

A transmissão da toxoplasmose da mãe para o filho (transmissão vertical) se dá por via hematogênica e a infecção placentária é etapa obrigatória. Após a infecção da placenta, ocorre um intervalo de dias a semanas até a infecção fetal. A duração desse período não é completamente conhecida e estima-se que seja mais longo no início da gravidez do que no final<sup>4</sup>. Com base nesse conceito, sugere-se aguardar pelo menos quatro semanas entre a infecção materna e a pesquisa de infecção fetal para melhorar a sensibilidade da investigação<sup>46</sup>. A infecção fetal é mais comum na fase da parasitemia associada com a infecção aguda, mas, após a fase aguda podem persistir focos de parasita na placenta, que podem ser liberados na circulação fetal em fase tardia da infecção materna. Esse é o conceito que justifica a manutenção do tratamento durante toda a gestação, mesmo quando o feto não está infectado<sup>4</sup>.

### 2.2.1. Risco de infecção na gestação

O risco de infecção pelo *T. gondii* durante a gravidez depende da prevalência da infecção em uma determinada população (circulação do parasito no meio) e do número de mulheres suscetíveis em idade reprodutiva nessa mesma população. Se o número de mulheres suscetíveis for grande, mas a circulação do parasito pequena, o risco de infecção gestacional é

pequeno; ao contrário, se a população de suscetíveis for pequena, mas a circulação do parasita grande, o risco de infecção é grande<sup>11</sup>. A incidência da infecção tem sido estimada, na Europa, em 3 a 10 para cada 1000 gestantes suscetíveis<sup>11, 47, 48</sup>. Na América Latina essa taxa pode ser maior, sendo relatado a taxa de soroconversão de 8,6% em Goiânia, Brasil<sup>49</sup>. O risco é maior nas mulheres jovens<sup>5, 50</sup> e para as mulheres que emigram de um local com baixa prevalência para outro com alta<sup>4</sup>.

### 2.2.2. Risco de transmissão vertical e de comprometimento do feto

Se a mulher adquire a infecção pelo *T. gondii* durante a gestação (priminfecção), o risco de transmissão ao feto é variável, independe da presença de sinais/sintomas maternos e depende, principalmente, da idade gestacional em que ocorreu a infecção materna. O risco de transmissão pode ser influenciado pelas medidas instituídas para prevenção, diagnóstico e tratamento da infecção durante a gestação<sup>11</sup>. O risco global de infecção do feto durante a gestação foi estimado em cerca de 40% em estudos franceses realizados na década de 1970<sup>4, 5</sup>, mas, mais recentemente, foi estimado em 29%<sup>51</sup>, sendo de 2% nas oito primeiras semanas, 6% até 13 semanas, 72% até 36 semanas e 81% quando a infecção primária ocorre após a 36ª semana de gestação, período em que a placenta está bem desenvolvida e com melhor irrigação sanguínea<sup>4</sup>. Infecções maternas anteriores à gestação, geralmente não estão associadas a risco para o feto, exceto se a gestante é imunocomprometida, mas, embora raros, existem relatos de infecção fetal em gestantes imunocompetentes com toxoplasmose crônica<sup>41, 42, 52-54</sup>.

Se o feto for infectado, devido à sua imaturidade, poderá apresentar graus variáveis de comprometimento, geralmente mais graves se a infecção ocorreu precocemente durante a gestação<sup>51, 55, 56</sup>. O risco de comprometimento do feto se relaciona de modo inverso com a

idade gestacional. As infecções maternas no último trimestre de gestação apresentam risco elevado de infecção fetal, mas geralmente a criança nasce assintomática. Estudo realizado para avaliar o risco de desenvolvimento de seqüelas (retinocoroidite, calcificação craniana isolada e/ou hidrocefalia) na criança com toxoplasmose congênita até os três anos de idade, estimou um risco de 61% quando a infecção ocorreu até a 13ª semana, 25% na 26ª semana e 9% na 36ª semana. Após a 36ª semana o risco ainda foi de 6%. Esses resultados permitiram aos pesquisadores estimar o risco de comprometimento da criança antes de decidir sobre medidas invasivas de diagnóstico fetal. Multiplicando-se o risco de infecção fetal pelo risco de desenvolvimento de seqüelas na criança obteve-se uma taxa de risco variável, que foi maior nas infecções adquiridas entre as 12ª e 24ª semanas de gestação<sup>51</sup>. Isso porque o risco de transmissão da infecção para o feto é pequeno no início da gestação e o risco de seqüelas graves na criança é pequeno nas infecções adquiridas no final da gestação. Entretanto, o risco de retinocoroidite não é influenciado pela idade gestacional em que ocorreu a infecção materna, podendo haver lesão ocular grave nas infecções adquiridas no final da gestação<sup>56</sup>. Deve-se ressaltar que nesse estudo as gestantes infectadas foram, em sua maioria, tratadas com espiramicina e, quando identificado pelo ultra-som obstétrico que a criança estava gravemente comprometida, foi permitido à mãe decidir pela interrupção da gestação, induzindo a um viés de seleção pela subestimação dos casos graves de toxoplasmose congênita. Portanto, esses resultados podem não se aplicar a populações onde esses recursos não são utilizados.

### 2.2.3. Prevalência em gestantes no Brasil

A toxoplasmose é uma das parasitoses mais comuns nos seres humanos e as diferentes prevalências encontradas refletem estilos de vida e hábitos das populações, que podem

favorecer a exposição às fontes da infecção. Considerando-se que os indivíduos que apresentam maior risco de desenvolver toxoplasmose grave são os imunodeficientes e as crianças nascidas de mães que tiveram infecção aguda durante a gestação, torna-se prioritário o conhecimento da prevalência da infecção nas mulheres em idade reprodutiva para estimar o risco de infecção da gestante e do feto. Essas informações são fundamentais para o planejamento regional de medidas preventivas em relação à toxoplasmose congênita<sup>57-59</sup>. Estudos recentes têm observado diferentes prevalências da toxoplasmose entre grupos socioeconômicos distintos – sendo a prevalência maior em grupos economicamente menos favorecidos (classes C, D e E)<sup>14, 60</sup>, o que reforça a necessidade de conhecer a realidade regional para planejar programas que facilitem a inclusão de toda a população de risco.

Observa-se em todo o mundo, prevalências da infecção, medida pela presença de anticorpos IgG anti-*T.gondii*, variando de 7% a 59%, sendo as maiores prevalências observadas na França<sup>11, 61</sup>. Entretanto, desde 1960 as taxas de infecção pelo *T. gondii* parecem estar em declínio nos Estados Unidos e na Europa, provavelmente devido a melhoria nas condições de vida e educação da população e redução da infecção nos animais de consumo humano<sup>5</sup>. Tem sido observada em São Paulo, Brasil, uma tendência de queda nas taxas de prevalência da infecção<sup>62, 63</sup>.

O risco de toxoplasmose congênita nem sempre é proporcional à prevalência encontrada na população, pois outros fatores devem ser considerados, como pode ser visto na seção 2.2.1. Locais com prevalência relativamente baixa e grande número de mulheres suscetíveis podem ter taxa de infecção materno-fetal variando de acordo com a circulação do parasita no meio, isto é, elevada se a chance de contaminação for alta e baixa se essa chance for baixa. Estudos relatam que a incidência de toxoplasmose congênita pode aumentar nos períodos de transição,

em que a prevalência da infecção na população está diminuindo ou aumentando ao longo do tempo<sup>64, 65</sup>. Considera-se que as prevalências médias, entre 25 e 80%, são as que potencialmente trazem maior risco de toxoplasmose congênita<sup>66</sup>. Também é importante o conhecimento da distribuição da prevalência regional em relação às várias faixas etárias, para avaliar o risco de infecção a que um indivíduo está exposto ao longo do tempo. Exemplificando, em Belo Horizonte a soroconversão se inicia durante a vida pré-escolar e a prevalência aumenta progressivamente com a idade<sup>67</sup>, refletindo a presença de condições para transmissão da toxoplasmose. Em adultos, a prevalência observada é de 60%<sup>3, 68</sup>. Portanto, estima-se que o risco dos 40% de indivíduos suscetíveis, incluindo as gestantes, adquirirem a infecção seja elevado, assim como estima-se que seja alta a taxa de infecção congênita no município.

O Brasil, pelo seu clima tropical, apresenta condições favoráveis para a disseminação da infecção e isso pode ser constatado pelas elevadas taxas de prevalência da infecção em gestantes observadas em alguns estudos, embora ocorram variações regionais (Tabela 1).

TABELA 1 - Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes ou mulheres em idade reprodutiva no Brasil

Local	Prevalência (%)	Tamanho da amostra	Delineamento do estudo	Referência
São Paulo/SP	67,3	481	Transversal	Vaz <i>et al</i> , 1990 <sup>62</sup>
São Paulo/SP	68,8	1.286	Retrospectivo	Guimarães <i>et al</i> , 1993 <sup>63</sup>
Fortaleza/CE	71,5	185	Transversal	Rey <i>et al</i> , 1999 <sup>69</sup>
Londrina/PR	67,0	1.559	Retrospectivo	Reiche <i>et al</i> , 2000 <sup>70</sup>
Belo Horizonte/MG	64,8	415	Retrospectivo	Pereira <i>et al</i> , 2001 <sup>71</sup>
Alto Uruguai/RS	74,5	2.126	Prospectivo	Spalding <i>et al</i> , 2003 <sup>72</sup>
Porto Alegre/RS	59,8	1.261	Transversal	Varella <i>et al</i> , 2003 <sup>73</sup>
Goiânia/GO	65,8	2.563	Prospectivo	Avelino <i>et al</i> , 2003 <sup>49</sup>
Campinas/SP	56,1	2.199	Transversal	Stella, 2004 <sup>74</sup>
Cuiabá/MT	70,7	205	Transversal	Leão <i>et al</i> , 2004 <sup>75</sup>
Uberlândia/MG	51,5	805	Transversal	Segundo <i>et al</i> , 2004 <sup>60</sup>
Mato Grosso Sul	92,0	32.512	Prospectivo	Figueiró-Filho, 2005 <sup>76</sup>
Porto Alegre/RS	61,1	10.468	Prospectivo	Reis <i>et al</i> , 2006 <sup>17</sup>
Belo Horizonte/MG	57,8	420	Transversal	Carellós, 2006 <sup>68</sup>

Modificado de Carellós, 2006<sup>68</sup>

#### 2.2.4. Fatores de risco para infecção na gestação

A infecção do ser humano se faz principalmente pela via oral, através da ingestão de cistos contidos na carne crua ou mal cozida ou de oocistos eliminados pelos gatos e que contaminam o solo e a água e, como consequência, vegetais e frutas ingeridas cruas<sup>77-79</sup>; pela via transplacentária, da gestante primíntectada para o feto; e, excepcionalmente, pela transfusão de sangue ou transplante de órgãos de um doador infectado para um receptor não infectado.

Estudos epidemiológicos têm associado a exposição a alguns fatores (fatores de risco) com um risco aumentado de adquirir a infecção pelo *Toxoplasma gondii*. Os fatores investigados foram baseados no ciclo de vida do parasita e nas possíveis formas de ingestão do cisto e oocisto. Os fatores de risco que têm mostrado associação significativa com a infecção nos vários estudos realizados são: contato com gatos, adultos ou filhotes<sup>23, 69, 72, 78, 80</sup>; limpar caixas de areia onde são depositados dejetos dos gatos<sup>23</sup>; consumo ou contato com carne crua ou mal cozida (porco, carneiro, caça, boi)<sup>23, 50, 64, 72, 78, 79, 81</sup>; contato com terra através de jardinagem ou agricultura<sup>50, 64, 72, 77, 79</sup>; comer vegetais e/ou frutas cruas mal higienizadas em casa ou fora de casa<sup>23, 50, 78</sup>; higiene inadequada dos utensílios de cozinha, especialmente as facas, após utilizá-las na preparação de carnes<sup>23</sup>; higienizar as mãos de forma inadequada durante o preparo e consumo de alimentos<sup>23, 78</sup>; viajar para países fora da Europa, EUA e Canadá<sup>79</sup>; consumir água não tratada<sup>80, 82, 83</sup>; consumo de ovos crus ou mal cozidos<sup>50</sup>; baixo nível de escolaridade materna<sup>50, 73</sup>; gestação<sup>49</sup> ou maior paridade<sup>84</sup>; baixo nível socioeconômico<sup>50, 60, 80</sup>. Alguns fatores foram associados com menor ocorrência da infecção: não consumir carne<sup>85</sup>; receber orientações para prevenção da toxoplasmose<sup>78</sup>; morar em grandes altitudes e climas áridos e morar em regiões com clima gelado<sup>1</sup>. A transmissão da infecção pelo leite humano não tem sido descrita, mas pode ocorrer através de leite de cabra

não pasteurizado<sup>4</sup>. O parasita foi isolado de ovos de galinha, mas eles não são considerados uma boa fonte de transmissão<sup>4</sup>. Os oocistos podem ser transportados por animais invertebrados coprofágicos (baratas e moscas), contaminando a água e alimentos<sup>86</sup>, ou ingeridos por pássaros e roedores, infectando os gatos<sup>87</sup>.

Os primeiros estudos para avaliar os fatores de risco envolvidos na toxoplasmose congênita utilizaram delineamento transversal, metodologia inadequada para determinar associações de causalidade, mas a partir da década de 1990 foram realizados estudos com metodologia tipo caso-controle, mais adequadas para avaliar associação causal. Várias limitações têm sido apontadas pelos pesquisadores nos estudos realizados, sendo as mais importantes relacionadas à seleção da amostra de casos e controles<sup>23, 78</sup>, pelo uso de diferentes metodologias para o diagnóstico dos casos, pela falta de cegamento dos estudos<sup>79</sup>, o que favorece a maior atenção dos casos em relação aos fatores de risco, e pela maior perda no seguimento dos controles em relação aos casos<sup>79</sup>. Também têm sido relatadas falhas nos instrumentos utilizados para coleta das informações das gestantes, que podem constrianger o entrevistado e favorecer a distorção das respostas (viés de confundimento)<sup>83</sup>.

Foram observadas variações regionais na prevalência da infecção nas gestantes e nos fatores de risco envolvidos na infecção, atribuídas ao clima e diferenças culturais associadas principalmente à alimentação<sup>79</sup>.

Os gatos são fundamentais para a manutenção da infecção na natureza, mas estudos epidemiológicos não tem evidenciado que possuir gatos seja um fator de risco importante na gestação<sup>23, 64, 79</sup>. O indivíduo pode se infectar independente da exposição aos gatos, através de outras fontes de infecção, e o fato de possuir um gato, se este é alimentado com ração, não o



coloca em risco para toxoplasmose. Por isso, a investigação sorológica do gato para avaliação de risco para infecção humana deve ser desencorajada, pois a prevalência no animal é geralmente semelhante à dos humanos, e a soropositividade dos gatos não tem relação com a eliminação de oocistos<sup>88</sup>. Em filhotes infectados, frequentemente associados com o risco de toxoplasmose, observa-se que excretam oocistos em grande quantidade, mas por curto espaço de tempo, geralmente duas semanas.

A população de gatos está associada à população de roedores que, por sua vez, tem relação com a prevalência da infecção entre os animais produtores de carne para consumo humano. Os roedores são importantes na manutenção da infecção entre os gatos e, neles, a parasitose apresenta características interessantes: os bradizoítos contidos nos cistos teciduais dos ratos podem levar imediatamente à fase sexuada no intestino dos gatos<sup>25</sup>; as fêmeas de camundongos são capazes de transmitir o parasita à sua prole mesmo na fase crônica da infecção<sup>89</sup>; ratos infectados, com cistos cerebrais, podem ser mais audaciosos e, portanto, mais suscetíveis à predação pelos gatos<sup>90</sup>.

Entre os animais de importância alimentar para o homem, os herbívoros se destacam pela possibilidade da contaminação natural do solo e pastagens com milhares de oocistos eliminados pelos Felídeos<sup>91</sup>. Os bovinos são suscetíveis à infecção mas resistentes à doença induzida pelo *T. gondii*, diferentemente dos pequenos ruminantes (caprinos e ovinos)<sup>92</sup>. Estudo realizado em Belo Horizonte, observou prevalência de infecção pelo *T. gondii* em 92,4% dos caprinos avaliados na área peri-urbana<sup>93</sup>. A maior prevalência estava associada à população de gatos presentes nas propriedades e características do bebedouro e comedouro utilizados. Em Minas Gerais, a exploração de ovinos e caprinos de corte é encontrada principalmente nas regiões norte e nordeste do Estado, onde predomina o sistema extensivo e

semi-extensivo de manejo, muitas vezes associado a agricultura de subsistência e idade tardia para o abate<sup>91</sup>. Caprinos e ovinos das regiões Centro Oeste e Sul de Minas Gerais apresentam elevada prevalência da infecção, observando-se presença de gatos em mais da metade das propriedades avaliadas<sup>91</sup>. O gato é considerado a principal fonte de infecção para suínos, e demais espécies de vertebrados, através da contaminação da água e ração com oocistos. Os suínos podem, também, ingerir cistos teciduais comendo roedores infectados ou carne infectada, oferecida na forma de restos, ou adquirir infecção transplacentária. Os suínos são considerados uma das principais fontes de infecção para a espécie humana, especialmente pela ingestão de carne mal cozida ou curada (salgada e conservada com nitritos ou nitratos). Os suinocultores têm um risco aumentado de adquirir toxoplasmose<sup>77</sup>, principalmente quando a criação dos animais é extensiva e o número de gatos soropositivos na propriedade é elevado. Nessas propriedades têm sido recuperados oocistos das fezes dos gatos, no solo e água<sup>77</sup>. O controle da toxoplasmose é feito pela adoção de medidas de higiene na propriedade, confinamento dos animais, utilização de rações industriais não contaminadas, controle mais efetivo dos roedores e um sistema de limpeza e desinfecção mais rigoroso<sup>77</sup>.

Comer carne crua ou mal cozida tem sido o fator de risco associado mais freqüentemente com toxoplasmose em vários estudos<sup>23, 40, 64, 78, 79</sup>, mas o tipo de carne varia entre porco<sup>23</sup>, cordeiro<sup>23, 78</sup> ou boi<sup>78</sup>. Consumo de carne de porco curada apresentou forte associação com a toxoplasmose em alguns estudos<sup>78, 81</sup>. Tem sido sugerido que as carnes de cabrito, cordeiro, porco e caça são as mais comumente infectadas, que a carne de galinha raramente contém cistos viáveis e que os músculos não esqueléticos (coração, diafragma e língua) têm maior densidade de cistos que os esqueléticos<sup>79</sup>.

Contato com solo e consumo de vegetais crus contaminados com solo foram identificados como fatores de risco por alguns pesquisadores<sup>23, 78</sup>. A água doce<sup>39, 80</sup>, assim como a água salgada<sup>45</sup>, têm sido apontadas como fonte de toxoplasmose em estudos nos EUA e Brasil. Tem sido descritos surtos epidêmicos associados ao consumo de água contaminada e essa fonte de infecção parece ser mais comum do que parece<sup>38, 39</sup>.

Avelino et al.<sup>50</sup> realizaram estudo prospectivo em Goiânia, no período de 1997-99, e observaram prevalência da infecção pelo *T. gondii* em 65,8% das mulheres em idade fértil. Observaram que adolescentes com baixa renda apresentaram grande risco de adquirir toxoplasmose e que a gestação foi um fator de risco importante para a infecção. Os autores concluem que a gestante apresenta grande probabilidade de adquirir a toxoplasmose quando o ambiente é favorável á transmissão, devido a sua vulnerabilidade imunológica e hormonal.

Em relação à informação oferecida às gestantes sobre as fontes de infecção pelo *T. gondii*, embora seja considerado uma medida útil, muitos profissionais de saúde não as oferecem ou elas são inconsistentes<sup>94</sup>. Em um estudo multicêntrico europeu<sup>79</sup>, observou-se que em Nápoles cerca de 51% das mulheres entrevistadas não conseguiu citar nenhum fator de risco para toxoplasmose, embora participassem da triagem pré-natal para a infecção. Outros pesquisadores têm advertido que o desconhecimento dos fatores de risco mais frequentes faz com que as orientações de prevenção sejam muito amplas, limitando sua eficiência por diminuir a probabilidade de adesão pela mãe<sup>23</sup>. Tem sido alertado que o conhecimento, principalmente se desconectado da realidade do indivíduo, pode não evitar a exposição<sup>79</sup>. As estratégias de promoção da saúde devem ter por base o conhecimento dos fatores que estão associados ao risco daquelas mulheres. Essas informações devem ser oferecidas por profissionais de saúde, nos grupos de pré-natal e/ou através dos veículos de comunicação de

massa, meios que podem ser mais efetivos que o material escrito em populações de menor nível escolar. Em 1999 foi desenvolvido um estudo para avaliar o tipo de aconselhamento dado às gestantes contra toxoplasmose nos EUA. Foram entrevistados 364 obstetras e os resultados apontaram que 100% orientaram a limpeza da caixa de dejetos dos gatos, 83% a evitar o consumo de carne crua ou mal cozida, 77% a lavar adequadamente os alimentos consumidos crus e 68% sobre os riscos da manipulação da terra na jardinagem<sup>95</sup>. Em 2003, também nos EUA, foi realizado estudo para avaliar o conhecimento sobre toxoplasmose entre 403 gestantes, caracterizadas como sendo principalmente brancas e com maior escolaridade do que a média da população americana<sup>96</sup>. Nessa amostra, o mais alto nível de conhecimento registrado foi em relação ao gato, 60% dos respondentes indicaram que a toxoplasmose é disseminada pelas fezes de gatos infectados, e apenas 30% indicaram que a carne crua ou mal cozida pode conter o parasita. O Departamento de Agricultura dos EUA estima que metade das infecções pelo *T. gondii* no país são devidas à ingestão de carne mal cozida.

Recomenda-se a realização de estudos tipo caso-controle regionais para identificação dos principais fatores de risco envolvidos. Na Tabela 2, estão listados os resultados de alguns estudos avaliando a presença de fatores de risco.

TABELA 2 – Descrição de alguns estudos que avaliaram os fatores considerados de risco para infecção pelo *Toxoplasma gondii*

Referência (Autor)	Local do estudo	População estudada	Delimitação do estudo e tipo de análise	Fatores de risco encontrados com significância estatística
Camargo <i>et al</i> , 1995	Ribeirão das Neves Minas Gerais	500 pessoas classificadas como caso ou controle de acordo com o resultado da IFI IgG	Caso-controle retrospectivo (análise univariada)	Gatos no domicílio passado ou presente, galinhas criadas em fundo de quintal no passado e presente, porcos no domicílio no passado.
Kapperud <i>et al</i> , 1996	Noruega (Onze de 19 países)	63 gestantes com evidência de infecção recente e 128 gestantes suscetíveis pareadas	Caso-controle prospectivo (regressão logística)*	Ingestão de carne moída crua ou mal cozida, ingestão de vegetais ou frutas não lavados, ingestão de carne de carneiro ou porco crua ou mal cozida, limpeza de caixas de gatos, limpeza infrequente de facas após preparo de carnes antes de manuseio de outros alimentos.
Bobic <i>et al</i> , 1998	Belgrado (Yugoslávia)	1157 mulheres com idade entre 15-45 anos, grávidas ou não.	Transversal (regressão logística)	Carne crua ou mal-cozida (em toda a amostra), exposição ao solo (nas mulheres com idade < 20 anos).
Baril <i>et al</i> , 1999	França	75 gestantes com soroconversão durante a gestação e 75 controles pareados	Caso-controle retrospectivo (regressão logística)	Precária higiene das mãos, consumo frequente de vegetais crus fora de casa, consumo de carne de vaca mal cozida, consumo de carne de cordeiro mal cozida e ter um gato.
Cook <i>et al</i> , 2000	Nápoles, Luisiana, Copenhague, Oslo, Bruxelas e Milão	252 gestantes com evidências de infecção recente e 858 gestantes suscetíveis não pareadas	Caso-controle (regressão logística)	Consumo de carne crua ou mal cozida, o hábito de provar a carne durante o preparo, trabalho com animais e o contato com solo
Bahia-Oliveira, 2003	Campos dos Goitacases, Norte do RJ	1436 pessoas selecionadas randomicamente de escolas, comunidades e forças armadas.	Transversal (regressão logística)	Consumo de água não filtrada ou não tratada
Avelino <i>et al</i> , 2004	Goiânia	2242 mulheres em idade fértil. (1148 com infecção prévia e 1094 sem infecção prévia)	Estudo seccional cruzado (análise de variância)	A gestação foi o maior fator de risco, seguido pelo baixo nível de educação, baixa renda, residência prévia em áreas rurais, carência de ambiente sanitário adequado, ingestão de carne crua ou mal cozida, ingestão de ovo cru ou mal cozido, leite de cabra não pasteurizado e geofagia.
Spalding <i>et al</i> , 2005 <sup>72</sup>	Rio Grande do Sul	1583 gestantes não suscetíveis e 513 suscetíveis	Transversal (razão de prevalência)	Residência em área rural, água não tratada, ausência de coleta pública de lixo, contato direto com solo, contato com animais, roedores na casa ou redondezas, ingestão de carne mal cozida, de salsicha e derivados feitos em casa e de leite cru.

IFI: Imunofluorescência indireta.  
Com permissão de Carellos<sup>68</sup>

### 2.2.5. Diagnóstico da infecção na gestante

Embora o toxoplasma possa ser identificado por isolamento em cultura celular, inoculação em camundongo, pela pesquisa dos seus antígenos em soro ou em cortes de tecido (imunohistoquímica) ou por técnica de biologia molecular (PCR – reação em cadeia da polimerase), o método mais freqüentemente utilizado para o diagnóstico da infecção é a demonstração de anticorpos específicos (IgA, IgM, IgG, IgE) contra o parasita. Após a infecção, esses anticorpos evoluem com tempos diferentes de aparecimento e duração e podem ser medidos por várias técnicas. A infecção aguda é caracterizada pela soroconversão. Na gestação, é fundamental a determinação da época de aquisição da infecção, se antes ou durante a gestação, devido às implicações desse diagnóstico para a investigação da infecção no concepto. Por isso, a utilização de amostra única de sangue da gestante geralmente requer o uso de mais de um método sorológico e a determinação de mais de uma classe de anticorpo, para maior precisão no diagnóstico<sup>4, 88</sup>.

O anticorpo IgG anti-*T. gondii* pode ser quantificado pelos testes de Sabin-Feldman (*dye test* ou teste do corante), ELISA (imunoensaio enzimático), IFI (imunofluorescência indireta), HAI (hemaglutinação indireta), aglutinação direta modificada. Esses anticorpos surgem, geralmente, após duas semanas da infecção e se mantêm positivos por longo tempo, geralmente toda a vida do indivíduo<sup>88</sup>. Sua ausência torna a infecção improvável. Na fase bem inicial da infecção, podemos ter IgM ainda sem a presença de IgG, que certamente estará positiva após duas a quatro semanas da primeira coleta.

Os testes de IFI e Sabin-Feldman apresentam resultados comparáveis e os soros reagentes são titulados em diluições crescentes, incubados sobre toxoplasmas fixados em lâminas de

microscopia, que depois são lavadas e incubadas com conjugado fluorescente. Os resultados quantitativos de IgG são expressos pela maior diluição reagente ou em Unidades Internacionais (UI/mL), existindo uma relação direta entre as duas formas de expressão, sendo necessário a padronização com o soro de referência da OMS para evitar distorções freqüentemente observadas entre os resultados de laboratórios. Não são disponíveis soros de referência para IgM e IgA<sup>97</sup>.

Nos testes imunoenzimáticos (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay* – ELISA), extratos ou frações antigênicas do toxoplasma são fixados sobre suportes inertes, cavidades de placas ou microesferas, e incubados com diluições dos soros a testar e, em seguida, com conjugado enzimático antiglobulina (G, M, A ou E). Segue-se a incubação com produto capaz de, sob a ação da enzima, desenvolver cor (ou fluorescência), cuja intensidade, lida em espectrofotômetro (ou fluorômetro), é diretamente proporcional à quantidade de anticorpos antitoxoplasma no soro. Para ELISA-IgG o resultado é expresso em UI/mL de acordo com padrão internacional e, para as demais imunoglobulinas, em índices que correspondem ao quociente entre as densidades ópticas do soro em estudo e a de um soro de reatividade mínima, limiar entre reagente e não reagente. Importante lembrar que nem sempre há perfeita correspondência entre os resultados de testes imunoenzimáticos realizados em equipamentos de marcas diferentes, bem como com o teste de IFI, devido a diferenças entre os antígenos utilizados, embora haja correlação direta entre as titulações por ELISA e IFI<sup>97</sup>. Por isso é desejável a utilização do mesmo método sorológico, no mesmo laboratório, durante a evolução propedêutica na gestante ou no lactente.

O teste de HAI, assim como o teste de fixação de complemento, não serão abordados nesse texto por não serem recomendados para o diagnóstico da gestante e do recém-nascido<sup>4</sup>.

No teste de aglutinação direta, os taquizoítos são fixados por formaldeído ou acetona, para obtenção dos antígenos HS e AC respectivamente. Os antígenos HS tem afinidade por anticorpos presentes nas infecções de vários meses de duração e os antígenos AC pelos anticorpos presentes nas infecções recentes. Esse teste mede a aglutinação diferencial de IgG (AC/HS) e auxilia na determinação da época de ocorrência da infecção na gestação, mas só está disponível em laboratórios de referência<sup>4</sup>.

A avidéz com que os anticorpos IgG ligam-se a seus respectivos antígenos pode ser avaliada pela maior ou menor facilidade de quebra dessa ligação. Mede-se por um teste imunoenzimático ELISA-IgG, modificado pelo acréscimo de uma solução para dissociar o complexo antígeno-anticorpo formado (uréia 6M, por exemplo) e liberar os anticorpos IgG de baixa avidéz<sup>98</sup>. Uma baixa avidéz é indicada por acentuada diminuição do título com relação ao título original obtido sem o tratamento pela uréia. O resultado é expresso pela porcentagem de IgG remanescente, dada pelo cálculo: (título após a uréia/título original) X 100<sup>97</sup> e independe da concentração de IgG<sup>98</sup>. Geralmente, considera-se alta avidéz quando o resultado é maior que 30% e baixa avidéz quando é menor que 20%. O teste de avidéz de IgG tem sido útil para distinguir a infecção primária das recidivas e reativações causadas por vários patógenos, incluindo o *T. gondii*. Na gestação, o teste de avidéz de IgG tem se prestado mais para excluir do que para confirmar uma infecção recente<sup>98</sup>. A presença de anticorpos IgG de alta avidéz indica infecção ocorrida há mais de 3-5 meses e sua presença nas primeiras 20 semanas de gestação, mesmo na presença de IgM, indica fortemente uma infecção crônica com baixo risco de infecção fetal<sup>98-100</sup>. Mas, em condições de triagem, a presença de anticorpos de baixa avidéz em amostra de sangue de gestante no terceiro trimestre de gestação tem mostrado um alto valor preditivo positivo<sup>98</sup>. O uso de medicação específica para



toxoplasmose poderia interferir nos resultados da avidéz de IgG, mas isso não tem sido observado<sup>99,101</sup>, embora estudos com casuísticas maiores devam ser realizados.

O anticorpo IgM anti-*T. gondii* pode ser determinado principalmente pelos testes de IFI, ELISA e ISAGA (*immunosorbent agglutination assay*). Ele surge precocemente, uma a duas semanas após a infecção, e raramente desaparece antes do 5º mês de infecção, podendo permanecer positivo por mais de um ano em títulos elevados, sendo descrita sua persistência em títulos baixos por 12 anos<sup>88</sup>. A presença desses anticorpos por longo tempo não parece ter significado clínico e esses indivíduos são considerados cronicamente infectados. Os testes de IFI e ELISA pesquisam IgM pelas técnicas indiretas e são sujeitas a falso-positivo pela presença de fatores reumatóides, anticorpos IgM contra IgG presentes no soro naturalmente. Uma solução é remover as IgG do soro por precipitação com um soro anti-IgG e só então determinar a IgM anti-*T.gondii*. Uma outra solução são os Testes de Captura<sup>4</sup>, em que os soros suspeitos são incubados em cavidades de placas recobertas com anticorpo anti-IgM. As IgM do paciente são “capturadas” e uma alíquota desse soro contendo essas IgM é incubada, novamente, com antígenos do *T. gondii* marcados por enzima. A presença no soro suspeito de IgM específica, desencadeia o desenvolvimento de cor. Essa técnica é muito sensível e pode detectar ínfimas quantidades de IgM específica e mesmo anticorpos IgM “naturais” em pacientes não infectados<sup>97</sup>. O teste de ISAGA para detectar IgM será comentado na seção de diagnóstico do recém-nascido.

O anticorpo IgA anti-*T. gondii* pode ser determinado por ISAGA e ELISA. Na infecção adquirida, a IgA tem comportamento semelhante à IgM, podendo persistir positiva por meses ou mais de um ano, contribuindo pouco para o diagnóstico da infecção no adulto<sup>88</sup>. O anticorpo IgE anti-*T. gondii* pode ser determinado pelo ELISA e, na infecção adquirida,

persiste positivo por tempo menor que IgM e IgA. É um teste pouco sensível mas muito específico, estando disponível apenas em centros de referência<sup>4</sup>.

Na infecção aguda da gestante, o risco de parasitemia e transmissão vertical da toxoplasmose tem sido associado com títulos altos de IgG<sup>102</sup>, presença de IgM<sup>102</sup> ou IgM em títulos altos<sup>97, 100, 102</sup> e avides de IgG baixa<sup>97, 98, 100, 101, 103</sup>. Mas, essa resposta sorológica segue um ritmo individual e, após a priminfecção, alguns indivíduos persistem com IgM positivo e baixa avides de IgG por longo tempo, outros não apresentam elevação acentuada de IgG<sup>99</sup>. Para maior precisão do período em que a gestante adquiriu a toxoplasmose, se antes ou durante a gestação, é fundamental que o primeiro exame seja realizado o mais precocemente possível, ainda no primeiro trimestre da gravidez. Infelizmente, alguns estudos brasileiros têm mostrado que a idade gestacional média de início do pré-natal ultrapassa as 12 primeiras semanas, o que dificulta a precisão do período em que a mulher adquiriu a toxoplasmose<sup>68, 100</sup>. Uma combinação de testes aumenta a precisão do diagnóstico em relação ao período de ocorrência da infecção. A melhor combinação, de acordo com Roberts et al.<sup>104</sup>, incluiu testes de IgM e IgG altamente sensíveis e o teste de avides de IgG. Em relação à IgM identificada por testes sensíveis como os de captura, muitos pesquisadores têm sugerido que o resultado mais útil é a ausência de IgM, isto porque uma gestante com IgG positivo e IgM negativo raramente tem toxoplasmose adquirida recentemente<sup>98, 104</sup>. Recomenda-se que o diagnóstico de infecção aguda na gestante não seja feito apenas com um resultado de IgM positiva, devido à possibilidade de resultados falso-positivo, e que esse resultado seja confirmado em laboratórios de referência, dado as conseqüências desse diagnóstico para o binômio mãe/filho<sup>88, 105</sup>. Em uma gestante com perfil sorológico de infecção latente (IgM e IgA ausentes e IgG em títulos baixos), o reaparecimento de um perfil de toxoplasmose aguda (IgM e/ou IgA positivas; IgG em títulos elevados) sugere reinfecção e pode resultar em transmissão

da infecção para o feto<sup>52</sup>. A transmissão vertical da toxoplasmose em uma gestante com infecção crônica, embora incomum, é mais freqüente nas gestantes imunodeprimidas (AIDS, doença de Hodgkin, lupus eritematoso sistêmico, após uso de drogas imunossupressoras). Pinon et al.<sup>106</sup> observaram que nos pacientes imunossuprimidos, precedendo o surgimento de manifestações clínicas de toxoplasmose, eram detectados anticorpos de fase aguda (IgM, IgA, IgE) ou elevação de IgG, o que levou os autores a sugerir nesses casos a pesquisa periódica, a cada dois meses, dos anticorpos de fase aguda, como marcadores de risco de reativação.

Após a confirmação do diagnóstico de infecção aguda na gestante, deve-se avaliar se o feto foi infectado, pois alguns estudiosos propõem mudança na terapêutica recomendada, com substituição da espiramicina pela associação sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico, após confirmação da infecção fetal<sup>4</sup>. Essa investigação pode ser realizada no líquido amniótico pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR- *polymerase chain reaction*) ou isolamento do parasita e pela identificação do parasita em tecidos fetais ou placentários, além de outros exames complementares como a ultra-sonografia fetal. A técnica de PCR no líquido amniótico é a mais utilizada e, quando realizada em laboratórios de referência, mostra-se sensível e específica<sup>47, 107-111</sup>, embora não completamente padronizada<sup>112</sup> e apresentando resultados diferentes na dependência da idade gestacional em que foi realizada a amniocentese. Pesquisadores observaram baixa sensibilidade (42,9%, IC95%:17,0; 68,0) na infecção aguda ocorrida até a 16ª semana de gestação, boa sensibilidade nas infecções ocorridas entre a 17ª e 21ª semanas (92,9%, IC95%:67,9; 98,8), e baixa sensibilidade, novamente, nas infecções ocorridas após a 22ª semana (61,7%, IC95%:47,8; 75,6)<sup>110</sup>. Acredita-se que nas coletas realizadas muito pouco tempo após a infecção materna, pode ainda não ter ocorrido a infecção do feto, e nas coletas com intervalo de tempo muito longo, meses após a infecção, o parasita pode não estar mais no líquido amniótico. Recomenda-se a

amniocentese após a 18ª semana de gestação nas mulheres não infectadas pelo HIV, pois nessas últimas o procedimento aumenta o risco de transmissão do vírus para o feto, não sendo recomendada<sup>88</sup>. Parece que a PCR quantitativa pode apresentar associação com a gravidade do quadro fetal<sup>110</sup>.

A ultra-sonografia fetal deve ser realizada em todos os casos suspeitos da infecção, embora as alterações possam ser tardias, refletindo as seqüelas da toxoplasmose congênita. O achado mais comum é a hidrocefalia, geralmente bilateral e simétrica, começando nos cornos posteriores dos ventrículos laterais<sup>46</sup>. Como a hidrocefalia pode apresentar rápido desenvolvimento, recomenda-se nos casos suspeitos a repetição da ultra-sonografia a cada 2-4 semanas, no mínimo. Pode-se observar também: hepatomegalia, esplenomegalia, derrame pleural e pericárdico, ascite e calcificações cranianas. Esses achados sugerem que a infecção foi adquirida nas primeiras 20 semanas de gestação<sup>5</sup>.

#### 2.2.6. Tratamento da toxoplasmose na gestação

Como a maioria das infecções adquiridas são assintomáticas ou oligossintomáticas e apresentam resolução espontânea, o tratamento da grávida infectada tem por objetivo evitar a infecção fetal ou tratar o feto infectado, devendo ser iniciado logo que identificada a soroconversão materna<sup>4, 113</sup>. Como a pirimetamina é inibidor da síntese de ácido fólico e teratogênico em ratas, podendo ser, potencialmente, também em humanos, não deve ser utilizada no primeiro trimestre de gestação. Portanto, a gestante suspeita de infecção deve receber espiramicina no primeiro trimestre de gestação. A amniocentese, para investigação da infecção fetal, está indicada entre a 18ª e 36ª semanas de gestação. Se a infecção fetal for excluída, a gestante deve continuar recebendo espiramicina até o final da gravidez e, se

confirmada, deve-se substituir a espiramicina pela associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico até o final da gestação, a partir do segundo trimestre de gravidez <sup>4</sup>. Essa associação de drogas deve ser utilizada também quando a infecção aguda da gestante ocorrer após a 36ª semana, devido ao risco elevado de transmissão, não sendo necessário a realização da amniocentese para investigação da infecção fetal<sup>4, 114</sup>. O uso da pirimetamina pode levar a hipoplasia medular, geralmente reversível, que leva principalmente a neutropenia e, por isso, durante o tratamento deve ser solicitado hemograma regularmente.

Os primeiros estudos publicados sobre o tratamento da toxoplasmose na gestação, avaliaram a eficácia da espiramicina e foram realizados por Desmonts e Couvreur<sup>115</sup>. Os autores estudaram 542 gestantes que soroconverteram na gestação e observaram que as gestantes tratadas apresentaram uma proporção significativamente menor de transmissão vertical (19% *versus* 50%), mas quando esse efeito foi ajustado de acordo com a idade gestacional da infecção materna, perdeu a significância estatística. Observou-se, também, que a espiramicina não diminuiu a ocorrência de manifestações clínicas nos fetos infectados. Esse foi um dos estudos que serviu de base para o conceito de que a espiramicina age na placenta, diminuindo o risco de transmissão da infecção para o feto, mas que não interfere nas manifestações clínicas da doença, se o feto for infectado.

Os estudos seguintes avaliaram o uso da associação de sulfadiazina e pirimetamina durante a gestação<sup>116</sup> e o diagnóstico fetal antes<sup>46, 55</sup> e após a introdução da técnica de PCR<sup>114</sup>. Infelizmente os estudos apresentavam limitações metodológicas com viés na seleção da amostra. Mas, como reforçavam o conceito de que o tratamento na gestação diminuía a transmissão vertical e, após o uso da sulfadiazina e pirimetamina, também o

comprometimento do feto, foi ficando cada vez mais difícil realizar um ensaio clínico randomizado com grupo controle sem tratamento.

Em 1999, Foulon et al.<sup>113</sup> realizaram estudo multicêntrico na Europa para verificar a eficácia do tratamento pré-natal na prevenção da transmissão vertical e redução das seqüelas neonatais. Os resultados obtidos, ajustados para idade gestacional em que a infecção provavelmente ocorreu, não evidenciaram efeito do tratamento na diminuição da transmissão vertical, mas observaram que o tratamento da gestante com a associação de sulfadiazina e pirimetamina diminuiu o número e a gravidade das seqüelas no neonato.

Em 1999, Wallon et al.<sup>15</sup> publicaram extensa revisão bibliográfica sobre esse tema e concluíram que as evidências eram, até aquele momento, insuficientes para afirmar que o tratamento da gestante agudamente infectada evitava ou diminuía o risco de transmissão vertical e melhorava o prognóstico da criança. Considerando o custo econômico da triagem pré-natal, os autores recomendaram que, naqueles países onde ainda não era realizado a triagem para toxoplasmose, sua introdução deveria ser precedida de estudos randomizados que atestassem a eficácia do tratamento.

Em 2001 outras duas pesquisas, retrospectivas, não evidenciaram eficácia do tratamento pré-natal na prevenção da infecção, independente das drogas utilizadas, mas também não excluíram essa possibilidade, devido a viés de seleção da amostra e perdas de seguimento<sup>117</sup>,<sup>118</sup>. A respeito desses estudos, Eskild & Magnus<sup>119</sup> comentaram suas limitações e opinaram que antes da introdução da triagem pré-natal seria necessário realizar ensaios clínicos que atestassem a eficácia do tratamento. Thulliez<sup>120</sup>, também comentando os estudos, destaca que parte da amostra incluiu pacientes atendidas em período anterior à disponibilidade da PCR

para diagnóstico da infecção fetal, o que explica a demora em iniciar a medicação e talvez seja a explicação para a ausência de significância estatística na avaliação da eficácia do tratamento. O autor recomenda, na presença de infecção fetal, o tratamento contínuo com sulfadiazina e pirimetamina até o final da gestação, pois o uso intercalado de espiramicina, como recomendado anteriormente, poderia levar a reativação dos parasitas nos tecidos fetais.

Em 2003 foi realizado um estudo prospectivo, multicêntrico - 11 centros de quatro países (07 na França, 01 na Áustria, 02 na Itália e 01 na Suécia), utilizando uma ampla base de dados (EMSCOT – *European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis*), com o objetivo de avaliar a influência do tempo e tipo de tratamento oferecido para a gestante na transmissão da toxoplasmose para a criança<sup>121</sup>. Foram analisados 1208 pares de mães/filhos no período de 1996 a 2000 e as gestantes foram identificadas em sua maioria (62%) por soroconversão durante a gestação. Foram identificadas 18,5% das crianças com toxoplasmose congênita. Independente das drogas utilizadas, os autores não encontraram evidências da eficácia do tratamento na prevenção da infecção fetal e ponderaram que, no momento, existia dúvida suficiente para justificar o planejamento de ensaios clínicos randomizados de gestantes tratadas e não tratadas.

Ainda em 2003 foi publicado estudo envolvendo a triagem pré-natal de 8061 gestantes e 9730 neonatos, com identificação de 188 infectadas dentre 5288 gestantes suscetíveis (35/1000)<sup>21</sup>. A transmissão foi mais elevada entre as crianças expostas no último trimestre de gestação e a triagem pré-natal identificou mais crianças infectadas do que a triagem neonatal. Após ajustamento por trimestre de infecção, não foi observada associação entre tratamento pré-natal e menor comprometimento da criança.

Em 2005, Gras et al.<sup>122</sup> publicaram um estudo prospectivo de seguimento de 255 nascidos vivos, a maioria identificada pela triagem pré-natal (209) e menor número pela triagem neonatal (46), para avaliar a associação entre o tratamento pré-natal e o risco de ocorrência de lesões intracranianas (calcificação, dilatação ventricular) e retinocoroidite. Todas as mulheres identificadas no pré-natal soroconverteram durante a gestação e foram tratadas. Observou-se que o tratamento pré-natal iniciado dentro de quatro semanas da soroconversão diminuiu o risco de lesão intracraniana (OR=0,28; IC95%:0,08; 0,75), mas esse efeito não foi visto quando o tratamento foi iniciado após quatro semanas da soroconversão (p=0,19). Nesse estudo, apenas 47% das mulheres identificadas nos centros de triagem pré-natal franceses receberam tratamento dentro de quatro semanas da soroconversão. Esse tratamento poderia ser iniciado em período de tempo inferior a quatro semanas se a testagem das mulheres suscetíveis fosse realizada a intervalos menores que mensal, mas o custo econômico seria muito elevado. Não foram observadas diferenças de acordo com o esquema terapêutico adotado.

As evidências da eficácia do tratamento pré-natal na transmissão da infecção da mãe para o filho, ou na minimização das manifestações clínicas na criança infectada, se apoiam somente em estudos observacionais<sup>15, 19</sup>, e os resultados são, muitas vezes, controversos<sup>55, 56, 113, 117, 118, 121</sup>. Foi hipotetizado que as controvérsias observadas se deviam a dois problemas: os eventos envolvidos na transmissão da infecção da mãe para o filho são complexos e os vieses podem ser numerosos em estudos observacionais<sup>123</sup>. Um viés importante é o de seleção, pois o encaminhamento das gestantes aos serviços de referência se dão, com frequência, a partir de suspeitas sorológicas ou clínicas (alterações no ultra-som obstétrico). Também ocorre viés de confundimento, pois as gestantes não tratadas, minoria nos estudos de eficácia do tratamento pré-natal, geralmente pertencem ao grupo que soroconverteu próximo ao parto e, entre



aquelas que receberam tratamento, este foi iniciado após a confirmação da infecção fetal, o que impede a avaliação da eficácia terapêutica na prevenção da transmissão da infecção. Dependendo da análise, esses casos encaminhados a centros de referência podem superestimar ou subestimar o efeito do tratamento. Outras limitações são baixo poder no tamanho da amostra para encontrar diferenças significativas, variabilidade dos métodos diagnósticos utilizados, dificuldade na determinação da época de soroconversão materna, dificuldade em controlar a adesão ao tratamento, erros na classificação do comprometimento das crianças ao nascimento, diferentes tempos de seguimento das crianças e perda no seu seguimento. Na Figura 1 estão destacadas as principais dificuldades na comparação dos estudos, de acordo com Thiébaud<sup>123</sup>.

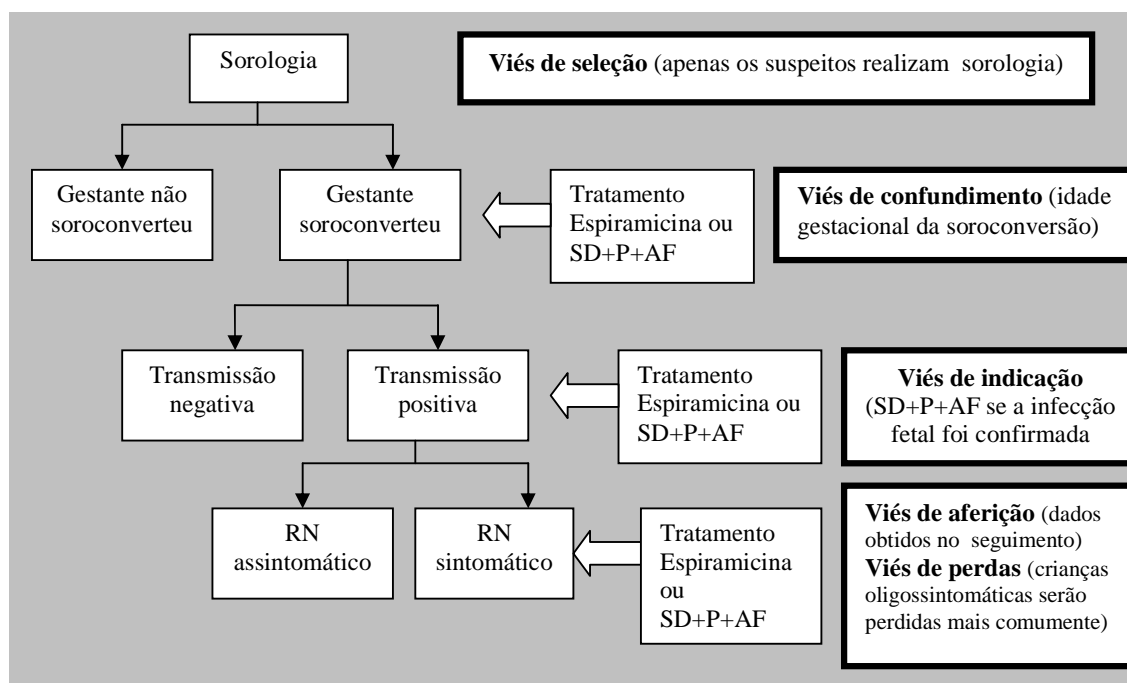


FIGURA 1 - Vieses que podem ocorrer nos estudos observacionais, baseados na triagem pré-natal, para avaliar eficácia do tratamento para toxoplasmose congênita<sup>123</sup>.  
SD= sulfadiazina; P=pirimetamina; AF=ácido fólico

Em 2007 o grupo envolvido com o projeto SYROCOT (*Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis*) publicou os resultados de uma meta-análise que revisou estudos de coorte de

triagem pré-natal para toxoplasmose congênita e estimou o efeito do tempo e tipo de tratamento pré-natal no risco de toxoplasmose congênita e suas manifestações clínicas durante o primeiro ano de vida das crianças<sup>124</sup>. Foram considerados como critérios de inclusão a soroconversão durante a gestação, documentada por sorologia; a existência de registros do início do tratamento e drogas utilizadas; e na análise foram feitos, entre outros, ajustes para a idade gestacional em que ocorreu a soroconversão materna. Nessa meta-análise não foi feita restrição de idioma e a busca foi ampla, mas foram excluídos estudos realizados nas Américas devido à maior ocorrência de lesão ocular nessa população quando comparada à européia. Os autores não encontraram publicados ensaios clínicos randomizados controlados que atestassem a eficácia do tratamento pré-natal na prevenção da transmissão da infecção da mãe para o bebê. Na meta-análise, não observaram evidências de que o tratamento pré-natal reduzisse significativamente o risco de manifestações clínicas no neonato infectado (OR= 1,11; p=0,74). Observaram uma fraca evidência de menor transmissão da infecção ao feto quando as mães iniciavam tratamento dentro de três semanas após a soroconversão, comparadas com aquelas que iniciavam o tratamento após oito semanas ou mais da soroconversão (OR ajustada 0,48; IC95%:0,28; 0,80; p=0,05). Os autores concluíram que o estudo não mostrou evidência clara de que o tratamento diminuiu a transmissão da infecção ao feto ou a presença de manifestações clínicas nas crianças infectadas. Espera-se que as evidências definitivas resultem de um grande ensaio clínico randomizado e controlado.

Enquanto não se dispõe desses resultados, as recomendações incluem a realização do tratamento com espiramicina assim que for identificada a infecção materna e o tratamento com sulfadiazina e pirimetamina, após o primeiro trimestre de gestação, se confirmada a infecção fetal<sup>4</sup>.

### 2.3. Infecção do feto e recém-nascido

Todas as gestantes suspeitas de terem se infectado durante a gestação, seja pela identificação de soroconversão, pela presença de sinais/sintomas sugestivos ou pela presença de títulos elevados de IgG na presença de IgM, devem ter seus recém-nascidos avaliados com o objetivo de confirmar ou excluir a infecção. Além do exame clínico cuidadoso, essa avaliação inclui o exame da placenta, exames sorológicos e/ou culturas para *T. gondii* de sangue do cordão umbilical ou sangue periférico do recém-nascido. Devem ser realizados também exame oftalmológico (fundoscopia), exames de imagem (ultra-som transfontanela, tomografia computadorizada de crânio), exames auditivos para avaliar deficiência neurossensorial e exame de líquido. A toxoplasmose congênita é confirmada no recém-nascido diante da presença de anticorpos anti-*T. gondii*, tais como IgM e/ou IgA após o 10º dia de vida e/ou IgG persistentemente positiva ao final do primeiro ano de vida<sup>102</sup>. Quando não é possível a confirmação da infecção no período neonatal, deve-se acompanhar rigorosamente o comportamento dos títulos de IgG específica (curva de IgG) realizando a sorologia aproximadamente a cada seis semanas até que seja possível confirmar ou excluir a infecção. Todas as crianças com toxoplasmose congênita identificadas no primeiro ano de vida, com infecção clinicamente aparente ou não, devem ser tratadas durante o primeiro ano de vida.

#### 2.3.1. Prevalência da toxoplasmose congênita

A prevalência da toxoplasmose congênita varia na dependência dos fatores abordados na seção 2.2.1 e nem sempre é proporcional à prevalência da infecção na população. Tem sido relatada nas proporções de menos de 1/10.000 nascidos vivos em Massachusetts<sup>16</sup>, Áustria<sup>125</sup>,

Suécia<sup>126</sup> e Noruega<sup>47</sup>; 2-3/10.000 nascidos vivos na Polônia<sup>61</sup>; e 1/1.000 na França<sup>4</sup>. No Brasil, estudos recentes têm mostrado prevalências de 3-20/10.000<sup>12, 13, 127, 128</sup>.

As divergências observadas na prevalência da toxoplasmose congênita são devidas, muitas vezes, a metodologias de pesquisa diferentes, utilizando a triagem pré-natal ou pacientes oriundos de serviços especializados para gestantes de alto risco e, mais recentemente, pela triagem neonatal. Os estudos de triagem neonatal podem oferecer uma estimativa da prevalência da infecção bem aproximada da real. Suas principais limitações são: a realização da pesquisa em nascidos vivos, com perda dos abortos, natimortos e neomortos; a utilização do teste de IgM anti-*T.gondii* como forma de identificar os casos, pois sabe-se que sua sensibilidade não é 100%. O teste de IgM falso-negativo ocorre especialmente nas crianças infectadas no primeiro trimestre de gestação e que já não apresentam o anticorpo ao nascimento. Mas, embora a triagem neonatal possa subestimar a ocorrência dos casos, ela é útil para avaliar o impacto da infecção na população por trabalhar com grandes amostragens.

Na Tabela 3 podem ser observados os resultados de alguns estudos de prevalência brasileiros que utilizaram a pesquisa de IgM específica no período neonatal. Dois estudos pesquisaram a IgM em sangue de cordão e selecionaram a amostra em hospitais de referência na região<sup>14, 60</sup>. A maior prevalência foi obtida em Uberlândia, onde a amostra foi selecionada em dois hospitais, um público (500 recém-nascidos) e outro privado (305 recém-nascidos)<sup>60</sup>. As crianças infectadas nasceram no hospital público (Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia), considerado referência na região, o que pode representar um viés na seleção da amostra e justificar tão elevada prevalência. No estudo realizado em Alto Uruguai, RS, a amostra foi selecionada a partir de unidades de pré-natal do Sistema Único de Saúde e envolveu 31 municípios<sup>72</sup>. A população dessa região apresenta prevalência elevada da

infecção (74,5%), com freqüente comprometimento ocular, e a grande proporção de crianças com toxoplasmose congênita poderia refletir as características epidemiológicas da região. Os outros estudos listados utilizaram a metodologia da triagem neonatal e as prevalências encontradas podem estar subestimadas, mas pela comparação com os outros estudos, provavelmente se aproximam da estimativa real.

TABELA 3 – Prevalência da toxoplasmose congênita avaliada pela presença de IgM anti-*Toxoplasma.gondii* no período neonatal

Local do estudo	Prevalência por 10.000 nascidos vivos	Amostra	Casos	Material examinado	Referência (Autor)
Campos dos Goytacazes/RJ	20	2.550	5	Sangue periférico – papel filtro	Bahia-Oliveira et al, 2001 <sup>12</sup>
Alto Uruguai/RS	14	2.126	3	Sangue periférico	Spalding et al, 2003 <sup>72</sup>
Passo Fundo/RS	08	1.250	1	Sangue cordão	Mozzatto et al, 2003 <sup>14</sup>
Uberlândia/MG	49	805	4	Sangue cordão	Segundo et al, 2004 <sup>60</sup>
Brasil (vários estados)	05	364.130	195	Sangue periférico – papel filtro	Neto et al, 2004 <sup>129</sup>
Ribeirão Preto/SP	03	15.162	5	Sangue periférico – papel filtro	Carvalho et al, 2005 <sup>128</sup>
Porto Alegre/RS	06	10.000	6	Sangue periférico – papel filtro	Lago, 2006 <sup>127</sup>

### 2.3.2. Diagnóstico clínico

A toxoplasmose congênita é assintomática ao nascimento em cerca de 80% a 90% dos casos e, quando sintomática, a criança pode apresentar sintomatologia variada manifesta no período neonatal; nos primeiros meses de vida; tardiamente, na infância ou adolescência; ou ainda, pode permanecer assintomática por toda a vida<sup>4</sup>. As manifestações clínicas mais freqüentes, afetando 14 a 17% das crianças infectadas (1 em 6 crianças), são a retinocoroidite e as lesões intracranianas (calcificações ou dilatação ventricular)<sup>51, 113</sup>. Cerca de 1-2% dos casos podem apresentar morte perinatal ou infecção disseminada grave<sup>51, 56, 113</sup>. Apresentar a tríade clássica de Sabin, hidrocefalia, calcificações cerebrais e retinocoroidite, é incomum, ocorrendo em

menos de 10% das crianças infectadas<sup>5-7</sup>. A hidrocefalia pode ser suspeitada no exame clínico, se a criança apresentar macrocrania, ou diagnosticada nos exames de imagem, ultra-som transfontanelar ou tomografia computadorizada de crânio. Podem ocorrer convulsões, estrabismo, nistagmo, além de manifestações sistêmicas como anemia, hepatoesplenomegalia, icterícia, petéquias devido à trombocitopenia, pneumonite, diarreia e hipotermia<sup>4</sup>.

As conseqüências da infecção para as crianças com manifestação clínica neonatal são mensuráveis, mas para o restante das crianças infectadas, as estatísticas descritivas dos casos dependem do tempo de seguimento das crianças e do tratamento instituído. Para avaliar o impacto da toxoplasmose congênita em uma população, é necessário longo tempo de acompanhamento dos casos, idealmente durante uma a duas décadas. Estudos com essas características relataram que, quando não tratadas, as crianças apresentaram retinocoroidite em 75% dos casos e lesões neurológicas em 50%<sup>4, 6, 7</sup>.

Cerca de  $\frac{1}{3}$  das crianças que apresentam sinais/sintomas ao nascimento, mostram manifestações generalizadas e comuns a outras infecções congênitas. Observam-se com mais freqüência hepatoesplenomegalia, icterícia, baixo peso de nascimento, petéquias, anemia, pneumopatia e prematuridade<sup>130</sup>. O quadro pode ser muito variado e abranger, além das manifestações viscerais, as neurológicas e oftalmológicas. Mas, na maioria das crianças com manifestações neonatais predomina, em freqüência e gravidade, o comprometimento neurológico e oftalmológico. Entre os motivos que justificam essa maior labilidade do SNC está a imaturidade do feto ao ser acometido, que está associada à idade gestacional da aquisição da infecção. O período durante a gestação de maior risco para a presença de manifestações clínicas na criança é o segundo trimestre de gestação (10-24 semanas), quando as infecções podem ser graves com manifestações como calcificações cerebrais,

retinocoroidite e dilatação ventricular<sup>4</sup>. Os comprometimentos ocular, auditivo e neurológico serão abordados nas seções seguintes.

A maioria das crianças infectadas nasce sem sintomas, mas, quando submetidas a investigação mais cuidadosa, cerca de 40% delas apresentam alterações oculares (retinocoroidite) e/ou neurológicas (calcificações cranianas, dilatação ventricular ou hiperproteínoorraquia)<sup>4</sup>. As crianças que não apresentam alterações após investigação diagnóstica, exceto a sorologia positiva, são consideradas como tendo infecção subclínica. Essas crianças geralmente são infectadas no final da gestação, passam despercebidas no exame clínico habitual e, se não tratadas, podem desenvolver seqüelas ao longo do crescimento<sup>6, 10, 131, 132</sup>.

Em relação ao peso de nascimento das crianças com toxoplasmose congênita, a maioria dos autores que acompanha crianças diagnosticadas a partir do pré-natal relata que elas nascem, em geral, a termo e com parâmetros antropométricos adequados para a idade. Para avaliar o peso e a idade gestacional de nascimento de acordo com a idade gestacional de infecção materna, foi realizado um estudo de coorte envolvendo 732 gestantes que soroconverteram na gestação, estratificado em dois grupos - gestantes infectadas antes da 20ª semana e infectadas durante ou após a 20ª semana. Observou-se associação entre toxoplasmose congênita e uma menor duração da gestação, embora nenhum bebê infectado tenha nascido com menos de 34 semanas. Não foi observada associação entre a doença congênita e baixo peso de nascimento e pequeno para a idade gestacional<sup>133</sup>. Os autores destacam que não foi observada associação entre as variáveis acima e o tempo e tipo de tratamento oferecido na gestação, embora outros estudos sejam necessários para avaliar se o menor tempo de gestação está relacionado a intervenção obstétrica ou à infecção fetal.

O crescimento das crianças com toxoplasmose congênita também é pouco relatado, mas Lappalainen et al.<sup>134</sup> avaliaram alguns parâmetros como peso, comprimento e perímetro encefálico em 37 crianças, 4 com toxoplasmose congênita confirmada e 33 consideradas não infectadas, embora, dentre essas, três fossem suspeitas da infecção. Os autores não observaram diferença significativa entre o peso de nascimento, comprimento e perímetro cefálico, escore de Apgar e crescimento ao longo do primeiro ano de vida nos dois grupos, mas a casuística era pequena.

Poucos estudos utilizando a metodologia da triagem neonatal relatam períodos longos de seguimento das crianças infectadas. Neto et al.<sup>129</sup>, estudando 364.130 crianças submetidas a triagem neonatal e testadas para IgM anti-*T. gondii* em sangue seco, observaram que 195 crianças (1:1.867 nascidos vivos) foram diagnosticadas com toxoplasmose congênita. Ao final de sete anos (média de 30 meses de seguimento), 138 (70,7%) permaneciam assintomáticos. Dentre os 53 sintomáticos, retinocoroidite foi observada em 60,4% (32/53), calcificações cranianas em 39,6% (21/53) e outros sintomas (esplenomegalia, retardo no DNPM, microcefalia, hidrocefalia, microftalmia) em 13,2% (7/53).

Como as manifestações clínicas são muito variáveis, Hohlfeld et al.<sup>46</sup> propuseram uma classificação de gravidade que pudesse auxiliar na comparação dos estudos e estabelecimento de prognóstico. Os autores realizaram, no período de 1982 a 1988, o seguimento de 89 fetos infectados cujas mães foram ou não tratadas durante a gestação, tendo havido interrupção da gestação em 34 casos. As 55 crianças nasceram com idade gestacional média de 39 semanas (DP=2 semanas), pesando entre 2200-4120 g (média=3120g e desvio-padrão=520g), sem que fosse observada restrição do crescimento intrauterino (CIUR) e foram acompanhadas no



período pós-natal. As crianças realizaram fundoscopia (54/55), radiografias de crânio (45/55), ultra-sons transfontanela (39/55), punção lombar (28/55), tomografia computadorizada de crânio (12/55) e eletroencefalografia (8/55). A classificação proposta foi descrita em três formas de apresentação clínica: (1) Forma subclínica – ausência de sinais e sintomas; (2) Forma benigna – sinais isolados e assintomáticos (calcificação intracraniana com exame neurológico normal; retinocoroidite sem perda visual); (3) Forma grave – hidrocefalia, microcefalia, retinocoroidite bilateral com perda visual, exame neurológico anormal. A partir dessa proposta descreveram sua casuística. A infecção foi subclínica em 44 crianças (81%), benigna em 12 e grave em 1 (2%). Após um seguimento de seis meses a quatro anos, a taxa de infecção subclínica foi de 76%.

Os fatores relacionados a variabilidade de sintomas clínicos no neonato e lactente ainda permanecem por serem avaliados. Presumivelmente, refletem uma combinação de fatores, como o genótipo e a resposta imunológica do hospedeiro, a carga tecidual parasitária, o estágio de desenvolvimento da placenta e a composição genética do parasito<sup>135, 136</sup>. Entre esses fatores, destacam-se as características da cepa de *T. gondii* envolvida na infecção<sup>137</sup> (ver seção 2.1) e a resposta imunológica da criança.

Em relação à resposta imunológica, sabe-se que no início da infecção o parasita ativa células como macrófagos, células *natural killer* (NK), células dendríticas e neutrófilos, limitando a replicação dos taquizoítos e estimulando a liberação de citocinas pró-inflamatórias como a interleucina 12 (IL-12), o interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e o fator de necrose tumoral alfa (TFN- $\alpha$ ). A IL-12 ativa os macrófagos, aumenta a produção de IFN- $\gamma$  pelas células NK, dirigindo a proliferação dos linfócitos T CD4+ e CD8+, que produzem mais IFN- $\gamma$  em um perfil Th1 característico. Sabe-se que os linfócitos T CD4+ e CD8+ são os principais envolvidos na

resistência do hospedeiro à infecção pelo *T. gondii*<sup>138</sup>, devido a sua habilidade em produzir IFN- $\gamma$ , reconhecida como a principal mediadora de resistência ao parasita<sup>139</sup>, tanto na fase aguda como na crônica<sup>140</sup>. O linfócito T CD8+, ativado pela IL-12 secretada pelo linfócito T CD4+, exerce uma atividade citotóxica contra taquizoítos ou células infectadas com *T. gondii*<sup>141</sup>. A produção inicial de IFN- $\gamma$  e outras citocinas pró-inflamatórias é crucial no desenvolvimento da resposta imune que se desenvolve contra o *T. gondii*. O IFN- $\gamma$  aumenta a síntese de IL-12 pelos macrófagos expostos a produtos de taquizoítos, induz a expressão do receptor para IL-12 nas células T e inibe IL-4, uma importante citocina para diferenciação do fenótipo Th em fenótipo Th2<sup>142</sup>. O parasita, ao mesmo tempo que estimula as citocinas pró-inflamatórias, estimula mecanismos de controle (citocinas anti-inflamatórias) que modulam a resposta imunológica e permitem a sobrevivência do hospedeiro. As citocinas anti-inflamatórias (IL-10, IL-4 e TGF- $\beta$ ) e substâncias como o óxido nítrico (ON) limitam a replicação dos taquizoítos e a proliferação dos linfócitos, permitindo a evolução da infecção para a fase crônica. A citocina regulatória IL-10 inibe a ativação de macrófagos, inibe a síntese de IFN- $\gamma$  pelas células T e NK e previne a diferenciação de clones Th1 através da inibição da síntese de IL-12 por macrófagos. Dados obtidos por Yamamoto et al.<sup>143</sup> sugerem que a resistência à toxoplasmose possa estar associada à capacidade de secretar altos níveis de IL-12. A IL-4 potencializa os efeitos de IL-10 e/ou antagoniza a diferenciação das células Th no fenótipo Th1, sugerindo se tratar de uma importante citocina na prevenção de uma exacerbação da resposta Th1 induzida pelo parasito<sup>140</sup>. Foi relatado, em recém-nascidos infectados, anergia de linfócitos frente a antígenos de *T. gondii*<sup>143, 144</sup>, entretanto, estudos recentes têm demonstrado que imunidade celular efetiva está presente nas crianças infectadas congenitamente<sup>145, 146</sup>.

### 2.3.3. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico da toxoplasmose congênita logo após o nascimento é importante por permitir o tratamento precoce e melhorar o prognóstico das crianças tratadas, comparadas com as não tratadas<sup>7</sup>, e como as manifestações clínicas freqüentemente estão ausentes, a investigação laboratorial é fundamental. O diagnóstico pós-natal da toxoplasmose congênita é crucial em duas situações: (a) quando ocorrem sinais clínicos compatíveis com a infecção na ausência de informação sobre a sorologia materna no pré-natal; e (b) quando é verificada a soroconversão materna durante a gestação na ausência de diagnóstico da infecção fetal<sup>147</sup>.

Após o nascimento, o diagnóstico pode ser definido pela identificação do parasita em material coletado do RN ou pela presença de anticorpos específicos (métodos sorológicos). O RN com toxoplasmose congênita pode apresentar parasitemia detectável na camada leucocitária do sangue venoso, especialmente no primeiro mês de vida, detectada por inoculação em camundongo (resultado após 4-6 semanas), cultura em células ou pela PCR, mas essas técnicas, de custo elevado, não estão facilmente acessíveis em laboratórios de análises clínicas. Naessens et al.<sup>148</sup>, comparando várias técnicas para o diagnóstico pós-natal da toxoplasmose congênita, verificaram que a inoculação em camundongos de tecido placentário e sangue de cordão apresentou sensibilidade de 45% e 16% respectivamente, e especificidade de 100%. A utilização da técnica de PCR para o diagnóstico pós-natal, utilizando a avaliação da placenta, mostrou sensibilidade de 61% e 10% de falso-positivo<sup>149</sup>. A técnica da PCR ainda não está definitivamente padronizada e os resultados, em laboratórios diferentes, muitas vezes são heterogêneos<sup>97</sup>. Além disso, a parasitemia pode ter curta duração limitando o valor da PCR no sangue periférico<sup>150</sup>. Tem sido relatada, recentemente, a identificação do parasito pela PCR na urina de recém-nascidos infectados, mas os casos relatados apresentavam grave

comprometimento, inclusive sistêmico, e suas mães não haviam sido tratadas durante a gestação<sup>151</sup>.

Clássicamente o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose congênita se baseia na pesquisa de anticorpos contra o parasita. A associação entre sinais clínicos sugestivos de infecção congênita, títulos elevados de anticorpos IgG anti-*T. gondii* no RN e perfil materno de infecção recente, têm alto valor preditivo positivo de toxoplasmose congênita, mas o diagnóstico deverá ser confirmado pela presença de IgM e/ou IgA e/ou IgE específicas ou pelo teste de IB mostrando perfis diferentes de IgG da mãe e criança<sup>152</sup>.

No recém-nascido e lactente jovem, a infecção é confirmada pela presença de IgM e/ou IgA nos primeiro semestre de vida e/ou pela presença de IgG em títulos ascendentes ou persistentemente positivos aos 12 meses de vida da criança<sup>102</sup>. O diagnóstico através da IgG só é possível a médio prazo, já que este anticorpo atravessa passivamente a placenta e encontra-se positivo em um número significativo de crianças não infectadas. Devido a seu elevado peso molecular, os anticorpos IgM e IgA não atravessam passivamente a placenta e são considerados os marcadores da infecção congênita, mas foi descrito que, durante o trabalho de parto, pode ocorrer passagem do sangue materno através da placenta (escape placentário) e contaminação do sangue do recém-nascido com IgM<sup>107, 153</sup> e IgA<sup>107</sup> em 12 e 22% dos casos, respectivamente<sup>147</sup>. Como a meia vida desses anticorpos é curta, após o 10º dia de vida, a presença de IgM e/ou IgA significa infecção da criança, sendo os testes de escolha para triagem da infecção congênita<sup>97, 153</sup>. A sensibilidade da IgM para o diagnóstico da toxoplasmose congênita pós-natal é variável e depende, principalmente, da idade gestacional em que ocorreu a infecção, sendo, em geral, cerca de 75%, podendo ser negativa nas infecções ocorridas antes da 20ª semana de gestação e aumentando essa sensibilidade nas

infecções ocorridas no último trimestre da gestação, quando chega a 80%-90%<sup>4, 148</sup>. A pesquisa de IgA e IgE específicas pode aumentar a sensibilidade do diagnóstico pós-natal, principalmente quando utilizada associada à IgM<sup>4, 148, 156</sup>. Com a IgA observaram positividade em 11% antes da 20ª semana e 88% após a 34ª. Robert-Gangneux et al.<sup>107</sup> estudando 110 gestantes que soroconverteram durante a gestação, identificaram 27 crianças com infecção congênita e 83 não infectados. Observaram que os testes de imunocaptura IgM e IgA diagnosticaram a toxoplasmose congênita, ao nascimento, em 70% e 65% dos casos, respectivamente, mas utilizados em conjunto, diagnosticaram 80% das crianças. Alguns autores relatam menor sensibilidade da IgM quando a mãe é tratada durante a gestação<sup>116</sup>, achado não confirmado por outros<sup>148</sup>. A presença de IgA específica tem mostrado sensibilidade variável, 38,9%<sup>154</sup> a 90%<sup>155</sup>, para o diagnóstico da infecção congênita, principalmente após o período neonatal<sup>147</sup>, o que pode ser explicado por metodologias diferentes de estudo. Alguns autores relatam maior sensibilidade de IgA, quando comparada à IgM, para o diagnóstico da infecção congênita<sup>148, 155</sup>. Ambos os testes têm mostrado maior especificidade em amostras de sangue periférico do RN comparado a sangue de cordão umbilical, embora a sensibilidade seja semelhante<sup>148, 156</sup>. Importante destacar que nem todo RN infectado tem capacidade de produzir anticorpos IgM e/ou IgA e, nos casos suspeitos mas negativos, a pesquisa desses anticorpos deve ser repetida um a dois meses após o nascimento<sup>4, 98</sup>. Estima-se que cerca de 30-40% das crianças infectadas não apresentem IgM e/ou IgA detectáveis ao nascimento quando são utilizados os ensaios comerciais habituais, que utilizam como antígeno o extrato solúvel de lisado do parasito<sup>4, 148, 150, 157</sup>. As possíveis explicações para tal são<sup>4</sup> (a) a infecção precoce do feto durante a gestação; (b) a imaturidade do sistema imune do recém-nascido, devido à prematuridade, pois a síntese de anticorpos pode se iniciar após a 22ª semana de gestação, dificultando sua detecção no RN; ou (c) quando a IgG materna suprime a resposta de IgM no feto. Também devem ser consideradas: a baixa sensibilidade

dos testes sorológicos utilizados nas infecções precoces na gestação e a curta duração da resposta imune fetal<sup>148</sup>. A idade gestacional das mulheres incluídas nos vários estudos poderia explicar a variabilidade dos resultados de sensibilidade de IgM e IgA. Para determinar a precisão da IgM e IgA no diagnóstico neonatal da toxoplasmose congênita, foi realizado estudo colaborativo em dez centros europeus e foram avaliadas 170 crianças infectadas e 822 não infectadas<sup>158</sup>. Os testes de IgM e IgA detectaram apenas 52-55% das crianças infectadas. A sensibilidade dos testes foi mais elevada nas duas primeiras semanas de vida e a especificidade foi mais alta na quarta semana após o nascimento. A sensibilidade da IgM, mas não a IgA, foi mais baixa quando a infecção materna ocorreu no primeiro ou segundo trimestre de gravidez (29% e 34%, respectivamente) comparada com o terceiro trimestre (71%). O tratamento pré-natal com sulfadiazina e pirimetamina não reduziu significativamente a sensibilidade de IgM e IgA, fato também verificado por Naessens et al.<sup>148</sup>. A sensibilidade foi menor para IF-IgM (10%) e ELISA-IgM (29%), mas similar a ISAGA-IgM (54%), ISAGA-IgA (58%) e ELISA-IgA (52%). As especificidades observadas foram: ISAGA-IgA (91%), ISAGA-IgM (96%), IF-IgM (100%), ELISA-IgA (98%). Os autores concluem que nos países industrializados, onde o risco de manifestações clínicas devido à toxoplasmose congênita na infância é baixo, a precisão da IgM e IgA no diagnóstico da parasitose é baixa, sendo necessários testes mais eficazes para diagnosticar RN identificados na triagem pré-natal<sup>158</sup>. A demonstração de anticorpos IgE, comparado aos testes de IgA, não tem se mostrado particularmente útil para o diagnóstico da infecção congênita<sup>88</sup>, pois sua duração é menor que IgM e IgA. A sorologia da toxoplasmose é complexa e exige, muitas vezes, uma variedade de testes e experiência para interpretação dos seus resultados.

Lappalainen et al.<sup>134</sup>, estudando 37 crianças com toxoplasmose congênita, observaram significativa maturação da avidéz de IgG durante o seguimento pós-natal, mas seu valor para o

diagnóstico pós-natal persiste indefinido. Durante o primeiro mês de vida a IgG materna decresce enquanto a produzida pela criança persiste em quantidade ou se eleva. O resultado da avidéz de IgG na criança é, portanto, uma mistura da sua própria IgG e da materna e sofre interferências do momento em que foi colhida a amostra e da quantidade de IgG presentes na mãe e na criança. Uma utilidade do teste de avidéz no RN é a de fornecer informação sobre a infecção materna durante a gravidez<sup>98, 159</sup>, pois, ao nascimento, a avidéz de IgG do neonato é semelhante à de suas mães<sup>101, 159</sup>, independente da criança estar ou não infectada. A presença de anticorpos de baixa avidéz no RN sugere priminfecção durante a gestação, no segundo ou terceiro trimestre, constituindo um indicador de risco de toxoplasmose congênita, embora o RN possa ou não ter sido infectado. Buffolano et al.<sup>159</sup> observaram que a média da avidéz no período perinatal foi significativamente mais baixa entre as crianças com toxoplasmose congênita ( $p < 0,001$ ; OR=2,85; IC95%:0,57; 15,55). Durante o seguimento das crianças observa-se entre as não infectadas uma queda progressiva dos anticorpos IgG e estabilidade dos valores da avidéz. Nos infectados, a avidéz aumenta progressivamente mas, de acordo com Flori et al.<sup>101</sup> requer um período de cerca de quatro meses para ser evidente, tempo suficiente para a realização do diagnóstico por outros métodos. Buffolano et al.<sup>159</sup> observaram, entre crianças com toxoplasmose congênita, o lento e contínuo aumento da avidéz de IgG ao longo de 30 meses, ultrapassando o valor de 30% em torno do primeiro ano de idade. Após o terceiro ano, os autores observaram discreto declínio da curva de avidéz, sem novos picos, mesmo na presença de rebote sorológico ou reativação ocular<sup>159</sup>. O tratamento anti-parasitário clássico diminui a progressão desse aumento e já foram relatados casos em que não houve aumento da avidéz de IgG durante o curso completo do tratamento. Essa pode ser uma evidência de que o tratamento é eficaz, pois estaria limitando o contato entre o parasita e o sistema imune<sup>101</sup>, o que justificaria o tratamento das crianças infectadas mas assintomáticas. Um achado interessante, observado em crianças com rubéola congênita

adquirida no primeiro trimestre de gravidez, é a cinética de maturação da avidéz de IgG, que mostra persistência de anticorpos de baixa avidéz durante a infância e mesmo quando mais velhos<sup>98</sup>. A explicação desse achado não é clara, mas tem sido aventada a possibilidade de tolerância ou anergia das células *T-helper*. Durante o primeiro trimestre os linfócitos T não poderiam distinguir antígenos estranhos dos seus próprios, o que poderia levar a uma maturação defeituosa da avidéz nos anticorpos originados das células B. O teste de avidéz realizado em sangue seco (papel filtro) apresentou resultados semelhantes aos obtidos em soro<sup>159</sup>.

Recentemente, têm sido desenvolvidos estudos para elevar a segurança e precocidade do diagnóstico da infecção congênita no período pós-natal, condição essencial para garantir a oferta de tratamento em período adequado. Pinon et al.<sup>157</sup>, descreveram um ensaio enzimático de imunofiltração (ELIFA) que permitiu comparar os anticorpos específicos (IgG e IgM) do RN e sua mãe, sendo detectada neo-síntese de anticorpos anti-*T.gondii* em 84,5% das crianças infectadas nos primeiros três meses de vida. A associação do teste ELIFA e IgM/IgA permitiu o diagnóstico da infecção congênita em mais de 90% das crianças, com especificidade de 99,8% e VPP igual a 99% até oito meses de idade. Entretanto, a complexidade da técnica ELIFA dificulta seu uso nos laboratórios. A comparação entre os perfis imunes da mãe e da criança, também é possível com o método de Western blot (*immunoblotting* -IB IgM e IgG), possibilitando a distinção entre os anticorpos sintetizados pela criança daqueles transferidos passivamente ao filho pela mãe<sup>147, 152, 160</sup>. Chumpitazi et al.<sup>152</sup>, estudando 48 crianças, 27 delas com toxoplasmose congênita, observaram na realização do IB-IgG que os anticorpos foram dirigidos contra antígenos com peso molecular variando de 18 kDa a 185 kDa, sendo mais prevalentes os de 18 kDa e 75 kDa. Os autores descrevem um caso falso-positivo para IB-IgG, com uma banda de 58 kDa, e dois de falso-negativo. Atribuem o achado de falso-



positivo à presença de anticorpos IgGs naturais ou possível interação de antígenos inespecíficos do *Toxoplasma* com IgGs ou, eventualmente, a conservação inadequada da amostra; e o achado de falso-negativo, ao estágio dos anticorpos específicos ou cepas diferentes<sup>152</sup>. Robert-Gangneux et al.<sup>161</sup> estudaram, no período de 1994 a 1998, 60 pares de mãe/filho em que a soroconversão materna foi confirmada durante a gestação. A infecção foi excluída em 43 das 60 crianças e confirmada em 17. Os antígenos reconhecidos pelos anticorpos IgM e IgG variaram de 5kDa a 117 kDa, predominando as bandas de 35 kDa a 90kDa. Os anticorpos IgM e IgG neo-sintetizados foram identificados em 70,6% e 82,3% dos casos, respectivamente, nos primeiros três meses de vida. A repetição do teste aos 1, 2 ou 3 meses de vida mostrou o mesmo padrão de reposta em todos os casos, exceto um, que mostrou novas bandas nas amostras que se seguiram à primeira. Quatro das crianças infectadas não apresentaram IgM ao nascimento e o diagnóstico foi possível pelo IB. Nas 43 não infectadas, as bandas apresentaram igual distribuição na mãe e filho. Em cinco dessas detectou-se a presença de IgM no sangue de cordão, sugerindo contaminação com sangue materno no momento do parto, mas essa IgM não foi confirmada no soro. Comparado ao ELIFA, os autores observaram igual sensibilidade do IB, uma especificidade melhor (100%) e maior facilidade de execução. Salientaram também que o IB pode ser repetido nos primeiros três meses de vida, ocasião em que os outros testes são negativos. Resultados falso-negativos do teste foram observados em fetos infectados precocemente durante a gestação e uma possível explicação é a síntese retardada de anticorpos IgG devido a mecanismo de tolerância. Robert-Gangneux et al.<sup>107</sup> confirmaram a complementaridade da propedêutica pré e pós-natal para o diagnóstico da toxoplasmose congênita. Mas essa avaliação falhou em diagnosticar 2/27 crianças infectadas que foram identificadas durante o seguimento clínico. Gross et al.<sup>160</sup> estudaram 97 crianças nascidas de mães que soroconverteram na gestação, realizando os testes convencionais e a comparação do perfil de IgG mãe/filho pelo *immunoblot* e

observaram, neste último, sensibilidade e especificidade de 82,4% e 93,0% respectivamente, e valor preditivo positivo e negativo de 73,7% e 95,7%, respectivamente. A interpretação do teste mostrou-se simples, com 100% de concordância entre diferentes examinadores. Observou-se, nas crianças infectadas, o desenvolvimento de anticorpos IgG contra pelo menos dois antígenos do *T. gondii*, de peso molecular variável, mas maiores que 30kDa. Tem sido relatada, em crianças não infectadas após o terceiro mês de vida, a presença de anticorpos naturais, principalmente da classe IgM<sup>152, 153</sup>, que reagem contra o *T. gondii*, mas geralmente para antígenos com peso molecular entre 14 e 21 kDa<sup>160</sup>. Os autores observaram que a associação entre testes convencionais (IgM e/ou IgA) e o IB-IgG aumentou a sensibilidade do diagnóstico para 85,7%. Pinon et al.<sup>147</sup> encontraram uma sensibilidade do IB IgM de 68% e especificidade de 98%, mas associado aos métodos sorológicos habituais obtiveram percentuais superiores a 90% e essa sensibilidade elevada do IB permitiu evidenciar reações contra bandas específicas, por vezes insuficientes para originar um sinal detectável em testes como ELISA. Os testes de *immunoblot* prestam-se para evidenciação de anticorpos reativos a diferentes componentes antigênicos do toxoplasma. Tiras de nitrocelulose com esses componentes, distribuídos como bandas de pesos moleculares crescentes, são incubadas com soros ou outros líquidos orgânicos e a reação revelada por um conjugado imunoenzimático (anti-IgG, -IgM, -IgA). As diferenças observadas nas taxas de sensibilidade e especificidade dos diferentes estudos podem ser atribuídas à elaboração não automatizada do IB nos estudos iniciais. Atualmente encontram-se disponíveis testes comerciais<sup>147</sup>. Rilling et al.<sup>153</sup> avaliaram um teste comercial de IB IgM e IgG quanto à eficácia para o diagnóstico precoce da infecção congênita, em faixas etárias diferentes (dias a meses) durante os primeiros três meses de vida e o compararam aos testes habituais para identificação de IgM e IgA. O estudo foi retrospectivo e envolveu 169 mulheres que soroconverteram na gestação e seus 175 filhos (6 gemelares), sendo confirmados 36 casos de toxoplasmose congênita e excluído a infecção em

139 crianças. Esses pares de mães/filhos foram testados com testes convencionais e IB. Para os testes convencionais foram utilizados ISAGA (IgM) e ELISA (IgA), observando-se, em média, uma sensibilidade de 54% (IC95%:42%; 66%) e especificidade de 100% (IC95%: 98,7%; 100%). A sensibilidade variou com a idade da criança, observando-se: (a) ao nascimento, 52% (12/23), (b) entre 2-13 dias de vida, 80% (12/15), (c) entre 14-60 dias 52% (13/25), (d) entre 2-3 meses 20% (2/10). Em relação ao IB, foi utilizado o *Toxoplasma Western blot IgG/IgM* (LDBIO Diagnostics, France) e observado especificidade de 96% (IC95%:91%; 99%) e sensibilidade de 80% (IC95%:68%; 88%), sendo a neo-síntese de IgG identificada mais frequentemente. Os autores não conseguiram explicar a razão dos falso-positivos. A sensibilidade também variou com a idade da criança, observando-se: (a) ao nascimento, 67% (14/21), (b) entre 2-13 dias de vida, 77% (10/13), (c) entre 14-60 dias 88% (23/26), (d) entre 2-3 meses 89% (8/9). A utilização combinada dos testes convencionais e IB aumentou significativamente a identificação das crianças com toxoplasmose congênita ao nascimento (78% -18/23) e nos primeiros três meses de vida (85% - 64/75). Observou-se relação direta entre a idade da criança e o aumento contínuo da diferença da sensibilidade entre os dois testes, convencional e IB<sup>153</sup>. Os autores concluíram por um desempenho semelhante entre o teste comercial analisado e outros testes utilizados em estudos anteriores<sup>107, 152, 160, 161</sup>. Alguns autores observaram sensibilidades superiores a 90% quando o IB foi associado a testes convencionais<sup>147, 161</sup>.

Nos casos não infectados, os títulos de anticorpos IgG caem progressivamente, até negatificação em prazo de poucos meses a um ano, mas nos infectados estes títulos permanecem estáveis ou se elevam. Algumas crianças, por imaturidade imunológica, não produzem anticorpos e os títulos caem, por vezes até a negatificação dos anticorpos de transferência passiva, para se elevarem em seguida pelo desenvolvimento da resposta humoral

da criança<sup>4</sup>. Algumas crianças, infectadas, durante o tratamento específico, negativam a sorologia e voltam a apresentar IgG positivo, muitas vezes com IgM e IgA, após a interrupção do tratamento, como parte do rebote sorológico<sup>147</sup>. Esse período, em que os anticorpos específicos não são detectados, pode durar meses e tem sido associado ao diagnóstico e tratamento precoce durante a gestação<sup>134, 162, 163</sup>. Recomenda-se, portanto, o seguimento cuidadoso, clínico e sorológico, das crianças em risco de infecção pelo *T. gondii* durante o primeiro ano de vida<sup>107</sup>. Na ausência de sintomas clínicos, muitas vezes apenas a persistência ou elevação de IgG permite confirmar a toxoplasmose congênita<sup>150</sup>.

Em 2005, Buffolano et al. estudaram 104 crianças, nascidas de mães que soroconverteram para toxoplasmose durante a gestação, sendo 35 infectadas e 69 não infectadas. Observaram que a sorologia convencional (IgM e IgA) apresentou baixa sensibilidade (25,7% e 22,9% respectivamente) e que o uso de antígenos recombinantes (MIC2, MIC3, MIC4, AMAI, M2AP e SAG1), especialmente as combinações que incluíam o antígeno SAG1 (85-95%), aumentou significativamente a sensibilidade do diagnóstico pós-natal precoce<sup>150</sup>. Observaram, especialmente, que o recombinante GST-MIC3 reagiu com os anticorpos IgG em 94% dos soros de crianças infectadas e deixaram de reagir com 71% dos soros das crianças não infectadas, indicando que o soro das crianças infectadas congenitamente reconhecem um repertório mais complexo de antígenos que o soro materno. Com relação à especificidade e Valor Preditivo Positivo, os melhores resultados foram obtidos com o uso combinado de testes para detecção de anticorpos IgM e/ou IgA comerciais e utilizando antígenos recombinantes. Observaram que a utilização de ensaios de IgM com antígenos recombinantes permitiu confirmar a infecção congênita em todas as 22 crianças com infecção subclínica, até oito semanas após o nascimento. Os autores destacam que uma grande vantagem do uso de

antígenos recombinantes é a alta reprodutibilidade dos ensaios, o que seria a primeira etapa para padronização do diagnóstico sorológico da toxoplasmose.

O uso do papel filtro como forma de transporte de sangue para posterior utilização no diagnóstico sorológico da toxoplasmose tem sido estudado por alguns autores<sup>16, 164</sup> com sucesso, identificando mais de 75% dos recém-nascidos de mães não tratadas<sup>48</sup>, o que torna viável a realização da triagem neonatal para essa infecção.

#### 2.3.3.1. **O teste para detecção de IgM anti-*T. gondii* em sangue seco – avaliação da concordância com teste padrão**

A escolha do teste diagnóstico deve ser baseada, sempre que possível, na acurácia do teste, medida pela comparação dos seus resultados com um padrão de referência (padrão ouro). Quando o teste é medido em escala categórica, a acurácia pode ser descrita em termos de sensibilidade e especificidade. Sensibilidade e especificidade são as medidas mais importantes para atestar o desempenho de um teste diagnóstico, não sendo afetadas pela prevalência da infecção, mas pressupõem a existência de um *padrão ouro*. A sensibilidade é a proporção de testes positivos (T+) entre os indivíduos doentes (D+) e reflete a habilidade do teste em detectar casos, sendo uma medida muito importante em testes de triagem. Especificidade é a proporção de testes negativos (T-) entre os indivíduos que não têm a doença (D-) e tem influência no custo e aplicação do teste em larga escala. O denominador dessas duas medidas é o resultado de um teste que identifica todos os doentes em uma determinada população, sem erros (*padrão ouro*). Mas, às vezes, não podemos aplicar o *padrão ouro* a todo o universo que utiliza o teste diagnóstico. A utilização de um denominador inadequado leva a viés nas estimativas de sensibilidade e especificidade, muitas vezes superestimando os verdadeiros

parâmetros.<sup>165</sup> A triagem, por exemplo, não faz por si só o diagnóstico, mas aponta as pessoas com maior probabilidade de doença. Nos indivíduos positivos está indicado a aplicação de outro teste diagnóstico para comprovar ou não a presença de doença, mas, por problemas éticos ou econômicos, não se indica essa confirmação nos negativos<sup>166</sup>. Nesse caso utiliza-se, muitas vezes, a combinação de testes ou a comparação entre testes para a(s) escolha(s) do que será utilizado.

Embora as medidas de sensibilidade e especificidade sintetizem a qualidade de um teste, podem não ajudar no diagnóstico definitivo do paciente, sendo úteis as medidas de predição, isto é, proporção de falsos resultados, que são influenciados pela prevalência da infecção. Na triagem, em geral, procuram-se testes que tenham valores preditivos positivo (VPP) e negativo (VPN) elevados, para que todos os casos sejam detectados, e proporção baixa de falsos resultados negativos (PFN) e positivos (PFP), para que a convocação desnecessária não seja alta. Alguns problemas podem ocorrer nos estudos de sensibilidade e especificidade: (1) se não for escolhido um amplo espectro de pacientes com e sem a condição, o estudo pode fornecer estimativas falsamente altas da sensibilidade e especificidade; (2) se a interpretação do teste não for feita de forma independente da definição do verdadeiro diagnóstico, viés pode elevar falsamente a acurácia estimada do teste.<sup>166</sup>

Entretanto, na prática, nem sempre se conhece a verdadeira condição clínica do paciente (doente ou não). Portanto, além da acurácia, uma importante questão para a medicina é o grau no qual observações diferentes de um mesmo fenômeno diferem. O ideal é que exista alta concordância intra e inter-observador, mas os observadores podem ter a mesma opinião e estarem ambos errados.

O coeficiente Kappa pode ser utilizado para avaliar o quanto a concordância entre dois observadores ou dois testes é diferente daquela devido apenas ao acaso. O coeficiente Kappa varia de -1 (discordância perfeita) a +1 (concordância perfeita), passando pelo 0 (concordância ao acaso). Considera-se que quando o coeficiente Kappa é maior que 0,75 a concordância é ótima, entre 0,40 e 0,75 é boa e menor que 0,40 é ruim<sup>166</sup>.

Quando se precisa comparar dois testes para verificar se um novo teste tem a mesma acurácia de um teste utilizado há mais tempo (considerado teste padrão), partimos de duas hipóteses: a hipótese nula que considera o teste A igual ao teste B ( $H_0: \theta_A = \theta_B$ ) e a hipótese alternativa que considera os dois testes diferentes ( $H_1: \theta_A \neq \theta_B$ ). O delineamento é pareado, isto é, o mesmo indivíduo é submetido aos dois testes. A justificativa mais freqüente para esse tipo de iniciativa é o menor custo do teste novo. O novo teste será aceito se sua sensibilidade ( $s_N$ ), ou especificidade ( $e_N$ ), não diferir da sensibilidade ( $s_0$ ) e especificidade ( $e_0$ ) do teste padrão por uma quantidade  $\delta_0$  clinicamente aceitável. Esse teste é baseado na diferença entre as medidas de acurácia. Uma alternativa que tem sido tratada recentemente na literatura é baseada na razão da sensibilidade ou da especificidade do teste novo pela sensibilidade ou especificidade do teste padrão. Esse é um teste muito útil quando essas medidas estão muito próximas de um. As hipóteses a serem testadas são: a hipótese nula considera que a razão entre as sensibilidades do novo teste e do teste padrão é menor ou igual a uma quantidade  $\delta$  clinicamente aceitável ( $H_0: s_N/s_0 \leq \delta$ ), e a hipótese alternativa considera que essa mesma razão é maior que uma quantidade clinicamente aceitável ( $H_1: s_N/s_0 > \delta$ ), isto é,  $\delta$  é a razão máxima entre as sensibilidades clinicamente aceitável. O mesmo raciocínio pode ser feito para especificidade. O novo procedimento é considerado equivalente ao procedimento padrão se a hipótese nula for verdadeira.

O número de pacientes com a condição, necessário para comparação entre os dois testes, dependerá do poder desejado, da probabilidade de discordância dos testes e, principalmente, da quantidade de controles positivos disponíveis para análise. Se a probabilidade de discordância for desconhecida, o ideal seria assumir um valor máximo para tal, o que implicaria no maior número de pacientes necessários para realização do estudo. Para avaliação da concordância entre dois testes (A e B) utilizados para triagem da toxoplasmose congênita em sangue seco, todos os testes positivos ou duvidosos em um dos testes foi repetido no outro, esperando-se excelente concordância dos testes positivos. Para avaliar a concordância também nos testes negativos, surgiu a seguinte questão: quantos recém-nascidos com resultado negativo serão necessários para essa comparação? Esperava-se que todos os negativos no teste A fossem confirmados no teste B. A estatística Kappa mede o grau de concordância além do que seria esperado pelo mero conhecimento dos “valores marginais” da tabela, isto é, os totais para as linhas e colunas. Pires<sup>166</sup> realizou, em dissertação de mestrado, simulação para avaliar o tamanho de amostra necessário para a avaliação de concordância Kappa entre os dois testes, concluindo que, com 99% de confiança, o máximo de testes necessários seriam 1.176, ou seja, cerca de 330 seriam para repetição dos resultados positivos ou duvidosos e 846 para os negativos, o que significa aproximadamente 2,9% dos resultados negativos.

#### 2.3.4. Comprometimento ocular

A toxoplasmose é a principal causa de uveíte posterior. Atribui-se à infecção congênita a maioria das lesões oculares causadas pelo *T. gondii*<sup>167, 168, 4, 169</sup>. Entretanto, elevadas prevalências da infecção adquirida e da lesão ocular (18% da população) em Erechim, ambas aumentando com a idade<sup>170</sup>, associadas ao relato de que a doença ocular adquirida pode ser



tardia e não simultânea com os sintomas sistêmicos<sup>171</sup>, sugerem que a frequência da lesão ocular devido à infecção adquirida esteja sendo subestimada<sup>172</sup>.

O parasita atinge o olho pela via hematogênica, como taquizoíto livre ou, mais comumente, como taquizoíto dentro dos leucócitos circulantes. Nos capilares retinianos, as células podem ser lisadas e os parasitas liberados para invadir a retina adjacente. Tem sido sugerido que o *T. gondii* possa acessar o olho pelo nervo óptico, vindo do cérebro. Essa via de transmissão poderia explicar a frequência de lesões justapapilares observadas em alguns pacientes<sup>173</sup>.

Cerca de 15-80% das crianças com toxoplasmose congênita desenvolvem doença ocular<sup>10, 16, 48, 6, 174, 175</sup>. A maioria dessas crianças nascem assintomáticas e, se não tratadas, estão em risco de desenvolver retinocoroidite durante o primeiro ano de vida até o início da vida adulta. Relata-se, em adolescentes não tratados, acometimento ocular superior a 82% dos casos<sup>6, 10</sup>. A presença de manifestações clínicas ao nascimento geralmente está associada a doença retiniana extensa<sup>173</sup>. Esse acometimento ocular associa-se com mais frequência às manifestações neurológicas da doença do que às sistêmicas<sup>175</sup>.

A prevalência das lesões oculares na toxoplasmose congênita foi investigada por vários pesquisadores, mas muitos desses estudos são constituídos por séries de casos encaminhados a um centro de referência pela presença de manifestações clínicas e possibilidade de comprometimento ocular. Nessas casuísticas tem sido observado comprometimento ocular em 60-80% das crianças, dependendo do tempo de seguimento dos casos<sup>131, 174, 176</sup>. A investigação da infecção aguda pela realização de sorologia sistemática, durante o pré-natal ou no período neonatal, detecta grande número de infecções subclínicas e faz com que as lesões oculares sejam detectadas em um número menor de crianças (10-30%)<sup>51, 177</sup>, embora o

tempo de seguimento dos casos ainda seja curto, em geral de poucos anos<sup>11</sup>. Observa-se diferença na frequência das lesões oculares de acordo com o local de realização do estudo, sendo as maiores prevalências observadas na América do Sul. Nos EUA (Massachusetts) tem sido relatado acometimento ocular em 27% (28/103) dos recém-nascidos infectados e identificados pela triagem neonatal<sup>16</sup>. As coortes realizadas na América do Sul mostraram prevalência de lesão ocular em 47% (18/38) dos infectados, enquanto na Europa ocidental observou-se sua ocorrência em 14% (79/550)<sup>124</sup>.

Fatores relacionados ao hospedeiro (idade gestacional na época da infecção, duração da exposição, via da infecção) e ao parasita (tamanho do inóculo, variações na estrutura antigênica), além de cofatores não reconhecíveis, podem influenciar a incidência e apresentação da doença ocular<sup>167</sup>. Atualmente existem fortes evidências, em animais e humanos, que fatores genéticos do hospedeiro e o fenótipo clonal do parasito determinam, pelo menos parcialmente, a gravidade da infecção. Meenken et al.<sup>178</sup> observaram associação entre HLA (antígeno de leucócito humano)-Bw62 e gravidade da doença ocular (envolvimento macular bilateral) em pacientes com infecção congênita. Na França<sup>27</sup>, o toxoplasma de genótipo II tem sido associado, com maior frequência, à toxoplasmose congênita, em suas várias apresentações clínicas, embora também se observe o tipo I<sup>179</sup>, experimentalmente mais virulento. No Brasil, estudiosos avaliando amostras humanas e de animais de várias localidades observaram divergências nos genótipos dos *T. gondii* isolados, mostrando que a estrutura genética do parasita é bastante complexa e necessita ser melhor compreendida<sup>180</sup>. Mas, a idade gestacional no momento da infecção ainda é considerado o fator determinante do comprometimento da criança<sup>27</sup>.

A lesão ocular mais comum na toxoplasmose é a retinocoroidite. O diagnóstico da lesão ocular é clínico, depende do aspecto da lesão retiniana, e, na forma clássica, é facilmente diagnosticável pelo seu formato tipicamente oval e cor creme, durante a fase aguda<sup>181</sup>. Acredita-se que a lesão se inicie com uma retinite e, posteriormente, afete o epitélio pigmentar da retina e coróide. A lesão aguda apresenta-se como um foco bem definido de necrose de coagulação na retina. Como essa lesão é decorrente da proliferação do parasita, detecta-se com frequência os antígenos do *T. gondii* na área de necrose, por imunohistoquímica<sup>182</sup>. As reações de hipersensibilidade ao parasita desencadeiam os sinais inflamatórios, incluindo a vasculite da retina, uveíte anterior, reações inflamatórias do vítreo e edema de retina<sup>167, 182</sup>. A cavidade vítrea pode ficar repleta de células inflamatórias, tornar-se turva, e evoluir para opacidade devido a alterações no colágeno causadas pela inflamação. Quando ocorre em crianças maiores, observa-se diminuição da acuidade visual no olho afetado e, geralmente, não há queixa de dor. Se a lesão envolve a mácula, a visão se torna nitidamente pior. A lesão costuma ser auto-limitada nos indivíduos imunocompetentes, mesmo sem medicação, e progressivamente se torna pálida, atrófica e menos elevada. Em consequência da inflamação, as células da camada pigmentar da retina migram para o entorno da lesão atrófica formando um halo hiperpigmentado. Essa alteração é típica mas nem sempre é verificada. Lesão satélite, próxima à lesão principal, geralmente é evidência de episódio repetido de doença ocular. Essa proximidade de lesões é atribuída ao fato de organismos encistados estarem próximos das lesões antigas. Outras alterações podem ser notadas na retina dos infectados: embainhamento perivascular difuso ou segmentar próximo ou distante da lesão de retinite, oclusão vascular, hemorragia e descolamento da retina. Pode ocorrer uveíte anterior granulomatosa ou não granulomatosa, quando a doença piora. Essa resposta inflamatória é vista apenas no olho com lesão ativa da toxoplasmose. O paciente queixa de

diminuição da acuidade visual, olho vermelho, fotofobia e dor. Via de regra, a presença de uveíte anterior implica na necessidade de examinar o segmento posterior.

A lesão cicatricial apresenta morfologia variável, de acordo com a virulência do parasito, da resposta imune do hospedeiro e da precocidade do tratamento. Apresenta-se geralmente como lesão de bordas nítidas, bem pigmentadas e com área central atrófica. Quando se observa o aspecto de uma coroa radiada de pigmento dirigindo-se a uma zona central de necrose, a lesão é denominada “roda de carroça” e considerada muito sugestiva de toxoplasmose ocular congênita, principalmente quando não tratada. A lesão ocular precocemente tratada pode se apresentar com aspecto âmbar e sem grande pigmentação em suas margens. A baixa acuidade visual decorre do envolvimento da mácula pela inflamação. Observa-se, com freqüência, traves fibróticas que se iniciam na lesão e se estendem até outras regiões da retina, representando comprometimento retiniano grave<sup>183</sup>. Outras seqüelas no segmento anterior incluem catarata, glaucoma e alterações da íris. Geralmente o *T. gondii* não é encontrado na câmara anterior do olho e as alterações são causadas pela resposta inflamatória ou resposta imune a antígenos do parasita.

A lesão ocular de aparecimento tardio pode ocorrer em qualquer idade e tem sido atribuída à persistência de parasitos latentes em cistos tissulares, não suscetíveis à terapia antimicrobiana disponível e com potencial para reativar após longos períodos da infecção inicial<sup>173</sup>. Quando as crianças apresentam exame oftalmológico normal durante os primeiros dois anos de vida, os dados disponíveis sugerem que o risco de aparecimento de lesões tardias seja pequeno<sup>11</sup>. Dentre 91 crianças acompanhadas por 1-6 anos em quatro estudos, identificou-se a retinocoroidite em 19 crianças no primeiro ano de vida e apenas em uma após os dois anos de idade<sup>11, 16, 48, 134</sup>.

A reativação da doença ocular crônica é comum na infecção congênita, ocorre no período de alguns anos após o primeiro episódio e não é previsível. Estudo de 114 crianças com toxoplasmose congênita atendidas no ambulatório de infectologia pediátrica do HC-UFMG, no período de 1982-1996, observou a reativação ocular em 14 delas (12,3%), com idade entre 2-7 anos<sup>8</sup>. Mets et al.<sup>173</sup> observaram retinocoroidite recorrente em 13% das crianças tratadas durante o primeiro ano de vida e 44% em controles históricos não tratados. As novas lesões foram contíguas às lesões antigas, mas também ocorreram em áreas previamente normais da retina. Wilson et al.<sup>6</sup> relataram que quase todas as 24 crianças com toxoplasmose congênita subclínica ao nascimento e não tratadas, desenvolveram retinocoroidite recorrente com uma idade média de 8,5 anos. Modelos experimentais têm evidenciado que a reativação ocorre em cistos tissulares localizados nas bordas da cicatriz. Determinadas condições seriam responsáveis pela conversão de taquizoítos em cistos e vice-versa e os estudos in vitro parecem associar fatores ao stress do parasito. Em modelo animal, certos mediadores imunológicos, como o interferon  $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) interagindo sinergicamente com o fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) para induzir a produção de óxido nítrico (ON), podem favorecer a formação de bradizoítos (mudança de estágio) pela interferência com a função mitocondrial<sup>182</sup>. Estudos experimentais têm mostrado que a neutralização de IFN- $\gamma$  ou FNT- $\alpha$  ou inibição da produção de ON resultam em reativação de infecção crônica e doença ativa com proliferação de taquizoítos e aumento da inflamação da retina<sup>184, 185</sup>. A toxoplasmose induz uma forte resposta imune mediada por células e tem sido relatado diferenças nessa resposta e na produção de citocinas entre pacientes com toxoplasmose ocular adquirida e congênita<sup>143</sup>, embora esse achado não seja confirmado por outros pesquisadores<sup>186</sup>. Os episódios de reativação da retinocoroidite geralmente têm resolução espontânea em 6-8 semanas e sua evolução pode ser atenuada pelo tratamento<sup>187</sup>.

Em relação às características da lesão, o *T. gondii* tem nítida predileção (pelo menos metade dos casos) pela região máculo-discal<sup>10, 16, 48, 134, 188</sup>; o tamanho da lesão é variável (1/10 de diâmetro de disco a 2 quadrantes da retina)<sup>183</sup>; o formato típico é oval ou circular e a lesão é freqüentemente bilateral<sup>188</sup>. Para facilitar o diagnóstico, foi proposta uma classificação de acordo com o aspecto morfológico das lesões retinocoroidianas em três tipos (I, II e III), sendo o tipo I caracterizado pela lesão em “roda de carroça”, o tipo II por lesões com uma área central tipicamente hiperpigmentada circundada por um halo hipopigmentado e a tipo III por hiperplasia ou atrofia do estrato pigmentoso<sup>183</sup>. A lesão do tipo I é a mais grave e está associada a maior destruição tecidual; as do tipo I e II satisfazem todos os critérios morfológicos considerados para o diagnóstico da toxoplasmose ocular; as do tipo III são incharacterísticas e não definem o diagnóstico. A preferência do parasita pela mácula tem sido atribuída, por alguns autores, à chegada do toxoplasma aos olhos pelo nervo óptico ou artérias ciliares posteriores. As alterações vítreas ocorrem em cerca de 90% dos casos e a opacificação vítrea tem resolução lenta, às vezes demorando mais de um ano. O nervo óptico pode ser afetado primária ou secundariamente e sua atrofia segmentar se caracteriza por palidez e perda de substância, provavelmente por degeneração retrógrada de um número significativo de fibras nervosas que se estendem através do feixe papilomacular. Esta atrofia segmentar reflete a morte das células ganglionares da retina<sup>175</sup>.

Várias alterações oculares, associadas com a retinocoroidite, podem contribuir para o déficit visual: estrabismo, microftalmia, catarata, descolamento de retina, atrofia do nervo óptico, iridociclite, nistagmo, glaucoma, neovascularização da coróide. A microftalmia constitui uma das alterações oculares mais graves e freqüentemente está associada com uveíte anterior e posterior e catarata. Na avaliação de 430 crianças identificadas durante o pré-natal na

França<sup>189</sup> e acompanhadas por um período médio de oito anos, foi observado que 284 (66%) não apresentavam lesão ocular nem neurológica e 16 não apresentavam lesão ocular mas tinham alguma alteração neurológica. Os outros 130 (30,2%) apresentavam toxoplasmose ocular e, destes, 25 tinham manifestações neurológicas: calcificações (24) – quatro com convulsões e um com atrofia da córtex; hidrocefalia em três, dois deles também com calcificações. A retinocoroidite foi bilateral em 46 (35,4%) e as detectadas na época do nascimento foram em sua maioria maculares (64%), sendo as novas lesões principalmente periféricas (60%). Entre as 286 lesões, 15 (5,2%) foram reativação. Outras alterações oculares foram detectadas em 25 (19%) dos 130 com retinocoroidite. A mediana da idade da detecção dessas lesões associadas foi de 1,5 anos, cerca de seis meses após o diagnóstico da retinocoroidite, exceto o estrabismo e a microftalmia que foram detectadas antes. Em 86% das crianças com estrabismo, a retinocoroidite era macular. O estrabismo tem sido relatado em cerca de 3% dos indivíduos de coortes não selecionadas. Os autores não observaram associação entre a atividade da lesão e a época da sua detecção (ao nascimento ou mais tarde). Observaram que a toxoplasmose esteve associada à diminuição da acuidade visual apenas nos casos que desenvolveram retinocoroidite.

Estudos sugerem que o tratamento pré-natal e/ou pós-natal pode reduzir a incidência e gravidade da doença retiniana<sup>7, 46, 177</sup>, mas faltam evidências que confirmem esse benefício<sup>15, 48</sup>. Um estudo recente, de coorte retrospectiva de gestantes infectadas durante a gravidez, avaliou a influência do tratamento pré-natal no risco de lesão ocular e craniana em crianças infectadas. A amostra consistiu das mães de 181 crianças com toxoplasmose congênita, sendo 70 tratadas com sulfadiazina e pirimetamina, 89 apenas com espiramicina e 22 que não foram tratadas. Em relação ao comprometimento ocular, observou-se que 4% (7/181) das lesões oculares estavam presentes no primeiro mês de vida das crianças, 9% (16) até o sexto mês,

11% (19) até os 12 meses, 16% (29) até os três anos, 19% (32) até os cinco anos e 23% (36) até os sete anos<sup>56</sup>. Observaram também que as lesões oculares foram mais comuns entre as crianças com calcificações intracranianas ( $p=0,0015$ ), quando comparadas com aquelas sem a lesão. Os autores não observaram evidências de que o tratamento pré-natal diminuísse o risco de lesão ocular nas crianças infectadas, embora admitam a necessidade de estudos maiores. Outro estudo, avaliou 18 crianças identificadas a partir da sorologia sistemática durante o pré-natal, cujas mães foram infectadas antes da 25ª semana de gestação e tratadas durante o pré-natal. Considerou-se, para a seleção da amostra, a existência de forte associação entre a idade gestacional da infecção materna e o comprometimento ocular da criança. Após o nascimento, essas crianças receberam medicação específica durante 12 meses e foram seguidas durante um período médio de 4,5 anos. Observou-se os dois olhos normais em 11 crianças (61%), ocorrência apenas de lesões periféricas em 5 (71%) dentre as 7 crianças com retinocoidite e diminuição da acuidade visual em apenas uma criança, com lesões maculares e periféricas bilaterais. Os autores concluíram por um melhor prognóstico das crianças tratadas, embora a ausência de grupo controle dificulte essa conclusão<sup>177</sup>. A possível interrupção da gestação nos casos graves, pode ter contribuído para a menor gravidade dos casos. O dado mais interessante é a observação de que nas crianças tratadas durante o pré-natal e/ou primeiro ano de vida, as novas lesões oculares, se presentes, geralmente não envolvem a mácula<sup>190</sup>.

Em relação aos benefícios do tratamento pós-natal, foi realizado um estudo entre 1981 e 2004 e publicado em Chicago em 2006, envolvendo 120 crianças com toxoplasmose congênita selecionadas geralmente a partir de suspeita clínica e acompanhadas por um período médio de 7,5 anos. Dentre os resultados relatou-se que novas lesões de retinocoroidite estiveram presentes em 9% (1/11) dos casos leves-moderados e 36% (17/47) dos casos gravemente comprometidos<sup>7</sup>. Esses resultados contrastam com os de Wilson e Koppe que identificaram



novas lesões em 89% (32/36) dos casos leves-moderados e 89% (90/101) dos casos graves. McLeod et al.<sup>7</sup> concluíram que o tratamento provavelmente reduz, mas não previne completamente a ocorrência de comprometimento ocular, embora faltem ensaios clínicos randomizados que confirmem esses achados.

A doença ocular nos imunodeprimidos difere clínica e histopatologicamente da que se desenvolve nos indivíduos imunocompetentes. Nos primeiros não se observa evidência de que as novas lesões se originam próximas a cicatrizes pré-existentes e as lesões podem ocorrer adjacentes aos vasos sanguíneos retinianos. A partir dessas observações, sugere-se que na AIDS a maioria das lesões oculares resultem de doença recém adquirida ou de parasitos que disseminam para o olho a partir de reativação de focos não-oculares<sup>182</sup>. As lesões associadas a infecções adquiridas em geral são unilaterais, únicas e ativas, diferentemente das congênitas associadas a várias lesões de retinocoroidite cicatrizada. Mas, no Brasil, esses dados têm sido contestados pelos estudos realizados na região de Erechim<sup>170</sup>.

### 2.3.5. Comprometimento auditivo

A audição desempenha papel importante no desenvolvimento do ser humano. O sistema auditivo periférico apresenta-se totalmente formado ao nascimento, enquanto o sistema auditivo central irá amadurecer até os dois anos de idade. Este período corresponde ao de maior plasticidade neuronal da via auditiva e o amadurecimento depende da quantidade e da qualidade dos estímulos externos captados. A identificação da perda auditiva e a reabilitação precoces<sup>191</sup> são essenciais para o desenvolvimento da fala (período crítico e período ótimo), da linguagem e outras funções cognitivas durante a idade escolar<sup>192</sup>.

A redução da acuidade auditiva, ou hipoacusia, é um problema silencioso, principalmente nas crianças pequenas que ainda não queixam dificuldade auditiva. Na infância, apresenta uma prevalência mundial de 1/1000 nascidos vivos,<sup>193, 194</sup> sendo mais elevada (2-4%) em egressos de unidade de terapia intensiva neonatal (UTI)<sup>192, 195</sup>. Está associada a causas genéticas e ambientais, mas em um número significativo de crianças a etiologia é desconhecida<sup>194, 196</sup>. Dentre os fatores de risco para hipoacusia destacam-se a história familiar de déficit auditivo, malformação craniofacial, síndrome genética, peso menor que 1000g, asfixia, hiperbilirrubinemia e uso de ventilação mecânica<sup>195</sup>.

As perdas auditivas podem ser detectadas precocemente pela triagem auditiva neonatal e os procedimentos utilizados podem ser divididos em avaliações comportamentais e eletrofisiológicas. Os comportamentais, subjetivos, têm dificuldade em detectar perdas leves ou unilaterais, apresentando elevado número de falso-negativos. Os eletrofisiológicos, objetivos, mais sensíveis e específicos, utilizam comumente dois procedimentos: os Potenciais Evocados Auditivos do Tronco Encefálico (PEATE) / *Brainstem Evoked Responses Audiometry* (BERA) e as Emissões Otoacústicas Evocadas (EOAE). Na triagem auditiva precoce das crianças, nos primeiros meses de vida, recomenda-se testá-las, inicialmente, com EOAE – popularizadas no Brasil com o nome de Teste da Orelhinha, seguido pelo PEATE se as EOAE estiverem alteradas<sup>196, 197</sup>. As EOAE Transientes e Produtos de Distorção são as mais empregadas na prática clínica e, se presentes, pressupõem a integridade da cóclea. O PEATE avalia o limiar de sensibilidade auditiva e a integridade neurofuncional das vias auditivas. Raramente as otoemissões podem estar presentes mesmo havendo perda auditiva, mas podem avaliar mal as perdas auditivas leves, devendo ser complementadas pela PEATE. Quando as perdas são moderadas e graves, as EOAE e a PEATE têm o mesmo desempenho<sup>198</sup>. Portanto, as EOAE e o PEATE são métodos de

avaliação complementares, altamente sensíveis, não invasivos, sendo viáveis para a identificação precoce da perda auditiva.

As perdas auditivas podem ser classificadas quanto ao tipo (neurossensorial ou condutiva); lateralidade; simetria; característica clínica (sindrômica ou não); momento de aquisição (congenita, peri ou pós-natal); hereditariedade (genética ou não); momento de manifestação (pré-lingual, peri-lingual ou pós-lingual)<sup>194</sup>. Podem ser classificadas quanto à intensidade em leve, moderada, grave e profunda. Na hipoacusia condutiva ocorre impedimento da condução eficaz do som do meio externo até a cóclea e na hipoacusia neurossensorial ocorre comprometimento da cóclea e/ou nervo coclear (via auditiva central).

Já está bem estabelecido a associação entre algumas infecções congênicas e perda auditiva. Os agentes infecciosos mais frequentemente associados com hipoacusia são o Citomegalovirus (CMV),<sup>199</sup> o vírus da rubéola,<sup>193, 200-202</sup> o *Toxoplasma gondii* e o vírus herpes<sup>269</sup>. Recentemente, os recém-nascidos portadores do vírus HIV também estão sendo incluídos nesse grupo de risco<sup>203</sup>. Crianças com rubéola congênita apresentam déficit auditivo em cerca de 20% dos casos<sup>194, 201</sup> e as com infecção pelo CMV, especialmente as sintomáticas, em até 40%.

O *Toxoplasma gondii* tem sido associado a lesão das vias auditivas desde a década de 1950,<sup>204</sup> com demonstração de depósitos de cálcio similares às calcificações encontradas nos cérebros das crianças com toxoplasmose congênita, no ligamento espiral e cóclea<sup>205</sup>. O déficit auditivo tem sido relatado em cerca de 20% dos casos de toxoplasmose congênita, principalmente nas crianças não tratadas ou tratadas por período muito curto<sup>194, 206, 207</sup>. Eichenwald (1947) estudando crianças não tratadas durante o primeiro ano de vida, encontrou surdez em 12/70

(17%) crianças com a forma neurológica da doença e em 3/31 (10%) com a forma generalizada. A ocorrência de surdez grave tem sido quase totalmente limitada a casos com manifestações clínicas acentuadas,<sup>4</sup> mas Wilson et al.<sup>6, 208</sup> relataram a ocorrência de perda auditiva unilateral ou bilateral em 5 (26%) de 19 crianças com infecção subclínica. Outros autores não têm encontrado associação entre a parasitose e hipoacusia, quando as crianças são tratadas,<sup>7, 206</sup> persistindo dúvidas quanto à frequência com que a toxoplasmose pode levar a déficit auditivo<sup>4, 204, 209</sup>.

### 2.3.6. Comprometimento do Sistema Nervoso Central

Estudos têm evidenciado que crianças com toxoplasmose congênita não tratada, com doença subclínica ou clínica, apresentam convulsões, déficits motores e cognitivos ao longo do desenvolvimento<sup>4</sup>. Roizen et al.<sup>210</sup> realizaram estudo prospectivo em 36 crianças com toxoplasmose congênita tratadas durante o primeiro ano de vida e examinadas nos primeiros meses após o nascimento, um ano, três anos e meio, cinco anos, sete anos e meio e dez anos. Os autores observaram que sinais de infecção ativa no SNC (pleocitose, hipoglicorraquia, hiperproteínorraquia e, em alguns casos, convulsões e anormalidades motoras) resolveram-se durante o tratamento. A hidrocefalia prontamente diagnosticada e tratada não esteve associada a mau prognóstico neurológico, pois os autores observaram que seis de oito crianças com hidrocefalia obstrutiva diagnosticada precocemente e responsiva ao uso da derivação ventrículo peritoneal (DVP) apresentaram desenvolvimento normal ou próximo do normal. A microcefalia esteve presente em 9/36 (25%) crianças e em sete foi observado déficit neurológico. Os autores atribuíram os resultados favoráveis do estudo ao tratamento precoce e prolongado das crianças infectadas.

O risco de lesão intracraniana, detectado pela Tomografia Computadorizada do Crânio (TCC), foi muito maior nas crianças com toxoplasmose congênita das Américas do Norte (19% - 19/103) e do Sul (53% - 20/38) do que nas crianças européias (9% - 49/550) que utilizaram o ultra-som transfontanela para o diagnóstico<sup>124</sup>. Sabe-se que a TCC é um método mais sensível para o diagnóstico das calcificações cranianas do que o US transfontanela, mas a exposição à radiação por esse método limita seu uso na rotina diagnóstica na Europa<sup>211</sup>. Estudo de meta-análise observou uma relação inversa entre a idade gestacional e a ocorrência de manifestações clínicas sistêmicas, incluindo manifestações neurológicas, nas crianças infectadas<sup>124</sup>. Essa relação com as manifestações oculares foi menos significativa. Os autores não observaram evidências de que o tratamento pré-natal reduzisse significativamente o risco de manifestações clínicas no neonato infectado (OR 1,11; p=0,74).

Em 2001 foram publicados os resultados de um estudo de coorte retrospectiva de 181 crianças com toxoplasmose congênita, cujas mães receberam medicação anti-*T. gondii* durante a gestação, mostrando a ausência de evidências de benefício do tratamento pré-natal na redução da hidrocefalia ou das calcificações intracranianas<sup>56</sup>. Os autores observaram que as mães que tiveram filhos com lesões intracranianas apresentaram soroconversão mais precoce durante a gestação (OR por semana de gestação=0,90; IC 95%:0,84; 0,97), o que não foi observado em relação às lesões oculares (OR=0,97; IC 95%:0,93; 1,02).

O exame do líquido, citouímica, é frequentemente realizado nas crianças com suspeita de toxoplasmose congênita e as publicações científicas mostram grande variação nos resultados de sensibilidade da proteinorraquia e pleocitose para o diagnóstico dessa infecção congênita – 3 – 60%<sup>4, 16, 210</sup>. Alguns autores consideram, ainda, que essas alterações citouímicas são bons marcadores de gravidade da doença<sup>4, 212</sup>. Mas, como a punção lombar para obtenção do líquido

geralmente é vista pelos pais como traumática para o RN e lactente jovem, como a hemorragia ocorre com certa frequência prejudicando a análise do material e o volume muitas vezes é insuficiente, Wallon et al.<sup>190</sup> avaliaram a importância do exame de líquido para o diagnóstico da toxoplasmose congênita e previsão de seqüelas. A partir do diagnóstico da soroconversão materna na gestação, rotina na França, foram puncionadas todas as crianças suspeitas de toxoplasmose congênita – protocolo vigente na época. Para confirmação do diagnóstico foram utilizados os conceitos classicamente aceitos<sup>102</sup> e a amostra avaliada foi constituída de 121 crianças, 45 delas com toxoplasmose congênita. Os autores observaram uma baixa sensibilidade do exame citoquímico do líquido (proteinorraquia e pleocitose) na determinação do diagnóstico de toxoplasmose congênita, outros métodos contribuíram mais frequentemente para o diagnóstico, e não encontraram associação entre as alterações líquóricas e a gravidade da infecção. Concluem que por não contribuir significativamente para o diagnóstico, deve-se preferir outros métodos propedêuticos ao exame do líquido, mas ressaltam que esses resultados são aplicáveis a crianças identificadas no período pré-natal e/ou neonatal, geralmente com infecções assintomáticas ou de menor gravidade<sup>190</sup>.

### 2.3.7. Tratamento do recém-nascido

Todas as crianças com toxoplasmose congênita, apresentando ou não manifestações clínicas ao nascimento, devem ser tratadas durante o primeiro ano de vida, e a associação terapêutica mais utilizada é a sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico<sup>4, 213, 214</sup>. A espiramicina, por não ter eficácia confirmada na infecção congênita e por não se difundir no parênquima cerebral, está sendo abandonada para o tratamento dessas crianças<sup>5, 214</sup>.

Alguns centros na Europa utilizam a sulfadoxina em substituição à sulfadiazina, devido ao conforto posológico e prolongam o tratamento por 24 meses<sup>163, 215</sup>. Não se dispõe de ensaios terapêuticos comparando os vários esquemas ou tratamento versus não tratamento, por isso recomenda-se usar a associação de sulfadiazina e pirimetamina, drogas consideradas mais eficazes, durante 12 meses. Como a pirimetamina atua inibindo os folatos, o ácido fólico é acrescentado ao esquema para evitar a ocorrência de neutropenia e, eventualmente, plaquetopenia. A possibilidade desses efeitos colaterais obriga a realização de hemogramas e contagem de plaquetas a intervalos regulares, durante o tempo de uso da medicação. Um estudo retrospectivo de 46 crianças com toxoplasmose congênita leve a moderada, tratadas com a associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico durante 12 meses, avaliou a tolerância aos medicamentos e resultados<sup>214</sup>. Após um período médio de seguimento de 27,1 meses, observou-se diminuição progressiva dos títulos de IgG até se tornarem quase imperceptíveis ao final do tratamento. Não foi observado trombocitopenia e 50% das crianças apresentou neutropenia menor que  $1000/\text{mm}^3$ , todas reversíveis e de curta duração, nenhuma seguida por infecção.

O tratamento deve ser iniciado o mais precocemente possível, logo que confirmado o diagnóstico<sup>214-216</sup>, o que só é possível se estiver disponível programa de triagem pré-natal ou neonatal, pois a maioria das crianças é assintomática ao nascimento. O principal objetivo do tratamento pós-natal é a redução no risco de reativação, principalmente ocular, observada por estudiosos ao longo da vida da criança<sup>4, 217</sup>. O aparecimento dessas lesões, novas ou reativação das já existentes, ocorre devido a ruptura dos cistos e liberação de taquizoítos transitoriamente e a intervalos regulares. Thiébaud et al.<sup>1</sup>, em 2005, realizaram uma revisão

---

<sup>1</sup> Thiébaud R, Bricout H, Di Constanzo S, Mouillet E, Eurotox panel 2 experts. Systematic review of published studies evaluating postnatal treatment effect (Unpublished report). Bordeaux (France): The Eurotox Group; 2005. Disponível on line [http://eurotox.isped.u-bordeaux2.fr/WWW\\_PUBLIC/DOC/Postnatal\\_effect\\_v25082005.pdf](http://eurotox.isped.u-bordeaux2.fr/WWW_PUBLIC/DOC/Postnatal_effect_v25082005.pdf), em 02/10/07.

sistemática de estudos publicados para avaliar a eficácia do tratamento pós-natal na ocorrência de lesões oculares e concluíram que não existem, até o momento, evidência consistente de que o tratamento pós-natal diminua a gravidade das lesões oculares ou sua evolução.

Quando o diagnóstico sorológico do recém-nascido é duvidoso e a criança assintomática, alguns autores sugerem a utilização de outros métodos que aumentem a sensibilidade para o diagnóstico (IgA, IB IgG e IgM) ou, na impossibilidade, a realização do seguimento da curva de IgG anti-*T. gondii*, só iniciando o tratamento diante da confirmação do diagnóstico<sup>214, 218</sup>. Outros, diante da dúvida, recomendam iniciar o tratamento enquanto se aguarda a confirmação ou exclusão da infecção<sup>215, 216</sup>. Essa é sempre uma decisão difícil, mas, se possível, devemos evitar o uso desnecessário de medicamentos potencialmente tóxicos e agilizar o diagnóstico utilizando uma somatória de métodos propedêuticos.

É comum a ocorrência de rebote sorológico (elevação dos títulos de IgG anti-*T. gondii*, por vezes acompanhada de IgM) após interrupção do tratamento, ao final de um ano<sup>219</sup>, não sendo justificado reiniciar o tratamento na ausência de associação com sinais de atividade da doença<sup>163, 173, 219, 220</sup>.

Como o tratamento não impede completamente o aparecimento de novas lesões oculares ou reativação de lesões prévias nas crianças com toxoplasmose congênita, é necessário o controle oftalmológico periódico, com realização de exame do fundo de olho ao longo do tempo<sup>4</sup>. Naturalmente, o tratamento das crianças comprometidas deve atender às suas necessidades (fisioterapia, fonoterapia, terapia ocupacional, estimulação visual) para que o crescimento e desenvolvimento ocorram da melhor forma possível.



### 2.3.8. Prognóstico

No início da década de 1980 foi observado que a sulfadiazina associada à pirimetamina e ácido folínico era eficaz no tratamento da encefalite pelo *T. gondii* e que a espiramicina era ineficaz nesse mesmo quadro clínico em pacientes com AIDS<sup>4, 7</sup>. Esse conhecimento associado à experiência de Eichenwald, citado por Remington<sup>4</sup>, e outros pesquisadores de que crianças com toxoplasmose congênita não tratadas ou medicadas com drogas anti-parasitárias durante um mês, apresentavam prognóstico limitado<sup>6, 10</sup>, motivaram o planejamento de um estudo para determinar se o uso de sulfadiazina e pirimetamina era factível e seguro para tratar toxoplasmose congênita em crianças<sup>220</sup>. Por questões éticas, não foi possível realizar ensaio clínico placebo controlado, sendo optado por avaliar diferentes doses de pirimetamina. Resultados dos vários aspectos do desenvolvimento desse estudo foram publicados ao longo dos cerca de 20 anos de seguimento<sup>45, 173, 177, 210, 220, 221</sup>. McLeod et al.<sup>7</sup> publicaram em 2006 os resultados do seguimento das 120 crianças recrutadas no período de 1981 a 2004 e acompanhadas por um tempo médio de 10,5 anos (desvio-padrão é 4,8 anos). Cerca de 80% (96) delas foi ao projeto por apresentar alterações clínicas, freqüentemente graves, compatíveis com toxoplasmose congênita. O estudo foi dividido em duas fases, uma observacional para avaliar a plausibilidade da terapêutica e outra, randomizada, para comparar dois esquemas de tratamento (pirimetamina na dose de 1mg/kg/dia durante dois e seis meses, seguida em ambos os esquemas pela mesma dose na freqüência de três vezes por semana até o final do primeiro ano de vida). A randomização foi estratificada de acordo com a gravidade das manifestações clínicas e a medicação foi custeada pelos seguros saúde dos pacientes ou pelo projeto. As avaliações clínicas foram realizadas nos primeiros três meses de vida e com 1; 3,5; 5; 7,5; 10; 15 e 20 anos. Um dos problemas do estudo foi a dificuldade para o

recrutamento de crianças assintomáticas ou oligossintomáticas, sendo seus resultados baseados principalmente em crianças com maior comprometimento. Observou-se que 11 (9,2%) crianças evoluíram para o óbito em idades variáveis, a maioria (82%) com comprometimento grave do SNC, sendo o evento final um distúrbio respiratório. Durante o tratamento, independente do esquema adotado, observou-se neutropenia reversível (os hemogramas foram realizados duas vezes por semana) em 30-40% dos casos. Foram avaliados seis desfechos finais: (1) atraso no desenvolvimento motor, (2)  $QI < 70$  pontos; (3) decréscimo no  $QI \geq 15$  pontos; (4) novas lesões oculares; (5) déficit visual; (6) perda auditiva  $> 30$  dB. Independente da gravidade do quadro clínico inicial, observou-se audição normal em todas as crianças; o desenvolvimento motor foi normal em 80% dos casos; o comprometimento visual ocorreu em 85% dos 96 casos gravemente comprometidos e a maioria das alterações estava presente no primeiro exame após o nascimento; 64% das crianças não apresentaram novas lesões retinianas. O prognóstico foi melhor na maioria dos desfechos analisados quando comparados com crianças não tratadas ou tratadas por apenas um mês<sup>6, 10</sup>, e a maioria das crianças do Estudo de Chicago chegaram à adolescência sem apresentar lesões oculares recorrentes ou convulsões, com desenvolvimento motor e cognitivo normais e sem déficit auditivo neurossensorial. Essas comparações são difíceis de avaliar devido às diferentes décadas de realização dos estudos sem tratamento. As limitações do Estudo de Chicago são o reduzido número de crianças assintomáticas incluídas e os diferentes esquemas terapêuticos que dificultam a comparação. Mas, o uso da associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico parece melhorar o prognóstico.

## 2.4. Estratégias para profilaxia da toxoplasmose congênita

A prevenção da toxoplasmose congênita e das seqüelas pode ser obtida por meio de uma ou da combinação das seguintes estratégias: educação das gestantes suscetíveis sobre comportamentos preventivos<sup>222</sup>; tratamento das gestantes com infecção aguda<sup>223</sup>; tratamento dos fetos infectados<sup>224</sup> e tratamento precoce dos recém-nascidos infectados, mesmo assintomáticos<sup>58</sup>.

Estão disponíveis três métodos para triagem populacional na toxoplasmose: (1) triagem pré-concepcional de todas as mulheres em idade fértil ou durante a gestação; (2) triagem perinatal utilizando sangue de cordão umbilical; (3) triagem neonatal utilizando sangue periférico de recém-nascidos em papel filtro.

### 2.4.1. Medidas educativas

Reduzir os riscos de exposição ao *T. gondii* é a medida mais efetiva para evitar a aquisição da toxoplasmose pelas gestantes suscetíveis (soronegativas) durante a gestação<sup>23</sup>. Sugere-se que a exposição ao parasita pode ser reduzida com melhoria da higiene pessoal, do processamento da carne, com medidas de proteção ambiental e educação para a saúde<sup>225</sup>. Essa última é uma medida simples, mas nem sempre executada, por desconhecimento desses fatores de risco por parte das gestantes e, com frequência, pela equipe de saúde responsável pelo acompanhamento pré-natal<sup>95, 96</sup>. Para serem eficazes, essas medidas devem estar adaptadas à região, de acordo com a prevalência da infecção entre as mulheres em idade reprodutiva, seus hábitos de vida, as condições epidemiológicas existentes na região e os recursos disponibilizados para a ação. As principais orientações podem ser vistas na Figura 2.

**Evitar o consumo de carne crua, defumada ou mal cozida de animais infectados**  
**Evitar a manipulação de carne crua ou fazê-lo utilizando luvas**  
**Não experimentar a comida enquanto cozinha, especialmente carne**  
**Lavar utensílios e superfícies que estiveram em contato com alimentos crus, especialmente carne**  
**Cuidado com a higiene dos alimentos consumidos crus (verduras e frutas), especialmente quando ingeridos fora de casa**  
**Não ingerir água não tratada**  
**Usar luvas quando manipular terra e/ou areia (atividades na horta ou jardinagem)**  
**Evitar contato com fezes de gatos e, se não for possível evitar, manuseá-las com luvas**  
**Lavar as mãos antes e após as refeições**  
**As caixas de dejetos dos gatos devem ser lavadas diariamente com água fervendo**

FIGURA 2 – Orientações profiláticas que devem ser recomendadas às gestantes em risco de adquirir toxoplasmose

As medidas educativas podem ser utilizadas como única estratégia de profilaxia, mas a associação com a triagem sorológica pré-natal permite identificar as gestantes suscetíveis e a aplicação de um programa mais intenso em um momento em que a mulher tende a estar mais motivada<sup>226</sup>. O ideal seria que essa orientação fosse feita antes da concepção, principalmente em regiões endêmicas<sup>227</sup>. Nessas regiões, as medidas deveriam ser endereçadas especialmente às gestantes jovens, com idade até 20 anos, devido a elevada prevalência nessa faixa etária e menor nível de escolaridade<sup>225</sup>.

A adoção de medidas simples de higiene pode reduzir em 60% a incidência da infecção na gestação<sup>226</sup>, e esse tem sido um ganho do programa de triagem pré-natal francês que, ao lado da sorologia, informa todas as suscetíveis sobre cuidados para evitar a infecção. Foi observado também na França, que o risco de soroconversão na gestação foi nove vezes menor nas mulheres que receberam orientação adequada<sup>78</sup>. Pesquisadores no Canadá observaram que

mesmo um período curto de orientações sobre a infecção e medidas profiláticas, na primeira consulta de pré-natal, fizeram com que aumentassem os hábitos de vida protetores contra a infecção<sup>227</sup>. Pesquisadores na Polônia observaram que a orientação da gestante em relação a hábitos protetores contra a toxoplasmose dobraram seu conhecimento sobre a infecção e a prevenção em quatro anos<sup>225</sup>. Estudo belga mostrou que a estratégia educativa foi efetiva, mas a orientação não foi efetuada apenas pelos médicos, foi repetida exaustivamente em reuniões de grupos de pré-natal e foi escrita e verbal<sup>228</sup>. Mas, os autores ressaltam que a soroconversão pode ocorrer independente da adoção das medidas recomendadas e que as gestantes devem ser avisadas de que o risco pode ser reduzido mas não eliminado. Estudos realizados na Polónia mostraram que embora as medidas educativas associadas à triagem pré-concepcional sejam estratégias razoáveis para a profilaxia da toxoplasmose congênita, não tem sido confirmado o valor dessas medidas na prevenção da infecção e tem sido difícil motivar mulheres não grávidas para realizar o teste sorológico<sup>61</sup>.

Alguns problemas podem dificultar a eficácia das medidas educativas: o início tardio do pré-natal, reduzindo as oportunidades para orientação preventiva e, muitas vezes, tornando difícil a interpretação dos resultados sorológicos e o diagnóstico; o nível educacional da mulher que pode dificultar o entendimento das orientações e sua aplicação; a motivação da mulher para mudar hábitos de vida. Em população com baixo nível intelectual o melhor veículo de informação pode não ser escrito e sim veículos de massa, utilizando comunicação pessoal e veículo televisivo<sup>225</sup>. Antes de iniciar um programa educativo é importante conhecer bem o público a que se destina.

Para o sucesso da recomendação de não ingestão de carne crua ou mal cozida durante a gestação, as medidas de proteção à saúde devem ser adotadas junto com as medidas de

promoção da saúde. Deve-se pensar em estratégias para diminuir o consumo de carne contaminada, como por exemplo, congelando a carne e reduzindo a infecção entre os animais através da melhoria de higiene nas fazendas.

Mulheres que apresentam IgG positiva e IgM negativa no primeiro trimestre de gestação são consideradas “imunes”, isto é, infectaram-se antes da presente gestação. Esse grupo de gestantes tem baixo risco de transmissão da infecção a seus filhos, exceto se forem imunossuprimidas. Embora remota, a possibilidade de reinfeção e a ocorrência de imunossupressão justificam a extensão da prevenção primária a todas as gestantes, independentemente da suscetibilidade<sup>17</sup>.

Em 2005 foram publicados os resultados de um estudo realizado pelo Grupo de Estudos de Toxoplasmose, em Chicago, avaliando se o relato de exposição a fatores de risco para a toxoplasmose ou a investigação de quadro clínico compatível com a infecção durante a gestação poderia levar à identificação da maioria ou totalidade das mulheres em risco de transmitir a infecção a seus bebês. Foram estudados aspectos da parasitose durante o pré-natal de 131 crianças com toxoplasmose congênita acompanhadas pelos pesquisadores<sup>45</sup>. Observou-se distribuição da toxoplasmose congênita em todas as classes socioeconômicas, a residência em área urbana da maioria das famílias e a idade média das mães variando entre 25 e 29 anos. Apenas 39% das mães lembraram de exposição direta ou indireta, durante a gestação, a fatores de risco (carne mal cozida e fezes de gato) para a infecção. Considerando as dificuldades em diminuir a incidência da parasitose apenas pela implementação de medidas educativas, os autores defendem que a forma mais efetiva de prevenir ou detectar uma grande proporção de crianças com toxoplasmose congênita é pela triagem sistemática.

#### 2.4.2. Triagem pré-natal

O sucesso dessa estratégia depende do impacto da toxoplasmose congênita na saúde da população, da eficácia do tratamento e da abrangência do programa de triagem e do tratamento instituído<sup>19</sup>. Em países com elevada prevalência de infectados, onde as gestantes suscetíveis estarão expostas a um risco maior de infecção, existe uma relação custo-benefício mais favorável para adoção de um programa de triagem pré-natal, porque um número menor de gestantes em risco terão necessidade de repetir periodicamente os exames sorológicos durante a gestação. A identificação desse grupo permite a aplicação de medidas educativas visando a redução das chances de infecção. Em regiões com grande número de adultos suscetíveis a estratégia da triagem pré-natal pode ser inviável devido ao alto custo da repetição de exames durante a gestação.

A triagem pré-natal para toxoplasmose congênita objetiva: (1) identificar mulheres suscetíveis (IgM e IgG negativas) e limitar seu risco de infecção durante a gestação pela adoção de hábitos higiênico-dietéticos; (2) realizar sorologia sistemática para diagnosticar e tratar, o mais precocemente possível, as gestantes agudamente infectadas com o objetivo de limitar a transmissão da infecção ao feto e suas conseqüências; (3) diagnosticar e tratar a infecção fetal intra-útero para minimizar as conseqüências para o feto; (4) diagnosticar e tratar os recém-nascidos infectados para diminuir o risco de complicações tardias, especialmente as lesões oculares.

Um dos pontos fundamentais para implantação de um programa de triagem pré-natal é a certeza da eficácia do tratamento durante a gestação. Embora a triagem pré-natal seja utilizada em alguns países, como a Áustria desde 1974 e a França desde 1978 (desde 1978, no exame

pré-nupcial; desde 1985 realizando sorologia na primeira consulta do pré-natal; e desde 1992 realizando sorologia mensal em todas as gestantes suscetíveis)<sup>20, 121</sup>, os estudos disponíveis são insuficientes para atestar a eficácia do tratamento pré-natal na diminuição do risco de infecção do feto e dos agravos na criança infectada<sup>56, 108, 116, 118, 122, 124</sup>. Para maiores detalhes ver seção 2.2.6.

Uma das vantagens da triagem pré-natal é permitir o diagnóstico precoce das crianças com toxoplasmose congênita<sup>108</sup> e, nesse aspecto, tem se mostrado melhor que a triagem neonatal<sup>21</sup>. Para isso, as gestantes suscetíveis devem ser retestadas em curto intervalo de tempo. Apenas na França esse intervalo é mensal, sendo bimensal ou trimestral nos outros países. O diagnóstico precoce permite o início também precoce do tratamento da criança<sup>122</sup>, em média dois dias (0-14) nos centros de triagem pré-natal em contraste com 26 dias (22-33) nos centros de triagem neonatal. No programa francês tem sido identificado como problema a adesão das mães ao seguimento das crianças para confirmação diagnóstica<sup>107</sup>. Outro problema tem sido a diversidade de condutas em relação à propedêutica e tratamento. A triagem pré-natal é obrigatória na França<sup>5, 229</sup> e oferecida em abrangência nacional também na Áustria, Bélgica e Eslovênia, e regionalmente na Itália e Espanha<sup>108,121</sup>. Na França, a espiramicina é prescrita imediatamente após o diagnóstico da infecção materna e substituída pela associação sulfadiazina-pirimetamina se a infecção fetal for confirmada ou tiver sido adquirida pela gestante no final da gravidez<sup>121</sup>. Na Áustria as mães são inicialmente tratadas com a associação sulfadiazina-pirimetamina (após a 15ª semana de gestação), substituída pela espiramicina se o diagnóstico fetal é negativo<sup>121</sup>. Essa estratégia é cara e os testes para confirmar infecção fetal são invasivos<sup>17</sup>. Seus defensores relatam, no entanto, baixa incidência de doença grave na criança quando a mãe é diagnosticada e tratada no pré-natal<sup>58</sup>.



Outro ponto considerado importante para decisão por um programa de pré-natal é a disponibilidade de um teste diagnóstico sensível e específico. Na infecção aguda, a IgM específica é, usualmente, a primeira a ser detectada, já na primeira semana após a infecção. Sua persistência por mais de seis meses, quando utilizados testes de grande sensibilidade, é a responsável pela baixa especificidade observada no diagnóstico da infecção aguda, de extrema relevância na gestante. Assim, um resultado isolado positivo não tem valor absoluto, pois a IgM pode ser “residual” ou falso-positiva. Os títulos ou índices dos anticorpos relacionados à infecção aguda são, no entanto, significativamente mais elevados do que os residuais<sup>97</sup>, e o conhecimento desses valores é fundamental para o diagnóstico da gestante, pois valores crescentes podem ser indicativos de soroconversão recente. Valores crescentes de IgG também auxiliam no diagnóstico da infecção aguda, mas títulos elevados podem ser encontrados anos após a soroconversão. Medida da avidéz de IgG tem sido utilizada para identificar infecções antigas – elevada avidéz em amostra obtida no primeiro trimestre de gestação exclui infecção nas últimas 20 semanas, afastando o risco de toxoplasmose congênita para a criança<sup>99, 230</sup>. Importante lembrar que testes sorológicos diferentes detectam, com frequência, anticorpos diferentes, com padrões próprios de elevação e queda após a infecção<sup>88</sup>. Quando se dispõe de amostra única ou solicitada tardiamente na gestação, os índices de IgM precisam ser vinculados aos níveis de IgG para que a interpretação da sorologia considere tanto a dinâmica da formação de anticorpos quanto o espaço de poucos meses entre a concepção e o parto. É preciso considerar que resultados discordantes gerados por diferentes serviços afligem obstetras, pacientes e geram procedimentos invasivos e testes caros como o PCR, na maioria das vezes desnecessários<sup>88, 231</sup>. A combinação de métodos para facilitar o diagnóstico de infecção aguda foi estudada em centros de referência europeus, sendo observado excelente desempenho (sensibilidade igual ou superior a 95% e

especificidade próxima a 99%) com o uso sequencial de IgM de alta sensibilidade e de um método que explora a qualidade da IgG (avidez, por exemplo)<sup>104</sup>.

Mas, mesmo com o uso de métodos sofisticados, incluindo o PCR em líquido amniótico, alguns casos de toxoplasmose congênita não são diagnosticados no pré-natal, o que reforça a necessidade de testes diagnósticos eficientes no período neonatal e seguimento cuidadoso dos recém-nascidos de risco<sup>107, 161, 190</sup>. Robert-Gangneux et al.<sup>107</sup> estudando 27 crianças com toxoplasmose congênita, observaram 81% de sensibilidade no diagnóstico pré-natal. Wallon et al.<sup>190</sup> observaram dentre 45 crianças com toxoplasmose congênita, suspeitas da infecção devido a soroconversão materna na gestação, que apenas 12 (27%) tiveram confirmação do diagnóstico de toxoplasmose congênita durante o pré-natal.

A abordagem profilática no pré-natal apresentou bons resultados em países como a França<sup>5</sup>, com redução do número de crianças com infecção congênita e, principalmente, das formas graves da doença. Embora esses resultados possam estar associados à interrupção da gestação, Couvreur<sup>5</sup> credita esse sucesso às medidas profiláticas implementadas (determinação das prevalências, triagem neonatal, uso da espiramicina, diagnóstico fetal e tratamento da fetopatia intra-útero). No momento, alguns países (ou regiões) não adotam política de triagem pré ou pós-natal (Reino Unido, Noruega e Finlândia) e outros adotam a triagem neonatal (Dinamarca, Massachusetts nos EUA)<sup>20</sup>. Países onde a prevalência da infecção é baixa e a ocorrência da toxoplasmose congênita rara, geralmente não adotam política de triagem, considerando que a implementação da triagem pré-natal pode não ser oportuna. Jenum et al.<sup>47</sup>, em estudo realizado na Noruega, discutem algumas razões para a não realização da triagem pré-natal, enumeradas a seguir. (1) Estima-se que a taxa de falso-positivo de IgM seja superior a 1,3%. Nos países onde a interrupção da gestação por vontade dos pais é legalmente

possível, cerca de 20% das gestantes informadas da sua condição de agudamente infectada pelo *T. gondii* opta pela interrupção da gravidez<sup>105</sup>. Essa decisão tomada de acordo com resultados falso-positivos pode levar ao aborto de fetos saudáveis<sup>18</sup>. (2) A taxa de soroconversão é baixa (0,5 a 1%). Se a taxa de falso-positivo exceder a de soroconversão, a triagem pode ser ineficaz, portanto a triagem pré-natal pode ser justificada em regiões com taxa de soroconversão elevada<sup>21</sup>. (3) Há incerteza na eficácia do tratamento pré-natal<sup>121</sup>.

Algumas experiências regionais de triagem pré-natal e neonatal têm sido realizadas no país, mas a escolha da estratégia a ser implementada em maior escala deve ser avaliada com cuidado em países como o Brasil, que apresenta população com realidades diversas e também diversidade na estruturação do sistema de saúde, e onde cerca de 1/3 das gestantes (43,7% na região Sudeste) não faz o pré-natal conforme recomendado pelo Ministério da Saúde<sup>232</sup>, isto é, seis consultas de pré-natal, comparecendo ao hospital, muitas vezes, no momento do parto.

Antes da tomada de decisão, deve-se garantir algumas condições<sup>11, 134</sup>: (1) serviço de pré-natal preparado para estimular na comunidade o início do pré-natal no primeiro trimestre da gestação, com orientação profilática desde a primeira consulta; (2) laboratório de referência para repetição da sorologia nas gestantes suspeitas, já que o diagnóstico sorológico muitas vezes é complexo e de difícil interpretação; (3) serviços de referência capacitados para o diagnóstico da infecção fetal; (4) disponibilidade da espiramicina nas farmácias públicas, regularmente, para o tratamento da gestante agudamente infectada.

Questões éticas têm impedido a realização de ensaios clínicos randomizados para avaliar a eficácia do tratamento pré-natal e a baixa prevalência da toxoplasmose congênita tem aventado a necessidade de estudos multicêntricos. Alguns autores argumentam que a

magnitude dos efeitos negativos da triagem pré-natal (indução de abortos de fetos saudáveis, ansiedade da mãe com testes falso-positivos, efeitos colaterais do tratamento medicamentoso) não têm sido suficientemente avaliados<sup>19, 233</sup>.

#### 2.4.2.1. **O programa de triagem pré-natal de Belo Horizonte**

Com o objetivo de diminuir a mortalidade infantil, a Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (SMSA-BH) promove de forma integrada ao programa de assistência pré-natal, desde 1994, a investigação sistemática da ocorrência de toxoplasmose aguda durante a gestação. O protocolo orienta que a triagem das gestantes, por meio da dosagem de anticorpos IgM e IgG, seja realizada na primeira consulta do pré-natal e repetida, nas suscetíveis, em torno da 24<sup>a</sup> a 28<sup>a</sup> semana de gestação. Os métodos laboratoriais não são uniformes no município e alguns distritos sanitários terceirizam a investigação laboratorial. Para operacionalização do sistema, recomenda-se que o cartão de pré-natal seja preenchido, a primeira consulta seja realizada o mais precocemente possível por médico ou enfermeiro, a segunda consulta seja realizada preferencialmente pelo médico para avaliação dos resultados dos exames complementares, e as gestantes sejam encaminhadas para realizar o parto em maternidades de referência distrital. Não está incluído na proposta de triagem pré-natal uma avaliação dos resultados obtidos com o programa. Na Figura 3, estão dispostas as condutas em relação à triagem praticadas no município de Belo Horizonte.

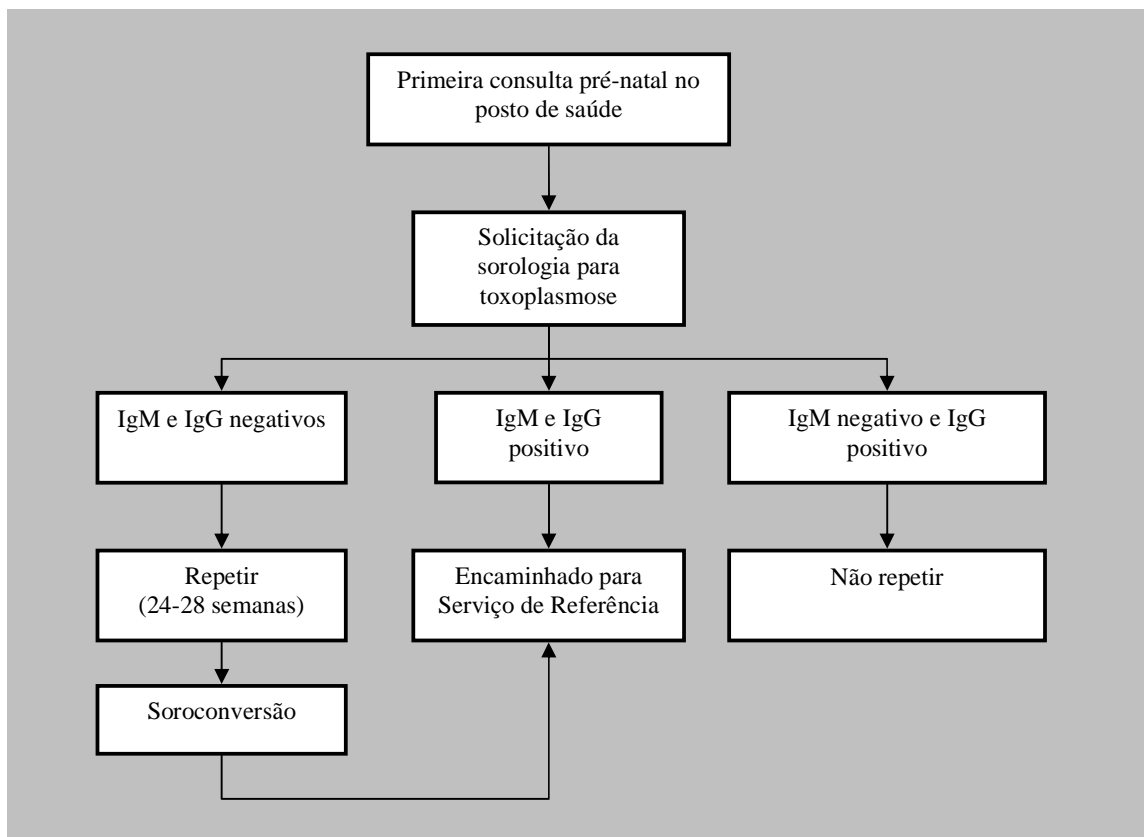


FIGURA 3 – Esquema de triagem pré-natal para toxoplasmose praticado pelo Município de Belo Horizonte (com permissão de Carellos)<sup>68</sup>.

Na vigência de infecção aguda durante a gestação utiliza-se o esquema terapêutico recomendado pelo Ministério da Saúde do Brasil: espiramicina (3g/dia) independente da idade gestacional. Essas recomendações incluem a investigação da infecção fetal (amniocentese, cordocentese e ecografia) e, se comprovada, orienta a utilização da associação de sulfadiazina (3g/dia), pirimetamina (50mg/dia) e ácido fólico (10mg/dia), durante três semanas, alternado com a espiramicina, até o termo. Orienta também que o uso da sulfadiazina seja interrompido duas semanas antes do parto. Essa medicação é oferecida gratuitamente pela rede de assistência à saúde, embora ocorram períodos de descontinuidade.

Estudos realizados em Belo Horizonte nos últimos anos têm relatado problemas na prevenção da toxoplasmose congênita devido à morosidade do sistema de saúde, para agendamento das

consultas e dos exames complementares necessários, e na realização dos testes sorológicos em laboratórios diferentes, fazendo com que o diagnóstico na gestante seja tardio, muito distante da época provável da infecção materna, e dificultando o uso adequado do tratamento pela gestante<sup>68, 234</sup>.

### 2.4.3. Triagem neonatal

A triagem neonatal, pela identificação de IgM anti-*Toxoplasma gondii* no sangue capilar seco de recém-nascidos absorvido em cartões de papel filtro, é praticada no estado de Massachusetts (*New England Newborn Screening Programme*), EUA, desde 1986, na Dinamarca (*Danish National Neonatal Screening Programme*) desde 1999<sup>215</sup> e, mais recentemente, na Polônia<sup>61, 235</sup>. Os resultados positivos em sangue seco devem ser confirmados em soro, oportunidade em que também deve ser realizada a sorologia materna para investigar infecção recente<sup>16, 48, 61</sup>. Como utiliza a estrutura de programas de triagem para outras doenças (fenilcetonúria, hipotireoidismo, etc), é considerada uma estratégia prática e de baixo custo. Tem sido avaliada como válida e custo-efetiva em países com baixa prevalência da infecção congênita, onde a maioria das crianças nascem com a forma subclínica<sup>16, 48, 126, 215, 236</sup>. Destaca-se que essas crianças, se não tratadas, podem evoluir com seqüelas tardias<sup>16</sup> e que o diagnóstico precoce permite o tratamento no primeiro ano de vida com melhor prognóstico ocular e neurológico. O programa americano tem detectado infecção congênita em 1/12.000 nascidos vivos<sup>237</sup>. Mesmo considerando a baixa incidência nesses países, a toxoplasmose congênita apresenta prevalência igual ou maior que outras doenças que integram os programas de triagem neonatal<sup>61</sup>. No programa dinamarquês, a prevalência da infecção adquirida entre mulheres adultas é de 25% e a prevalência de infecção congênita é de 1/3.000 nascidos vivos<sup>48, 61</sup>. Os autores argumentam que o diagnóstico da toxoplasmose congênita

através da triagem neonatal é factível, especialmente em regiões onde o risco de infecção congênita é baixo ou onde a adequada abordagem pré-natal não possa ser aplicada.

Surgiram algumas críticas à triagem neonatal, com alegação de que a IgM (anticorpo escolhido para testagem) não estava presente em 100% dos recém-nascidos infectados e persistia positivo por curto período levando a falsos negativos<sup>238-240</sup>. Guerina et al.<sup>16</sup> relataram poucos casos de crianças com toxoplasmose congênita não identificadas pela triagem neonatal e, nesses casos, observaram a presença de manifestações clínicas evidentes, refletindo, provavelmente, infecção ocorrida no início da gestação. Um estudo efetuado na Dinamarca<sup>48</sup> utilizou o teste para IgM específica em 24.989 amostras em sangue seco e encontrou 27 crianças com toxoplasmose congênita, uma taxa de falso positivo de 0,19 em 1.000 testes para IgM e não encontrou nenhum falso negativo. O valor preditivo positivo do teste foi de 64%. O número de falsos positivos foi significativo, mais de 1/3 dos resultados positivos, mas para iniciar o tratamento todos os casos foram confirmados por exame em soro. Quando o RN era positivo, IgM e/ou IgG, simultaneamente era avaliado a soroconversão materna a partir de soro coletado no início do pré-natal e guardado em soroteca. A sensibilidade da IgM em sangue seco para o diagnóstico dessas 27 crianças foi igual à da IgM sérica. Essa estratégia identificou 80% dos casos de toxoplasmose congênita no período estudado. Esse estudo foi reavaliado após quatro anos de implantação e seus resultados publicados em 2006<sup>211</sup>. Dentre 262.912 crianças testadas, foram identificadas 55 com toxoplasmose congênita (2,1 infectados por 10.000 nascidos vivos). A infecção foi confirmada em média aos 29 dias (percentil 10:20 dias; percentil 90:66 dias) e o tratamento iniciado em média aos 32 dias (percentil 10:22 dias; percentil 90:106 dias).

No período de 1982-1999, em uma região da Suíça, testou-se IgM em sangue de cordão em mais de 90% dos nascidos vivos e quase todas as crianças infectadas foram identificadas por essa estratégia de diagnóstico, sendo encontrado uma criança com toxoplasmose congênita para cada 2.300 nascidos vivos<sup>241</sup>.

No período de junho de 1996 a outubro de 1998 foi realizado em Poznan, Polônia, um estudo incluindo 27.516 neonatos (75% de todos os recém-nascidos e 83% dos nascidos vivos na província de Poznan)<sup>61</sup>. O anticorpo específico IgM foi identificado no sangue seco de 13 recém-nascidos, essas crianças não foram tratadas no pré-natal e a coleta do sangue para exames confirmatórios da mãe/bebê foi realizado entre 2 e 11 semanas de vida (média, 5 semanas). Foram encontrados quatro casos falso-positivo de IgM com baixos níveis do anticorpo em sangue seco. As causas prováveis foram a contaminação com sangue materno ou transfusão de sangue no neonato. Foram encontradas duas crianças com toxoplasmose congênita e teste de triagem neonatal negativo, embora apresentassem altos níveis de IgG, IgM e IgA no soro. Baseado nesses resultados, considerou-se que, em recém-nascidos, a sensibilidade do ELISA IgM em sangue seco não ultrapassava 86,7%. Entre 1998 e 2000, em Poznan<sup>235</sup>, foi utilizado uma técnica para identificação simultânea de anticorpos IgM e IgA anti-*T. gondii* em amostras de sangue seco de 17.653 recém-nascidos, obtendo-se maior prevalência de toxoplasmose congênita do que no estudo anterior (1996-1998). Os autores atribuíram os resultados à maior sensibilidade do método combinado, mas entre as crianças com os testes confirmatórios positivos, apenas uma era positiva apenas para IgA.

Observou-se ao longo dos anos uma diminuição progressiva da prevalência de toxoplasmose materna e também da toxoplasmose congênita. Os autores acreditam que esse declínio pode



ter sido parcialmente influenciado pela prevenção primária (fornecimento de folhetos educativos gratuitos aos obstetras) que foi associada à triagem neonatal.

Na tentativa de avaliar a melhor estratégia para prevenção da toxoplasmose congênita, foram realizados estudos comparativos entre a triagem pré-natal e neonatal. Estudo prospectivo realizado na França<sup>223</sup> em 165 gestantes que apresentaram soroconversão para toxoplasmose, no período de 1986-96, mostrou que a investigação durante o pré-natal identificou 75% dos casos de toxoplasmose congênita, a investigação neonatal (IgM e IgA) identificou 88% e a associação da triagem pré-natal e neonatal diagnosticou 98% das crianças infectadas.

Em regiões de baixa prevalência da toxoplasmose, alguns estudiosos recomendam apenas medidas educativas, contra-indicando programas de triagem<sup>18, 242, 243</sup>, alegando que o impacto da doença é pequeno, que faltam evidências da eficácia do tratamento e que o custo econômico é muito alto. Outros pesquisadores recomendam as medidas educativas associadas à triagem neonatal por considerar essa medida mais custo-efetiva para sua população<sup>244</sup>. Outros alegam, ainda, que o custo humano é muito alto e que a triagem pré-natal seria a alternativa desejável, pois permite o tratamento precoce da infecção e evita ou minimiza os danos para a criança<sup>4, 220</sup>. Nos últimos anos não tem havido estudos com capacidade de mudar esses argumentos, mas a maioria dos pesquisadores considera que a toxoplasmose congênita deveria ser abordada com algum tipo de triagem, restando a discussão sobre qual. Os argumentos em defesa de uma ou outra estratégia já foram discutidos acima.

Em regiões de alta prevalência da toxoplasmose, como o Brasil, estima-se que o impacto da prevenção secundária seja maior e, de acordo com Foulon et al.<sup>226</sup> os programas de prevenção secundária deveriam ser encorajados. Entre 1998-2003, Reis et al.<sup>17</sup> realizaram estudo

prospectivo em um hospital de Porto Alegre que adotava a estratégia de triagem pré-natal para prevenção da toxoplasmose congênita. A sorologia para toxoplasmose foi realizada em 10.468 gestantes e 38,7% eram suscetíveis. Não houve acompanhamento sistemático com sorologias sequenciais das gestantes suscetíveis. Entre as gestantes duvidosas, menos de 1/3 retornou para repetição da sorologia, etapa fundamental para definição da infecção aguda. Dentre essas, quatro crianças nasceram infectadas. Para desenvolvimento do estudo os autores foram frustrados pela falta de registros de resultados sorológicos, mesmo em instituições consideradas como referência por serem centros de ensino.

Lago<sup>127</sup> realizou em 2002 dois estudos, no primeiro avaliou a triagem neonatal em 10.000 recém-nascidos da rede pública de Porto Alegre e, no segundo, a sorologia para toxoplasmose durante a gestação e no parto de 2.513 pacientes atendidas em um hospital de referência na cidade. A pesquisadora concluiu que o impacto da toxoplasmose congênita na população é grande e que, quando não foi realizada sorologia após o parto, a triagem neonatal identificou casos de infecção congênita não identificados pela triagem pré-natal. Ela considera que seus resultados “apontam para a conveniência de uma estratégia de triagem pré-natal, mas muitos problemas ainda precisam ser abordados e resolvidos ... e neste período de transição, a solução pode ser acrescentar a triagem neonatal universal para toxoplasmose ... em ações coordenadas...enquanto trabalhamos no aperfeiçoamento das estratégias de atendimento pré-natal”.

#### 2.4.3.1. **O Programa Estadual de Triagem Neonatal em Minas Gerais (PETN-MG)**<sup>245</sup>

O Programa Estadual de Triagem Neonatal (PETN) em Minas Gerais garante a todas as crianças nascidas vivas, a realização gratuita do teste de triagem neonatal. A cobertura é excelente – todos os 853 municípios do Estado são cadastrados e cerca de 95% (98% atualmente) dos nascidos vivos são testados para fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, doença falciforme e fibrose cística. O objetivo é realizar o diagnóstico e tratamento precoces, impedindo seqüelas neurológicas graves e comprometimento do desenvolvimento neuropsicomotor. Considerando as recomendações do Ministério da Saúde para priorizar convênios nesta área com instituições universitárias, firmou-se a parceria entre a Secretaria de Estado da Saúde (SES-MG) e a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) desde setembro de 1993. O Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD), órgão complementar da Faculdade de Medicina da UFMG, foi credenciado pelo Ministério da Saúde como serviço de referência em triagem neonatal no estado. O PETN-MG garante tratamento e acompanhamento médico gratuitos, no Hospital das Clínicas, Fundação Hemominas e Centro Geral de Pediatria, dependendo da doença testada, fornecimento de medicamentos adequados e dietas especiais. O NUPAD é o executor do PETN-MG e responsável por várias ações associadas ao sucesso do programa, tais como: busca ativa das crianças suspeitas das doenças testadas, agendamento das consultas especializadas, ação junto às secretarias municipais de saúde para garantir transporte para a criança em tratamento, recepção e acompanhamento da criança e familiares durante as consultas e exames, treinamento dos profissionais de saúde envolvidos no programa.

## 3. OBJETIVOS

---

### 3.1. Objetivo geral

Determinar a prevalência da toxoplasmose congênita em nascidos vivos no município de Belo Horizonte e estimar o valor do teste de IgM anti-*Toxoplasma gondii* em sangue seco, empregado pelo Programa Estadual de Triagem Neonatal, para identificar as crianças infectadas.

### 3.2. Objetivos específicos

1. Calcular a prevalência da toxoplasmose congênita a partir de medidas de teste de IgM em sangue seco, em recém-nascidos participantes do Programa Estadual de Triagem Neonatal (PETN) em Belo Horizonte;
2. Avaliar, entre as crianças com toxoplasmose congênita identificadas pelo PETN, o momento do diagnóstico da infecção no binômio mãe/filho – pré-natal, perinatal ou triagem neonatal;
3. Conhecer as características clínicas das crianças infectadas e a proporção de crianças com infecção subclínica na amostra estudada;
4. Avaliar a frequência e a característica das complicações oftalmológicas, neurológicas e auditivas nas crianças submetidas a tratamento parasitológico durante um ano e o seguimento durante um período de três anos;

5. Avaliar a frequência de novas lesões retinocoroidianas até o terceiro ano de vida das crianças estudadas;

6. Comparar os hábitos de vida, em relação a alguns fatores de risco associados à aquisição da infecção pelo *T. gondii*, entre as mães das crianças com toxoplasmose congênita com uma amostra das mães das crianças negativas para o teste e participantes do PETN em Belo Horizonte, no período estudado.

## 4. MÉTODO

---

### 4.1. Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo transversal, com inquérito sorológico para avaliar a prevalência de toxoplasmose congênita em recém-nascidos participantes do Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais e nascidos em Belo Horizonte no período de setembro de 2003 a outubro de 2004. Em seguida, foi realizado estudo prospectivo dos casos identificados como positivos durante um período de três anos, para avaliar as complicações da infecção.

### 4.2. Local da realização do estudo

O estudo foi realizado no município de Belo Horizonte, que participa do Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais (PETN-MG), popularmente conhecido como “Teste do Pezinho”. O município oferece assistência pré-natal para suas gestantes e implementou, há pouco mais de dez anos, o rastreamento sorológico para toxoplasmose congênita (IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii*) na primeira consulta do pré-natal e, caso a gestante seja suscetível (soronegativa), repetição desse exame entre a 24<sup>a</sup> e 28<sup>a</sup> semanas.

O município é dividido, administrativamente, em nove Distritos Sanitários e cada distrito conta com número variável de Unidades ambulatoriais (15-20), constituídos de unidades básicas (Centros de Saúde) e unidades secundárias (Postos de Assistência Médica), além da rede hospitalar pública e contratada. O PETN-MG está organizado de acordo com essa distribuição e, em geral, o Centro de Saúde responsável pela assistência pré-natal da mãe

também é responsável pela assistência à saúde da criança e realização do Teste de Triagem Neonatal.

#### 4.3. População estudada

Foram incluídas no estudo todas as crianças recém-nascidas participantes do Programa Estadual de Triagem Neonatal em Minas Gerais (PETN-MG), nascidas em Belo Horizonte no período de setembro de 2003 a outubro de 2004. No momento da realização desse estudo, esse programa abrangia cerca de 95% das crianças nascidas vivas em todo o estado, incluindo o município de Belo Horizonte. Essas crianças colhem, rotineiramente, sangue em papel filtro para exame idealmente no quinto dia de vida.

Nascem cerca de 2.900 crianças mensalmente na região estudada. Pesquisou-se a IgM anti-*Toxoplasma gondii* em sangue seco (papel filtro), coletado para a triagem das outras doenças, em 31.808 crianças ao longo de um ano. As crianças com IgM anti-*T. gondii* positiva/duvidosa, em sangue seco, foram submetidas a outros exames para confirmar o diagnóstico e avaliar a extensão do acometimento da infecção congênita. O estudo foi planejado com base em resultados de estudos nacionais, utilizando a mesma metodologia, que obtiveram proporções de infectados por nascidos vivos variando de 1/500<sup>12</sup> a 1/3.000<sup>13</sup>. Considerou-se a perspectiva de encontrar 30 crianças infectadas (1/1.000 nascidos vivos) no período de um ano.

Durante o seguimento médico das crianças suspeitas, foram obtidas informações sobre resultados de exames, clínicos e complementares, realizados para confirmar a toxoplasmose e avaliar seu impacto na criança, além da mensuração de variáveis antropométricas (realizadas

pela pesquisadora). A variável resposta utilizada foi o diagnóstico definitivo da criança, definido após exames sorológicos e clínicos. As variáveis independentes relacionadas à criança foram peso; estatura; perímetro cefálico; idade gestacional ao nascimento; condições de nascimento (nota de Apgar no 5º minuto); sinais e sintomas apresentados pela criança ao nascimento e semestralmente até o terceiro ano de vida; resultados de exames complementares realizados (radiografia de crânio, tomografia computadorizada do crânio, líquido), resultados de avaliações clínicas especializadas (fundoscopia e avaliações auditivas).

Para o estudo dos hábitos de vida relatados pelas mães durante a gestação e possivelmente associados ao risco para infecção pelo *T. gondii*, foram entrevistadas, no período do estudo, as mães de todas as crianças suspeitas de toxoplasmose congênita (positivas/duvidosas no resultado do teste de IgM anti-*T.gondii*) e uma amostra de puérperas selecionadas entre as crianças com resultado negativo (IgM anti-*T.gondii* negativo) no teste de triagem neonatal. Para o cálculo dessa amostra, utilizou-se o pacote estatístico EpiInfo 6.04 e obteve-se o resultado de 1.000 mulheres a serem entrevistadas. Para esse cálculo, considerou-se que 30.000 seria o universo das crianças participantes do estudo e que a frequência esperada do evento em estudo era desconhecida (50%), o nível de confiança desejado era 95% e a margem de erro aceitável para a estimativa (“precisão”) era de 5%. As mães das crianças suspeitas da infecção que tiveram o diagnóstico excluído, foram incluídas no grupo das puérperas com crianças negativas. Foi feito o registro dos hábitos de vida e das informações sobre a abordagem oferecida no pré-natal, às mães das crianças, quanto ao diagnóstico e orientações profiláticas para toxoplasmose.

Para as entrevistas foi utilizado um questionário estruturado (Anexo 1) contendo 37 questões simples, sendo o tempo necessário para seu preenchimento avaliado, em estudo piloto



conduzido pelo pesquisador, em dez minutos. As variáveis pesquisadas foram características demográficas e sociais (idade, ocupação, paridade, escolaridade em anos de estudo, área de residência), cuidados do pré-natal (número de consultas no pré-natal, idade gestacional de início do pré-natal, número de exames realizados para toxoplasmose, receber informações verbais e/ou escritas sobre forma de aquisição da infecção durante a gestação, tipo de parto) e exposição a alguns fatores considerados de risco para aquisição da toxoplasmose durante a gestação da criança em estudo, como carne (frequência e tipo de carne consumida; intensidade do cozimento da carne – mal-cozida na presença de carne vermelha com sangue, média se o centro da carne permanece rosa, bem-cozido se a carne está homogeneamente marrom); consumo de vegetais crus em casa e fora de casa; manipulação de terra sem luvas; ingestão de leite não pasteurizado; ingestão de ovos crus ou mal cozidos; lavar as mãos antes e após manipulação de alimentos; possuir gatos e cachorros; observar a presença de gatos na vizinhança do domicílio; limpar dejetos dos gatos. Para essa análise, a definição de casos e controles foi feita como descrito abaixo:

Casos – mães das crianças nascidas em Belo Horizonte no período de 2003-2004 e portadoras de toxoplasmose congênita, definida de acordo com critérios internacionalmente aceitos<sup>102</sup>: presença de anticorpos específicos no soro, IgM e/ou IgA nos primeiros seis meses de vida da criança e/ou IgG persistentemente positiva aos 12 meses. As mães foram entrevistadas, pela pesquisadora responsável, durante o atendimento habitual da criança para controle e tratamento no Hospital das Clínicas.

Controles – mães de crianças nascidas em Belo Horizonte no período do estudo, cujos filhos foram negativos para IgM anti-*T.gondii* em sangue seco ou nos exames confirmatórios. Para a escolha dessas mães foi utilizada a distribuição dos Distritos Sanitários, considerados pelo

NUPAD como em número de dez, pois os hospitais são considerados como um Distrito Sanitário. Arbitrariamente foi decidido utilizar a proporção de 16% dos Centros de Saúde de cada Distrito Sanitário, o que resultou em 22 Centros de Saúde, que foi considerado um número possível de unidades a serem visitadas para entrevistar as mães. Para sorteio das crianças/mães, manteve-se a proporção do número de crianças submetidas ao teste do pezinho mensalmente nos Centros de Saúde sorteados. As mães sorteadas foram entrevistadas em suas casas, pelo agente comunitário de saúde, após reunião para discussão do instrumento da pesquisa entre o pesquisador responsável e todos os agentes comunitários de saúde dos centros de saúde sorteados. Se a mãe não era encontrada, a mãe seguinte na lista sorteada para aquele Centro de Saúde era entrevistada. Foram distribuídos 1.000 questionários nos postos de saúde sorteados.

Foram consultadas algumas variáveis (da mãe: idade, escolaridade, paridade, duração da gestação, número de consultas no pré-natal, e da criança: índice de Apgar e peso de nascimento) que constavam do Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos, SINASC- Belo Horizonte.

#### 4.4. **Testes laboratoriais utilizados no diagnóstico**

##### 4.4.2. Testes para identificação de IgM em sangue seco

Foi utilizado o sangue coletado das crianças em papel filtro (*Schleicher & Schuell 903*) e enviado rotineiramente ao NUPAD/FM/UFMG para realização do exame de detecção de fenilalanina, hormônios tireoidianos, hemoglobinas e tripsina imunorreativa em sangue seco. Todo o sangue das crianças coletado em papel filtro no período de setembro de 2003 a

outubro de 2004 e encaminhado ao NUPAD, foi processado para a realização concomitante da reação enzimática de imunocaptura para detecção de IgM anti-*Toxoplasma gondii* – kit PLATELIA TOXO IgM<sup>®</sup> (BIORAD, Paris, France) para diagnóstico da toxoplasmose congênita. A bula fornecida pelo fabricante do teste informava sensibilidade e especificidade de 100%. Entre os testes diagnósticos disponíveis comercialmente para utilização em sangue seco, optou-se pelo mais automatizado e de custo razoável. Os procedimentos para realização do teste foram os recomendados pelo fabricante. Os resultados positivos ou duvidosos foram confirmados por repetição do teste utilizando duas alíquotas da mesma amostra.

As tiras de papel foram identificadas no momento da colheita com os seguintes dados: código da Unidade de Saúde, iniciais e registro da mãe, data da colheita. Cada amostra cadastrada no sistema recebeu, como de rotina, um código composto por três letras, que identificam o posto de coleta; uma seqüência fixa de seis números que identificam a criança; e uma seqüência numérica que identifica a amostra da criança.

Para cada RN foram colhidas quatro amostras de sangue em uma mesma tira de papel, em quatro círculos de aproximadamente 1,0 cm de diâmetro. As tiras foram secas em temperatura ambiente utilizando-se espeto de arame, acondicionadas em sacos plásticos bem vedados, contendo sílica gel, e enviados ao laboratório, pelo correio, em envelopes identificados em, no máximo, uma semana. As amostras foram encaminhadas semanalmente e processadas no Laboratório de Doenças Infecciosas do NUPAD/Faculdade de Medicina. Todas as amostras foram guardadas na geladeira (4° C) até serem testadas.

Todas as amostras de sangue seco com resultado positivo/indeterminado no teste acima descrito e 5% das negativas, selecionadas aleatoriamente, foram testadas para IgM anti-

*T.gondii* com outro teste enzimático de imunocaptura, fluorométrico, disponível comercialmente há mais tempo (Neonatal *Toxoplasma gondii* FEIA<sup>®</sup>, LabSystems, Helsinki, Finland), de acordo com as instruções do fabricante. Esse teste apresenta maior experiência acumulada de uso, sensibilidade e especificidade relatadas como próximas a 100% e foi utilizado para avaliação de concordância com o teste realizado no total das crianças estudadas. As crianças com resultado positivo/indeterminado em qualquer um dos dois testes foram consideradas suspeitas de toxoplasmose congênita e convidadas a realizar os testes confirmatórios em soro.

#### 4.4.3. Testes confirmatórios

Todas as crianças que apresentaram durante a triagem um resultado de IgM anti-*T.gondii* positivo ou indeterminado, em qualquer dos dois testes (PLATELIA e FEIA) utilizados em sangue seco, foram convidadas a colher soro (binômio mãe/filho) para realização de exames confirmatórios. Na criança foi realizada a determinação dos anticorpos IgM, IgA e IgG anti-*T.gondii*. Em laboratório terceirizado pelo NUPAD foram realizadas a IgM (ELFA-VIDAS, BioMérieux S.A., Lyon, France - resultados expressos em índices: negativo (inferior a 0,55), positivo (igual ou superior a 0,65) e inconclusivo (entre 0,55 e 0,65), e a IgA (ELISA – resultados expressos em valor qualitativo – negativo e positivo). Outros testes para determinação de IgM e IgG foram realizados no laboratório de toxoplasmose do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG (ICB-UFMG), sob a coordenação do professor Ricardo Wagner de Almeida Vitor. No ICB foram realizados os testes de IgM (RIFI, ELISA), IgG (RIFI, ELISA), determinação da Avidéz de IgG e Immunoblotting IgG (IB-IgG). Os exames maternos foram realizados apenas no ICB-UFMG, sendo determinados o IgM (RIFI, ELISA), IgG (RIFI e ELISA), a Avidéz de IgG e Immunoblotting IgG.

#### 4.4.3.1. Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) – IgG e IgM anti-*T.gondii*

A RIFI foi utilizada para pesquisa de anticorpos da classe IgG e IgM humana usando-se o fator de diluição 4 a partir de 1:16 até 1:64.000 em PBS pH 7,2 de acordo com Camargo<sup>246</sup>. O antígeno foi preparado no laboratório de Toxoplasmose do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB-UFMG), a partir de taquizoítos da cepa RH do *T. gondii* obtidos por lavagem da cavidade peritoneal de camundongos infectados, realizada com solução salina tamponada com fosfatos (PBS) pH 7,2. O material foi centrifugado durante 20 segundos a 800 g para eliminação de células contaminantes do camundongo. O sobrenadante foi coletado, sendo então, adicionado de formol PA até uma concentração de 0,5% do volume final. Após a formalização foi homogeneizado e centrifugado por 10 minutos a 800g, em seguida o sobrenadante foi descartado e o sedimento ressuspendido em PBS pH 7,2 e homogeneizado e centrifugado por 10 minutos a 1000g. Este processo foi repetido duas vezes. A suspensão obtida foi aplicada sobre as lâminas marcadas que foram utilizadas na realização da prova.

Os soros foram diluídos, distribuídos nas lâminas sensibilizadas e incubados por 30 minutos a 37°C. Após a lavagem com PBS pH 7,2 por três minutos e com água destilada, foi adicionado o conjugado anti IgG ou anti IgM humano marcado com isotiocianato de fluoresceína (SIGMA) diluído em Tween 80 a 2% em PBS e azul de Evans (1:5000 em PBS pH 7,2). A lâmina foi novamente incubada por 30 minutos a 37°C. Em seguida, lavada com PBS pH 7,2 por três minutos e com água destilada, sendo então montada com glicerina tamponada e lamínula e examinada em microscópio de fluorescência Olympus.

Soros humanos previamente testados de indivíduos normais e de indivíduos infectados com *T. gondii* (fase aguda e crônica) foram utilizados com controle negativo e positivo, respectivamente.

#### **4.4.3.2. Teste imunoenzimático ELISA - IgG e IgM anti-*T. gondii***

Preparo do antígeno:

Exsudato peritoneal de camundongos, previamente inoculados com a cepa RH de *T. gondii*, foi obtido como descrito anteriormente. Após centrifugação a 160 g durante 10 minutos, foram realizadas duas lavagens em PBS pH 7,2 e ao sedimento foi adicionado 10mL de PBS pH 7,2. Em seguida foi realizada a contagem dos parasitas em câmara hemocitométrica e acertada a concentração dos parasitos para uma concentração final de  $1 \times 10^9$  taquizoitos por mL. A suspensão de parasitas foi processada por ultrassom em 5 ciclos de 40 hertz (em banho de gelo), durante 1 minuto e com intervalos de 1 minuto entre cada ciclo, sendo o rompimento dos parasitos acompanhados em microscópio óptico. Após a sonicação o material foi centrifugado a 15000 g 4°C durante 30 minutos. O sobrenadante foi estocado a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o uso. A concentração de proteínas foi determinada pelo método de Lowry (1951).

#### **Execução do teste ELISA:**

Nesse estudo o teste ELISA foi realizado segundo Voller et al.<sup>247</sup> com modificações, descrita a seguir:

- As placas foram sensibilizadas previamente com 100µL do antígeno em cada poço na concentração de 0,5µg/poço diluído em tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6), seguindo-

se incubação durante 18 a 4°C. No momento do uso a solução de antígeno foi desprezada e a placa lavada quatro vezes com solução salina contendo Tween 20 a 0,05% (SST).

- Após secagem das placas por inversão sobre papel de filtro absorvente, os soros foram diluídos em PBS-T (Tween 20 a 0,05% em PBS pH 7,2), na diluição única de 1:100 e distribuídos nos orifícios da placa, seguida da incubação a 37°C por 45 minutos. Os soros foram ensaiados em duplicata na mesma placa.
- Após este período de incubação, foi realizada uma série de quatro lavagens com SST.
- Foi adicionado a cada poço da placa 100µL de conjugado na diluição de 1:5000 em PBS-T conforme o título previamente estabelecido. Os conjugados utilizados foram anti-IgG e anti-IgM humana marcada com peroxidase (SIGMA).
- Após 45 minutos de incubação, as placas foram lavadas (série de quatro lavagens com SST), seguida da adição do 100µL do substrato (3µg 0-fenilenoldiamino em 15 ml de solução de ácido cítrico e 3µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-30vol.). A reação foi interrompida após 20 minutos com 30µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:20 por orifício e a leitura realizada em leitor de ELISA “BIO RAD” Modelo 3550, com filtro de 490nm. Seis poços de cada placa com antígeno, conjugado e substrato, mas sem soro foram utilizados como branco.

O ponto de “cut off” para o ELISA foi a média de absorbância de oito amostras de soro humanos negativos para *T. gondii* acrescidos de três desvios padrão testados em cada placa. A média em absorbância dos soros testados em duplicata foi dividida pelo valor do “cut off” da placa com o objetivo de determinar o índice de reatividade (IR). Soros com valores de  $IR \geq 1$  foram considerados positivos.

Em seguida ao ELISA convencional foi realizado um ELISA para avaliação da avidéz de anticorpo IgG em soros positivos previamente. Para isto foi utilizado como agente dissociante

da ligação antígeno/anticorpo a uréia 6M. O objetivo da utilização deste agente foi determinar se a infecção presente nos indivíduos era recente ou crônica. A técnica foi realizada segundo Cozon et al.<sup>248</sup>.

- As placas foram sensibilizadas previamente com 100µL/poço do antígeno na concentração de 0,05µg/poço diluído em tampão carbonato/bicarbonato (pH 9,6), como descrito anteriormente no ELISA convencional.
- Após secagem das placas por inversão sobre papel de filtro absorvente, os soros foram diluídos em PBS-T, na diluição única de 1:100, e distribuídos nos orifícios da placa, seguida da incubação a 37°C por 45 minutos. Os soros foram ensaiados em duas séries duplicadas na mesma placa, de tal forma que nas colunas 7 a 12 de cada placa, foram processados os mesmos soros processados nas colunas de 1 a 6, sendo uma metade da placa uma réplica idêntica da outra metade.
- Após este período de incubação uma série de três lavagens foi realizada. Na primeira lavagem uma das séries (coluna de 1 a 6) foi lavada com PBS-T (100µL /poço) e a outra série (colunas 7 a 12) com uréia 6M em PBS-T (100µL/poço) sob agitação por 5 minutos. As outras duas lavagens foram feitas com PBS-T (100µL /poço) sob agitação, também em 2 ciclos de 5 minutos.
- Foi adicionado então a cada poço da placa 100µL de conjugado anti IgG humano (Sigma) diluído em PBS-T. A partir da adição do conjugado o procedimento foi idêntico ao descrito para o ELISA convencional.
- A avidéz de anticorpos IgG foi calculada como a razão entre a absorbância média para cada soro obtida nos orifícios tratados com uréia (AU) pelos não tratados (A) expressos em percentagem:  $AU/A \times 100^{248}$ . Segundo estes autores, valores de avidéz  $\geq 50\%$  indicam toxoplasmose crônica, enquanto valores  $< 50\%$  sugerem infecção recente.



#### 4.4.3.3. *Immunoblotting IgG (IB-IgG) anti-T. gondii*

Como antígeno, foram utilizados taquizoítos colhidos do exsudato peritoneal de camundongos infectados com a cepa RH como descrito para ELISA. Os taquizoítos foram lavados três vezes com PBS pH (7,2), por centrifugações a 1400 g por dez minutos. Em seguida os parasitos foram contados em câmara hemocitométrica e estocados à -20°C.

Para eletroforese em gel de poliacrilamida, os taquizoítos ( $1,0 \times 10^6$ ) foram suspensos em 200µL de tampão de amostra (sódio duodecil sulfato (SDS) 0,23 g; Tris-HCL 0,5M pH 6,8 - 1,25 mL, glicerol 2,0 mL, 2-mercapto-etanol 0,5 mL, 1% de azul de bromofenol e água deionizada qsp 10 mL) e centrifugados a 30.000 g, por 30 minutos, à 4°C. Após a centrifugação, o sedimento foi desprezado e a este adicionado 200µL de tampão de amostra ao sobrenadante, que foi aquecido a 100°C por 3 minutos. As proteínas foram submetidas a eletroforese em gel de poliacrilamida a 12,5%, à 200 Volts e 60 mA por, 45 minutos, no sistema Mini Protean II da BIO-RAD. Os seguintes padrões de peso molecular foram utilizados: fosforilase b (97kDa), albumina bovina (66kDa), ovoalbumina (45 kDa), anidrase carbonica (29kDa), β-Lactoglobulina (18 kDa) e lisosima (14 kDa) (SIGMA).

A eletrotransferência das proteínas para a membrana de nitrocelulose (BIORAD) foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Towbin et al.<sup>249</sup>, com modificações. Finalizada a eletroforese, o gel foi lavado em água destilada e mergulhado em tampão de transferência (metanol a 20% em Tris 25mM e Glicina 192 mM, pH 8,0). Após imersão em água deionizada durante 5 minutos a membrana foi então incubada por 15 minutos em tampão de transferência, juntamente com dois pedaços de papeis de filtro, e espumas “Scotch Brite”

cortados do tamanho do gel. Seguiu-se uma montagem seqüencial, de espuma, papel de filtro, gel, membrana de nitrocelulose, papel de filtro e espuma sobre um suporte acrílico. O “sanduíche” assim montado foi colocado no aparelho de eletrotransferência Minitrans-Blot da BIORAD, contendo tampão de transferência, de forma que a membrana ficasse localizada entre o gel e o catodo (pólo +). A transferência foi realizada à temperatura ambiente por 20 horas à 30 Volts e 40 mA, seguida de uma hora a 90 mA.

Decorrido esse espaço de tempo, para controle da transferência, uma tira da membrana da nitrocelulose contendo o padrão de peso molecular e uma fração da amostra foi corada com solução Ponceau-S a 1% em ácido acético a 10% durante um minuto, e em seguida descorada em água destilada. O gel foi corado pelo Comassie (Brilhant Blue R. 0,25%, ácido acético 7%, metanol 5%, água deionizada qsp) durante 15 minutos, com agitação mecânica para certificar-se da transferência das proteínas.

Após a transferência das proteínas, a membrana foi saturada com leite desnatado a 10% em PBS-Tween 20 a 10%, por duas horas à temperatura ambiente, e estocada a -20°C.

- Amostras de soro de cada mãe e seu respectivo recém-nascido foram diluídas 1:100 em PBS contendo leite desnatado a 1% e adicionado a tiras de 5mm da membrana de nitrocelulose por uma hora à temperatura ambiente, sob agitação mecânica. Após três lavagens, de sete minutos, em PBS-Tween 20, a anti-imunoglobulina humana (anti-IgG) conjugada com peroxidase (SIGMA), diluída 1:1000 foi adicionada. Após agitação mecânica por uma hora, à temperatura ambiente, foram realizados novos ciclos de lavagens, sendo dois ciclos com PBS-Tween 20 a 0,05% e um ciclo somente com PBS pH 7,2. O tempo de duração de cada ciclo foi de sete minutos.

A revelação foi realizada usando-se como substrato uma solução de 4-cloro-1-naftol (6 mg de 4-cloro-1-naftol; 2mL de metanol e 10mL de PBS pH 7,2) e 3,3 diaminobenzidina (12 mg de 3-3 diaminobenzidina; 12mL PBS pH 7,2 ). No momento do uso as duas soluções foram misturadas e adicionado 10 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sendo a reação imediatamente interrompida, por lavagem em água destilada após visualização das bandas. O peso molecular aproximado das bandas de interesse foi estimado por comparação com padrões de peso molecular. A ocorrência de bandas antigênicas reconhecidas pelo RN, mas não pela mãe (ou fracamente pela mãe), indicou infecção ativa na criança.

#### 4.5. **Avaliação clínica da criança**

O exame clínico geral das crianças, para avaliação das alterações compatíveis com infecção congênita e preenchimento de protocolo do serviço, foi realizado no Hospital das Clínicas da UFMG, pelo pesquisador responsável. As crianças infectadas foram acompanhadas durante um período de 24-36 meses e submetidas a avaliação multiprofissional, que consistiu em exame pediátrico, oftalmológico e auditivo. A análise dos dados foi realizada após três anos de estudo, embora os pacientes continuem o acompanhamento, no ambulatório de infectologia pediátrica, conforme rotina do serviço.

Os critérios para definição de toxoplasmose congênita foram aqueles aceitos consensualmente pelos estudiosos do tema: IgM e/ou IgA positivos nos primeiros seis meses de vida, ou IgG persistentemente positiva aos 12 meses de vida da criança<sup>102</sup>.

#### 4.5.2. Avaliação auditiva

A avaliação auditiva foi realizada no Serviço de Audiologia do Hospital das Clínicas da UFMG (HCUFMG) e consistiu em Audiometria Comportamental, Emissões Otoacústicas Evocadas Transientes e por Produto de Distorção, Imitânciometria e Potencial Evocado Auditivo de Tronco Encefálico (PEATE). Quando necessário e com o consentimento do responsável pela criança, o PEATE foi realizado sob sedação, no bloco cirúrgico do HCUFMG. Diante de um resultado duvidoso, os exames foram repetidos em momentos diferentes ao longo do crescimento da criança. A coleta de dados para esse estudo foi interrompida aos 24-36 meses de vida das crianças, mas seu seguimento continua nos Serviços de Infectologia Pediátrica e Audiologia do HCUFMG. As crianças portadoras de déficits auditivos foram encaminhadas para fonoterapia e protetização, quando pertinente.

Para a anamnese fonoaudiológica foi utilizado o protocolo do Serviço de Audiologia do HCUFMG que investiga as variáveis mais comumente associadas com hipoacusia (Anexo 2). Foi utilizada a anamnese cuidadosa como critério para estabelecer as possíveis associações etiológicas, por ser esse método considerado eficiente<sup>196</sup>.

Os equipamentos utilizados para a realização dos exames audiológicos foram: Audiômetro Pediátrico (PA5) e Imitanciômetro da marca Interacoustics, padrão de calibração ANSI S3.6/ISO 389. Foram utilizados ainda, na audiometria comportamental, instrumentos musicais (agogô, sino, guizo, reco-reco, côco, chocalho) padronizados para a avaliação. As emissões otoacústicas foram pesquisadas com equipamento da marca Biologic, AuDX Plus (protocolos em anexo). O PEATE foi realizado com equipamento Biologic Navigator, através do software EP317. Este equipamento contém dois canais de registro. As respostas foram captadas através

de eletrodos de prata posicionados nos lóbulos das orelhas (A1 e A2), naso (Nz) e frente (Fz), mantendo a impedância até 5Kohms. O protocolo para registro dos potenciais evocados auditivos de tronco encefálico apresentou as características descritas na Figura 4.

ESTÍMULO	CARACTERÍSTICA
Transdutor	Fones supra-aurais
Tipo	Click
Duração	0,1 mseg
Velocidade	13,1/s
Polaridade	Rarefação
Intensidade inicial	85 Dbna
Orelha	Monoaural
<b>AQUISIÇÃO</b>	
Ganho (amplificação)	100,000
Tempo de análise	15 mseg
Filtro passa-alta	3000Hz
Filtro passa-baixa	30Hz
Número de varreduras	2 (1024 X2)
Mascaramento contralateral	60dB (WN)

FIGURA 4 - Características avaliadas no protocolo para registro dos potenciais evocados auditivos de tronco encefálico utilizado para avaliação de 19 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04

O critério de normalidade adotado na análise dos potenciais auditivos foi o proposto por Gorga et al,<sup>250</sup> cujo protocolo segue os mesmos parâmetros adotados nos testes realizados no ambulatório de Audiologia do HCUFGM.

Para o registro das EOAs, colocou-se, na entrada do conduto auditivo externo (CAE), uma sonda que possui em seu interior um gerador de estímulos. Estes estímulos, ao atingirem a cóclea, produzem um “eco” – as otoemissões – que caminham em sentido inverso, isto é, da

orelha interna para a média e daí para a externa, sendo captadas por um microfone situado no CAE. A presença das otoemissões pressupõe a integridade da orelha média e externa. Foram consideradas presentes as emissões otoacústicas evocadas transientes quando a reprodutibilidade estivesse acima de 70% e a relação entre a amplitude da resposta e o ruído (relação S/R) maior ou igual a 6 dB. As emissões otoacústicas evocadas por produto de distorção foram consideradas presentes quando a relação S/R foi maior igual a 6dB.

As variáveis pesquisadas quanto à perda auditiva foram: tipo (sensorineural ou condutiva), grau (leve, moderada, grave e profunda), lateralidade e simetria.

Na audiometria comportamental, os padrões de resposta sugestivos de alteração auditiva central foram: resposta exacerbada, aumento da latência de resposta, dificuldade de localização com acuidade normal, ausência de habituação a estímulos repetidos, reflexo cocleopalpebral ausente com acuidade auditiva normal<sup>251</sup>.

Os estímulos foram calibrados psicoacusticamente em dBNA (decibéis referentes ao 0 de população jovem normal obtido psicoacusticamente). Para classificar os graus de perda auditiva foram consideradas as orientações do *Bureau International D'Audiophonologie* (BIAP) que classifica as perdas em leve (níveis mínimos de resposta entre 21-40 dBNA), moderada (níveis mínimos de resposta entre 41-70 dBNA), grave (níveis mínimos de resposta entre 71-90 dBNA) e profunda (sem resposta aos estímulos empregados com saída máxima de 85 dBNA)<sup>196</sup>.

As respostas foram consideradas simétricas quando as perdas auditivas eram classificadas no mesmo grau de perda do lado direito e do lado esquerdo. A assimetria foi considerada de 1

grau quando a classificação do grau de perda de um lado era a classificação imediatamente adjacente em grau de gravidade de perda que a do outro lado. A assimetria foi considerada de 2 graus quando as classificações dos lados não eram adjacentes em grau de gravidade.

#### 4.5.3. Avaliação oftalmológica

As avaliações oftalmológicas foram realizadas no Serviço de Uveítes do Hospital das Clínicas da UFMG, por oftalmologista experiente no exame de crianças. Todos os recém-nascidos suspeitos de infecção foram submetidos a oftalmoscopia binocular indireta (fundoscopia), após midríase com colírio de tropicamida 0,5% (duas gotas) e fenilefrina 2,5% (duas gotas). A fim de se evitar a ardência proporcionada por esses colírios, foi previamente instilada gota de colírio anestésico (cloridrato de proximetacaína). A administração desses colírios foi feita pessoalmente pelo oftalmologista responsável pelo projeto (RG), de maneira criteriosa.

Os exames foram realizados, na imensa maioria das vezes por um mesmo oftalmologista, sem sedação das crianças. Foi preenchido protocolo (Anexo 3), atualizado em todas as consultas oftalmológicas das crianças. Programou-se uma consulta no momento do diagnóstico e, em seguida, consultas semestrais, exceto quando observado lesões em atividade, oportunidade em que os controles passaram a ser quinzenais ou mensais até resolução do processo inflamatório agudo.

#### 4.6. **Tratamento das crianças infectadas**

As crianças com infecção confirmada foram tratadas com a associação de anti-parasitários Sulfadiazina e Pirimetamina, acrescido do Ácido Fólnico, durante 12 meses, conforme

esquema utilizado no Estudo de Chicago<sup>220</sup>. As crianças suspeitas foram tratadas até que a infecção pudesse ser confirmada ou excluída. A medicação foi fornecida gratuitamente pelo NUPAD, manipulada, de acordo com prescrição do pesquisador, a todos os pacientes durante o tempo de uso. O uso da medicação foi considerado adequado de acordo com a informação do cuidador da criança.

Foi realizado hemograma e contagem de plaquetas, quinzenalmente no primeiro mês e bimensalmente a partir do terceiro hemograma. Diante de neutropenia foi adequada a dose do ácido folínico e, se necessário, interrompida a medicação.

#### 4.7. **Análise estatística**

Todos os dados das fichas originais foram transferidos para o banco de dados informatizado pela pesquisadora responsável. Os dados foram preparados em planilhas utilizando o *software* Epi Info 1994 versão 6.04 (Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA), e para a análise foram utilizados os pacotes estatísticos *Minitab 14*® e *SPSS 12*® e o *software Excel*®.

Além da análise descritiva dos dados, foram aplicados testes paramétricos e não paramétricos: teste t de *Student* - para comparação de dois grupos independentes, teste de *Levene* para testar homogeneidade de variâncias, teste de *Mann-Whitney* e teste de qui-quadrado de *Pearson*<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> Riffenburgh R. H. Statistics in Medicine. Second edition. Elsevier Academic Press; 2006.



Para avaliação do estado nutricional das crianças com toxoplasmose congênita durante o primeiro ano de vida, foi utilizado o programa EpiNut, que integra o pacote estatístico EpiInfo versão 6.04. Foram pesquisados três índices: altura para idade, peso para idade e peso para altura, expressos em quantidades de desvio-padrão (escore Z). O *software* Epi Info calcula em percentagem a prevalência padronizada para cada um dos índices, que é o desvio da distribuição dos escores Z na amostra estudada em relação à população de referência – padrão antropométrico de referência do NCHS (*National Center for Health Statistics*)<sup>252</sup>.

Para avaliar a evolução das três variáveis antropométricas (peso, estatura e perímetro cefálico) medidas ao longo do seguimento das 19 crianças com toxoplasmose congênita (grupo caso), utilizou-se o modelo de efeitos aleatórios. Esse modelo permite a incorporação da dependência entre as variáveis medidas e a partição da variância total, com estimação do efeito de grupo. Utilizou-se o modelo que considera o intercepto e a inclinação aleatória, tendo em vista que o momento de realização das consultas foi aleatório, o que poderia influenciar de forma diferenciada as medidas antropométricas, e que cada criança apresentou uma curva distinta, onde poderia haver variação tanto no intercepto quanto na inclinação<sup>3</sup>. Para a medida antropométrica Y e considerando os índices *i* e *j*, respectivamente para tempo e paciente, o modelo foi dado por<sup>4</sup>:

$$\text{Medida Antropométrica}_{ij} = \beta_0 + \beta_1 \text{tempo}_{ij} + \beta_2 \text{tempo}_{ij}^2 + b_{0j} + b_{1j} \text{tempo}_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

No modelo (1),  $\beta_i$  é o vetor que contém efeitos fixos,  $b_j$  é o vetor de efeitos aleatórios e  $\varepsilon_{ij}$  é o vetor de erros aleatórios que tem distribuição normal com média 0 e variância  $\sigma^2$ .

<sup>3</sup> Skrondal A, Rabe-Hesketh S. Generalized Latent Variable Modeling: Multilevel, Longitudinal, and Structural Equation Models. Chapman & Hall/CRC; 2004.

<sup>4</sup> Suyama E. *Identificação de um modelo de efeitos aleatórios para Dados Longitudinais* (Dissertação de Mestrado). São Paulo: Instituto de Matemática e Estatística da Universidade de São Paulo; 1995.

Para o ajuste das curvas de crescimento foi utilizado o *software* estatístico *S-PLUS 2000®*. Os outros *softwares* utilizados na análise foram os mesmos utilizados na preparação dos dados.

Para avaliar a confiabilidade do teste utilizado para identificação de IgM anti-*T.gondii* em sangue seco (papel filtro), em relação a outro teste comercial disponível e mais estudado, utilizou-se o coeficiente de concordância Kappa e o respectivo intervalo de 95% de confiança (IC95%).

Considerando uma tabela 2x2 com entradas denotadas genericamente de (a, b, c, d), a concordância observada é a proporção de resultados em que os dois testes são concordantes  $(a+d / a+b+c+d)$ . Para interpretação dos valores de Kappa, foram utilizadas as sugestões de Landis & Koch<sup>253</sup>.

Para o estudo de associação de fatores, foi utilizado o modelo de regressão logística binária<sup>5</sup> tendo como variável resposta o resultado de toxoplasmose congênita (1=positivo ou 0=negativo). Foi calculada a razão de chances (*odds ratio* – *OR*) e obtido o respectivo intervalo de 95% de confiança. Realizou-se análise univariada em relação ao conjunto de variáveis do período pré-natal materno e, a seguir, foram contruídos modelos multivariados para avaliar os principais fatores de risco. O modelo final foi construído com objetivo discriminante, a partir da seleção de variáveis explicativas na análise univariada tal que  $p \leq 0,25$ . Foi utilizado o intervalo de 95% confiança da razão de chance e o teste do qui-quadrado para seleção das variáveis. A relevância de cada variável incluída no modelo foi analisada por meio da estatística de *Wald*, sendo retiradas as variáveis que não contribuam de forma significativa para a discriminação do desfecho estudado. A qualidade do ajuste do

---

<sup>5</sup> Hosmer D.W. & Lemeshow S. *Applied logistic regression*. Second edition. New York: John Wiley, 2000.

modelo final foi avaliado pelo teste de *Hosmer e Lemeshow*. Ao final, o modelo foi constituído por variáveis com significância estatística ( $p \leq 0,05$ ) e relevância epidemiológica.

#### 4.8. Considerações éticas

Esse estudo foi aprovado pelo COEP-UFMG (Parecer ETIC 157/01) além das seguintes instâncias da Instituição: (a) Câmara do Departamento de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFMG, em 30/06/2000 (Parecer N<sup>o</sup>24/2000); (b) Serviço DIP-HCUFG em 10/11/2000; (c) Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão do HC-UFMG (Processo N<sup>o</sup> 064/01); (d) Conselho Diretor do NUPAD (02/04/2003).

O projeto e o planejamento das atividades envolvidas foram apresentados à Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte, sendo obtido seu apoio e assegurado, às crianças soropositivas, avaliação, tratamento e controle médico adequados.

Para esclarecimento, à população envolvida, sobre os objetivos do projeto, foram afixados cartazes em todos os centros de saúde; distribuídos informes técnicos para os profissionais responsáveis pela coleta; e encaminhados textos para serem entregues aos responsáveis pela criança antes da coleta do teste do pezinho – Termo de Consentimento simplificado (Anexo 4). Após esclarecimento, foi solicitado à puerpera ou ao responsável pela criança a assinatura do envelope de coleta do PETN-MG, no momento da coleta do teste do pezinho (Anexo 5) como forma de autorizar a realização do teste de IgM anti-*T. gondii* no material enviado ao NUPAD. Se a criança apresentava resultado positivo/inconclusivo nesse teste, profissionais designados pelo NUPAD comunicavam o fato com o Centro de Saúde pelo telefone e solicitavam que a mãe/criança fossem contactadas para coleta de soro para exames

confirmatórios. Caso o resultado desses exames fosse positivo/inconclusivo, a mãe/criança eram convidadas a comparecer ao ambulatório de infectologia pediátrica do Hospital das Clínicas (CTR-DIP Orestes Diniz) para consulta, momento em que era novamente conversado com a mãe sobre o estudo e solicitado sua concordância em participar (Termo de Consentimento completo - Anexo 6), que envolvia a realização do tratamento e exames complementares necessários para completo esclarecimento do caso.

#### 4.9. **Apoio financeiro**

Esse projeto foi desenvolvido no NUPAD, Faculdade de Medicina da UFMG.

## 5. RESULTADOS

---

Dentre as 31.808 crianças submetidas ao teste para pesquisa de IgM anti-*T.gondii*, foram identificadas 20 com toxoplasmose congênita. Uma dentre as 20 crianças evoluiu para o óbito aos 12 dias de vida, não sendo possível realizar exames que confirmassem a infecção pelo *T. gondii*. Ela foi incluída na análise por ter apresentado resultado fortemente positivo nos dois testes de IgM em sangue seco e porque sua irmã gêmea, que realizou o teste do pezinho no município de Contagem e por isso não foi incluída na amostra, foi atendida no ambulatório de infectologia pediátrica (CTR-DIP Orestes Diniz) com toxoplasmose congênita e retinocoroidite. Dezenove crianças infectadas foram acompanhadas e submetidas a avaliação multiprofissional, que consistiu em exame pediátrico, oftalmológico e auditivo.

### 5.1. A triagem neonatal

#### 5.1.2. Prevalência da toxoplasmose congênita em Belo Horizonte

No estudo foram identificadas 20 crianças com toxoplasmose congênita, entre os 31.808 neonatos, participantes do teste de triagem neonatal. Assim, a taxa de prevalência resultante foi de 20:31.808 ou ainda 1: 1590 nascidos vivos. Isto significa que a cada 1590 crianças que nascem no município de Belo Horizonte, uma apresenta toxoplasmose congênita. Portanto, a proporção de crianças infectadas foi de 0,0006, ou seja 0,06%, sendo o intervalo de 95% de confiança de 0,03% a 0,09%.

A Figura 5 mostra o mapa do município de Belo Horizonte, onde pode ser visto a distribuição dessas crianças em relação ao local de coleta da amostra de sangue seco (papel filtro) e local

de residência. Como o critério para realização do teste foi nascer em Belo Horizonte, observou-se que dentre as 20 crianças com toxoplasmose congênita, 17 residiam em BH e três residiam fora do município, uma em Ribeirão das Neves e duas em Contagem. A coleta das amostras de sangue seco foi realizada principalmente na região centro-sul de Belo Horizonte que concentra uma importante área hospitalar na cidade, incluindo maternidades de referência para gestações de alto risco, o que explica o nascimento em Belo Horizonte de crianças residentes em outros municípios. Em relação à residência das crianças, observou-se que os casos estão distribuídos em toda a cidade, mas uma parte considerável (35%) reside nas regiões norte e nordeste, reconhecidas áreas que abrigam população de menor renda. As crianças fixadas nas regiões leste e centro-sul residem nos aglomerados presentes nessas regiões. Avaliou-se a proporção de crianças com toxoplasmose congênita em relação à de nascidos vivos em cada distrito sanitário no período estudado, utilizando-se os dados do SINASC-BH e a relação de bairros por distrito disponível na página eletrônica da Prefeitura de Belo Horizonte (Tabela 4).

TABELA 4 – Distribuição da frequência (*n*) de nascidos vivos e de crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal, no período de 2003-2004, de acordo com a divisão do município de Belo Horizonte em distritos sanitários

Distrito Sanitário	Nascidos vivos*		Toxoplasmose congênita #	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Venda Nova	4860	13,6	1	5,0
Norte	3919	11,0	4	20,0
Nordeste	3942	11,1	3	15,0
Pampulha	2824	7,9	1	5,0
Noroeste	5243	14,7	0	0
Leste	3747	10,5	2	10,0
Oeste	4287	12,0	1	5,0
Centro Sul	3190	9,0	3	15,0
Barreiro	3622	10,2	2	10,0
Fora de Belo Horizonte			3	15,0
Total	35634		20	

\* SINASC-BH (01/09/2003 a 30/10/2004)

# Testados 31808 recém-nascidos

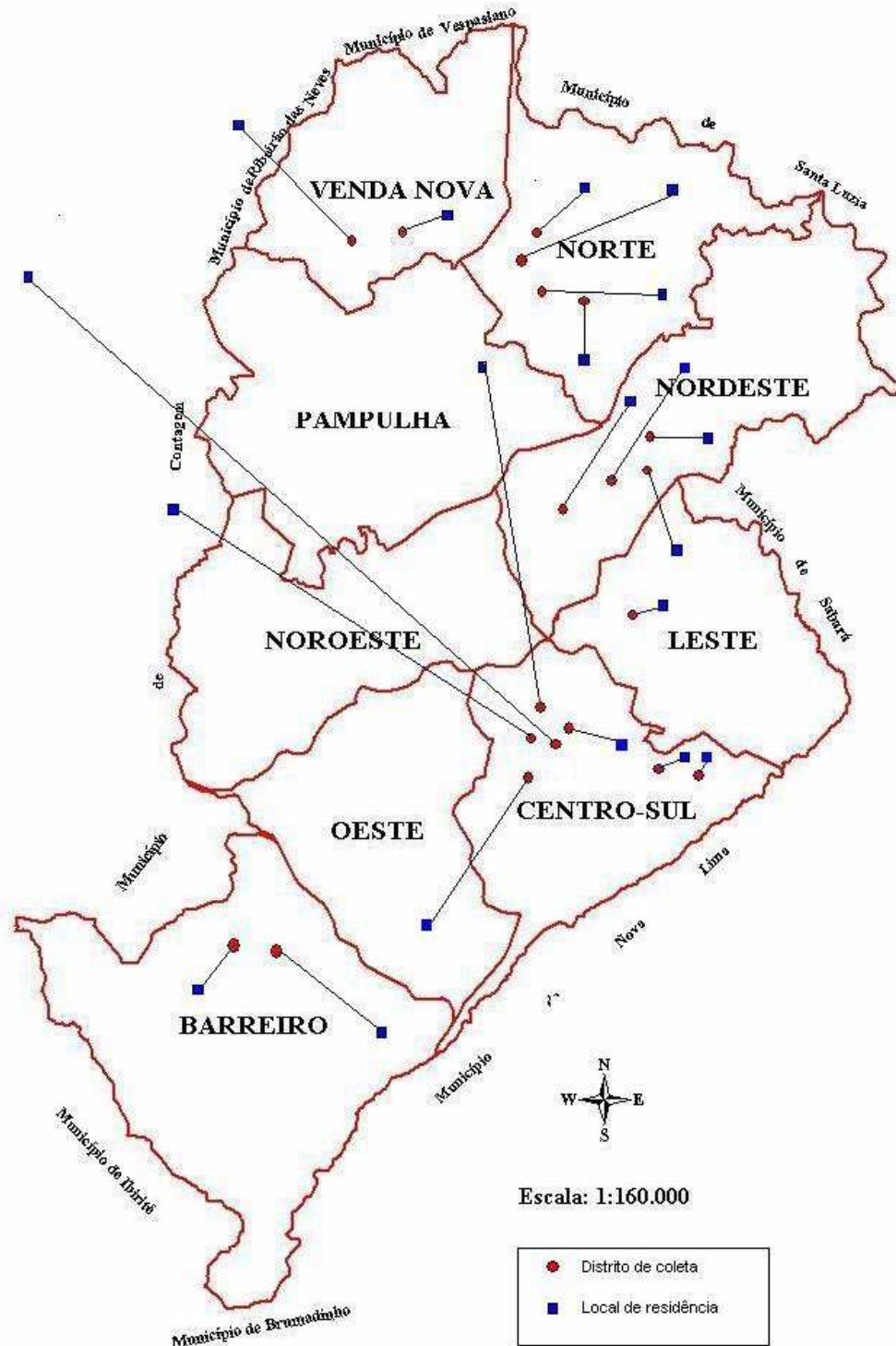


FIGURA 5 - Distribuição geo-referenciada dos casos de toxoplasmose congênita nascidos em BH, de acordo com distrito de coleta e local de residência, e identificados pelo PETN-MG no período de 2003-04

A mediana foi de sete dias para o intervalo de tempo entre o nascimento e a coleta do sangue seco (papel filtro) e apenas uma criança coletou a amostra com intervalo de 68 dias devido a internação hospitalar prolongada por prematuridade (o hospital em que a criança estava internada não realizava coleta hospitalar do teste do pezinho). Após o resultado positivo/duvidoso da IgM em sangue seco, foi solicitada coleta de soro do binômio mãe/filho para confirmação do diagnóstico. O primeiro atendimento médico para início do tratamento das crianças com toxoplasmose congênita foi realizado em média no terceiro mês de vida e a última avaliação oftalmológica foi realizada em média no final do terceiro ano de vida, conforme pode ser visto na Tabela 5. Em relação ao número de consultas durante o seguimento das crianças, estimou-se que dez consultas ao longo de três anos de acompanhamento, seis no primeiro ano de vida e a seguir duas a cada ano seriam necessárias. Observou-se que a média e o desvio padrão de comparecimento às consultas programadas foram respectivamente 10,3 e 4,03 vezes, sendo o mínimo de quatro consultas.

TABELA 5 - Estatísticas descritivas referentes aos intervalos de tempo entre o nascimento da criança e a realização de exame/atendimento observados em 20\* crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal no período de setembro de 2003 a outubro de 2004 em Belo Horizonte

	<b>Total pesquisado</b>	<b>Média</b>	<b>Desvio padrão</b>	<b>Mediana</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
Teste de triagem neonatal (idade em dias)	20	16	20	7	5	68
Primeira consulta (em dias)	19	86	35	86	17	146
Tempo seguimento (em meses)	19	31	8	33	17	44

\* Uma das crianças foi avaliada apenas para o intervalo entre o nascimento e a coleta do sangue seco, pois evoluiu para o óbito aos 12 dias de vida.

Ao nascimento, sete das vinte (35%) crianças apresentavam sinais e/ou sintomas compatíveis com toxoplasmose congênita, mas em apenas três (15%) crianças essas manifestações foram a motivação para investigação da infecção. A mãe de uma criança identificada no período neonatal havia apresentado IgM anti-*T.gondii* positiva em soro no último exame realizado durante o pré-natal, mas esse resultado não havia sido visto pelo obstetra por ter sido entregue



pelo laboratório após o parto, sendo esse o motivo da investigação do RN. As outras crianças sintomáticas ao nascimento haviam sido identificadas durante o pré-natal. A toxoplasmose congênita foi assintomática ao nascimento em mais da metade das crianças (13/20) e, destas, dez foram identificadas apenas pela triagem neonatal (Tabela 6).

TABELA 6 - Distribuição da forma de diagnóstico da toxoplasmose congênita entre 20 crianças identificadas pela triagem neonatal (IgM anti-*T.gondii* em sangue seco) no período de setembro de 2003 a outubro de 2004 em Belo Horizonte

Forma de diagnóstico	Frequência	%
Identificadas por meio da triagem pré-natal	6	30
A partir de suspeita clínica no período neonatal	4	20
Devido apenas à triagem neonatal	10*	50
Total	20	100

\* Uma das crianças evoluiu para o óbito aos 12 dias de vida e a toxoplasmose congênita foi confirmada no seu gemelar.

### 5.1.3. Concordância entre dois testes diagnósticos em sangue seco

Para identificação da IgM anti-*Toxoplasma gondii* foram utilizados o teste PLATELIA TOXO IgM (teste A) em todas as 31.808 crianças testadas e o teste *Neonatal Toxoplasma gondii* FEIA (teste B) em todas as crianças com resultado positivo ou duvidoso no teste A. Esperou-se excelente concordância dos resultados positivos. Para se ter uma idéia da concordância dos dois testes também nos casos negativos, 5% das amostras com resultados negativos no teste A foram repetidas no B. Procedeu-se de acordo com o fluxograma da Figura 6.

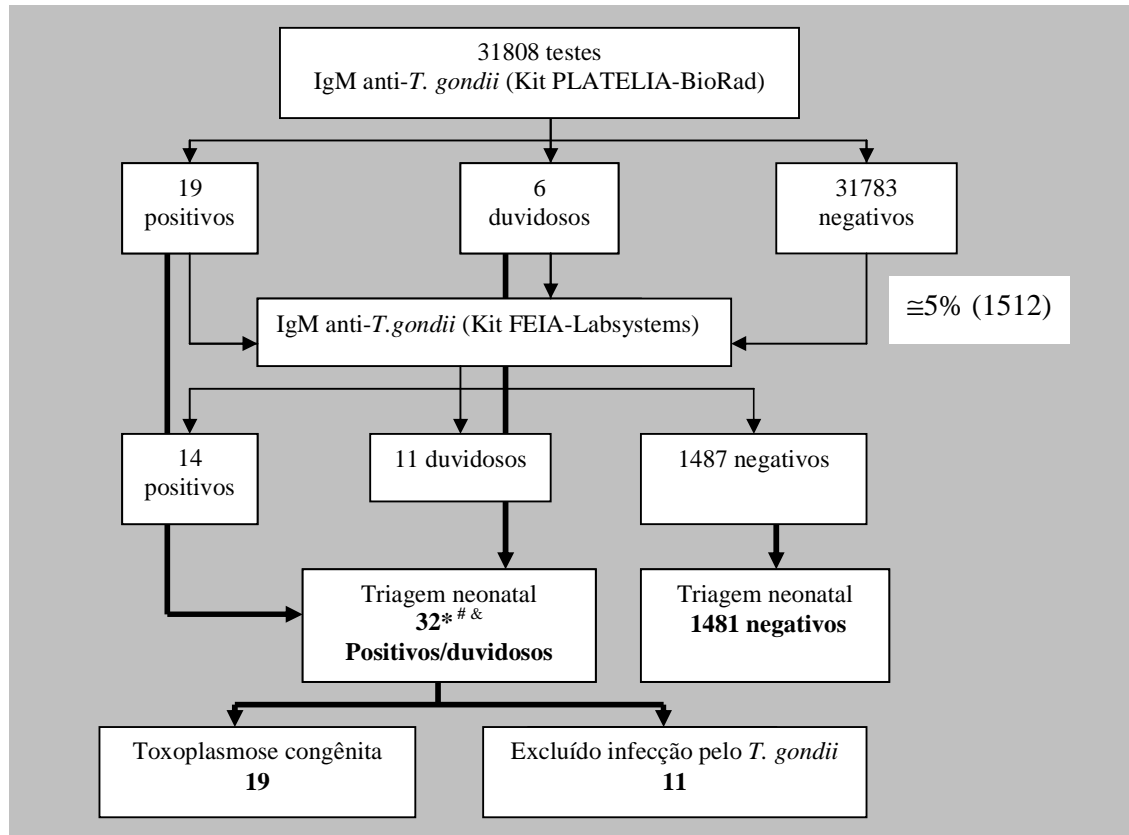


FIGURA 6 - Fluxograma mostrando os resultados dos testes utilizados para triagem neonatal da toxoplasmose congênita em Belo Horizonte, no período de 2003-04

\* Resultados positivos/duvidosos em qualquer das técnicas utilizadas em sangue seco.

# A sorologia confirmatória não foi realizada em duas crianças, uma que evoluiu para óbito neonatal (seu gemelar apresenta a infecção) e uma devido à não concordância da família em participar do estudo.

& Uma criança não completou o tempo de seguimento suficiente para confirmar ou excluir a infecção.

Na Tabela 7 estão listadas as crianças que apresentaram resultados positivos ou duvidosos em qualquer dos dois testes de triagem e os resultados de exames confirmatórios realizados em soro e obtidos no período neonatal ou ao longo do primeiro ano de vida. Considerou-se infectada a criança que apresentava sorologia positiva nos primeiros seis meses de vida (IgA e/ou IgM) ou IgG persistentemente positiva até completar 12 meses de idade.

TABELA 7 - Resultados de IgM anti-*T. gondii* em sangue seco de 31.808 recém-nascidos, utilizando os testes PLATELIA (BioRad) e FEIA (Labsystems), de acordo com a confirmação da condição de infectado

Código NUPAD	Resultado do kit PLATELIA	Resultado do kit FEIA-Labsystems	Desfecho
1. BOB1952	Positivo	Duvidoso	Confirmação da infecção
2. BXX1745	Duvidoso	Negativo	Excluído
3. BXX1744	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
4. BXU1595	Duvidoso	Negativo	Confirmação da infecção
5. BHO2718	Duvidoso	Negativo	Interrompeu seguimento
6. BWP3212	Duvidoso	Negativo	Excluído
7. BYA3384	Positivo	Não realizado	Confirmação da infecção
8. BHO3075	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
9. BKL4221	Positivo	Duvidoso	Confirmação da infecção
10. BHC2892	Positivo	Duvidoso	Confirmação da infecção
11. BSC0037	Duvidoso	Negativo	Excluído
12. BWP3333	Positivo	Duvidoso	Confirmação da infecção
13. BWN1953	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
14. BXR1247	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
15. BKM1906	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
16. BWF616	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
17. BKM5380	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
18. BXC5179	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
19. BKO4502	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
20. BYP1585	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
21. BKM1962	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
22. BWR2220	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
23. BOB2451	Duvidoso	Negativo	Excluído
24. BOB2497	Positivo	Positivo	Confirmação da infecção
25. BHO2774	Positivo	Positivo	Óbito (gemelar infectado)
26. BKM1780	Negativo	Duvidoso	Excluído
27. BZV2245	Negativo	Duvidoso	Excluído
28. BYD3209	Negativo	Duvidoso	Excluído
29. BXB1608	Negativo	Duvidoso	Recusou participar
30. BHO2935	Negativo	Duvidoso	Excluído
31. BWK1495	Negativo	Duvidoso	Excluído
32. BYG2448	Negativo	Duvidoso	Excluído

A Tabela 8 mostra os resultados conjuntos dos dois kits utilizados na triagem.

TABELA 8 - Resultados da identificação de IgM anti-*Toxoplasma gondii*, em sangue seco, entre dois testes diagnósticos para toxoplasmose congênita

Teste A – PLATELIA	Teste B - FEIA		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	18	6	24
Negativo	7	1481	1488
Total	25	1487	1512

Considerando os dados da Tabela 8, a concordância pelo acaso é 96,8%. A concordância observada foi de 99,1%, o coeficiente Kappa foi 0,73 e o intervalo de 95% de confiança foi (0,59; 0,87), concordância considerada boa entre os dois testes.

### 5.1.4. Os testes confirmatórios

Foram realizados nove testes para avaliar o binômio mãe/filho suspeito de toxoplasmose congênita e seus valores de referência estão discriminados na Tabela 9. Três testes foram realizados fora da UFMG, em laboratório terceirizado pelo NUPAD.

TABELA 9 - Informações sobre testes laboratoriais utilizados para confirmação da infecção pelo *T. gondii* em recém-nascidos suspeitos, e suas mães, identificados pela triagem neonatal em Belo Horizonte

Imunoensaio		Limites de detecção			Laboratório responsável	Elaboração
Anticorpo	Princípio	Expressão	Negativo	Positivo		
IgM	ELFA	Índice	<0,55	≥0,65	Lab. terceirizado	Comercial *
IgA	ELISA	Índice	<0,90	>1,10	Lab. terceirizado	Comercial #
IgM	ELISA	Índice	<1,00	≥1,00	Lab. Toxoplasmose ¶	In house
IgM	RIFI	Diluição	<1:16	≥1:16	Lab. Toxoplasmose ¶	In house
IgG	ELISA	Índice	<1,00	≥1,00	Lab. Toxoplasmose ¶	In house
IgG	RIFI	Diluição	< 1:16	≥ 1:16	Lab. Toxoplasmose ¶	In house
IgG	ELFA	Índice	< 4,00	≥ 8,00	Lab. terceirizado	Comercial *
IgG	WB	RN reconhece bandas não reconhecidas pela mãe			Lab. Toxoplasmose ¶	In house
IgG	Avidez	Percentual	Infec. recente < 50%	Infec. crônica ≥ 50%	Lab. Toxoplasmose ¶	In house

\* IgM e IgG anti-*T.gondii* (ELFA) - BioMérieux

# IgA anti-*T.gondii* (ELISA) - TOXOK-A reverse plus - DIASORIN

¶ Laboratório de Toxoplasmose do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG, sob a coordenação do Prof. Ricardo Wagner de Almeida Vitor

Foram submetidas a esses exames todas as 32 crianças com resultado positivo/duvidoso em qualquer um dos testes para identificação de IgM anti-*T.gondii* em sangue seco, e outras 19 que no início do projeto mostraram resultado duvidoso no teste de triagem, mas que apresentaram resultado negativo na repetição do teste na mesma amostra, perfazendo o total de 51 crianças avaliadas com exames confirmatórios (Figura 7). A proporção de resultados positivos, duvidosos e negativos em cada método está descrito na Tabela 10, onde se pode observar também as manifestações clínicas da infecção na criança e a época da realização do diagnóstico.

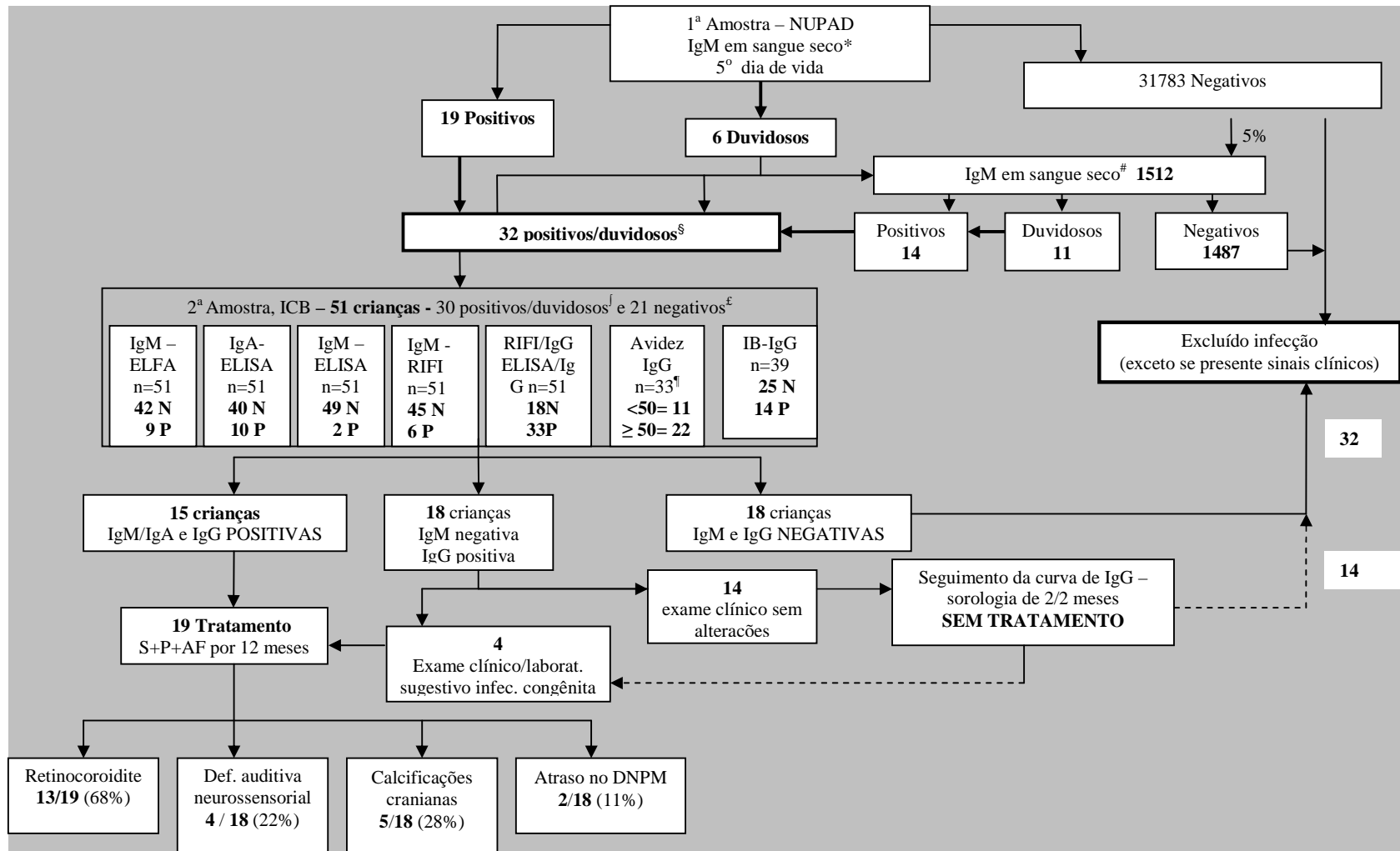


FIGURA 7 – Fluxograma mostrando o número de crianças, com resultado positivo/duvidoso no teste de triagem neonatal, submetidas aos testes para confirmação da toxoplasmose congênita em Belo Horizonte, no período de 2003-04

\* Teste PLATELIA; # Teste FEIA, Labsystems; § Resultados positivos/duvidosos em qualquer das técnicas utilizadas em sangue seco; ¶ Sorologia confirmatória não foi realizada em 02 crianças: 01 evoluiu para óbito neonatal; 01 por não concordância da família em participar do estudo (resultado indeterminado no Labsystem); £ Os 21 negativos foram obtidos a partir do primeiro kit Labsystems utilizado, quando detectado resultados duvidosos, não confirmados com a repetição do teste ainda em sangue seco; ¶ O teste de avidéz foi realizado nos positivos para IgG

TABELA 10 - Informações referentes aos casos de Toxoplasmose congênita identificados pelo teste de triagem neonatal no período de setembro de 2003 a outubro de 2004 em Belo Horizonte

Código	IgM	IgA	IgG persistente	IB-IgG	Avidez de IgG	Manifestações clínicas oculares, neurológicas e auditivas até 12 meses	Diagnóstico da infecção congênita em relação à gestação
BOB 1952	-	I	+	-	47%	Retinocoroidite	Pré-natal
BXX 1744	+	+	+	NR	44%	Retinocoroidite, déficit auditivo	Neonatal
BXU 1595	+	+	+	+	51%	Retinocoroidite, déficit auditivo	Triagem neonatal
BYA 3384	+	+	+	+	41%	Retinocoroidite, déficit auditivo	Triagem neonatal
BHO 3075	-	-	+	+	63%	Assintomática	Triagem neonatal
BKL 4221	-	-	+	+	42%	Retinocoroidite, microftalmia, calcificações, hidrocefalia, atraso no DNPM	Pré-natal
BHC 2892	-	-	+	+	90%	Catarata*, microftalmia, calcificações	Neonatal
BWP 3333	-	-	+	-	26%	Assintomática	Pré-natal
BWN 1953	-	-	+	-	18%	Retinocoroidite	Pré-natal
BXR 1247	+	-	+	+	68%	Assintomático	Triagem neonatal
BKM 1906	+	-	+	+	100%	Retinocoroidite	Pré-natal / Triagem neonatal
BWF 616	-	+	+	+	16%	Retinocoroidite, calcificações	Triagem neonatal
BKM 5380	+	+	+	+	10%	Assintomático	Triagem neonatal
BXC 5179	+	+	+	+	63%	Assintomática	Triagem neonatal
BKO 4502	-	-	+	+	60%	Retinocoroidite, calcificações	Neonatal
BYP 1585	+	+	+	+	30%	Retinocoroidite, déficit auditivo, atraso no DNPM	Triagem neonatal
BKM 1962	-	+	+	+	74%	Retinocoroidite	Pré-natal / Triagem neonatal
BWR 2220	+	+	+	+	57%	Retinocoroidite, calcificação	Triagem neonatal
BOB 2497	-	+	+		64%	Retinocoroidite	Neonatal
BHO 2774	NR	NR	NR	NR	NR	Óbito neonatal. Gemelar com toxo. congênita	Pós-natal (triagem neonatal identificou o 1º gemelar)

+ positivo; - negativo; I – indeterminado; NR- não realizado; DNPM – desenvolvimento neuropsicomotor

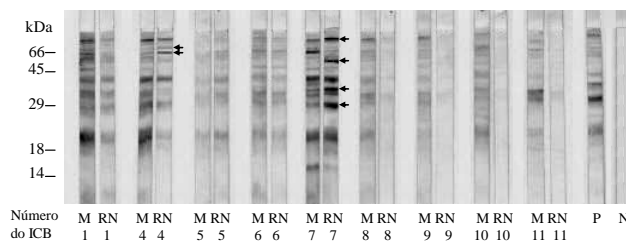
\* Ao final de 12 meses, após cirurgia da catarata, observado retinocoroidite.

A proporção de resultados IgM (ELFA) e IgA (ELISA) positivos apresentou relação inversa com o aumento da idade das crianças e o teste de IgA mostrou-se mais sensível quanto mais precocemente realizado. Houve maior número de IgA positivos do que IgM para o diagnóstico nos primeiros três meses de vida e resultados inferiores quando utilizado após esse período (Tabela 11). Os métodos de ELISA e RIFI para determinação de IgM mostraram resultados piores que o método ELFA, mesmo com sua realização em laboratório de

excelência na área. A avidéz de IgG mostrou-se baixa em 47% (9/19) das crianças enquanto a avidéz de IgG materna, realizada na mesma data, foi baixa em 18% (3/17) dos casos.

Foi realizado o teste de *immunoblotting* IgG (IB-IgG) para avaliar se os anticorpos da criança reconheciam antígenos diferentes dos reconhecidos pelos anticorpos maternos, o que poderia contribuir para a confirmação da infecção mais precocemente. O teste foi realizado na mesma amostra submetida aos outros testes, sempre que foi possível identificar IgG no binômio mãe/filho. Foi denominado positivo o soro da criança que reconheceu antígenos diferentes dos reconhecidos por sua mãe. Observa-se nas figuras 8, 9 e 10 que os anticorpos das crianças positivas nesse teste reconheceram antígenos de peso molecular entre 22 e 130 kDa.

## Toxoplasmose congênita 1



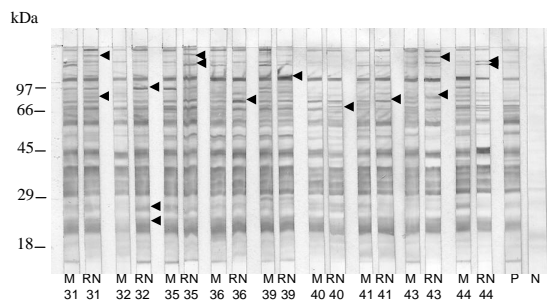
M: mãe; RN: Recém nascido; P: controle positivo; N: Controle negativo

RN 4 reconheceu antígeno de peso molecular (PM) aproximado de 65 kDa, fracamente reconhecido pela mãe e antígeno de PM 72 kDa que não foi reconhecido pelo soro da mãe.

RN 7 reconheceu antígenos de PM 28kDa, 34 kDa e 84 kDa, fracamente reconhecidos pela mãe. Reconheceu também antígeno de PM 47 kDa que não foi reconhecido pelo soro da mãe.

Os demais RN não reconheceram antígenos de *T. gondii* ou reconheceram os mesmos antígenos da mãe.

FIGURA 8 - Perfil comparativo de IgG de mães (M) e crianças (RN), de números 1-11. As setas marcam os antígenos IgG reativos presentes na criança mas ausentes na mãe



RN 31 reconheceu dois antígenos (Ag) de peso molecular (PM) aproximado de 72 e 130 kDa, fracamente reconhecidos pela mãe.

RN 32 reconheceu antígenos de PM aproximado de 22, 26 e 84 kDa, fracamente reconhecidos pela mãe.

RN 35 reconheceu Ag de PM aproximado de 113 e 130 kDa, fracamente reconhecidos pela mãe.

RN 36 e RN 41 reconheceram Ag de PM aproximado de 87 kDa, fracamente reconhecido pela mãe

RN 39 reconheceu Ag de PM aproximado de 102 kDa, fracamente reconhecido pela mãe

RN 40 reconheceu Ag de PM aproximado de 72 kDa, fracamente reconhecido pela mãe

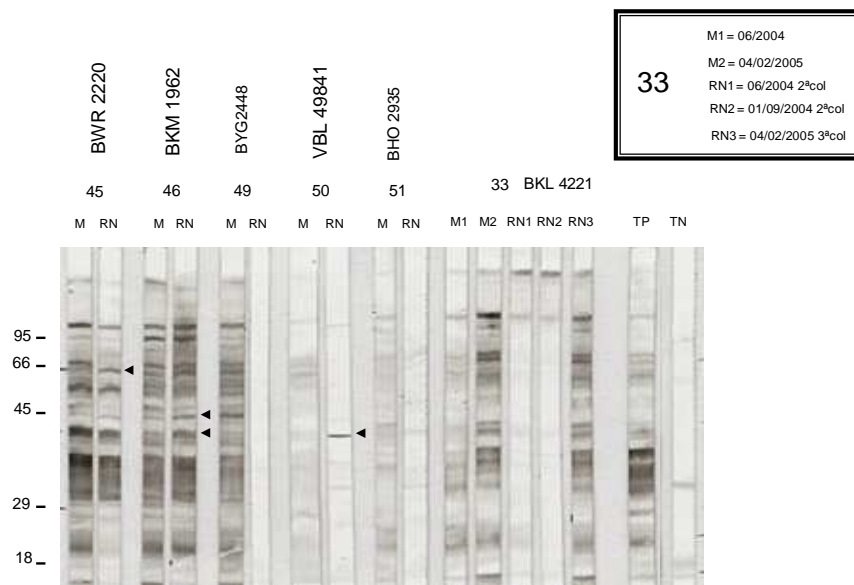
RN 43 reconheceu Ag de PM aproximado de 65 e 130 kDa, fracamente reconhecidos pela mãe

RN 44 reconheceu Ag de PM aproximado de 113 e 130 kDa, fracamente reconhecidos pela mãe.

Os demais RN (33, 34, 37, 38) não reconheceram antígenos de *T. gondii* ou reconheceram os mesmos antígenos da mãe em intensidade igual ou menor.

FIGURA 9 - Perfil comparativo de IgG de mães (M) e crianças (RN), de números 31-44. As setas marcam os antígenos IgG reativos presentes na criança mas ausentes na mãe.





- a) RN 45 reconheceu um antígeno (Ag) de peso molecular (PM) aproximado de 65 kDa, fracamente reconhecido pela mãe.
- b) RN 46 reconheceu Ags de PM aproximado de 43 e 40 kDa, fracamente reconhecido pela mãe.
- c) RN 50 reconheceu um Ag de PM aproximado de 40 kDa, não reconhecido pela mãe.
- d) Os RNs 49 e 51 não reconheceram antígenos de *T. gondii* ou reconheceram os mesmos antígenos da mãe em intensidade igual ou menor.
- e) A análise do RN 33 (BKL 4221) mostra que, assim como pela RIFI e ELISA, pelo WB houve pouca reatividade de Ags nas 1a. e 2a. coletas mas foi fortemente positivo na 3a. coleta.
- f) TP e TN: Controle positivo e negativo

FIGURA 10 - Perfil comparativo de IgG de mães (M) e crianças (RN), de números 45-51. As setas marcam os antígenos IgG reativos presentes na criança mas ausentes na mãe

Na amostra estudada, que envolveu crianças com idade entre 30 e 90 dias, observou-se que o método de IB-IgG identificou uma proporção maior de crianças infectadas quando comparado ao IgM e IgA, mesmo quando estes foram realizados com técnicas mais sensíveis (Tabela 11).

TABELA 11 - Distribuição de frequências de testes sorológicos com resultados positivos, entre os utilizados para confirmação do diagnóstico de toxoplasmose congênita, avaliados de forma isolada ou combinados, entre 51 crianças identificadas a partir do teste de triagem neonatal para toxoplasmose congênita, desenvolvido em Belo Horizonte no período de setembro de 2003 a outubro de 2004

Métodos	Idade de realização do teste		Total
	30 a 90 dias (18 crianças) Proporção (%)	> 90 dias (33 crianças) Proporção (%)	0 a 12 meses (51 crianças) Proporção (%)
<b>Individuais</b>			
IgM Elfa-Vidas	7/14 (50)	2/5 (40)	09/19 (47)
IgA ELISA	10/14 (71)	1/5 (20)	11/19 (58)
IB-IgG	10/13 (77)	4/4 (100)	14/17 (82)
IgM ELISA	0/14 (0)	2/5 (40)	02/19 (11)
IgM RIFI	4/14 (29)	2/5 (40)	06/19 (32)
Avidez IgG < 50%			09/19 (47)
<b>Combinados</b> (qualquer dos métodos positivo)			
IgM Elfa + IgA	11/13 (85)	2/6 (33)	13/19 (68)
IB + IgA + IgM Elfa	12/14 (86)	5/5 (100)	17/19 (89)

Dentre as 19 crianças infectadas, em duas não foi possível realizar o teste de IB-IgG por impossibilidade das mães, uma faleceu no pós-parto e outra recusou-se a coletar sangue, portanto, o IB foi realizado em 17 pares de mães/filhos. Observou-se, na avaliação geral, que o IB-IgG foi positivo em 82% (14/17), o IgA em 58% (11/19) e o IgM em 47% (9/19). Quando se considerou a idade da realização da coleta, em 18 das 51 crianças que a realizaram entre 30 e 90 dias de vida, observou-se IB-IgG positivo em 77% dos casos, IgA em 71% e IgM em 50%. A sorologia realizada após 90 dias nas 33 crianças mostrou maior sensibilidade do IB-IgG (100%) comparado a IgM (40%) e IgA (20%).

O uso de métodos laboratoriais combinados mostrou-se útil para o diagnóstico da toxoplasmose congênita. No grupo de coleta realizada entre 30-90 dias, o uso conjunto de IgM e IgA detectou 85% dos casos e a associação do IB-IgG não alterou esse achado. Já no grupo de coleta superior a 90 dias, o uso de IgM e IgA detectou 33% dos casos e a associação do IB-IgG elevou a positividade para 100%.

## 5.2. Características clínicas das crianças infectadas

A avaliação das crianças infectadas mostrou que a maioria (17/20 – 85%) nasceu a termo e em boas condições, 89% delas com Apgar maior que 7 (17/19). Observou-se maior prevalência de prematuridade entre as crianças infectadas (15%) em relação aos resultados obtidos no Sistema de Informação sobre Nascidos Vivos (SINASC) no município de Belo Horizonte (9,3%) no mesmo período. Na avaliação do peso de nascimento, observou-se que cinco (25%) apresentaram baixo peso (< 2500g) e a média dos pesos observados foi inferior à média geral para recém-nascidos a termo (Tabela 12). Para melhor avaliar essa variável, procedeu-se à comparação da média de peso do grupo de crianças infectadas com os valores obtidos na amostra de crianças negativas para IgM anti-*T. gondii* em sangue seco (285 crianças), consideradas como grupo controle. As informações sobre o peso de nascimento no grupo controle foi dada pelas mães e confirmadas nos dados do SINASC-BH.

TABELA 12 – Estatísticas descritivas referentes a variáveis antropométricas ao nascimento de 20 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em BH no período de 2003-04

Variável	Frequência	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Peso nascimento (g)	20	2670	555	2615	1380	3720
Estatura (cm)	16	48,3	3,2	48,5	39,0	53,0
Perímetro cefálico (cm)	13	32,8	2,5	33,0	27,0	37,0

No grupo controle, a média e desvio padrão do peso de nascimento foram respectivamente 3095g e 520g, valor da média igual ao da mediana, e superior ao valor observado no grupo casos. A representação gráfica dessa diferença pode ser observada na Figura 11. Essa comparação não foi realizada para as outras variáveis antropométricas (estatura e perímetro cefálico) pela imprecisão das medidas quando realizadas por vários examinadores.

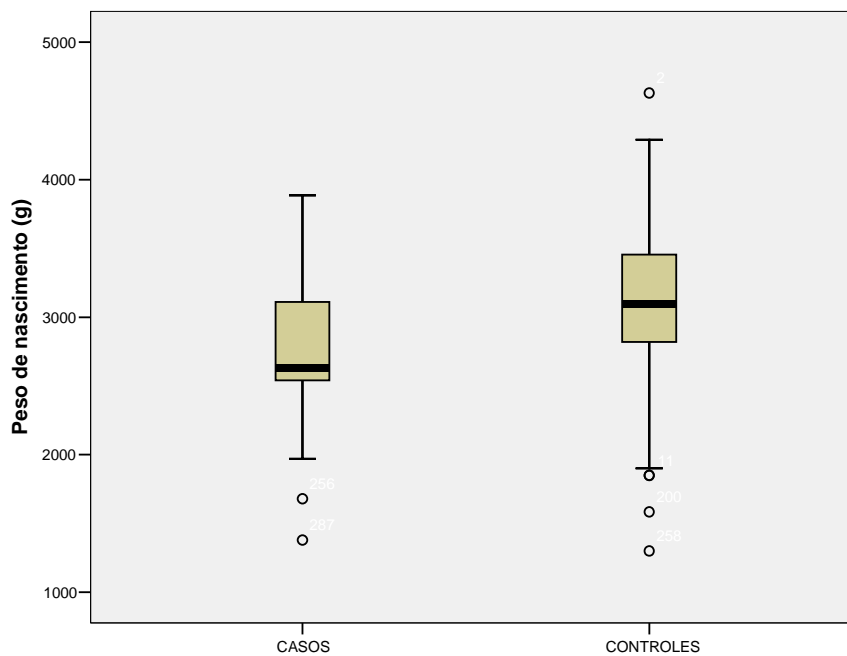


FIGURA 11 - *Box plot* para a variável peso de nascimento para os grupos de casos e de controles

Na Figura 11 observa-se que as variabilidades dos dois grupos são similares. De fato pelo teste de *Levene* há indicação de homogeneidade de variâncias dos grupos ( $p = 0,879$ ). O valor da mediana está visivelmente inferior no grupo dos casos. Aproximadamente 75% das observações do grupo dos casos estão abaixo de 3000 gramas, enquanto aproximadamente

50% estão abaixo das mesmas 3000 gramas no grupo dos controles. A aplicação do teste de *Mann-Whitney* indicou que a mediana do peso ao nascer no grupo dos casos é significativamente inferior à do grupo dos controles ( $p=0,0005$ ).

No período neonatal, sete (35%) em 20 crianças apresentaram sinais e/ou sintomas compatíveis com a infecção congênita: hepatoesplenomegalia (5/7), trombocitopenia e petéquias (2/7), microftalmia (2/7), hidrocefalia (1/7) e catarata (1/7). Uma das crianças, gemelar e filha de mãe HIV positiva, evoluiu para o óbito aos 12 dias de vida e o segundo gêmeo apresentou toxoplasmose congênita com retinocoroidite macular, recebendo tratamento durante o primeiro ano de vida.

O exame do líquido foi realizado em 85% (17/20) das crianças entre o nascimento e o terceiro mês de vida. Os valores observados para a proteinorraquia foram maiores que o esperado para a idade<sup>254</sup> em 41% (7/17) dos casos, mas as elevações foram discretas (média de proteínas=148mg/dL), muito aquém dos níveis em que está indicado o uso de corticosteroide.

Em relação ao pré-natal das mães das crianças infectadas, o início ocorreu no segundo trimestre de gestação (3,8 meses e o desvio-padrão foi de 1,9 meses) e foram realizadas em média 6 consultas com desvio padrão de 3,1 meses. Observou-se soroconversão em 90% (18/20) delas durante a gravidez. Duas mães foram exceção, uma apresentava perfil sorológico compatível com infecção pregressa (IgG positivo e IgM negativo no primeiro trimestre de gestação) e era co-infectada por *Toxoplasma*/HIV, e uma mãe realizou apenas duas consultas de pré-natal e não fez nenhum exame laboratorial, sendo seu perfil sorológico em relação à toxoplasmose desconhecido (Tabela 13). Considerou-se soroconversão quando a

mãe apresentava uma sorologia negativa na gravidez e outra positiva na gestação ou após o parto, no momento de confirmação da infecção na criança.

Manifestações clínicas compatíveis com toxoplasmose adquirida (febre, linfadenomegalia e odinofagia) foram relatadas por 15% (3/20) das mães durante a gestação, mas a não realização de testes sorológicos durante o período da sintomatologia impossibilitou a confirmação da infecção.

Observou-se alteração no ultra-som obstétrico em 14% (2/14) das mães que realizaram o exame durante a gestação. As alterações motivaram a suspeita da infecção nos dois casos e foram caracterizadas por hepatoesplenomegalia, cardiomegalia e derrame pericárdico em uma criança e dilatação ventricular, calcificações cerebrais e ascite em outra. Uma das mães recebeu medicação anti-parasitária (Sulfadiazina, Pirimetamina e Ácido Folínico) durante dois meses, no final da gestação, e as duas crianças apresentam manifestações graves da infecção – uma delas tem grave comprometimento visual e, a outra, comprometimento neurológico com convulsões ainda não completamente controladas e atraso no desenvolvimento neuropsicomotor.

Considerando-se o total das crianças infectadas estudadas, quatro mães receberam medicação anti-toxoplásmica, sulfadiazina associada a pirimetamina e ácido folínico em três e espiramicina em uma das mães, no final da gestação e por pequeno intervalo de tempo. Duas crianças, filhas dessas mulheres, apresentam forma grave da toxoplasmose e duas a forma benigna.

TABELA 13 - Informações sobre os casos de Toxoplasmose congênita identificados pelo teste de triagem neonatal no período de setembro de 2003 a outubro de 2004 em Belo Horizonte

Código da criança	Infecção materna	Manifestação clínica na mãe	Ultra-som gestacional alterado	Tratamento na gestação	Época de realização do diagnóstico da infecção congênita	Classificação clínica da infecção congênita <sup>46</sup>	Manifestações clínicas com um ano			Tempo de tratamento pós-natal, em meses
							Retinocoroidite	Calcificação craniana	Hidrocefalia/Microcefalia	
BOB 1952	Soroconversão	Não	Não	SD+P <1mês	Pré-natal	Benigna	Sim	Não	Não	12
BXX 1744	Soroconversão*	Possível <sup>#</sup>	Não	Não	Neonatal	Grave	Sim	Não	Não	12
BXU 1595	Soroconversão*	Não	Não	Não	Triagem neonatal	Benigna	Sim	Não	Não	12
BYA 3384	Soroconversão*	Não	Não	Não	Triagem neonatal	Grave	Sim	Não	Não	10
BHO 3075	Soroconversão*	Não	NR	Não	Triagem neonatal	Subclínica	Não	Não	Não	12
BKL 4221	Soroconversão	Não	Sim <sup>¶</sup>	SD+P 2 meses	Pré-natal	Grave	Sim	Sim	Sim	12
BHC 2892	Soroconversão*	Não	Não	Não	Neonatal	Grave	Sim	Sim	Não	12
BWP 3333	Soroconversão	Possível <sup>#</sup>	Não	Não	Pré-natal	Subclínica	Não	Não	Não	12
BWN 1953	Soroconversão	Não	Sim <sup>§</sup>	Não	Pré-natal	Grave	Sim	Não	Não	12
BXR 1247	Soroconversão*	Não	NR	Não	Triagem neonatal	Subclínica	Não	Não	Não	12
BKM 1906	Soroconversão	Possível <sup>#</sup>	Não	SD+P 1mes	Pré-natal / Triagem neonatal <sup>‡</sup>	Grave	Sim	Não	Não	12
BWF 616	Soroconversão*	Não	Não	Não	Triagem neonatal	Benigna	Sim	Sim	Não	12
BKM 5380	Soroconversão*	Não	Não	Não	Triagem neonatal	Subclínica	Não	Não	Não	12
BXC 5179	Soroconversão*	Não	NR	Não	Triagem neonatal	Subclínica	Não	Não	Não	10
BKO 4502	Soroconversão*	Não	NR	Não	Neonatal	Benigna	Sim	Sim	Não	10
BYP 1585	Ignorado	Não	NR	Não	Triagem neonatal	Grave	Sim	?	?	03
BKM 1962	Soroconversão	Não	Não	Espiramicina 1mes	Pré-natal / Triagem neonatal <sup>‡</sup>	Benigna	Sim	Não	Não	04
BWR 2220	Soroconversão*	Não	Não	Não	Triagem neonatal	Benigna	Sim	Sim	Não	12
BOB 2497	Soroconversão*	Não	NR	Não	Neonatal	Benigna	Sim	Não	Não	10
BHO 2774	Infecção pregressa (co-infecção HIV)	Não	Não	Não	Pós-natal <sup>£</sup>	NR	Óbito neonatal. Gemelar com toxo. congênita			NR

SD- sulfadiazina; P- pirimetamina; NR- não realizado; \* Sorologia materna positiva (IgG e IgM) após nascimento da criança; # Febre, linfadenomegalia, amigdalite – sem confirmação sorológica na ocasião das manifestações; ¶ Hidrocefalia, ascite e calcificações cerebrais; § Hepatoesplenomegalia, cardiomegalia, derrame pericárdico; ‡ Crianças identificadas no pré-natal, orientadas para procurar o pediatra, mas só compareceram para avaliação e tratamento após identificação pela triagem neonatal; £ triagem neonatal identificou o 1º gemelar.

Para avaliação da gravidade do comprometimento das crianças, foram utilizadas as definições de Hohlfeld et al.<sup>46</sup>, que consideraram: (a) forma subclínica – ausência de sinais e sintomas; (b) forma benigna – sinais isolados e assintomáticos (calcificação intracraniana com exame neurológico normal; retinocoroidite sem perda visual); (c) forma grave – hidrocefalia, microcefalia, retinocoroidite bilateral com perda visual, exame neurológico anormal.

Ao final do primeiro ano de vida, observou-se que a doença era compatível com a forma grave em 37% (7/19) das crianças, geralmente devido a comprometimento oftalmológico com retinocoroidite macular bilateral e perda visual (Tabela 13). As formas subclínica e benigna estavam presentes em 63% (12/19) das crianças e a triagem neonatal foi responsável pela identificação de oito (67%) dessas crianças. As triagens pré-natal e neonatal identificaram cinco dos sete casos (71%) de comprometimento grave e seis dos 12 casos (50%) de comprometimento benigno ou subclínico.

Ao final do primeiro ano de vida, observou-se estrabismo em três crianças, convulsões em duas e atraso do desenvolvimento neuropsicomotor (DNPM) em duas. A retinocoroidite estava presente em 74% (14/19) das crianças e calcificações cerebrais em 28% (5/18) das que realizaram tomografia computadorizada de crânio (TCC).

Foi oferecido tratamento, com sulfadiazina associada à pirimetamina e ácido fólico, de acordo com esquema proposto no Estudo de Chicago,<sup>213</sup> a todas as crianças. O tratamento foi regular durante 12 meses em 13 crianças, regular durante 10 meses em três, irregular durante 10 meses em uma e por período de tempo muito curto (3-4 meses)



em duas. As três que fizeram uso da medicação irregularmente ou por muito pouco tempo, apresentavam comprometimento macular, duas bilateralmente e uma unilateral.

Dezenove crianças foram acompanhadas clinicamente durante um período médio de 31,7 meses (o desvio padrão foi de 7,3 meses e a mediana de 33,4 meses), com realização de medidas antropométricas (peso, comprimento e perímetro cefálico). O estado nutricional dessas crianças foi avaliado durante o primeiro ano de vida em três momentos: na primeira consulta médica no projeto (idade com média e desvio padrão de 2,0 e 1,2 meses, respectivamente), na metade do primeiro ano de vida e ao final do primeiro ano, como pode ser visto na Tabela 14.

TABELA 14 - Resultados da avaliação do estado nutricional no primeiro ano de vida de 19 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04

Índice antropométrico	Prevalência coletiva do déficit ("prevalência padronizada")						Limiar no escore Z=-2 (casos moderados/graves)			Limiar no escore Z=-3 (casos graves)		
	2meses		6meses		11meses		%			%		
	Média (%)	DP	Média (%)	DP	Média (%)	DP	2 meses	6 meses	11 meses	2 meses	6 meses	11 meses
Altura/Idade <sup>1</sup> (Z-escore)	-0,28 (11,1)	3,88	-1,00 (37,9)	1,42	-0,96 (36,5)	1,42	26,3	21,1	26,3	15,8	10,5	5,3
Peso/Idade <sup>2</sup> (Z-escore)	-0,89 (34,4)	1,46	-0,69 (27,0)	1,27	-0,57 (22,1)	1,25	26,3	15,8	5,3	10,5	5,3	0,0
Peso/Altura <sup>3</sup> (Z-escore)	3,89 (0,0)	4,83	0,06 (0,0)	1,06	0,25 (0,0)	1,09	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

<sup>1</sup> - Desnutrição crônica

<sup>2</sup> - Déficit ponderal isolado

<sup>3</sup> - Desnutrição aguda

As médias do escore Z para os três índices avaliados, nas crianças com toxoplasmose congênita, não mostraram déficits antropométricos evidentes, permanecendo distantes dos limiares considerados compatíveis com desnutrição grave (escore Z=-3). Observou-se, nas crianças que apresentaram déficit no índice peso para idade, recuperação do peso

à medida que se aproximaram dos 12 meses de vida. Algumas crianças que apresentaram déficit do índice altura para a idade, persistiram com esse déficit ao longo do primeiro ano de vida. Não foram detectados casos de desnutrição aguda.

As medidas antropométricas realizadas durante o primeiro ano de vida nas 19 crianças infectadas pelo *Toxoplasma gondii* foram comparadas com as curvas de percentil do NCHS, utilizadas como referência para acompanhamento do crescimento de crianças consideradas normais em todo o mundo, inclusive no Brasil. A Figura 12 apresenta as curvas das medidas antropométricas ao longo de tempo para o conjunto dos pacientes avaliados.

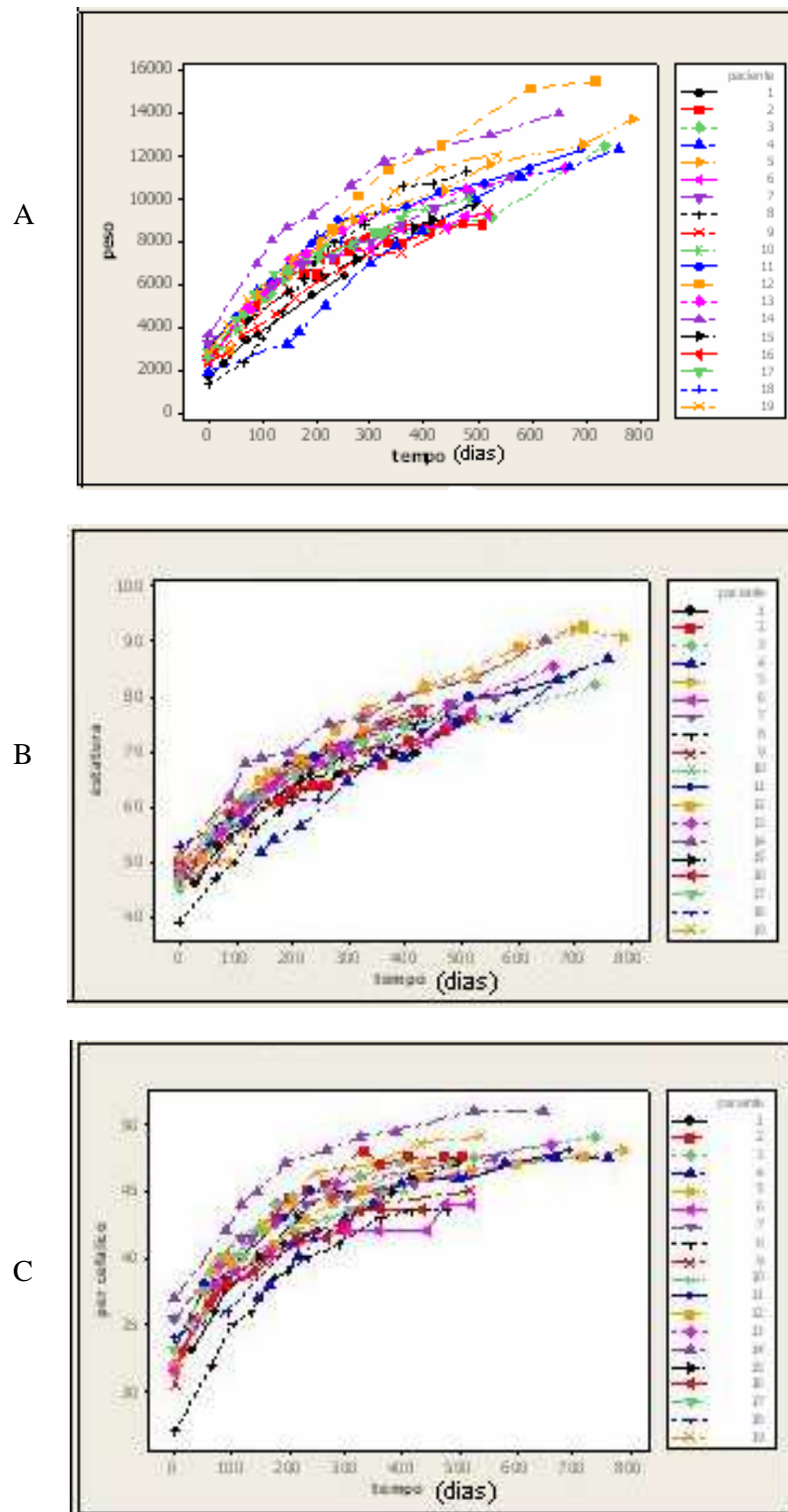


FIGURA 12 – Curvas de crescimento de 19 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04. A= Peso; B= Estatura; C= Perímetro cefálico.

Observou-se que a relação entre as variáveis antropométricas e o tempo era polinomial, que cada curva se iniciava em um ponto diferente do eixo Y (variável resposta) e que havia evidência de efeitos quadráticos nas curvas individuais. Como as medidas antropométricas foram tomadas em tempos diferentes em cada indivíduo e sabe-se que o tempo pode influenciar de forma aleatória cada indivíduo, foram ajustados modelos de efeitos aleatórios (*software* S-Plus®, utilizando a função *lme*). O modelo mais adequado foi o que considerou o intercepto e a inclinação aleatórios, e que apresentou relação quadrática da variável resposta com o tempo. Para poder comparar os dados coletados com uma curva de percentil padrão, estimou-se uma curva que representasse o grupo casos em relação ao peso, estatura e perímetro cefálico e que utilizasse os tempos especificados na referência padrão. As curvas ajustadas do grupo casos foram comparadas com as curvas de percentil médio (P50) do padrão NCHS de acordo com o sexo, feminino e masculino, e podem ser vistas abaixo (Figuras 13, 14 e 15).

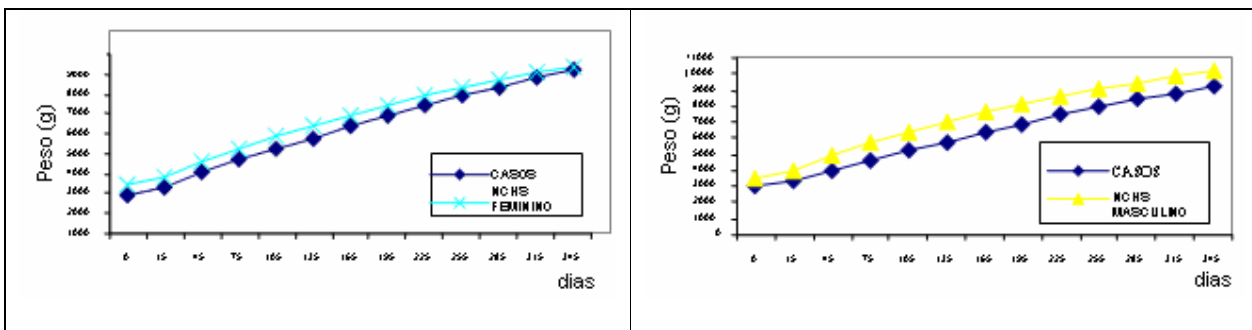


FIGURA 13 - Comparação do peso (em gramas) entre 19 crianças com toxoplasmose congênita (grupo casos) identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04, com a curva de percentil média do padrão de referência (NCHS) para crescimento do peso

As diferenças médias entre os pesos das crianças com toxoplasmose congênita e o padrão de referência NCHS podem ser observadas na Tabela 15.

TABELA 15 – Diferença média do peso nos tempos estimados entre 19 crianças com toxoplasmose congênita (grupo casos) identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04, e o padrão médio de referência (NCHS), masculino e feminino, para crescimento do peso

Tempo estimado (dias) da medida do peso	Diferença do peso em gramas entre o grupo casos e NCHS	
	Feminino	Masculino
0	411	542
15	454	660
45	514	848
75	541	984
105	654	1186
135	628	1232
165	583	1246
195	525	1234
225	458	1200
255	384	1151
285	307	1090
315	230	1022
345	157	952

Na Figura 13 pode-se observar que o peso do grupo casos foi sempre menor que o peso médio de referência de acordo com sexo. Essa diferença foi sempre maior para o sexo masculino, podendo superar 1kg e ocorrendo a partir do quarto mês de idade, embora pudessem existir indivíduos *outliers* no conjunto. A aproximação dos 12 meses de vida fez com que as medidas se aproximassem da curva média padrão, principalmente para o sexo feminino.

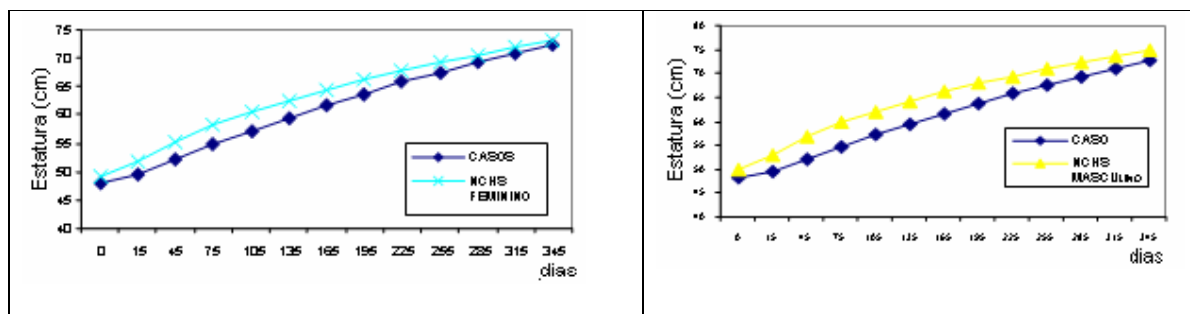


FIGURA 14 - Comparação da estatura (em centímetros) entre 19 crianças com toxoplasmose congênita (grupo casos) identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04, com a curva de percentil média do padrão de referência (NCHS) para crescimento da estatura

TABELA 16 – Diferença média da estatura nos tempos estimados entre 19 crianças com toxoplasmose congênita (grupo casos) identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04, e o padrão médio de referência (NCHS), masculino e feminino, para crescimento da estatura

Tempo estimado (dias) da medida da estatura	Diferença da estatura em centímetros entre o grupo casos e NCHS	
	Feminino	Masculino
0	1,1	1,8
15	2,2	3,2
45	3,1	4,5
75	3,4	4,9
105	3,4	5,0
135	3,1	4,8
165	2,8	4,5
195	2,4	4,2
225	2,0	3,8
255	1,6	3,4
285	1,3	3,0
315	1,0	2,7
345	0,7	2,4

As diferenças entre as estaturas das crianças com toxoplasmose congênita e o padrão de referência NCHS foram observadas principalmente entre o segundo e sexto mês (Tabela 16). Essa diferença pode ser visualizada na Figura 14 pelo espaço entre as curvas nesse intervalo de tempo. A curva estimada pelo modelo para o grupo casos aproximou-se do percentil 50 (NCHS) no final do primeiro ano de vida das crianças. As curvas masculina e feminina apresentaram o mesmo comportamento, embora na masculina a diferença fosse maior.

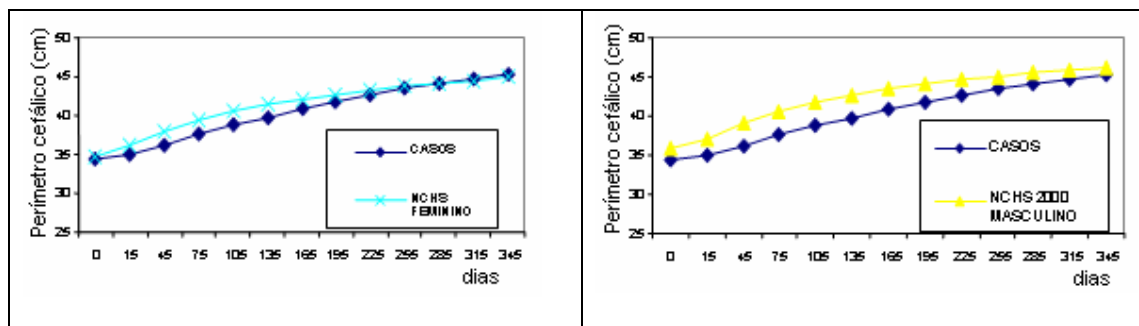


FIGURA 15 - Comparação do Perímetro Cefálico (em centímetros) entre 19 crianças com toxoplasmose congênita (grupo casos) identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04, com a curva de percentil média do padrão de referência (NCHS) para crescimento do perímetro cefálico

TABELA 17 – Diferença média do perímetro cefálico nos tempos estimados entre 19 crianças com toxoplasmose congênita (grupo casos) identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04, e o padrão médio de referência (NCHS), masculino e feminino, para crescimento do perímetro cefálico

Tempo estimado (dias) da medida do perímetro cefálico	Diferença dos perímetros cefálicos, em centímetro, entre grupo casos e NCHS	
	Feminino	Masculino
0	0,4	1,5
15	1,1	2,2
45	1,7	2,9
75	1,8	3,1
105	1,7	3,0
135	1,5	2,8
165	1,2	2,6
195	0,9	2,2
225	0,6	1,9
255	0,3	1,6
285	0,0	1,3
315	-0,2	1,1
345	-0,5	0,9

Na Figura 15 e Tabela 17 observa-se que as maiores diferenças no perímetro cefálico ocorreram entre os dois e seis meses de vida, diminuindo progressivamente à medida que as crianças se aproximaram dos 12 meses de idade.

### 5.2.2. Manifestações oculares

Foi realizado oftalmoscopia binocular indireta (fundoscopia) sequencial em 19 crianças. Uma criança apresentou catarata congênita e juntamente com outras 14, ao final do terceiro ano de seguimento, apresentavam retinocoroidite. As mães dessas 15 crianças, com exceção de uma, apresentaram soroconversão durante a gestação. Não foi observada diferença significativa, em relação à idade gestacional de início do pré-natal entre as mães das crianças com e sem retinocoroidite ( $p=0,46$ ). As crianças nasceram, em sua maioria, a termo e não houve diferença no peso de nascimento entre as crianças com e sem lesão ocular ( $p=0,14$ ). Dentre as sete crianças sintomáticas ao nascimento, foi realizado fundoscopia em seis, todas com alterações oculares

(retinocoroidite em cinco e catarata em uma). Entre as 13 assintomáticas, oito (62%) apresentaram comprometimento ocular, mas essa diferença entre os dois grupos não foi significativa ( $p=0,35$ ).

Pode-se observar na Tabela 18 que 13 (68,4%) crianças apresentaram, na primeira avaliação oftalmológica, retinocoroidite principalmente macular e bilateral (Figuras 16, 17 e 18). Apenas uma criança apresentou lesão ativa difusa (espessamento da coróide) com um mês de idade que evoluiu, após quatro meses, para uma retinocoroidite cicatrizada periférica no olho direito. As outras 12 crianças apresentavam lesões de retinocoroidite cicatrizadas já no primeiro exame, que foi realizado em média no terceiro mês de vida (mediana = 2,4).

TABELA 18 - Distribuição de frequências referente a alterações oculares observadas na primeira avaliação de 19 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte, de acordo com a época em que foi feita a suspeita diagnóstica

<b>Retinocoroidite</b>	<b>Triagem neonatal (%)</b>	<b>Suspeita clínica neonatal (%)</b>	<b>Triagem pré-natal (%)</b>	<b>Total (%)</b>
Lesão ativa (espessamento da coróide)	1 (11,1)	0	0	1 (5,2)
Lesões cicatrizadas				
Macular bilateral	2 (22,2)	1 (25,0)	2 (33,3)	5 (26,3)
Unilateral	1 (11,1)	2 (50,0)	1 (16,7)	4 (21,1)
Periférica bilateral	0	0	0	0
Unilateral	1 (11,1)	0	2 (33,3)	3 (15,8)
Total de crianças com retinocoroidite	5 (55,6)	3 (75,0)	5 (83,3)	13 (68,4)
Total de crianças sem retinocoroidite	4 (44,4)	1 (25,0)	1 (16,7)	6 (31,6)

Quando considerado a estratégia do diagnóstico nas crianças avaliadas, observa-se que a retinocoroidite foi mais comum e mais grave (lesão macular bilateral) naquelas crianças identificadas precocemente, ainda no pré-natal. Quando identificadas apenas pela triagem neonatal, observou-se um número maior de crianças sem lesão de retinocoroidite, embora, entre as crianças com comprometimento ocular, tenham predominado as lesões maculares (Tabela 18). No presente estudo, todas as crianças com manifestações neurológicas apresentaram alterações oculares, observando-se calcificações cerebrais em cinco, hidrocefalia discreta em uma e convulsão em outra.



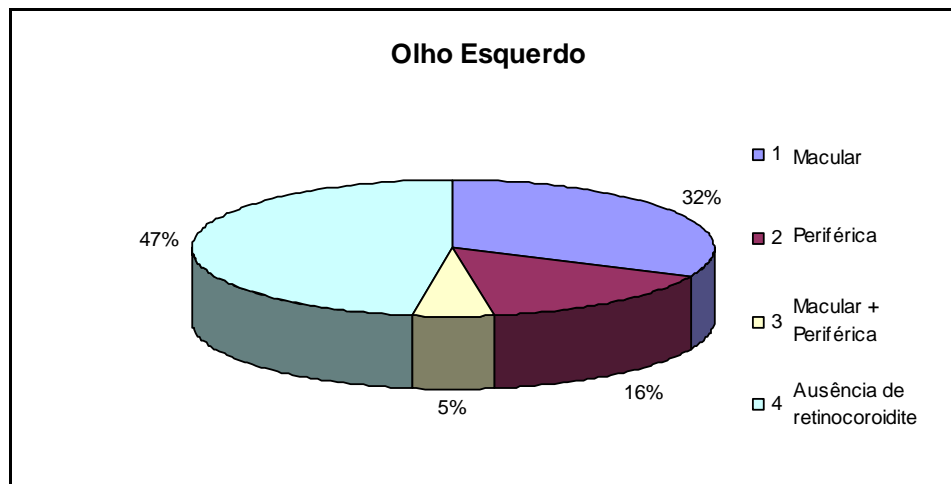
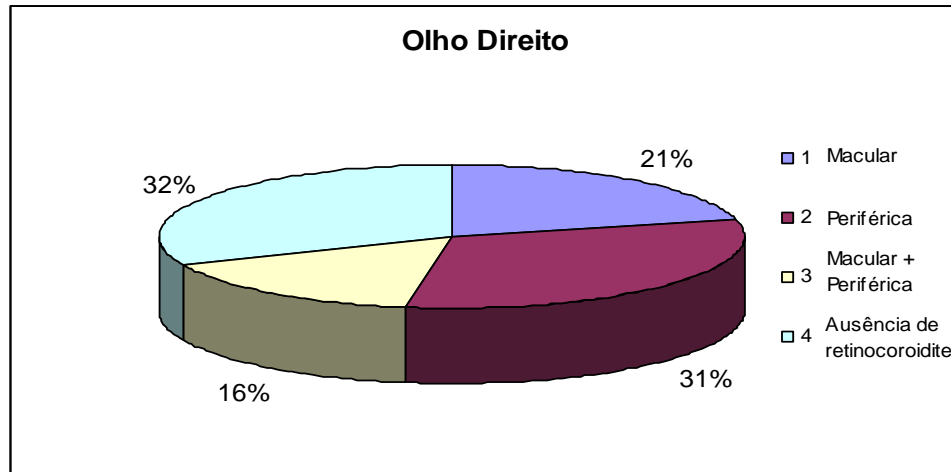


FIGURA 16 - Distribuição de frequências referente à **localização das lesões de retinocoroidite** observadas na última avaliação oftalmológica realizada em 15 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte, no período de setembro de 2003 a outubro de 2004

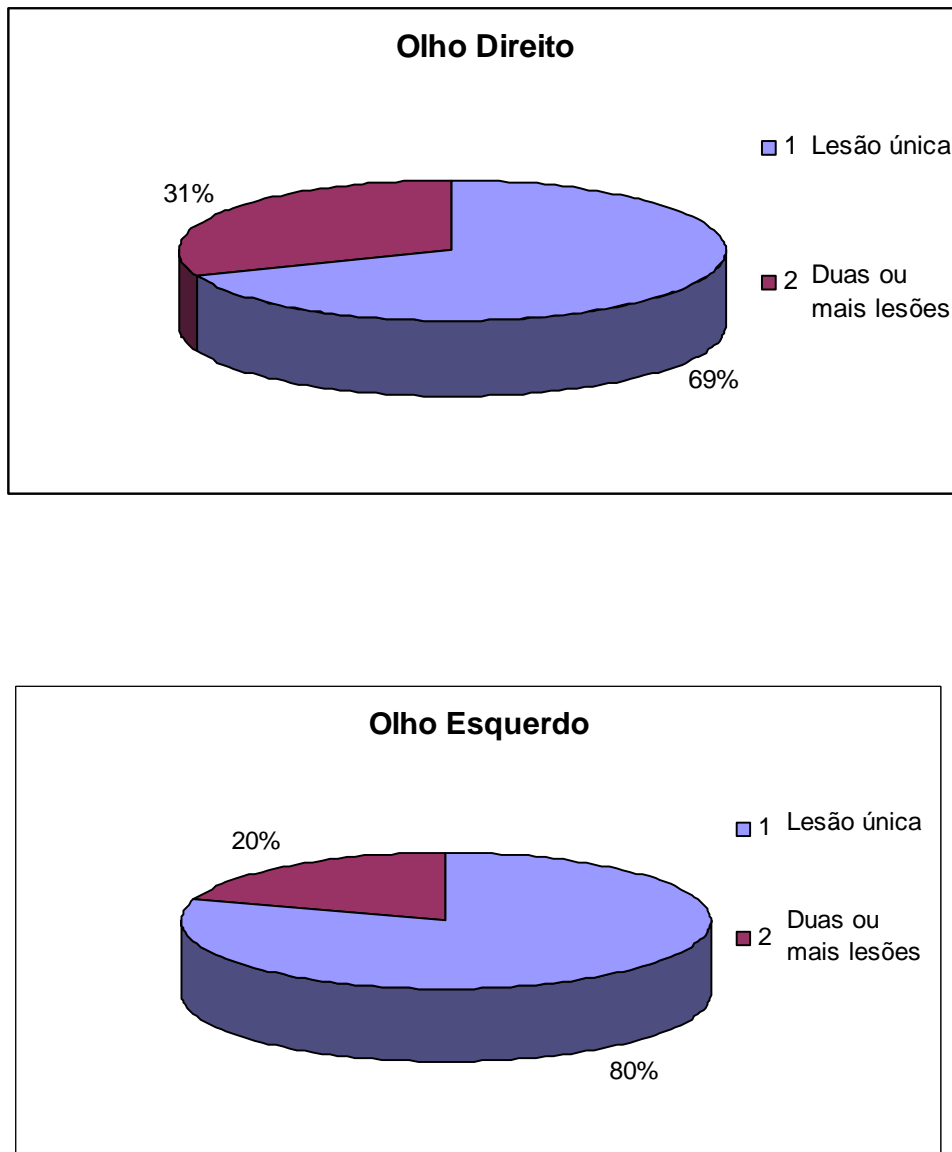


FIGURA 17 - Distribuição de freqüências referente ao **número de lesões de retinocoroidite** observadas na última avaliação oftalmológica realizadas em 15 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte, no período de setembro de 2003 a outubro de 2004

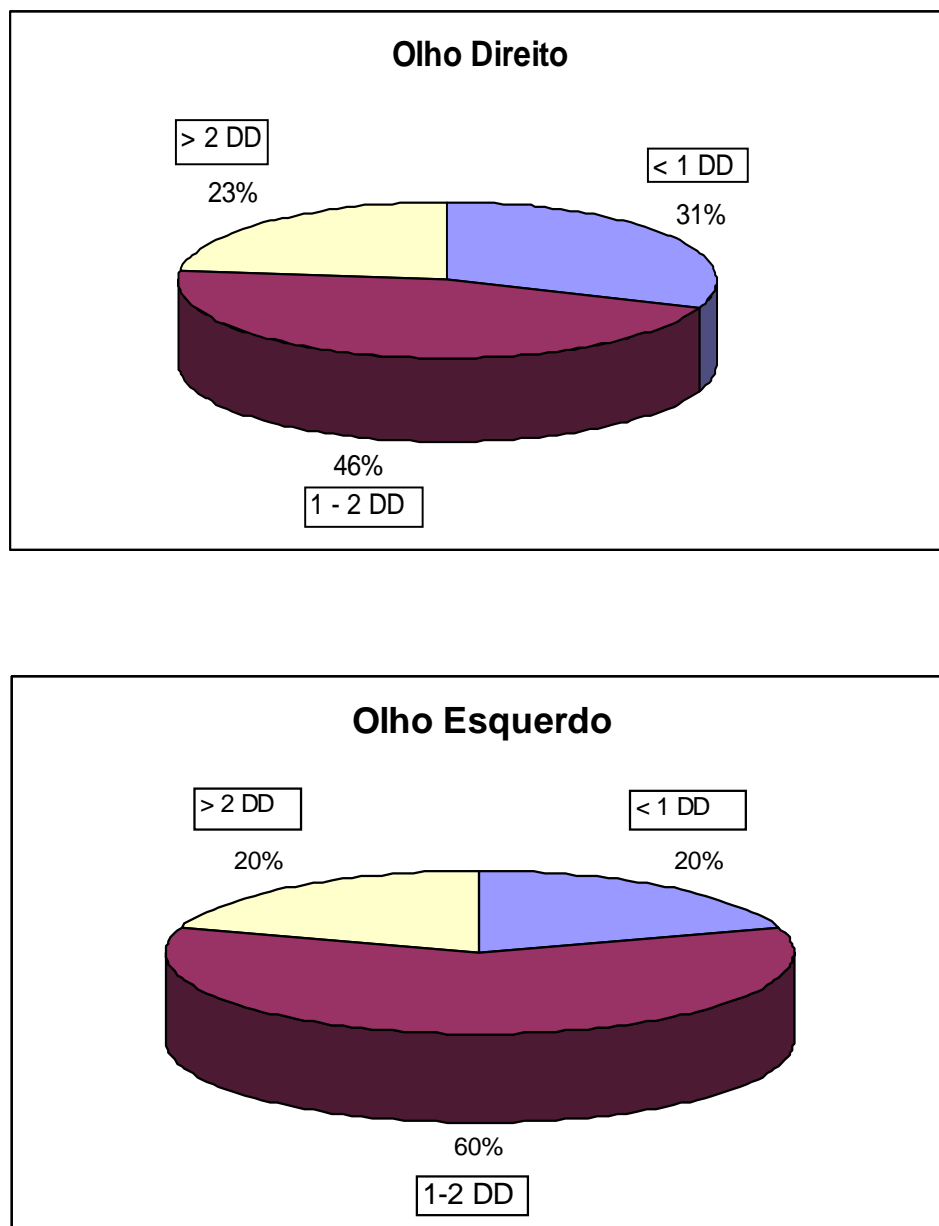


FIGURA 18 - Distribuição de freqüências referente ao **tamanho, em diâmetro de discos ópticos (DD)**, das lesões de **retinocoroidite** observadas na última avaliação oftalmológica realizada em 15 crianças com toxoplasmose congênita, identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte, no período de setembro de 2003 a outubro de 2004

Em relação à idade em que foi realizada a primeira e a última avaliações oftalmológicas, observa-se que a mediana foi semelhante nos dois extremos de avaliação, independente da estratégia de diagnóstico, embora, em média, a primeira avaliação tenha sido mais precoce nas crianças suspeitas por ocasião do pré-natal ou no período neonatal (Tabela 19), mas essa diferença não foi significativa ( $p=0,48$ ).

TABELA 19 - Idade, em meses, das primeira e última fundoscopia realizada em 19 crianças com toxoplasmose congênita, identificadas pela triagem neonatal realizada em Belo Horizonte, de acordo com a época de suspeita diagnóstica

Toxoplasmose congênita (20 crianças) <sup>*</sup>	1º exame oftalmológico (19 crianças)					Último exame oftalmológico (18 crianças) <sup>#</sup>		
	média	DP	Mediana	25%	75%	média	DP	Mediana
Com retinocoroidite								
Diagnóstico pela triagem neonatal <sup>¶</sup>	6,2	8,8	2,4	2,3	2,8	31,0	8,8	32,9
Diagnóstico pela triagem pré-natal <sup>&amp;</sup>	2,0	1,7	2,1	0,6	3,1	29,9	6,9	31,8
Diagnóstico no período neonatal <sup>‡</sup>	2,3	1,8	3,0	0,2	3,7	35,2	8,9	36,9
Total de crianças com retinocoroidite <sup>£</sup>	3,7	5,6	2,4	1,4	3,1	31,8	7,9	33,2
Total das crianças com toxoplasmose	3,5	4,7	2,8	1,4	3,7	31,7	7,3	33,4

\* Uma criança não foi submetida a exame oftalmológico por óbito aos 12 dias de vida.

# Uma criança não retornou para novas avaliações oftalmológicas.

¶ Na primeira avaliação, 5/9 apresentavam retinocoroidite e na última eram 6/9

& Nas duas avaliações, 5/6 apresentavam retinocoroidite

‡ Na primeira avaliação, 3/4 crianças apresentavam retinocoroidite e uma apresentava catarata unilateral com o olho contralateral normal. Na última avaliação, após cirurgia da catarata, foi possível identificar retinocoroidite nessa criança, totalizando 4/4 crianças com retinocoroidite.

£ Na primeira avaliação, 13 crianças apresentavam retinocoroidite e na última eram 15.

Dezoito crianças foram acompanhadas durante um período médio de 31,8 meses (o desvio padrão foi de 7,9 meses) e foi perdido o seguimento de uma criança, que realizou apenas uma avaliação oftalmológica.

Após o primeiro ano de vida, observou-se aparecimento de retinocoroidite, cicatrizada, em três crianças, mas apenas duas (10,5%) apresentavam lesões previamente e desenvolveram novas lesões. Uma criança apresentou aos 25 meses de idade, uma lesão de aparecimento tardio. As novas lesões foram periféricas, unilaterais e identificadas no terceiro ano de vida. (Figura 19) Nas duas crianças que apresentavam retinocoroidite desde o primeiro exame, as lesões eram macular bilateral em uma criança e periférica em outra.

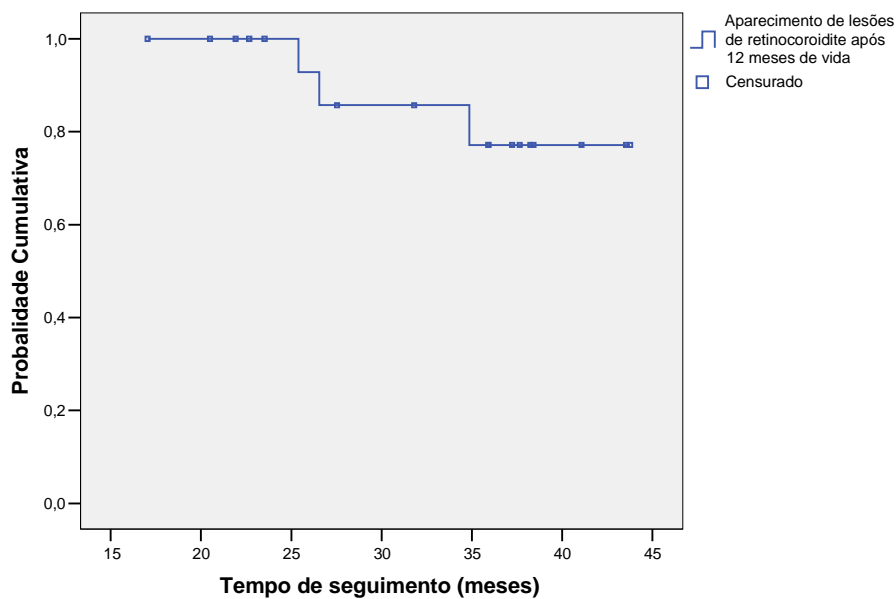


FIGURA 19 – Curva de Kaplan-Meier referente ao aparecimento de lesões de retinocoroidite, após 12 meses de vida, em 19 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal

Outras alterações oculares foram observadas nessas crianças: catarata congênita (1/19), microftalmia (2/19) e estrabismo (5/19), mas uma das crianças apresentou estrabismo em decorrência de distúrbio refrativo. A criança que apresentou catarata congênita foi submetida à cirurgia para retirada da catarata aos quatro meses e para implante da lente

no olho esquerdo aos 11 meses. Ao final do seguimento apresentava pequenas cicatrizes perifoveais no olho esquerdo. As crianças com estrabismo e/ou comprometimento macular bilateral foram encaminhadas para atendimento especializado em estrabismo ou visão subnormal. Quatro (21%) crianças persistem sem alterações oculares aos três anos de idade.

### 5.2.3. Perda auditiva neurossensorial

Foram realizadas avaliações auditiva comportamental e Emissões Otoacústicas (EOAE) em 19 crianças e Potencial Auditivo Evocado de Tronco Encefálico - PEATE em 17. Nessa amostra, observou-se que 13 (68,4%) crianças apresentaram avaliações adequadas para a idade e seis apresentaram déficit auditivo, quatro (21,1%) por déficit neurossensorial e duas (10,5%) por déficit condutivo. Não houve diferença em relação ao sexo nos três grupos ( $p=0,99$ ). Na Tabela 20 estão listados alguns fatores de risco para hipoacusia<sup>191, 92, 195</sup> e a frequência do seu encontro na amostra estudada. Segundo o teste exato de Fisher, não foi detectada diferença entre os três grupos quanto a nenhum fator de risco.

TABELA 20 – Distribuição de alguns fatores de risco para hipoacusia em 19 crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte, no período de 2003-04

Fatores de risco para hipoacusia	Audição normal <i>n</i> =13	Perda auditiva <i>n</i> =6	
		Condutiva <i>n</i> =2	Neurossensorial <i>n</i> =4
Anomalias crânio-faciais	0	1	0
Peso ao nascimento < 1500g	1	0	0
Apgar entre 0-4 no primeiro minuto	1	0	0
Apgar entre 0-6 no quinto minuto	1	0	0
Ventilação mecânica ≥ 5 dias	1	1	1

Uma das crianças apresentou, além da toxoplasmose, a concomitância de dois fatores de risco (peso de nascimento menor que 1500g e ventilação mecânica por um mês), mas sua audição foi avaliada como normal.

Na população estudada não foram observados os seguintes fatores de risco para deficiência auditiva: história familiar, outras infecções intra-uterinas do grupo TORCH, hiperbilirrubinemia acentuada, uso de medicação ototóxica, meningite bacteriana, pais usuários de álcool/drogas, presença de síndromes.

As 13 crianças com audiometria normal pesaram em média 2612g (desvio padrão = 610,5g), ao nascimento, com mediana de 2590g, e aquelas com déficit auditivo (neurossensorial=4 e condutivo=2) pesaram, em média, 2803g (desvio padrão = 493,6g) com a mediana de 2890g. A diferença estatística entre os pesos de nascimento dos dois grupos não foi significativa ( $p=0,51$ ).

Em relação à presença de sinais ou sintomas no período neonatal, observou-se no grupo sem alteração auditiva que três crianças apresentaram manifestações sistêmicas (hepatoesplenomegalia e/ou petéquias) e, dessas, duas apresentaram também microftalmia e uma hidrocefalia. Entre as crianças com déficit auditivo observou-se que uma apresentou manifestação sistêmica e prematuridade (Tabela 21). Após seguimento de mais de 12 meses, apenas uma criança do primeiro grupo e uma do segundo apresentam atraso no desenvolvimento neuropsicomotor.

TABELA 21 – Informações sobre as crianças com toxoplasmose congênita e déficit auditivo neurossensorial, identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte, no período de setembro de 2003 a outubro de 2004

Código / Data Nas- cimento	Sexo	IG	PN (g)	Apgar 1' / 5'	TS (dias)	I (dias)	MF	VM (dias)	Manifestações clínicas	TT	Idade em meses da avaliação auditiva		Resultado da avaliação neurossensorial
											Compor- tamental e EOA	PEATE	
BXX1744 29/07/03	Masc	34	1970	9/9	S (41)	S (35)	N	S (35)	Prematuro, baixo peso, doença sistêmica, retinocoroidite macular bilateral.	12	7, 11	11	<b>Deficiência grave à direita e profunda à esquerda</b>
BYP1585 15/08/04	Masc	38	2820	NS	NS	N	N	N	Retinocoroidite macular bilateral, atraso no DNPM	3	7, 22	22	<b>Deficiência retrococlear à esquerda, leve</b>
BXU1595 12/09/03	Fem	38	2960	8/7	N	N	N	N	Retinocoroidite macular à direita	12	2, 18, 24	2, 21, 26	<b>Deficiência leve à direita</b>
BYA3384 22/12/03	Fem	38	2540	9/9	N	N	N	N	Retinocoroidite macular bilateral	10, irregular	2	2	<b>Deficiência moderada bilateral</b>

IG=idade gestacional em semanas; PN=peso de nascimento; TS=transfusão de sangue; I=incubadora > 5 dias; MF= mal-formação facial; VM=ventilação mecânica ≥ 5 dias; TT=tempo de tratamento em meses; N=não; S=sim; NS=não sabe informar; EOA=emissões otoacústicas; PEATE=Potencial Auditivo Evocado de Tronco Encefálico



Em relação à idade, em dias, em que as crianças foram submetidas à primeira avaliação auditiva, observou-se uma mediana de 157 dias, sendo que 75% das crianças realizaram a primeira avaliação até 270 dias. Mas, como pode ser visto na Figura 20 quatro crianças realizaram a primeira avaliação auditiva apenas no final do segundo ano de vida. A última avaliação auditiva foi realizada no final do segundo ano de vida (mediana = 624 dias), verificando-se que 75% das crianças realizaram essa avaliação até os 710 dias de vida.

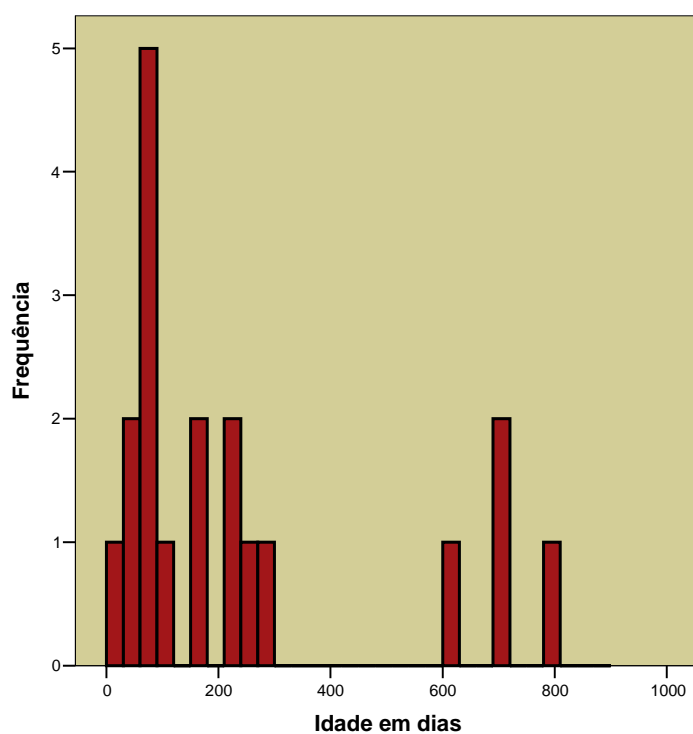


FIGURA 20 - Idade, em dias, da realização da primeira avaliação auditiva em 19 crianças com toxoplasmose congênita, identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte

Entre as crianças com déficit neurossensorial ( $n=4$ ), a perda foi grave e profunda em uma, moderada em uma e leve em duas; foi bilateral em duas e unilateral em duas; foi assimétrica em apenas uma com comprometimento bilateral. Apenas uma das crianças, a mais comprometida, apresentava outros fatores considerados de risco para o desenvolvimento de hipoacusia – esteve sob ventilação mecânica por cerca de um mês. Ela apresentou sinais e sintomas evidentes de toxoplasmose congênita: prematuridade, hepatoesplenomegalia, baixo peso de nascimento (1970g) e retinocoroidite bilateral. As outras três crianças, uma com déficit moderado bilateral e duas com déficit leve unilateral, nasceram assintomáticas e foram identificadas apenas pela triagem neonatal. Duas dessas, foram encaminhadas para prótese auditiva e fonoterapia. Aquelas com hipoacusia condutiva foram encaminhadas para avaliação otorrinolaringológica.

Em três crianças que realizaram o PEATE nos primeiros três meses de vida e o repetiram após os 18 meses, observou-se déficit auditivo no primeiro exame e resultado normal no segundo, sugerindo maturação neural mais lenta nesses casos.

Em quatro crianças avaliadas como normais pelo PEATE aos dois anos de idade, observou-se, na primeira avaliação auditiva, a ausência das EOAT e a presença de EOAPD, sugerindo que as últimas possam ser mais sensíveis para diagnóstico audiológico.

### 5.3. Fatores de risco para infecção pelo *Toxoplasma gondii*

Procurou-se avaliar a associação entre alguns hábitos informados pelas mães durante a gestação e a ocorrência de toxoplasmose congênita identificada pela triagem neonatal.

Para isso, as 20 crianças infectadas (grupo casos) foram comparadas com as 285 crianças negativas no teste de IgM anti-*T. gondii* em sangue seco, ou na sorologia confirmatória, cujas mães responderam ao questionário estruturado proposto nesse estudo (grupo controle).

Na Tabela 22 podem ser observadas algumas características do pré-natal em ambos os grupos.

TABELA 22 – Características das mães de 20 crianças infectadas (casos) e 285 não infectadas (controles) pelo *Toxoplasma gondii*, identificadas pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04

Variável	Casos				Controles			
	<i>n</i>	Média	DP	Mediana	<i>n</i>	Média	DP	Mediana
Idade (anos)	20	22,8	4,3	23	255	25,5	6,8	25
Nº consultas no pré-natal	20	6,0	3,1	6	258	7,8	3,0	7
Nº exames toxoplasmose	19	1,5	0,6	1	229	1,8	1,6	1
Paridade	20	2,0	1,1	2	266	2,1	1,4	2
Escolaridade (anos de estudo)	20	7,6	2,4	8	266	8,2	3,1	8

A mediana para as variáveis número de exames para toxoplasmose realizados no pré-natal e número de partos anteriores foi semelhante para os dois grupos. Em relação à idade da mãe, observou-se que aproximadamente 75% das mães do grupo casos têm idade inferior a 25 anos, enquanto no grupo controle cerca de 50% encontram-se abaixo dessa idade. A média de idade das mães do grupo caso é significativamente menor do que a média de idade das mães do grupo controle (teste t-Student,  $p=0,009$ ).

A média e a mediana do número de consultas realizados no pré-natal mostraram-se significativamente menores no grupo de crianças infectadas (*Mann-Whitney*,  $p=0,0038$ ). Não foi observada diferença significativa no número de anos estudados entre as mães dos grupos caso e controle ( $p=0,221$ ). Para estudar melhor a variável escolaridade, ela

foi categorizada, como mostrado na Tabela 23, com a intenção de perceber diferenças entre as classes em relação à ocorrência da toxoplasmose congênita.

TABELA 23 - Distribuição de freqüência dos anos estudados pelas mães de recém-nascidos infectados ou não (IgM negativo em sangue seco) pelo *Toxoplasma gondii* e identificados pela triagem neonatal em Belo Horizonte no período de 2003-04

Toxoplasmose congênita	Escolaridade (anos estudados)			
	Até 4 anos	> 4 a 8	> 8 a 12	> 12
Sim	3	11	6	0
Não	55	95	104	13

Observa-se que apenas indivíduos do grupo controle apresentaram escolaridade maior que 12 anos de estudo. Para atender os pressupostos do teste qui-quadrado de *Pearson*, foi feita a junção das duas últimas categorias. Os resultados indicam que não existe diferença quanto à escolaridade entre infectados e não infectados ( $p=0,221$ ).

Na Tabela 24 observam-se os resultados da análise univariada para testar a associação entre alguns hábitos de vida informados pelas mães durante a gestação (variáveis intervenientes) e a infecção pelo *T. gondii* (variável resposta).

TABELA 24 - Fatores considerados de risco para aquisição da infecção pelo *T. gondii* entre mães de crianças com e sem toxoplasmose congênita, identificadas pela triagem neonatal em BH no período de 2003-04: resultados da análise univariada

Variável	Frequência nos infectados (n)	Frequência nos controles (n)	OR (IC 95%)	Teste	
				Exato de Fisher p	Qui-quadrado de Pearson p
Ter gato em casa	30% (6/20)	13% (35/263)	2,79 (0,82; 8,35)	0,052	0,086
Observar gato na vizinhança	75% (15/20)	60% (157/263)	2,03 (0,67; 7,32)		0,265
Profilaxia informada pelo profissional de saúde	10% (2/20)	43% (104/243)	0,15 (0,02; 0,65)		0,008
Experimentar comida enquanto cozinha	79% (15/19)	69% (185/267)	1,66 (0,51; 7,08)		0,530
Ingerir carne mal cozida	30% (6/20)	6% (18/284)	6,33 (1,76; 20,10)	0,002	< 0,001
Tipo de carne (bovino, suíno, aves)					0,481
Lidar com a terra (trabalho ou jardinagem)	26% (5/19)	16% (42/267)	1,91 (0,51; 5,99)	0,213	0,377
Ingerir ovo mal cozido (cru ou mole)	50% (10/10)	11% (26/228)	7,77 (2,60; 22,77)	< 0,001	< 0,001
Frequência do ovo*	56% (10/18)	49% (81/166)	0,39 (0,13; 1,15)		0,088
Ingerir vegetal cru	90% (18/20)	85% (217/254)	1,53 (0,34; 14,17)	0,749	0,818
Comer fora de casa <sup>#</sup>	74% (14/19)	66% (175/267)	1,47 (0,48; 5,38)		0,636

\* Até uma ou mais de uma vez por semana

# Uma ou mais vezes por semana

Observou-se a associação entre algumas variáveis e a infecção: não receber informação dos profissionais de saúde sobre a profilaxia à infecção, ingerir carne ou ovo mal cozidos. Apenas cerca de 10% das mães das crianças com toxoplasmose congênita receberam, durante o pré-natal, informação sobre profilaxia da infecção, em contraste com 43% das mães das crianças do grupo controle, e essa informação foi verbal em 99% das vezes.

Para avaliar o comportamento das variáveis estudadas em relação ao conjunto das variáveis do período pré-natal da mãe, construiu-se um modelo multivariado (regressão logística binária) para estimar os principais fatores de risco. Para seleção das variáveis foram utilizados o intervalo de confiança da razão de chance e o teste do qui-quadrado,

sendo selecionadas as variáveis com valor de  $p \leq 0,25$  na análise univariada. Os resultados podem ser vistos na Tabela 25.

TABELA 25 – Resultados da regressão logística de fatores considerados de risco para aquisição da infecção pelo *T. gondii* entre mães de crianças com e sem toxoplasmose congênita, identificadas pela triagem neonatal em BH no período de 2003-04

Variáveis	Coefficiente	Erro Padrão	Wald	P	OR	IC 95%
Ausência de profilaxia informada pelo profissional de saúde	2,01	0,83	5,95	0,015	7,48	1,49; 37,69
Ter gato em casa	1,50	0,62	5,91	0,015	4,47	1,34; 14,94
Ingerir carne mal cozida	1,54	0,67	5,31	0,021	4,65	1,26; 17,20
Ingerir ovo mal cozido (cru ou mole)	1,64	0,58	8,12	0,004	5,15	1,67; 15,89

Todas as variáveis incluídas no modelo apresentaram significância estatística ou significância clínica. A significância estatística global do modelo também foi verificada ( $p < 0,0001$ ) e o ajuste do modelo averiguado pelo teste de *Hosmer e Lemeshow* ( $p = 0,411$ ). Observou-se, nessa amostra, que o fator de maior risco para a aquisição da toxoplasmose na gestação foi a ausência de informação dada pelo profissional de saúde sobre as formas de aquisição da infecção (OR=7,48; IC95%:1,49; 37,69). Mas outros fatores como possuir gatos, comer carne crua ou mal cozida e comer ovo cru ou mal cozido, também foram relevantes (Tabela 25).

## 6. DISCUSSÃO

---

### 6.1. Da metodologia

#### 6.1.2. Problemas relacionados aos estudos transversais

Os estudos transversais permitem estudar, em curto espaço de tempo e com baixo custo, a prevalência e prevalências relativas (razão de prevalências) de determinada condição em uma população, assim como redes de associação causal dessa condição<sup>255</sup>. Mas, esses estudos não são apropriados para estabelecer relações causais, nem para avaliar doenças raras a partir da população em geral. Se realizados em série, em momentos diferentes, os estudos transversais podem inferir sobre mudanças em padrões que variam com o tempo.

No planejamento do presente estudo, desconhecia-se a prevalência da toxoplasmose congênita na região, a frequência das alterações clínicas nas crianças infectadas e, dentre o grande número de fatores de risco associados à aquisição da toxoplasmose durante a gestação, aqueles mais relevantes nessa população. A escolha da triagem neonatal como estratégia para responder essas questões em Belo Horizonte, levou em consideração a possibilidade de identificação da IgM anti-*Toxoplasma gondii* em sangue seco; a viabilidade da confirmação, tratamento e seguimento dos casos; a natureza insidiosa das seqüelas e a estimativa de alta prevalência da doença, aliada à possibilidade dessa estratégia atingir a quase totalidade das crianças nascidas vivas. Considerou-se ainda, a existência em Minas Gerais, incluindo Belo Horizonte, de um programa de triagem neonatal bem estruturado e com grande cobertura, permitindo a

pesquisa da infecção em larga escala, a reprodutibilidade dos métodos utilizados e o baixo custo operacional. Considerou-se o fato da cidade contar com um serviço de saúde organizado, que permitia amplo acesso das gestantes ao pré-natal, e com um programa de triagem para toxoplasmose implantado na assistência pré-natal pública. Esses fatores permitiriam a utilização dos resultados do estudo para avaliar a contribuição da triagem neonatal para o diagnóstico precoce da toxoplasmose congênita e, pelo conhecimento dos principais fatores de risco envolvidos na infecção, subsidiar as discussões sobre medidas públicas eficazes para prevenção dessa infecção congênita. Também foram fundamentais para o delineamento do estudo os apoios institucionais e a infra-estrutura do PETN, que mostrou-se capaz de absorver a investigação diagnóstica de mais uma doença.

Os estudos observacionais, transversais, podem apresentar vieses. Na triagem neonatal pode ser observado viés de seleção, pois como a IgM específica pode estar ausente no sangue periférico das crianças infectadas muito precocemente na vida intra-uterina, essa estratégia subestima a real prevalência do problema e também a ocorrência dos casos de maior gravidade. Essa metodologia identifica bem as crianças infectadas a partir do segundo trimestre e especialmente no terceiro trimestre de gestação. Como essa população passa despercebida na avaliação médica habitual, por apresentar-se geralmente assintomática ao nascimento, e pode beneficiar-se do tratamento precoce, optou-se por avaliar essa estratégia.



### 6.1.3. A escolha do teste para detecção de IgM anti-*Toxoplasma gondii* em sangue seco

A pesquisa de IgM anti-*T. gondii* em sangue seco é utilizada há mais de uma década em vários estudos realizados em todo o mundo e tem mostrado sensibilidade de cerca de 70% a 80%. O teste utilizado pode ter metodologia desenvolvida no laboratório responsável pela sua realização<sup>19, 16</sup> ou estar disponível comercialmente<sup>13, 127, 236</sup>. Para estudos em larga escala, os testes devem ser preferencialmente automatizados e disponíveis comercialmente a um baixo custo. O teste comercial utilizado há mais tempo e com estudos mostrando resultados de sensibilidade e especificidade, é fabricado pelo laboratório Labsystems (Fluorometric enzyme immunoassay - FEIA<sup>®</sup>)<sup>13, 236</sup>. A possibilidade de utilização de um novo teste para determinação de IgM específica em sangue seco, comercializado pela BIORAD a um menor custo, levou à necessidade de se avaliar a concordância entre os testes. Para maior segurança na escolha do teste, problema frequente para os gestores de programas de triagem, avaliou-se a concordância entre o novo teste (A) e outro conhecido e mais estudado (B), considerado como padrão<sup>167</sup>. Para essa avaliação, todos os testes positivos ou duvidosos em um dos testes foi repetido no outro, esperando-se excelente concordância dos testes positivos. Para avaliar a concordância também nos testes negativos, surgiu a seguinte questão: quantos recém-nascidos com resultado negativo seriam necessários para essa comparação? Esperava-se que todos os negativos no teste A fossem confirmados no teste B. Pires<sup>166</sup> realizou, em dissertação de mestrado, simulação para verificar o tamanho de amostra necessária para a avaliação da concordância Kappa entre os dois testes, concluindo que o máximo de testes necessários seriam 1.176, com 99% de confiança, ou seja, cerca de 330 seriam para repetição dos resultados positivos ou

duvidosos e 846 para os negativos, o que significa aproximadamente 2,9% dos resultados negativos. No presente estudo, 1500 amostras negativas no teste A foram analisadas no teste B, e a análise Kappa mostrou boa concordância entre os dois testes. É importante destacar que a concordância observada aproxima-se muito do limite de concordância considerada ótima ( $Kappa > 0,75$ ).

Mas, para essa análise o teste estatístico Kappa pode não ser suficiente, por permitir a utilização de números muito diferentes nas caselas (número muito maior de negativos comparado aos positivos). Nesse caso, outros modelos matemáticos podem ser tentados.

Na triagem, os testes confirmatórios (padrão ouro) são utilizados apenas para confirmar os resultados positivos e, portanto, não é possível obter-se a estimativa direta da sensibilidade e especificidade de dois testes. Mas, pode-se realizar, sem viés, estimativas de sensibilidade proporcional (razão das sensibilidades entre dois ou mais testes) e proporção entre as taxas de falso-positivo (razão das taxas de falso-positivo entre dois ou mais testes) –  $FP=T+/D-$ <sup>256, 257</sup>. Idealmente, os testes utilizados para triagem deveriam detectar a doença em 100% dos acometidos e não detectar doença em nenhum indivíduo negativo, isto é, não apresentar resultado falso-positivo. Mas, infelizmente, a maioria dos testes de triagem não é completamente preciso. Nesses testes geralmente não se obtém medidas reais de sensibilidade e de falso positivo por não ser possível a aplicação dos testes confirmatórios (padrão ouro de diagnóstico) aos casos em que a triagem mostrou resultado negativo. Entretanto, a proporção entre as sensibilidades de dois testes (SR) e as taxas de falso positivo relativo (FPR) podem ser estimadas. Na Tabela 26 pode-se comparar um teste de triagem novo para toxoplasmose congênita em sangue seco (A) com um teste comercial conhecido (B). Por problemas

éticos e econômicos, apenas os indivíduos positivos ou duvidosos (considerados para análise como positivos) em ambos os testes de triagem foram submetidos a estudos confirmatórios em soro (padrão ouro). Os resultados não permitiram a determinação da sensibilidade, especificidade e taxa de falso positivo, por não se dispor do diagnóstico de verdadeiro negativo entre os indivíduos que foram identificados na triagem como negativos. Estatisticamente pode-se considerar esses estudos de triagem como similares aos estudos de caso-controle, onde não se obtém a estimativa de risco absoluto mas a do risco relativo. Utilizando-se esse mesmo raciocínio, os estudos de triagem permitem estimar as proporções de sensibilidade relativa e falso positivo relativo.

TABELA 26 - Resultados da triagem em sangue seco (1) avaliada por dois kits (PLATELIA e FEIA) para detecção de IgM anti-*T. gondii*, de acordo com a confirmação da infecção (2)

Infectado = 19 (3) D = 1		Não infectado = 10 D = 0							
		Teste FEIA-Labsystems (T <sub>B</sub> )				Teste FEIA-Labsystems (T <sub>B</sub> )			
		(+)	(-)			(+)	(-)		
Teste PLATELIA (T <sub>A</sub> )	(+)	<b>18</b> A'	<b>1</b> b'	<b>19</b> m' <sub>1</sub>	Teste PLATELIA (T <sub>A</sub> )	(+)	<b>0</b> A''	<b>4</b> B''	<b>4</b> M'' <sub>1</sub>
	(-)	<b>0</b> C'	<b>?</b> d'	<b>?</b> m'' <sub>2</sub>		(-)	<b>6</b> C''	<b>?</b> D''	<b>?</b> m'' <sub>2</sub>
		<b>18</b> N' <sub>1</sub>	<b>?</b> n'' <sub>2</sub>	<b>?</b> N <sub>D</sub>			<b>6</b> n'' <sub>1</sub>	<b>?</b> N'' <sub>2</sub>	<b>?</b> N <sub>D</sub>
SR=1,06 IC95% 0,95-1,17					FRP=0,67 IC95% 0,19-2,36				

Modificado de Cheng & Macaluso, 1996.

(1) Resultado dos testes de triagem identificados pelas variáveis binárias T<sub>A</sub> (PLATELIA) e T<sub>B</sub> (FEIA-Labsystems), considerando a triagem positiva quando T(+), e negativa quando T(-).

(2) Condição de infectado (D=1) definida pela positividade de IgM e/ou IgA em soro no primeiro semestre de vida ou IgG persistente até os 12 meses de idade. Condição de não infectado (D=0) definida pela negatividade da sorologia (IgG e IgM) nos primeiros 12 meses de vida.

(3) Entre as 20 crianças infectadas, uma não realizou o teste de IgM anti-*T. gondii* com o kit FEIA-Labsystems, sendo excluída dessa análise.

A Sensibilidade Relativa (SR) estimada do teste A versus o teste B é  $19/18 = 1,0556$ , correspondendo a 6% de aumento na sensibilidade do teste A quando comparado ao teste B. A variância do log da sensibilidade relativa  $[V(\ln R) = b' + c' / (a' + b')(a' + c')]$  é igual a  $1/(19 \times 18) = 0,0029$ , e o Intervalo de Confiança 95% = 0,95; 1,17. A taxa relativa

de falso-positivo (FPR) é estimada entre as crianças confirmadas como não tendo a infecção:  $FPR=(m''_1/N_{D-})/(n''_1/N_{D-})=m''_1/n''_1$ . A FPR está relacionada com a especificidade de cada teste pela relação:  $FRP=1-F_1/1-F_2$ , onde  $F_1$  e  $F_2$  são as especificidades dos dois testes.  $FPR=4/6= 0,6667$  (IC95% 0,19; 2,36), o que significa que não foi observado, nessa amostra, diferença significativa na taxa de falso-positivo entre os dois testes de triagem. A SR e FPR fornecem a medida do aumento na precisão (confiabilidade, reprodutibilidade), associada com a escolha de um teste ou outro. A SR pode ser expressa em termos do aumento percentual na sensibilidade, isto é,  $100 \times (SR - 1)$ . O mesmo raciocínio pode ser aplicado a FPR.

A aplicação desse novo modelo matemático permitiu reforçar a avaliação de que os dois testes apresentam desempenho semelhante.

#### 6.1.4. A amostra selecionada e o instrumento utilizado para avaliação dos fatores de risco para toxoplasmose

Foram distribuídos 1.000 questionários nos postos de saúde sorteados, mas obteve-se o retorno de apenas 250 preenchidos. Vários foram os motivos para a não devolução dos questionários (“perdas”): mudança de endereço da mãe, mãe ausente de casa no horário das visitas do agente de saúde, dificuldade operacional do centro de saúde (falta de pessoal, outros programas em execução). Ocorreram perdas em todos os centros de saúde, mas elas não foram homogêneas, o que constitui uma limitação nesse estudo. Distritos sanitários com grande população, como Venda Nova, passavam por problemas com pessoal e não retornaram os questionários. Nos outros distritos a proporção de perdas foi semelhante.

Durante a revisão bibliográfica, um estudo caso-controle realizado na França, e publicado em 1999<sup>78</sup>, relatou que alguns fatores associados à aquisição da toxoplasmose na gestação eram cerca de 20% mais frequentes nas mães dos casos em relação aos controles. Estudo brasileiro, realizado em Goiânia<sup>49</sup>, mostrou resultados semelhantes, permitindo considerar esse valor como referência. Os cálculos da amostra foram refeitos com modificação apenas da frequência do evento em estudo, estimada em 20%, mas mantendo o universo de crianças, a mesma precisão de 5% e o nível de confiança igual a 95%. Esse novo cálculo resultou na necessidade de um tamanho de amostra igual a 244. No presente estudo foram entrevistadas 305 mulheres (20 casos + 285 controles) e, embora não selecionadas aleatoriamente, por dificuldades operacionais, elas foram selecionadas não intencionalmente e podem refletir o universo das mães das crianças avaliadas nesse período em Belo Horizonte.

O questionário, embora seja um instrumento muito utilizado em estudos epidemiológicos por sua fácil aplicação, baixo custo e capacidade de descrever fatores de risco associados ao evento em estudo, pode sofrer interferências de fatores associados aos entrevistadores e entrevistados. Nesse estudo, o questionário foi padronizado para evitar viés de aferição e os entrevistadores estavam motivados, conheciam o instrumento da pesquisa e tinham experiência no contato com os entrevistados. Mas, o estudo não foi cego para entrevistadores e entrevistados, embora os entrevistados geralmente não soubessem as formas de transmissão da infecção. Os agentes comunitários de saúde, que realizaram as entrevistas, foram orientados pelo pesquisador responsável, que esteve disponível para solucionar dúvidas sobre o preenchimento do questionário. Na tentativa de viabilizar a aplicação do questionário

em larga escala, optou-se por simplificá-lo ao máximo, mas a facilidade e rapidez de aplicação implicou em perda de detalhes nas questões relacionadas à qualidade da água, por exemplo, constituindo uma limitação desse estudo. Para evitar o viés de memória do entrevistado, o questionário foi estruturado evitando-se perguntas subjetivas e as entrevistas foram realizadas dentro dos primeiros seis meses de vida da criança, período em que os fatos acontecidos têm memória mais recente. Entretanto, o grande número de questionários não devolvidos constituiu uma limitação importante desse estudo. Mas, entre os questionários devolvidos, a maioria encontrava-se completamente preenchida e sua análise identificou fatores de risco semelhantes aos resultados obtidos em Belo Horizonte por Carellos<sup>68</sup>, entrevistando puérperas de dois hospitais públicos para avaliar a aplicação do programa de triagem pré-natal para toxoplasmose, sugerindo que os achados do presente estudo possam ser representativos da população de gestantes de Belo Horizonte.

## 6.2. **Dos resultados**

### 6.2.2. Prevalência da toxoplasmose congênita

A prevalência da toxoplasmose congênita em Belo Horizonte, observada nesse estudo, foi de seis infectados por cada 10.000 nascidos vivos (6/10.000), taxa semelhante a outras identificadas no Brasil<sup>13, 127</sup>. Outros estudos mostram prevalências pouco menores<sup>76, 128</sup> ou maiores<sup>12, 14, 72</sup> que as encontradas e essas diferenças podem ser atribuídas a variabilidade epidemiológica ou a particularidades da metodologia desenvolvida nos diferentes estudos. No presente estudo, foi utilizada a persistência da IgG positiva no final do primeiro ano de vida para definição de caso, critério

considerado de eleição para definição da doença<sup>102</sup>, mas o desconhecimento do perfil imunológico materno durante a gestação constituiu uma limitação. Sabe-se que, embora os estudos de triagem neonatal possam oferecer uma estimativa bem aproximada da incidência de toxoplasmose congênita, eles detectam apenas nascidos vivos e falham na identificação das crianças infectadas precocemente na gestação, que nascem com IgM indetectável<sup>4, 48</sup>. Portanto, a triagem neonatal subestima a real incidência da toxoplasmose congênita, embora seja útil para avaliar o impacto da doença na população.

O PETN tem uma abrangência de 95% dos nascidos vivos em Minas Gerais. As crianças infectadas identificadas nesse estudo, mesmo quando procedentes da região centro-sul da cidade, residiam em aglomerados ou bairros pobres. A distribuição das crianças se fez por toda a cidade e observou-se discreto predomínio na região norte e nordeste, embora o tamanho da amostra seja insuficiente para atestar essa associação. Estudo de base comunitária utilizando metodologia de análise espacial para estudar fatores de risco para os nascimentos em Belo Horizonte relatou que as regiões norte e nordeste de BH são áreas que abrigam população de menor renda<sup>258</sup>. Tem sido relatado, na população em geral, associação entre a infecção pelo *T. gondii*, medida pela positividade de IgG, e baixo nível socioeconômico da população. Estudos recentes têm destacado que a prevalência da toxoplasmose é maior em grupos economicamente menos favorecidos (classes C, D e E)<sup>14, 60</sup>. Bahia-Oliveira et al.<sup>80</sup>, em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, observaram prevalências para toxoplasmose de 83%, 62% e 23% de acordo com o poder aquisitivo baixo, médio-baixo e médio-alto, respectivamente ( $p < 0,001$ ). Os autores argumentaram que na população de menor poder aquisitivo, o contato com o meio ambiente era maior, principalmente a ingestão de água

de cisterna e não filtrada, as condições de saneamento eram frequentemente inadequadas e os hábitos de higiene precários. Os autores também observaram que a prevalência de infectados entre os indivíduos com idade inferior a 40 anos foi significativamente ( $p < 0,05$ ) menor entre os indivíduos de maior poder aquisitivo, mostrando que na faixa etária reprodutiva a chance de adquirir a infecção é maior entre os mais pobres. Estudo realizado na Índia observou maior prevalência de IgM anti-*T. gondii* entre os habitantes de aglomerados, quando comparados aos de área urbana e rural, e aquisição da infecção mais precocemente nos habitantes de aglomerados e área rural, quando comparados aos moradores de região urbana<sup>259</sup>. Em estudo de base populacional realizado nos EUA, observou-se que a prevalência da infecção foi maior em não-hispânicos negros, seguido de hispânicos (mexicanos-americanos) e não-hispânicos brancos, sendo a diferença étnica provavelmente reflexo da diferença econômica<sup>260</sup>. Estudo prospectivo realizado em Goiânia, Brasil, observou que adolescentes com baixa renda apresentaram um grande risco de adquirir toxoplasmose<sup>50</sup>. Portanto, é possível que a toxoplasmose congênita em Belo Horizonte ocorra mais frequentemente na população de menor poder aquisitivo, naturalmente mais exposta.

Metade das crianças foi identificada apenas pela triagem neonatal, o que está em acordo com outros estudos<sup>16, 128</sup>. No máximo 48% das mães de crianças infectadas, quando interrogadas sobre exposição a fatores de risco para toxoplasmose ou presença de sinais/sintomas compatíveis com a infecção durante a gestação, responderam afirmativamente em um estudo realizado nos EUA, o que demonstra a dificuldade de identificar as crianças em risco apenas pela anamnese cuidadosa<sup>45</sup>. Também são dificultadores desse diagnóstico o fato da transmissão da infecção da mãe para o filho



ser mais comum no final da gestação, assim como o fato das gestantes agudamente infectadas, assim como as crianças infectadas no último trimestre da gestação, serem geralmente assintomáticas<sup>4</sup>. Portanto, essa população dificilmente é identificada precocemente, a tempo de se beneficiar com o tratamento específico, exceto quando se realiza a triagem sistemática das gestantes e/ou dos recém-nascidos em risco de adquirir a infecção. No município de Belo Horizonte é realizada a triagem pré-natal, mas a não identificação dos casos provavelmente se deveu à realização da última sorologia na 28ª semana de gestação, não detectando as infecções ocorridas no final da gravidez. Observou-se nesse estudo que 90% (18/20) das mães das crianças acometidas adquiriram a infecção a partir do segundo trimestre de gestação e 85% (17/20) não apresentaram sintomas que sugerissem a infecção, o que pode explicar a identificação de metade das crianças apenas pela triagem neonatal.

A maioria (65%) das crianças identificadas no estudo encontrava-se assintomática ao nascimento, mas um exame cuidadoso permitiu identificar que 68% (13/19) das 19 crianças acompanhadas apresentavam comprometimento ocular e 21% (4/19) auditivo.

O teste escolhido para identificação da IgM anti-*T. gondii* em sangue seco mostrou boa concordância com o teste comercial mais amplamente utilizado, mas faltam estudos que avaliem a sensibilidade e especificidade desses testes para o diagnóstico da toxoplasmose congênita<sup>128</sup>. Muitos autores consideram que a sensibilidade dos testes em sangue seco (70 a 80%, podendo chegar a 100%)<sup>48, 61, 126</sup> para identificação do anticorpo IgM específico é semelhante aos resultados dos testes realizados em soro<sup>147</sup>. Mas, deve-se estar atento para a utilização da triagem neonatal como estratégia de diagnóstico precoce da toxoplasmose congênita, pois subestima o diagnóstico, isto é, não identifica

as crianças infectadas que não apresentam IgM no sangue periférico ao nascimento<sup>148, 156</sup>, e convive com elevada taxa de falso positivo<sup>128</sup>, podendo levar a excessiva ansiedade dos pais, pontos desfavoráveis a essa estratégia<sup>238</sup>. Mas, outros autores<sup>48</sup> divergem, alegando que o valor preditivo positivo de 64% é consistente, considerando-se a raridade da infecção (1 infectado por 3.000 nascidos vivos), e que o teste identifica a maioria das crianças infectadas; que a ansiedade dos pais é transitória, posto que os testes positivos são confirmados por exame em soro, e que deve-se considerar o alívio dos pais pela possibilidade de oferecer o tratamento precoce a seus filhos infectados; que estudos de coorte longos mostram diminuição das lesões oculares nos casos tratados quando comparados a controles históricos não tratados e que, portanto, a toxoplasmose congênita preenche os critérios para introdução na triagem neonatal. O teste de IgM em sangue seco é menos sensível para as crianças infectadas no primeiro trimestre da gestação, mas como essas crianças têm um risco maior de comprometimento clínico, poderiam ser identificadas pelo exame clínico pediátrico. No presente estudo observou-se elevada prevalência da toxoplasmose congênita em Belo Horizonte (0,0006%) e a identificação de 50% dos casos apenas pela triagem neonatal. Observou-se uma taxa de falso positivo (0,016%) semelhante ou menor do que as encontradas por outros pesquisadores (0,008% a 0,100%)<sup>13, 16, 48, 61, 126-129</sup> utilizando outro teste, e não foi possível avaliar a taxa de falso negativo. Aceita-se que, em eventos de baixa prevalência, os testes de triagem apresentem altas taxas de falso-positivo, mas se a prevalência é elevada, pode significar aumento dos custos da triagem e da ansiedade das famílias. Kim<sup>261</sup>, em editorial avaliando o conhecimento adquirido até o momento, pondera que o tratamento precoce e prolongado das crianças infectadas melhora o prognóstico; o teste disponível é confiável; e que em um programa bem instalado de triagem neonatal o acréscimo de mais um teste diminui o custo da estratégia; além dos

ganhos secundários de um programa de triagem; e sugere que sejam feitos esforços para identificar todos os casos de toxoplasmose congênita. Não se dispõe de informação para comparar a atual prevalência com dados obtidos em anos anteriores, mas a proporção de crianças não identificadas no pré-natal em BH demonstra a necessidade de reavaliar o programa, corrigindo-o nas suas deficiências.

### 6.2.3. Sorologias utilizadas para confirmação do diagnóstico

O diagnóstico pós-natal da toxoplasmose congênita se baseia na pesquisa dos marcadores de fase aguda, isto é, anticorpos IgM e/ou IgA e/ou IgE contra o parasita, no primeiro semestre de vida<sup>102</sup>, ou o teste de IB mostrando perfis diferentes de IgG da mãe e criança<sup>152</sup> ou a persistência de IgG positiva aos 12 meses de vida<sup>102</sup>. A associação entre sinais clínicos sugestivos de infecção congênita, títulos elevados de anticorpos IgG anti-*T. gondii* no RN e perfil materno de infecção recente, tem alto valor preditivo positivo de toxoplasmose congênita, mas não suprime a necessidade de confirmar o diagnóstico com os marcadores de fase aguda, pois a IgG atravessa passivamente a placenta e encontra-se positiva em um número significativo de crianças não infectadas.

No presente estudo, os testes de IgM e IgA e o IB-IgG foram os escolhidos como testes confirmatórios. Como esses testes foram realizados após o primeiro mês de vida da criança, não houve o risco de falso positivo devido à contaminação do sangue da criança com sangue materno durante o parto<sup>107, 147, 153</sup>. O anticorpo IgG foi avaliado ao diagnóstico e após 12 meses de tratamento, mostrando-se persistentemente positivo nas 19 crianças acompanhadas.

A sensibilidade da IgM para o diagnóstico da toxoplasmose congênita pós-natal é variável e depende, principalmente, da idade gestacional em que ocorreu a infecção, sendo mais elevada nas infecções ocorridas no último trimestre da gestação<sup>148</sup>. No presente estudo, observou-se sensibilidade de 50% para IgM e 71% para IgA, quando os testes foram realizados entre 30 e 90 dias após o nascimento. Observou-se queda nessa sensibilidade quando as amostras foram colhidas após 90 dias. A sensibilidade de IgM foi menor do que a obtida por alguns autores<sup>107, 128</sup>, mas o longo intervalo de tempo entre o nascimento e a coleta dos exames confirmatórios pode justificar os resultados, que são relatados como melhores quando o sangue é colhido nas primeiras duas semanas de vida<sup>158</sup>. Essa foi uma das limitações desse estudo e pode ser explicada pelas dificuldades operacionais em separar a pesquisa realizada apenas em Belo Horizonte do programa de triagem neonatal realizado no Estado, onde o último é a prioridade.

Observou-se maior sensibilidade de IgA comparado à IgM, o que está de acordo com alguns estudos<sup>148, 155</sup> e diferente de outros<sup>107</sup>. Relata-se uma sensibilidade da IgA para o diagnóstico da toxoplasmose congênita variando de 38,9%<sup>154</sup> a 90%<sup>155</sup>, principalmente após o período neonatal, e os resultados obtidos nesse estudo estão compatíveis com esses achados.

Estima-se que cerca de 30-40% das crianças infectadas não apresentem IgM e/ou IgA detectáveis ao nascimento, quando são utilizados os ensaios comerciais habituais, que utilizam como antígenos os extratos solúveis de lisados do parasito<sup>4, 150, 157</sup>. As possíveis explicações para tal são<sup>4</sup> (a) a infecção precoce do feto durante a gestação; (b) a imaturidade do sistema imune do recém-nascido devido à prematuridade; ou (c) quando a IgG materna suprime a resposta de IgM no feto. Embora se credite ao longo intervalo

entre o nascimento e a coleta dos exames confirmatórios, a baixa sensibilidade observada principalmente para IgM, é possível que as características dos testes utilizados também tenham interferido nos resultados. Considerando que crianças infectadas podem não apresentar IgM e/ou IgA ao nascimento, nos casos suspeitos, mas negativos, a pesquisa desses anticorpos deve ser repetida um a dois meses após o nascimento<sup>4, 98</sup>.

Existem dúvidas quanto à interferência do tratamento materno na resposta de anticorpos da criança<sup>148, 116</sup>, mas, no presente estudo, apenas quatro mães receberam medicação anti-parasitária e por tempo muito curto (cerca de um mês). O uso de associação de testes aumenta a sensibilidade para o diagnóstico, sendo relatado resultados de 70% e 65%, para IgM e IgA respectivamente, quando analisados isoladamente, e de 80% quando associados<sup>107</sup>, achados confirmados por outros autores<sup>148, 156</sup>. No presente estudo, a associação de IgM e IgA aumentou a sensibilidade do diagnóstico para 85%. Estudo colaborativo europeu, com o objetivo de avaliar a contribuição da IgM e IgA para o diagnóstico neonatal da toxoplasmose congênita, avaliou 170 crianças infectadas e 822 não infectadas<sup>158</sup>. Os testes de IgM e IgA detectaram apenas 52-55% das crianças infectadas. A sensibilidade da IgM, mas não a IgA, foi mais baixa quando a infecção materna ocorreu no primeiro ou segundo trimestre de gravidez (29% e 34%, respectivamente) comparada com o terceiro trimestre (71%). O tratamento pré-natal com sulfadiazina e pirimetamina não reduziu significativamente a sensibilidade de IgM e IgA. A sensibilidade foi menor para IF-IgM (10%) e ELISA-IgM (29%), mas similar a ISAGA-IgM (54%), ISAGA-IgA (58%) e ELISA-IgA (52%). As especificidades observadas foram: ISAGA-IgA (91%), ISAGA-IgM (96%), IF-IgM (100%), ELISA-IgA (98%). Os autores concluem pela necessidade de testes mais eficazes para

diagnosticar os recém-nascidos<sup>158</sup>. No presente estudo, os testes para detecção de IgM pelos métodos de ELISA indireto e IFI mostraram baixo desempenho, em acordo com resultados de outros estudos que avaliam esses testes para o diagnóstico da infecção congênita.

O teste de avidéz de IgG é muito útil no diagnóstico pré-natal, mas no período pós-natal o resultado da avidéz é uma mistura da IgG da criança e da mãe<sup>101, 159</sup>. Durante o primeiro mês de vida da criança observa-se que a IgG materna decresce enquanto a produzida pela criança persiste em quantidade ou se eleva, sofrendo interferências do momento em que foi colhida a amostra e da quantidade de IgG presentes na mãe e na criança. Tem sido observado, também, maturação da avidéz de IgG durante o primeiro ano de vida<sup>134</sup>. No presente estudo, os anticorpos IgG de baixa avidéz estiveram presentes em 47% (9/19) das crianças com toxoplasmose congênita, o que pode refletir uma coleta de sangue da criança tardia e uma infecção materna ocorrida no segundo trimestre da gestação. A presença de anticorpos de baixa avidéz no RN sugere primoinfecção durante a gestação, no segundo ou terceiro trimestre, constituindo um indicador de risco de toxoplasmose congênita, embora o RN possa ou não ter sido infectado.

No presente estudo, o teste de IB-IgG apresentou boa sensibilidade (77%) nas crianças em que a coleta foi realizada entre 1-3 meses e ótima sensibilidade (100%) naquelas que realizaram a coleta após o terceiro mês, não apresentando resultados falso-positivos. Robert-Gangneux et al.<sup>161</sup> observaram anticorpos IgG neo-sintetizados, nos primeiros três meses de vida, em 17 (82,3%) crianças com toxoplasmose congênita. Sensibilidade

semelhante (82,4%) foi encontrada por Gross et al.<sup>160</sup>. Os autores acharam o teste simples de interpretar e mais fácil de executar do que a ELIFA. Rilling et al.<sup>153</sup> avaliaram um teste comercial de IB IgM e IgG quanto à eficácia para o diagnóstico precoce da infecção congênita, em faixas etárias diferentes (dias a meses) durante os primeiros três meses de vida, observando que a sensibilidade também variou com a idade da criança: (a) ao nascimento, 67% (14/21), (b) entre 2-13 dias de vida, 77% (10/13), (c) entre 14-60 dias 88% (23/26), (d) entre 2-3 meses 89% (8/9).

Os anticorpos das crianças positivas neste estudo reconheceram antígenos de peso molecular entre 22 e 130 kDa, em acordo com achados de outros pesquisadores<sup>152</sup>.

A associação entre os testes convencionais (IgM e IgA) e o IB-IgG elevou a sensibilidade do diagnóstico para 86% nas crianças avaliadas entre 1-3 meses de vida, achados similares aos encontrados por outros pesquisadores<sup>160, 147, 153</sup>. Observou-se relação direta entre a idade da criança e o aumento contínuo da diferença da sensibilidade entre os dois tipos de testes, convencional e IB<sup>153</sup>. Os autores concluíram por um desempenho semelhante entre o teste comercial analisado e outros testes utilizados em estudos anteriores<sup>107, 152, 160, 161</sup>. Alguns autores observaram sensibilidades superiores a 90% quando o IB foi associado a testes convencionais<sup>147, 161</sup>. As diferenças observadas nas taxas de sensibilidade e especificidade dos diferentes estudos podem ser atribuídas à elaboração não automatizada do IB nos estudos iniciais. Atualmente encontram-se disponíveis testes comerciais<sup>147</sup>. Há um consenso que, mesmo com a associação de testes, algumas crianças com toxoplasmose congênita não serão diagnosticadas ao nascimento, por isso é fundamental o seguimento clínico e sorológico das crianças suspeitas durante o pré-natal e que apresentem apenas IgG positiva.

#### 6.2.4. Manifestações clínicas

A maioria das crianças com toxoplasmose congênita participantes do presente estudo, nasceram a termo, com índice de Apgar maior que 7 e em boas condições. Em relação ao peso de nascimento, observou-se que no grupo de infectados ele foi significativamente menor do que no grupo controle, embora, em média, as crianças não tenham apresentado baixo peso de nascimento, o que está de acordo com o achado de outros pesquisadores, que não observaram recém-nascidos com baixo peso de nascimento, nem pequenos para a idade gestacional<sup>46, 128, 133, 134</sup>. Importante considerar que a maior ocorrência de partos pré-termo entre os infectados pode ter influenciado na observação de menor peso no grupo de casos. Outros pesquisadores relataram prematuridade<sup>133</sup>, mas sempre alertando para a possibilidade desse achado estar relacionado a procedimentos invasivos para o diagnóstico da infecção fetal. Casuística brasileira constituída de crianças diagnosticadas na unidade neonatal<sup>130</sup>, relatou grande comprometimento das crianças, baixo peso de nascimento (61%) e prematuridade (37%), mas essa não é a realidade das crianças identificadas pelas triagens pré-natal e neonatal, pois nelas detecta-se grande número de infecções subclínicas. No presente estudo, três (15%) crianças nasceram prematuras e apresentaram, ao nascimento, grave comprometimento sistêmico, ocular e neurológico. A maior prevalência de prematuridade entre as crianças com toxoplasmose congênita estudadas, em relação à taxa observada no município no mesmo período, evidencia a associação entre a infecção e término precoce da gravidez, principalmente quando se considera que nessa casuística não foram realizados procedimentos invasivos durante o pré-natal. Dentre as três crianças, duas foram diagnosticadas na unidade neonatal e uma durante o pré-natal,



ocasião em que recebeu dois meses de medicação anti-*T.gondii*, no final da gestação. Observa-se, mesmo em um grande centro urbano, a dificuldade em realizar o diagnóstico pré-natal em tempo hábil para oferecer tratamento à gestante. Algumas diferenças entre a presente casuística e estudos europeus devem ser consideradas: como os países europeus que apresentam maior prevalência da infecção realizam a triagem pré-natal, observa-se um intervalo curto entre o diagnóstico da infecção materna e o início do tratamento, o que tem sido associado com menor comprometimento das crianças<sup>122</sup>; as gestantes infectadas são regularmente tratadas e em alguns países europeus a mãe pode decidir pela interrupção da gravidez o que diminui a ocorrência de casos graves<sup>124</sup>. Naturalmente devemos sempre considerar que as características do parasita podem interferir nesses resultados.

Ao nascimento, 35% (7/20) das crianças avaliadas no presente estudo apresentaram manifestações clínicas compatíveis com infecção congênita, mas inespecíficas. O achado mais comum entre as manifestações sistêmicas foi hepatoesplenomegalia, em acordo com outros estudos<sup>130</sup>. Observamos um óbito, mas não foi possível confirmar a infecção nessa criança, embora a toxoplasmose congênita tenha sido confirmada no seu gemelar. Se esse óbito for decorrente da toxoplasmose congênita, a taxa encontrada (5%) seria semelhante à relatada na literatura (2-11%)<sup>51, 56, 113</sup>.

A manifestação clínica mais freqüente no grupo estudado foi a retinocoroidite que, nos primeiros três meses de vida estava presente em 13 crianças (68,4%) o que supera as estatísticas européias<sup>51, 113</sup>. Esses resultados serão discutidos na próxima seção. A maioria (65%) das crianças identificadas no estudo encontrava-se assintomática ao nascimento, achado concordante com outras publicações<sup>16</sup>, mas um exame cuidadoso

permitiu identificar que 68% (13/19) das 19 crianças apresentavam comprometimento ocular, 28% (5/18) neurológicos e 21% (4/19) auditivo, achados semelhantes aos estudos realizados em Ribeirão Preto<sup>128</sup> e Porto Alegre<sup>127</sup>, utilizando a estratégia da triagem neonatal, e aos resultados de estudos avaliando principalmente crianças sintomáticas ao nascimento<sup>173</sup>. Esses resultados contrastam com outros utilizando a metodologia da triagem neonatal e realizados na Europa e também no Brasil, que relatam menor ocorrência de alterações oculares (11-33%) e neurológicas (4-29%)<sup>13, 16, 48, 61, 126</sup>. Uma possível explicação para esses achados é o fato da primeira avaliação clínica ter sido realizada tardiamente no presente estudo, em média aos 3,7 meses, achado concordante com Carvalheiro et al.<sup>128</sup> que realizaram o primeiro exame em média aos 94,5 dias de vida, o que torna possível o desenvolvimento de lesões oftalmológicas após o nascimento, levando a resultados diferentes das pesquisas que realizaram a primeira avaliação precocemente, antes da 6ª semana de vida<sup>13, 16, 48, 61, 126</sup>.

Em relação à gravidade da doença, observou-se, ao final do primeiro ano, que as formas subclínicas e benignas estavam presentes em 63% dos casos e a forma grave em 37%, o que está em desacordo com outros pesquisadores europeus que encontraram forma subclínica em 76% dos casos e forma grave em 2%<sup>46</sup>. A maior gravidade dos casos brasileiros tem sido atribuída por alguns autores a interação de vários fatores, como diferenças nas cepas do *Toxoplasma gondii*<sup>27</sup>, no genótipo e estado imune do hospedeiro, a carga tecidual parasitária e o estágio de desenvolvimento da placenta no momento da infecção<sup>135, 136</sup>. A possibilidade de que o polimorfismo genético e de virulência detectado entre cepas de *T. gondii* seja uma possível explicação para as diferenças observadas na apresentação clínica da doença congênita<sup>137</sup>, tem estimulado pesquisas recentes que relataram diferenças entre as cepas brasileiras<sup>36, 37</sup> e as do

hemisfério norte<sup>26</sup>. Outra possível explicação para as diferenças na gravidade clínica é o diagnóstico tardio das gestantes infectadas no presente estudo e a dificuldade de realizar o tratamento adequado. Deve-se lembrar também que alguns países europeus permitem a interrupção da gestação, o que pode implicar em uma menor gravidade das crianças diagnosticadas.

A triagem neonatal identificou a maioria dos casos classificados como forma subclínica e benigna no presente estudo, mostrando que essa estratégia é capaz de identificar as crianças infectadas no final da gestação, provável momento da infecção da maioria das crianças assintomáticas ao nascimento. Para que os programas de triagem pré-natal possam identificar essas crianças, devem recomendar a realização da última sorologia materna após o parto.

As calcificações cerebrais foram as alterações neurológicas mais frequentes nas crianças acompanhadas nesse estudo e estiveram presentes em 28% (5/18) delas, uma frequência maior do que a relatada por pesquisadores europeus<sup>122</sup>. Uma possível explicação para essa diferença é que se utilizou a tomografia computadorizada do crânio (TCC) para o diagnóstico das crianças participantes desse estudo, dado as dificuldades do serviço para realização de ultra-som transfontanela, e os estudos europeus utilizam com frequência o ultra-som transfontanela. Sabe-se que a TCC é um método mais sensível para o diagnóstico das calcificações cranianas do que o US transfontanela, mas a exposição à radiação no primeiro método limita seu uso na rotina diagnóstica na Europa<sup>211</sup>. Foi possível repetir a TCC, após um ano de tratamento, nas crianças que apresentaram calcificações no primeiro exame, não sendo observadas mudanças na distribuição e tamanho das lesões. A retinocoroidite esteve presente em todas as crianças que

apresentaram calcificação craniana, em acordo com observações de outros pesquisadores<sup>56, 175</sup>. Foi observado microcefalia e hidrocefalia em uma das crianças acompanhadas no presente estudo, convulsões em duas e atraso significativo no desenvolvimento neuropsicomotor em duas.

O exame do líquido foi realizado na maioria das crianças acompanhadas (17/20) e, embora tenha sido observada hiperproteinorraquia em um número significativo dos casos (41%), esse aumento foi discreto e não necessitou de intervenção. Esses achados estão em acordo com os de outros pesquisadores que avaliaram a importância do exame de líquido para o diagnóstico da toxoplasmose congênita e previsão de seqüelas e observaram uma baixa sensibilidade do exame citoquímico do líquido (proteinorraquia e pleocitose) na determinação do diagnóstico de toxoplasmose congênita além de não encontrarem associação entre as alterações líquóricas e a gravidade da infecção<sup>190</sup>. O exame do líquido tem grande importância na avaliação das crianças sintomáticas ao nascimento, mas não deve ser um método propedêutico obrigatório nos casos assintomáticos ou de menor gravidade.

Em relação ao crescimento das crianças durante o primeiro ano de vida, observou-se no presente estudo que as crianças com toxoplasmose congênita se mantiveram em curvas inferiores à média dos percentis considerados como padrão (NCHS) durante o primeiro ano de vida nos três parâmetros avaliados (peso, estatura e perímetro cefálico). Ao final do primeiro ano os percentis dos casos se aproximaram da média padrão, sugerindo uma recuperação. Avaliações como essa foram realizadas para outras infecções congênitas ou perinatais, mas são pouco relatadas para a toxoplasmose por não se observar grandes déficits no peso e pela falta de grupo controle. Lappalainen et al.<sup>134</sup> não observaram

alteração no crescimento de crianças infectadas durante o primeiro ano de vida, quando comparado com crianças não infectadas, mas o número de crianças infectadas foi muito pequeno. No presente estudo não foi possível a comparação com grupo controle e essa é uma limitação desses resultados. Uma observação interessante foi que as crianças que apresentaram déficit no índice altura para a idade, mantiveram essa diferença após o primeiro ano de idade, sugerindo um comprometimento mais grave. Esse dado tem plausibilidade biológica pois um feto infectado precocemente na gestação pode apresentar comprometimento do crescimento intra-uterino, refletindo em um menor crescimento pós-natal.

O presente estudo não se propõe a avaliar eficácia terapêutica, mas é interessante, diante de qualquer proposta de triagem diagnóstica, avaliar se o tratamento proposto foi executado e se houve adesão por parte dos interessados. Como o NUPAD, responsável pela execução desse projeto, providenciou a manipulação da medicação, calculada pelo médico nas consultas de seguimento, o tratamento proposto foi exequível, o que não se observa quando a manipulação da medicação tem que ser custeada pela família. Como os pacientes retornaram nas datas agendadas, informando o uso da medicação e solicitando o preparo de nova prescrição, concluiu-se que a adesão foi boa, com exceção de duas crianças que receberam a medicação por tempo muito curto (3 e 4 meses). A mãe de uma dessas crianças era adolescente, mantinha uma relação afetiva distante com a criança e alegava falta de recursos para comparecer ao ambulatório e buscar a medicação. O centro de saúde próximo da casa dessa criança foi contactado, mas também tinha dificuldade na avaliação da criança, freqüentemente recorrendo ao Conselho Tutelar. A mãe da outra criança apresentava períodos longos de depressão, sem auxílio de um familiar, e não conseguiu se convencer da necessidade do tratamento

de uma criança que apresentava apenas lesão ocular. De um modo geral as famílias foram parceiras no tratamento das crianças e não se verificou intolerância que resultasse em interrupção definitiva da medicação. Duas crianças apresentaram neutropenia transitória reversível com o aumento da dose do ácido folínico. O estudo de Chicago<sup>7</sup>, cujos resultados foram publicados recentemente, relatou o seguimento de 120 crianças com toxoplasmose congênita tratadas durante 12 meses, por um período médio igual a 10,5 anos, e observou que o prognóstico visual e neurológico foi significativamente melhor quando comparado com estudos de casos não tratados ou tratados por um mês<sup>6, 10</sup>. Esses resultados reforçam a necessidade de identificar e tratar todas as crianças com essa infecção congênita, pois o tratamento pode reduzir as seqüelas tardias<sup>4, 7</sup>.

Na Tabela 27 podem ser observadas as características clínicas de crianças brasileiras com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em sangue seco.

TABELA 27 - Informações sobre as crianças com toxoplasmose congênita identificadas pela triagem neonatal em diferentes estudos realizados no Brasil

Referência (local do estudo)	Amostra testada (Nº infectados)	Manifestações sistêmicas	n (%)	Manifestações oculares	n (%)	Manifestações neurológicas	n (%)	Manifestações auditivas	n (%)
Bahia-Oliveira et al., 2001 <sup>12</sup> (Campos, RJ)	2.550 (5)	Sem alterações	0	Retinocoroidite	1 (20)	Sem alterações	0	NR	
Neto et al., 2004 <sup>129</sup> (Rio Gde do Sul)	364.130 (195)	Hepatoesplenomegalia	13 (6,7)	Retinocoroidite, microftalmia	32 (16,4)	Calcificações cranianas, hidrocefalia, microcefalia, retardo no DNPM	21 (10,8)	NR	
Carvalho et al., 2005 <sup>128</sup> (Ribeirão Preto)	15.162 (5)	Hepatoesplenomegalia, icterícia, petéquias, ascite	2 (40)	Retinocoroidite, estrabismo	5 (100)	Microcefalia, hidrocefalia, calcificações cranianas	4 (80)	Sem alterações	0
Lago, 2006 <sup>127</sup> (Porto Alegre, RGS)	10.000 (6)	Hepatoesplenomegalia	3 (50)	Retinocoidite*, microftalmia, leucocoria	4 (67)	Hidrocefalia, hidranencefalia, calcificações cranianas	4 (67)	NR	
Presente estudo (Belo Horizonte)	31.808 (20) <sup>#</sup>	Hepatoesplenomegalia, petéquias, trombocitopenia	7 (36,8)	Retinocoroidite, catarata, microftalmia,	15 (78,9)	Hidrocefalia, calcificações cranianas	5/18 (28)	Déficit neurossensorial	4 (21)

\* Retinocoroidite em atividade em duas crianças;

# Seguimento realizado em 19 crianças devido ao óbito de uma delas aos 12 dias de vida.

NR- não relatado DNPM- desenvolvimento neuropsicomotor

#### **6.2.4.1. Alterações oculares**

No presente estudo, que inclui uma grande proporção de crianças com infecção subclínica (65%), a retinocoroidite esteve presente em 68,4% (13/19) dos casos durante o primeiro ano de vida e 78,9% (15/19) ao final do terceiro ano, resultado discordante de estudos europeus e norte-americanos que, utilizando metodologias de triagem pré-natal ou neonatal, obtiveram prevalências de 20% a 30%<sup>16, 51, 172</sup>. Estudos brasileiros, utilizando a metodologia da triagem neonatal, encontraram prevalência de lesão ocular variável (16%<sup>129</sup>, 20%<sup>12</sup>, 67%<sup>127</sup> e 100%<sup>128</sup>), mas geralmente mais elevada do que as encontradas no hemisfério norte. Uma possível explicação para a maior prevalência observada no Brasil, é a diferença entre as cepas do parasita associadas à infecção congênita, atribuída principalmente ao tipo II na Europa<sup>26, 27</sup> e ao tipo I em estudos brasileiros experimentais<sup>34, 262</sup> e relacionados à toxoplasmose ocular<sup>263</sup>, embora faltem estudos no Brasil das cepas envolvidas na infecção congênita e esse é um desafio para os grupos de pesquisa brasileiros. Outra possível explicação é o tratamento materno durante o pré-natal, observado em estudos europeus<sup>177</sup> e associado à menor ocorrência de lesão ocular. No presente estudo, a infecção não foi identificada na maioria das mães (70%) durante a gestação, e o tratamento, oferecido a quatro mães, foi inadequado devido ao tempo muito curto e restrito ao final da gravidez, achado concordante com outros estudos brasileiros<sup>127, 128</sup> que utilizaram a triagem neonatal para identificação dos casos, observaram o não tratamento das mães das crianças infectadas e também encontraram elevada prevalência de lesão ocular nas crianças. Entretanto, para evidência definitiva da eficácia do tratamento pré-natal faz-se necessário a realização de ensaios clínicos randomizados. Em relação à idade de início do tratamento pós-natal, a



maioria dos estudos que utilizam a triagem neonatal para identificação dos casos iniciam o tratamento no 2º-3º mês de vida das crianças, o que foi observado no presente estudo. Estudos que utilizam a metodologia da triagem pré-natal geralmente iniciam o tratamento pós-natal mais precocemente, mas parece que essa diferença não resulta em diferença no risco de lesão ocular<sup>16, 56</sup>.

Em relação à idade gestacional da provável ocorrência da infecção na gestação, no presente estudo observou-se que as gestantes soroconverteram entre os 2º e 3º trimestres de gestação. Quando a infecção materna ocorre no 3º trimestre, em geral as crianças nascem assintomáticas ou as manifestações clínicas são mais benignas. Em relação às manifestações oculares, observou-se nesse estudo que elas foram mais freqüentes nas crianças identificadas pela triagem pré-natal (83,3%) em comparação com as identificadas pela triagem neonatal (55,6%), refletindo nas primeiras, provavelmente, a infecção mais precoce durante a gestação. A única criança com lesão em atividade foi identificada pela triagem neonatal e provavelmente está associada com infecção mais recente, no final da gestação. O encontro de elevada prevalência de lesões oculares naquelas crianças identificadas na triagem neonatal, mostra que mesmo as infecções no final da gestação levam a comprometimento ocular, o que está em acordo com outros autores<sup>148</sup>, e ressalta a necessidade de identificar todas as crianças infectadas.

Entre as crianças infectadas, observou-se que aquelas com retinocoroidite não diferiram em relação ao peso e idade gestacional de nascimento quando comparadas com as que não desenvolveram acometimento ocular. Todas as crianças sintomáticas ao nascimento apresentaram comprometimento ocular, o que está em acordo com outro estudo<sup>173</sup>, embora, no presente estudo, não tenha sido observada diferença significativa na

ocorrência de retinocoroidite entre as crianças sintomáticas e assintomáticas ao nascimento.

Em relação às características da retinocoroidite, nesse estudo a maioria das lesões foram maculares (69%), unilaterais (54%) e cicatrizadas (92%) já no primeiro exame, no terceiro mês de vida, em acordo com outros estudos<sup>10, 16, 48, 134</sup>. O olho direito foi mais comprometido que o esquerdo e, quando a mácula esteve comprometida, as lesões foram freqüentemente bilaterais, concordando com outras observações em crianças com toxoplasmose congênita<sup>188</sup>. Em relação à morfologia, as retinocoidites em geral foram lesões únicas com tamanho entre 1-2 diâmetros de disco óptico, em acordo com a descrição clássica da doença<sup>183</sup>.

No presente estudo, foram observadas lesões de retinocoroidite, não identificadas anteriormente, após o primeiro ano de vida em três crianças, mas apenas (10,5%) duas apresentavam lesão previamente. Esses casos, considerados de reativação ocular, ocorreram aos 25 e 32 meses de idade e as lesões foram periféricas nos dois casos. Esses resultados são semelhantes aos relatados por outros autores que observaram a ocorrência de novas lesões durante o tratamento em 10-11% dos casos<sup>163, 214</sup> e após o mesmo em 4%. É possível que algumas dessas lesões já estivessem presentes ao nascimento, mas imperceptíveis no primeiro exame de fundo de olho, devido a dificuldade técnica de observar lesões periféricas em recém-nascidos sem sedação. Outras alterações podem ser observadas na Tabela 28, que compara os achados desse estudo com os resultados de outros pesquisadores. Importante ressaltar que três anos é um tempo de observação insuficiente para o relato de todas as conseqüências que a toxoplasmose congênita pode ocasionar e as crianças avaliadas nesse estudo continuarão

o seguimento no serviço de infectologia pediátrica com avaliações oftalmológicas semestrais. Tem grande importância a continuidade de estudos como esse na avaliação dos desfechos da doença em longo prazo. A adoção de esquemas terapêuticos semelhantes aos adotados em outros estudos torna possível a comparação dos resultados.

TABELA 28 - Descrição das manifestações oculares observadas na toxoplasmose congênita no presente estudo em comparação com os resultados de outros estudos

	Mets et al. <sup>173</sup> Crianças tratadas	Mets et al. <sup>173</sup> Série histórica	Meenken et al, 1995 <sup>132</sup>	Carvalho, 2001 <sup>8</sup> Série histórica	Kodjikian et al, 2006 <sup>189</sup>	Schmidt et al, 2006 <sup>211</sup>	Presente estudo
Número pacientes	76	18	17	114	130	47	19
Delineamento estudo	Prospectivo	Retrospectivo	Retrospectivo	Retrospectivo	Prospectivo	Prospectivo	Prospectivo
Critério de seleção	Encaminhamento para centro de referência	Encaminhamento para centro de referência	Toxoplasmose congênita grave	Toxoplasmose congênita moderada a grave	Triagem pré-natal	Triagem neonatal	Triagem neonatal
Tempo médio de seguimento	5 anos	11 anos	27 anos	10,3 anos	12 anos	3 anos	3 anos
Tratamento pré-natal	9 – sim 67 – não	Não	Não	Não	108 – sim 22 – não	Não	não
Tratamento pós-natal	Sim	Não	9 – sim 8 – não	30 – sim <sup>#</sup> 84 – não ou por curto tempo	127 – sim 3 – não	Sim (3 meses)	17 – sim 2 – não ou por curto tempo
Retinocoroidite macular (%)	55/144 olhos (38,2)	16/34 olhos (47,1)	NI	176/224 olhos (78,6)	61/260 olhos (23,5)	9/94 olhos (9,6)	14/38 olhos (36,8)
Estrabismo (%)	26 (34)	5 (28)	13 (76,5)	74 (64,9)	21 (16)	NI	5 (26,3)
Microftalmia (%)	10 (13)	2 (11)	10 (59)	26 (22,8)	7 (5,4)	NI	2 (10,5)
Catarata (%)	7 (9)	2 (11)	9 (53)	19 (17,2)	4 (3)	NI	1 (5,3)
Espessamento coroidal	NR	NR	NR	NR	NR	NI	1 (5,3)
Rarefação retina	NR	NR	NR	NR	NR	NR	1 (5,3)

# 69 de 114 crianças receberam medicação, mas apenas 30 foram tratados por período de tempo igual ou superior a seis meses.

#### 6.2.4.2. Alterações auditivas

Existe um consenso sobre a importância do diagnóstico precoce do déficit auditivo para o melhor desenvolvimento da linguagem, cognição e socialização da criança. A triagem auditiva neonatal, recentemente obrigatória como política pública de saúde, progressivamente atingirá o universo dos recém-nascidos, mas a identificação de fatores de risco para hipoacusia permite o acompanhamento da criança e sua reavaliação no final do primeiro semestre de vida, o que aumenta a sensibilidade da triagem auditiva. Portanto, há necessidade da implementação de estratégias efetivas para identificação dos fatores de risco para essa deficiência. Entre os fatores de risco, a toxoplasmose, infecção prevalente no Brasil, tem sido pouco associada à hipoacusia. A identificação, nesse estudo, de crianças com déficit auditivo neurossensorial (4/19), dentre as triadas com toxoplasmose congênita, traz à tona a discussão sobre o impacto dessa infecção congênita nas deficiências auditivas da infância.

Dentre as 20 crianças identificadas pela triagem neonatal, 13 (65%) apresentavam infecção subclínica e, destas, nove foram identificadas apenas pela triagem neonatal.

Recentemente, estudos epidemiológicos<sup>207, 209</sup> buscando a associação entre toxoplasmose e hipoacusia observaram um risco maior de déficit auditivo entre as crianças positivas para o *T. gondii*, mas esses estudos, por não serem prospectivos, têm dificuldade na avaliação dos outros fatores de risco para o referido déficit. No presente estudo foi possível confirmar o diagnóstico de toxoplasmose congênita, afastar outros agentes infecciosos associados a infecções congênitas e, durante o seguimento das crianças, excluir outros fatores de risco associados com o referido déficit (infecções da

meninge, ouvido médio e externo). Entre as quatro (21,1%) crianças identificadas com déficit auditivo tipo neurossensorial, uma apresentava outros fatores de risco para o déficit, duas apresentaram déficit leve unilateral com pequena repercussão funcional e uma apresentou déficit bilateral moderado. As três últimas crianças nasceram assintomáticas, foram identificadas apenas pela triagem neonatal e não apresentavam nenhum outro motivo, exceto a toxoplasmose, para explicar os achados, mostrando que essa parasitose, mesmo na ausência de outras manifestações clínicas, deve ser considerada na avaliação de crianças com perda auditiva.

Estudos longitudinais com recém-nascidos acompanhados durante longos períodos apontaram para um alto índice de abstenção das mães aos retornos agendados<sup>192</sup>. Em quatro casos do presente estudo, as consultas não ocorreram com a regularidade requerida, mas todas as crianças compareceram para realizar pelo menos uma avaliação auditiva, o que pode ser atribuído ao conhecimento, por parte dos responsáveis, de que a criança apresentava um fator de risco para perda auditiva. A demora, observada em quatro crianças, para realizar a primeira avaliação auditiva pode ser atribuída ao trabalho ou doença materna, desinteresse da mãe, dificuldade no transporte da criança para o ambulatório de audiologia, não cooperação da criança com a execução do exame, entre outras. Esforços têm que ser feitos para identificar precocemente as infecções congênitas prevalentes, incluindo a toxoplasmose, facilitando o acesso precoce aos serviços de audiologia.

O tratamento prolongado (um ano) da toxoplasmose congênita tem sido associado, por alguns autores, ao melhor prognóstico das crianças<sup>7, 206</sup>. Entre as quatro crianças do presente estudo, uma recebeu tratamento anti-parasitário por apenas três meses (a mãe,

adolescente, estava desinteressada do problema do seu filho) e outra foi tratada irregularmente por 10 meses (inconstância no comparecimento ao ambulatório); a criança mais comprometida e outra com perda unilateral leve, receberam tratamento durante 12 meses.

Na Tabela 29 são comparados os resultados de três estudos que abordam avaliação auditiva em crianças com toxoplasmose congênita. O estudo de Chicago<sup>7, 206</sup> avalia crianças tratadas com as drogas anti-parasitárias clássicas durante 12 meses, o estudo de Wilson et al.<sup>6</sup> descreve os achados em 19 crianças com infecção subclínica que não receberam tratamento específico ou o receberam por tempo muito curto e o presente estudo, onde dentre as 19 crianças tratadas, três o foram de forma inadequada (pouco tempo ou irregularmente) e, destas, duas apresentaram déficit auditivo.

TABELA 29 – Resultados de alguns estudos sobre avaliação auditiva em crianças com toxoplasmose congênita submetidas a tratamento, ou não, durante o primeiro ano de vida

Grau de perda auditiva	Definições				Resultados da avaliação auditiva neurossensorial		
	Estudo de Chicago*		Wilson et al. #	Presente estudo	Estudo de Chicago*	Wilson et al. #	
	BERA (dB/HL)	Audio-grama (dB/HL)				Infecção subclínica	Presente estudo
Normal	≤ 20	0-20	< 25 dB	≤ 20	55	14	15
Leve	> 20-40	25-40	25-50	> 20-40	0	3 (15,8%)	2 (10,5%)
Moderada	> 40-60	>40	51-80	> 40-70	0	2 (10,5%)	1 (5,3%)
Severa	>60	> 70-90	Não encontrado	>70-90	0	0	1 (5,3%)
Profunda		>90	Não encontrado	> 90	0	0	
Total de crianças					55	19	19

Adaptado de McGee et al.<sup>206</sup>

BERA=resposta auditiva cerebral; dB=decibéis; HL=nível auditivo

\* Crianças tratadas no primeiro ano de vida, durante 12 meses<sup>7, 206, 213</sup>

# Crianças assintomáticas ao nascimento e não tratadas ou tratadas por período muito curto, um mês<sup>6</sup>

Os resultados observados nesse estudo são similares aos encontrados por Wilson et al.<sup>6</sup>.

Estudos com casuísticas maiores, submetidas a tratamento por tempo prolongado (12

meses), não identificaram a presença da hipoacusia, concluindo por um melhor prognóstico das crianças tratadas<sup>7</sup>. No presente estudo, dentre as 16 crianças tratadas adequadamente, por tempo prolongado e regularmente, duas apresentaram déficit auditivo, mas apenas uma apresentou déficit funcional importante. Essa criança nasceu gravemente afetada pela infecção, apresentou outros fatores de risco para hipoacusia além da parasitose (baixo peso de nascimento e uso de ventilação assistida por período prolongado), e desenvolveu seqüelas oculares e auditivas apesar do tratamento. A ocorrência de perda auditiva na ventilação assistida por período de tempo superior a cinco dias pode ser atribuída ao nível de ruído dos aparelhos, duração da ventilação mecânica e doenças pulmonares envolvidas<sup>195</sup>. Em relação ao peso de nascimento, embora essa criança tenha apresentado baixo peso, considera-se que o risco de hipoacusia seja maior em recém-nascidos com peso inferior a 1500 g, embora não possam ser desconsideradas as condições de atenção perinatal<sup>195</sup>. Portanto, nessa criança, não podemos atribuir a perda auditiva à toxoplasmose, embora o quadro clínico apresentado por ela caracterize o comprometimento grave da doença.

Em relação à intensidade da perda auditiva e seu significado funcional, estudos têm avaliado a importância das perdas auditivas leves unilaterais ou bilaterais para o desenvolvimento das crianças e têm sugerido que essas perdas podem afetar vários domínios como habilidades de linguagem, percepção da fala, habilidades funcionais auditivas, performance acadêmica, desenvolvimento social-emocional, habilidades motoras incluindo locomoção precoce e coordenação<sup>198</sup>. Em geral, essas perdas têm sido identificadas mais tardiamente, entre 5-6 anos de idade<sup>192</sup> e o conhecimento da existência de um fator de risco para o déficit, como a toxoplasmose, pode antecipar o acesso dessas crianças ao serviço de audiologia e, se necessário, à fonoterapia.



Estudo de coorte histórica realizado no Serviço de Infectologia Pediátrica do HCUFMG, avaliando a audiometria (PEATE) em 49 crianças com toxoplasmose congênita, em sua maioria com manifestações precoces da infecção, e seguidas, em média, durante 10,3 anos, mostrou alteração em cinco casos (10,2%) e nenhuma associação entre o tempo de tratamento no primeiro ano de vida e o déficit auditivo<sup>8</sup>. No presente estudo, o tratamento adequado de duas das crianças com perda auditiva não evitou o déficit, o que difere dos resultados de McGee et al.<sup>206</sup> e McLeod et al.<sup>7</sup> que relataram normalidade auditiva em crianças tratadas, mesmo quando apresentavam comprometimento neurológico e ocular. O seguimento dessas crianças pode fornecer novos dados para esclarecer essas questões.

#### 6.2.5. Aspectos do pré-natal e fatores de risco para aquisição da toxoplasmose na gestação

A toxoplasmose adquirida é assintomática em 80-90% dos casos, o que torna as medidas educativas fundamentais para prevenção da infecção na gestação. Vários estudos foram desenvolvidos para identificar os fatores de risco associados à aquisição da toxoplasmose durante a gestação, mostrando grande número de fatores envolvidos e algumas variações regionais<sup>23, 49, 78, 79, 81</sup>. A incerteza quanto aos fatores responsáveis pela infecção em determinada região, faz com que a gestante suscetível seja orientada em relação a um grande número deles, diminuindo a probabilidade de adesão pela mãe e limitando a eficiência das medidas educativas<sup>23</sup>. Portanto, é de fundamental importância, para orientação profilática mais efetiva, o conhecimento dos hábitos de vida associados com a aquisição da infecção local ou regionalmente.

A prevalência da toxoplasmose aumenta com a idade, provavelmente devido a oportunidades repetidas de exposição. Nos países em desenvolvimento, a infecção começa a ser adquirida ainda na infância<sup>67</sup> e espera-se que a infecção seja mais comum entre as mulheres mais jovens, especialmente as adolescentes<sup>49</sup>. Em países desenvolvidos, como os EUA, observou-se que a idade média das mães das crianças infectadas foi de 24-29 anos, refletindo, provavelmente, a priminfecção mais tardia<sup>45</sup>. No presente estudo, observou-se que a média da idade das mães das crianças infectadas (casos) foi de 22,8 anos (desvio padrão = 4,3 anos), menor do que nos controles ( $p=0,009$ ), o que está em acordo com achados de outros autores<sup>79, 73</sup>. Em um estudo prospectivo realizado em Goiânia, Brasil, os pesquisadores observaram que a gestação constituiu risco 2,2 vezes maior de adquirir a infecção pelo *T. gondii* quando comparado com as não grávidas, mas que esse risco era 7,7 vezes maior entre as gestantes adolescentes<sup>49</sup>. Os autores justificam essa grande vulnerabilidade ao parasita pelas alterações no sistema imunológico e hormonal que ocorrem durante a gestação.

Esperava-se que o grupo casos, em relação ao controle, tivesse menos acesso às consultas do pré-natal, o que poderia estar relacionado a uma orientação profilática insuficiente e menor oportunidade de identificação da infecção aguda. No presente estudo observou-se que a média e mediana (6) do número de consultas no pré-natal do grupo casos foram menores do que no grupo controles (7), mas seis consultas é considerado um número adequado, segundo as orientações do Ministério da Saúde do Brasil, sendo relatada em outros estudos<sup>76</sup>. Considerou-se, portanto, que a diferença observada apresentou relevância clínica discutível, embora desconheça-se a distribuição dessas consultas ao longo do pré-natal, o que poderia interferir com uma orientação

profilática mais eficaz. Em estudo transversal realizado em Belo Horizonte entre 2004-2005, Carellos<sup>68</sup> não observou diferença entre o número de consultas realizadas no pré-natal pelo grupo de mães suscetíveis e pelo grupo “imune” e mostrou que o acesso das gestantes ao pré-natal em Belo Horizonte foi de 98,8% na amostra estudada.

Para maior precisão do período em que a gestante adquiriu a toxoplasmose, se antes ou durante a gestação, é fundamental que o primeiro exame seja realizado o mais precocemente possível, ainda no primeiro trimestre da gravidez. Infelizmente, alguns estudos brasileiros têm mostrado que a média de início do pré-natal ultrapassa as 12 primeiras semanas, o que dificulta a precisão do período em que a mulher adquiriu a toxoplasmose<sup>68, 76, 100</sup>. Nesse estudo, as crianças foram infectadas a partir do segundo trimestre de gestação, fato também verificado em outro estudo utilizando a metodologia de triagem pré-natal em sangue seco<sup>76</sup>. Estudos que utilizam a metodologia da triagem neonatal relatam a menor proporção de identificação de crianças infectadas no primeiro trimestre devido à não detecção, ao nascimento, de IgM produzida pela criança.

Observou-se no presente estudo que a maioria das mães das crianças infectadas apresentou soroconversão durante a gestação ou perfil sorológico de infecção inicial (IgM positivo isolado no primeiro exame, IgG mostrando títulos em elevação), o que está em acordo com outros estudos<sup>134</sup>.

No presente estudo, a proporção de mães das crianças infectadas que recordaram ter apresentado sinais/sintomas compatíveis com toxoplasmose congênita foi muito pequeno (15%), em acordo com achados de outros pesquisadores que relatam ser a maioria das toxoplasmoses adquiridas assintomáticas<sup>45</sup>. Mesmo quando sintomáticas,

observa-se que essas manifestações, em geral, não resultam em investigação específica e diagnóstico da infecção<sup>45</sup>, como verificado também na amostra estudada, exceto se a gestante apresenta alterações no ultra-som obstétrico ou se é realizada triagem sistemática.

De acordo com vários estudos, entre os principais fatores de risco associados à aquisição da toxoplasmose estão: nível de escolaridade materna menor que quatro anos<sup>50</sup>; número de gestações maior que três; ingestão de carne crua ou mal-cozida<sup>23, 64, 78, 79, 81</sup>; ingestão de água não tratada<sup>80, 82</sup>; possuir gato<sup>78</sup>; comer vegetais e frutas crus ou não lavados, fora de casa<sup>23, 78</sup>; ter hábitos de higiene precário em relação às mãos<sup>78</sup>; lavar com pouca frequência as facas de cozinha utilizadas no preparo de carne<sup>23</sup>; limpar caixa de dejetos dos gatos<sup>23</sup>; contato com o solo<sup>79</sup>; atividade profissional relacionada ao solo<sup>77</sup>; falta de orientação precoce durante a gestação sobre como evitar fontes de *T. gondii*<sup>12, 73, 78, 237</sup>. Alguns pesquisadores também destacam<sup>50</sup>: a gestação; baixa renda; falta de condições sanitárias adequadas; ingestão de ovos crus ou mal cozidos; ingestão de leite de cabra não pasteurizado e geofagia.

Em relação ao número de anos estudados pelas mães avaliadas, não foi observado diferença significativa entre casos e controles. Carellos<sup>68</sup>, estudando puérperas em Belo Horizonte, comparou mulheres suscetíveis e não suscetíveis em relação à escolaridade, observando entre as primeiras maior escolaridade e recebimento, com maior frequência, de informações sobre medidas de profilaxia para toxoplasmose. O desenho do estudo não permitiu determinar se a maior escolaridade contribuiu para que essas mulheres fossem suscetíveis, pois teriam mais chance de praticar hábitos de higiene saudáveis, ou

se, por apresentarem maior nível educacional, estiveram mais propensas a se lembrar das orientações recebidas (variável dependente da memória das mulheres).

A ausência de informação, dada pelos profissionais de saúde responsáveis pelo atendimento da gestante, sobre as formas de aquisição da infecção pelo *Toxoplasma gondii*, foi o fator mais frequentemente (90% no grupo de casos) associado à infecção nesse estudo (OR=7,48; IC95%:1,49; 37,69) e foi também verificado em 59,6% de 412 puérperas entrevistadas em duas maternidades em Belo Horizonte<sup>68</sup>. Em países desenvolvidos tem sido relatado que os obstetras geralmente orientam suas pacientes quanto à prevenção da toxoplasmose, mas a principal orientação (limpeza da caixa de dejetos dos gatos) nem sempre está relacionada ao principal fator de risco (comer carne mal cozida) associado à infecção<sup>95, 264</sup>. Pesquisadores, estudando gestantes com maior nível de escolaridade, observaram que um número significativo delas não tinha clareza sobre as formas de aquisição da toxoplasmose<sup>96</sup>. Na França e na Áustria, onde as medidas educativas para profilaxia da toxoplasmose fazem parte da rotina, observou-se redução de aproximadamente 50% na taxa de infecção<sup>4</sup>, significando que outras medidas são necessárias para completa identificação das crianças infectadas.

No presente estudo, observou-se que ter gato em casa constituiu fator de risco para toxoplasmose (OR=4,47; IC95%:1,34; 14,94). Os gatos são comuns em Belo Horizonte e foram relatados como presentes na vizinhança de mais de 60% de todas as mulheres entrevistadas, reforçando a expectativa de que o ambiente seja amplamente contaminado com o parasita. Exposição a gatos e suas fezes tem sido considerada um fator de risco importante para toxoplasmose, embora não haja unanimidade entre os pesquisadores, não tendo sido observado em dois estudos envolvendo gestantes<sup>79, 265</sup>. A

presença de oocistos, eliminados pelas fezes dos gatos, é condição fundamental para a manutenção da infecção na área, mas tem sido salientado que o indivíduo pode se infectar independente da exposição aos gatos, através de outras fontes de infecção, e o fato do indivíduo ter um gato, se este é alimentado com ração, não o coloca em risco para toxoplasmose<sup>88</sup>, devendo ser investigado aspectos da higiene pessoal. Os gatos eliminam oocistos apenas durante algumas semanas das suas vidas e a possibilidade de transmissão da infecção pelo contato das mãos acariciando os gatos é mínimo ou inexistente<sup>266</sup>. Por isso, a investigação sorológica do gato para avaliação de risco para infecção humana deve ser desencorajada, pois a prevalência no animal é geralmente semelhante à dos humanos, e a soropositividade dos gatos não tem relação com a eliminação de oocistos<sup>88</sup>. Uma possível explicação para o risco aumentado de toxoplasmose pela presença do gato no domicílio, observado nesse estudo, pode ser a exposição mais íntima a um animal sujeito a reinfecções por transitar em ambiente externo contaminado pelo parasita e que, por ser de estimação, teria possibilidade de frequentar locais de descanso dos moradores da casa. Essa maior proximidade com o animal poderia expor esses moradores da forma como ficam expostos aqueles que “limpam caixa de dejetos dos gatos”, considerado como risco por alguns pesquisadores<sup>23</sup>. Na amostra estudada, esse comportamento (limpar caixa de dejetos) não fez parte da rotina dos entrevistados, que relataram dar liberdade para o gato andar pela vizinhança e permanecer parte do dia em ambiente externo, tornando os gatos potencialmente infectados.

O contato com o solo não foi identificado como fator de risco no presente estudo, sendo relatado por poucas mulheres nos dois grupos, casos e controles, e embora seja um fator associado ao maior risco de toxoplasmose por alguns pesquisadores<sup>77</sup>, essa associação

não é identificada por outros<sup>79</sup>. O estudo foi desenvolvido em região urbana, onde o contato com solo é naturalmente menor. Pode ter ocorrido, nesse estudo, viés de memória ou erro na elaboração ou entendimento das questões relacionadas com as atividades ligadas à terra, possibilidade aventada por outros pesquisadores<sup>79</sup>.

O consumo de carne crua ou mal cozida foi um fator de risco para a infecção no presente estudo (OR=4,65; IC95%:1,26; 17,20), mas o tamanho de amostra não permitiu analisar o tipo de carne consumida. Os bovinos e suínos podem estar envolvidos, sendo os suínos freqüentemente consumidos em Minas Gerais. A carne de galinha também é consumida freqüentemente, mas geralmente bem cozida, e esse animal raramente contém cistos viáveis. Deve-se destacar que não é raro a criação de porcos extensivamente em pequenos espaços, o que os tornaria expostos à infecção por pastarem livremente no quintal. Também contribui para tornar a carne um fator de risco, o fato da maior parte da população de baixa renda não ter hábito de consumir carne congelada, o que eliminaria os cistos porventura existentes na carne. A carne de boi, menos parasitada, pode transmitir a infecção pela freqüência do seu consumo, principalmente “mal passada”. A associação entre toxoplasmose aguda e manipulação e/ou consumo de carne crua ou mal cozida tem sido relatada em vários estudos<sup>23, 64, 78, 79</sup>, embora não tenha sido observada em outros<sup>267, 268</sup>. O tipo de carne, entretanto, é variável, sendo mais comuns as carnes de suínos, ovinos, caça e carnes de porco defumadas, embora carne de bovino também seja relatada<sup>78</sup>. Alguns autores sugerem uma menor associação entre consumo de carne de boi e toxoplasmose, atribuído ao fato dos bovinos desenvolverem infecção latente menos freqüentemente do que ovinos e suínos<sup>23</sup>.

Ingerir ovo cru ou mal cozido também foi associado à maior frequência de toxoplasmose na amostra estudada (OR=5,15; IC95%:1,67; 15,89), achado concordante com outro estudo realizado em Goiânia<sup>50</sup>, embora esse não seja considerado um fator de risco importante por outros pesquisadores<sup>4</sup>.

Não foi observada associação significativa entre observar gatos na vizinhança, experimentar comida enquanto cozinha, lidar com a terra (trabalho ou jardinagem); ingerir vegetal cru e comer fora de casa. Alguns autores têm encontrado associação entre o consumo de água não tratada e toxoplasmose<sup>39, 80</sup>. No presente estudo, todas as mães entrevistadas consumiam água distribuída pelo sistema de abastecimento de água do município e, por residirem em área urbana, tinham pouco hábito de cultivar vegetais em casa.

Kapperud et al.<sup>23</sup> sugeriram que para maior eficácia as orientações profiláticas devem estar relacionadas aos fatores de risco observados numa determinada população. Em Belo Horizonte observou-se desinformação quanto aos fatores de risco para aquisição da infecção, gestantes jovens expostas ao consumo de carne e ovos crus ou mal cozidos e ambientes com grande população de gatos. Embora a avaliação de fatores de risco realizada no presente estudo apresente limitações, principalmente pela seleção da amostra, ela fornece informações que podem ser úteis no planejamento das medidas educativas oferecidas durante o pré-natal e motivadoras para elaboração de um estudo tipo caso-controle para melhor conhecimento dessa realidade regional. A associação observada por vários pesquisadores e sugerida nesse estudo, de que a prevalência da toxoplasmose é maior em grupos economicamente menos favorecidos, reforça a necessidade de programas que facilitem a inclusão dessa população<sup>14, 60, 80</sup>.



### 6.2.6. Considerações finais

Remington et al.<sup>4</sup> dizem com muita propriedade que em países onde não são realizados exames laboratoriais sistemáticos das gestantes e/ou neonatos para identificação da infecção pelo *T. gondii*, a maioria dos casos de toxoplasmose congênita não será identificada pois, a doença é rara (menos de 1 a 3 infectados por 1.000 nascidos vivos) e os recém-nascidos geralmente são assintomáticos. As pequenas lesões de retinocoroidite e alterações neurológicas ou calcificações intracranianas podem ser detectadas apenas na adolescência ou vida adulta.

Os resultados observados nesse estudo sugerem que a toxoplasmose congênita apresenta elevada prevalência em Belo Horizonte e, mesmo nas crianças com infecção subclínica, a ocorrência de lesão ocular é freqüente. Cerca de metade das crianças identificadas nesse estudo foram detectadas apenas pela triagem neonatal, mostrando um despreparo do atual programa de triagem pré-natal, vigente no município, para o diagnóstico das infecções adquiridas no final da gestação. Observou-se que, para o diagnóstico pós-natal, a sensibilidade aumenta significativamente com a associação de métodos sorológicos. Os exames devem ser realizados em laboratórios de referência, dada a complexidade da avaliação e as conseqüências do diagnóstico, levando, por vezes, a propedêuticas invasivas e repetição de exames. O encontro de déficit auditivo neurossensorial reforça a necessidade de oferecer a avaliação auditiva para todos os suspeitos dessa infecção congênita, pois existe um período crítico para a correção das deficiências e o bom desenvolvimento da criança. O tratamento da toxoplasmose congênita é factível, mas deve ser garantido o acesso gratuito à manipulação da

medicação específica, para permitir seu uso adequado pelo tempo previsto. E, finalmente, entre os fatores de risco para a toxoplasmose congênita, o mais importante foi a falta de informações profiláticas oferecidas pelos profissionais de saúde às gestantes suscetíveis, mostrando a necessidade de empenho desses profissionais nas ações educativas, fundamentais para evitar a infecção materna durante a gestação.

Para que a triagem pré-natal realizada em Belo Horizonte aumente sua sensibilidade diagnóstica e identifique as crianças com toxoplasmose congênita infectadas no final da gestação, deve-se acrescentar às orientações básicas do programa a recomendação de testar, após o parto, as puérperas que não realizaram exames durante o pré-natal ou que eram suscetíveis na última sorologia do pré-natal.

Os estudiosos têm muita dificuldade em avaliar a eficácia dos programas de triagem pré-natal para toxoplasmose, nos moldes da sua realização na França, mas o ganho das medidas educativas e do diagnóstico precoce pré-natal e/ou pós-natal, mesmo que a eficácia terapêutica durante a gestação seja duvidosa, é inquestionável.

Bader et al.<sup>18</sup> utilizaram análise de decisão para comparar, em um país de baixa prevalência da infecção (EUA), as estratégias de nenhuma triagem com triagem universal durante a gestação, em dois momentos – início do pré-natal e em torno da 20ª semana de gestação. Observaram que o número de casos de toxoplasmose foi reduzido, mas aumentaram as perdas fetais (indução de aborto devido a resultados falso positivo, perda secundária à propedêutica fetal - amniocentese). Os autores apontaram as diversas limitações do estudo, mas sugeriram que a triagem universal durante o pré-natal, em seu

país, seria imprudente devido ao relativamente pequeno impacto da doença e às limitações do diagnóstico e terapêutica.

No Brasil, a toxoplasmose é um importante problema de saúde, sendo sua prevalência maior que a observada nas outras doenças incluídas no PETN-MG, equiparando-se apenas à doença falciforme. As evidências impõem a adoção de uma abordagem que evite a infecção congênita ou minimize seus danos para o desenvolvimento da criança. Qual a melhor estratégia? Essa decisão passa obrigatoriamente por avaliações regionais do impacto da doença, dos fatores envolvidos na sua perpetuação e, se existentes, dos programas de triagem vigentes, para correções e mudanças que possam melhorar seu desempenho. A investigadora acredita que as medidas educativas sejam fundamentais e independam do programa de triagem escolhido. A triagem pré-natal, desde que implantada adequadamente, pode contribuir para educação das gestantes suscetíveis, tratamento das gestantes agudamente infectadas, diagnóstico e tratamento precoce das crianças. Há necessidade de testar os filhos dessas gestantes de risco no período pós-natal e, para isso, a triagem neonatal poderia ser útil, contribuindo ainda para o diagnóstico dos filhos de gestantes que não tiveram acesso ao pré-natal. A pesquisadora espera que esse estudo contribua para o conhecimento da realidade local e elaboração de propostas de âmbito regional.

### **6.3. Perspectivas para novos estudos**

A necessidade do conhecimento da realidade regional para o estabelecimento de medidas adequadas de profilaxia da infecção, assim como para a melhor compreensão

das diferenças observadas entre casuísticas nacionais e as relatadas no hemisfério norte, tornam alguns aspectos da toxoplasmose prioritários para os próximos estudos:

- Determinar a prevalência da toxoplasmose congênita em Minas Gerais e suas variações regionais;
- Identificar, no Estado, os principais fatores de risco associados a aquisição da infecção na gestação, principalmente nas regiões de maior prevalência;
- Estudar as cepas de *Toxoplasma gondii* presentes nas crianças com toxoplasmose congênita em Minas Gerais;
- Estudar a resposta imunológica ao *Toxoplasma gondii* desenvolvida pelo binômio mãe/filho infectado;
- Avaliar a audição de crianças com toxoplasmose congênita, comparando-as com crianças não infectadas pelo *T. gondii*;
- Realizar ensaios clínicos para avaliação da eficácia terapêutica do tratamento pré-natal e pós-natal.

Esse último aspecto, por limitações éticas, apresenta dificuldade para ser investigado, embora seja um anseio de toda a comunidade científica. Espera-se que em futuro próximo grandes estudos colaborativos possam contribuir para o esclarecimento dessa questão.

## 7. CONCLUSÕES

---

1. A prevalência da toxoplasmose congênita em Belo Horizonte, no período de 2003-04, avaliada pela triagem neonatal (Programa Estadual de Triagem Neonatal de Minas Gerais), foi de seis casos para cada 10.000 nascidos vivos (0,06%).
2. Do total das crianças com toxoplasmose congênita identificadas nesse estudo, metade foi detectada apenas pela triagem neonatal, sendo a outra metade também identificada por outros métodos (triagem pré-natal e diagnóstico neonatal a partir de manifestações clínicas). Os casos identificados exclusivamente pela triagem neonatal, provavelmente foram decorrentes de infecção materna no final da gestação.
3. Os dois kits em papel filtro utilizados (Teste A=PLATELIA e Teste B=FEIA) para o diagnóstico da toxoplasmose congênita apresentaram boa concordância, com coeficiente Kappa igual a 0,73. Portanto, o teste A pode ser utilizado no processo de triagem neonatal para toxoplasmose com a mesma segurança que o teste B.
4. Isoladamente, os testes diagnósticos utilizados para confirmação da doença no primeiro semestre de vida apresentaram os seguintes resultados: o teste de IgM de captura anti-*Toxoplasma gondii* foi positivo em 50% das crianças com toxoplasmose congênita avaliadas entre um e três meses de idade e em 40% daquelas avaliadas após os três meses; o teste de IgA foi positivo em 71% das crianças avaliadas entre um e três meses de idade e em 20% daquelas avaliadas após os três meses; o IB-IgG identificou 77% das crianças avaliadas entre um e três meses de vida e 100% daquelas avaliadas após os três meses, contribuindo para o diagnóstico pós-natal da parasitose,

principalmente após o terceiro mês de vida, ocasião em que a IgM e IgA freqüentemente apresentam baixa sensibilidade.

5. O uso combinado dos três testes (IgM de captura, IgA e IB-IgG) anti-*Toxoplasma gondii* aumentou para 89% a sensibilidade para o diagnóstico da parasitose, no primeiro ano de vida das crianças estudadas.

6. A toxoplasmose congênita foi assintomática ao nascimento em 65% das crianças e, nas sintomáticas, observou-se: hepatoesplenomegalia, trombocitopenia, petéquias, microftalmia, hidrocefalia e catarata.

7. Em relação ao crescimento, observou-se que as crianças com toxoplasmose congênita apresentaram curvas de percentil de peso, comprimento e perímetro cefálico inferiores à média dos percentis do padrão NCHS e essa diferença diminuiu progressivamente durante os primeiros 12 meses de vida, mostrando uma recuperação que foi observada no índice de peso para idade (escore Z). Algumas crianças que apresentaram déficit do índice altura para a idade, persistiram com esse déficit ao longo do primeiro ano de vida, refletindo a intensidade da agressão causada pelo *Toxoplasma gondii* durante a vida intra-uterina e a maior dificuldade de recuperação.

8. A prevalência de retinocoroidite foi de 78,9% (15/19) nas crianças avaliadas ao final do seguimento de três anos e as lesões foram principalmente maculares.

9. Todas as crianças sintomáticas ao nascimento apresentaram retinocoroidite na primeira avaliação realizada até o terceiro mês de vida.

10. A retinocoroidite esteve presente em todas as crianças com calcificações cranianas.

11. Observou-se o aparecimento de novas lesões de retinocoroidite em duas crianças (10,5%) que apresentavam lesões previamente. A nova lesão foi periférica, não teve repercussão funcional e apareceu no terceiro ano de vida.

12. Observou-se deficiência auditiva neurossensorial em quatro crianças (21,1%), sendo que apenas uma delas apresentava outros fatores de risco para deficiência auditiva.

13. Na amostra estudada, a média de idade das mães das crianças com toxoplasmose congênita foi significativamente menor do que a média de idade do grupo controle.

14. Após realizar a análise multivariada ( $p < 0,05$ ) e o teste para verificar o ajuste do modelo de regressão logística ( $p = 0,411$ ), observou-se que os seguintes fatores representaram risco para aquisição da toxoplasmose na gestação: falta de informação sobre profilaxia para toxoplasmose durante a gestação, consumo de ovo cru ou mal cozido, consumo de carne crua ou mal cozida e presença de gatos em casa. As mães não informadas pelo profissional de saúde sobre medidas de profilaxia da infecção apresentaram uma chance sete vezes maior de ter toxoplasmose do que o grupo de mães informadas, sendo esse o fator de maior risco na amostra estudada.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

1. Frenkel JK. Toxoplasmose. In: Veronesi R, Focaccia R, editors. Veronesi: Tratado de infectologia. São Paulo: Atheneu; 1996. p. 1290-305.
2. Guerra MRL. Aspectos epidemiológicos da toxoplasmose humana em Belo Horizonte, MG. [Dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 1985.
3. Camargo MCV. Epidemiologia da infecção por *Toxoplasma gondii* no município de Ribeirão das Neves, MG. [Dissertação] Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 1987.
4. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, editors. Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. p. 947-1091.
5. Couvreur J. Le problème de la toxoplasmose congénitale. L'évolution sur quatre décennies. Presse Med. 1999;28(14):753-7.
6. Wilson CB, Remington JS, Stagno S, Reynolds DW. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital Toxoplasma infection. Pediatrics. 1980;66(5):767-74.
7. McLeod R, Boyer K, Karrison T, Kasza K, Swisher C, Roizen N, et al. Outcome of treatment for congenital toxoplasmosis, 1981-2004: the National Collaborative Chicago-Based, Congenital Toxoplasmosis Study. Clin Infect Dis. 2006;42(10):1383-94.
8. Carvalho AL. Estudo de 114 casos de toxoplasmose congênita acompanhados no setor de infectologia pediátrica do Departamento de Pediatria, FM-UFMG, no período de 1982-1996. [Dissertação]. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2001.
9. Safadi MA, Berezin EN, Farhat CK, Carvalho ES. Clinical presentation and follow up of children with congenital toxoplasmosis in Brazil. Braz J Infect Dis. 2003; 7(5):325-31.
10. Koppe JG, Loewer-Sieger DH, de Roever-Bonnet H. Results of 20-year follow-up of congenital toxoplasmosis. Lancet. 1986;1(8475):254-6.
11. Gilbert R. Toxoplasmosis. In: Newell ML, McAuley J, editors. Congenital and perinatal infections. Cambridge: Cambridge University Press; 2000. p. 305-20.
12. Bahia-Oliveira LMG, Abreu-Oliveira AMW, Azevedo-Silva J, Oréfice F. Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection. Intern J Parasitol. 2001;31:115-44.



13. Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Schulte J, Becker D, et al. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *International Journal of Epidemiology*. 2000;29:941-7.
14. Mozzatto L, Procianoy RS. Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil: a prospective study. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 2003;45(3):147-51.
15. Wallon M, Liou C, Garner P, Peyron F. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. *BMJ*. 1999;318(7197):1511-4.
16. Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional *Toxoplasma* Working Group. *N Engl J Med* 1994;330(26):1858-63.
17. Reis MM, Tessaro MM, d'Azevedo PA. Perfil sorológico para toxoplasmose em gestantes de um hospital público de Porto Alegre. *RBGO*. 2006;28(3):158-64.
18. Bader TJ, Macones GA, Asch DA. Prenatal screening for toxoplasmosis. *Obstet Gynecol*. 1997;90(3):457-64.
19. Eskild A, Oxman A, Magnus P, Bjorndal A, Bakketeig LS. Screening for toxoplasmosis in pregnancy: what is the evidence of reducing a health problem? *J Med Screen*. 1996;3(4):188-94.
20. Binquet C, Wallon M, Quantin C, Gadreau M, Peyron F. Evaluation of prevention strategies for congenital toxoplasmosis: a critical review of medico-economic studies. *Rev Epidemiol Sante Publique*. 2002;50(5):475-87.
21. Ricci M, Pentimalli H, Thaller R, Ravà L, Ciommo VD. 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.
22. Malgorzata P, Petersen E, Pawlowski Z, Szczapa J. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in the Poznan region of Poland by analysis of *Toxoplasma gondii*-specific IgM antibodies eluted from filter paper blood spots. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19(1):30-6.
23. Kapperud G, Jennum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: results of a prospective case-control study in Norway. *Am J Epidemiol* 1996;144(4):405-12.
24. Jones JL, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R. Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet Gynecol Surv*. 2001;56:296-305.
25. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev*. 1998;11:267-99.

26. Howe DK, Sibley LD. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages, correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis.* 1995;172:1561-6.
27. Ajzenberg D, Cogné N, Paris L, Bessières M-H, Thulliez P, Filisetti D, et al. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J Infect Dis.* 2002;186:684-9.
28. Grigg ME, Bonnefoy S, Hehl AB, Suzuki Y, Boothroyd JC. Success and virulence in *Toxoplasma* as the result of sexual recombination between two distinct ancestries. *Science.* 2001;294:161-5.
29. Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Lehmann T, Davis MF, et al. *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. *J Parasitol.* 2003;89(5):1060-2.
30. Sreekumar C, Graham DH, Dahl E, Lehmann T, Raman M, Bhalerao DP, et al. Genotyping of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from India. *Vet Parasitol.* 2003;118(3-4):187-94.
31. Dubey JP, Karhemere S, Dahl E, Sreekumar C, Diabate A, Dabire KR, et al. First biologic and genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens from Africa (Democratic Republic of Congo, Mali, Burkina Faso, and Kenya). *J Parasitol.* 2005;91(1):69-72.
32. Dubey JP, Morales ES, Lehmann T. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. *J Parasitol.* 2004;90(2):411-3.
33. Dubey JP, Navarro IT, Sreekumar C, Dahl E, Freire RL, Kawabata HH, et al. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Parana, Brazil: seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates. *J Parasitol.* 2004;90(4):721-6.
34. Pena HF, Soares RM, Amaku M, Dubey JP, . SMG. *Toxoplasma gondii* infection in cats from Sao Paulo state, Brazil: seroprevalence, oocyst shedding, isolation in mice, and biologic and molecular characterization. *Res Vet Sci.* 2006;81(1):58-67.
35. Dubey JP, Levy MZ, Sreekumar C, Kwok OC, Shen SK, Dahl E, et al. Tissue distribution and molecular characterization of chicken isolates of *Toxoplasma gondii* from Peru. *J Parasitol.* 2004;90(5):1015-8.
36. Ferreira AM, Vitor RW, Gazzinelli RT, Melo MN. Genetic analysis of natural recombinant Brazilian *Toxoplasma gondii* strains by multilocus PCR-RFLP. *Infect Genet Evol.* 2006;6:22-31.
37. Khan A, Jordan C, Muccioli C, Vallochi AL, Rizzo LV, Jr. RB, et al. Genetic Divergence of *Toxoplasma gondii* Strains Associated with Ocular Toxoplasmosis, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:942-9.

38. Moura L, Bahia-Oliveira LMG, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(2):326-9.
39. Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, et al. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. *Lancet.* 1997;350:1255-6.
40. Bonametti AM, Passos JN, Silva EMK, Bortoliero AL. Surto de toxoplasmose aguda transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1997;30(1):21-5.
41. Couvreur J, Desmots G, Thulliez P. Toxoplasmose congénitale: cinq cas de transmission à l'enfant d'une infection maternelle antérieure à la grossesse. *Presse Med.* 1990;19:1445-9.
42. Vogel N, Kirisits M, Michael E, et al. E. Congenital toxoplasmosis transmitted from an immunologically competent mother infected before conception. *Clin Infect Dis.* 1996;23:1055-60.
43. Araujo F, Slifer T, Kim S. Chronic infection with *Toxoplasma gondii* does not prevent acute disease or colonization of the brain with tissue cysts following reinfection with different strains of the parasite. *J Parasitol.* 1997;83(3):521-2.
44. Garweg JG, Scherrer J, Wallon M, Kodjikian L, Peyron F. Reactivation of ocular toxoplasmosis during pregnancy. *BJOG.* 2005;112(2):241-2.
45. Boyer KM, Holfels E, Roizen N, Swisher C, Mack D, Remington J, et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: implications for prenatal management and screening. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;192:564-71.
46. Hohlfeld P, Daffos F, Thulliez P, Aufrant C, Couvreur J, MacAleese J, et al. Fetal toxoplasmosis: outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. *J Pediatr.* 1989;115(5 Pt 1):765-9.
47. 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. *J Clin Microbiol.* 1998;36(10):2900-6.
48. Lebech M, Andersen O, Christensen NC, et al. Feasibility of neonatal screening for *Toxoplasma* infection in the absence of prenatal treatment. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group. *Lancet.* 1999;353(9167):1834-7.
49. Avelino MM, Campos DJ, Parada JCB, Castro AM. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2003;108(1):19-24.
50. Avelino MM, Campos DJ, Parada JB, Castro AM. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of childbearing age. *BJID.* 2004;8(2):164-74.

51. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. *Lancet*. 1999;353(9167):1829-33.
52. Gavinet MF, Robert F, Firtion G, Delouvrier E, Hennequin C, Maurin JR, et al. Congenital toxoplasmosis due to maternal reinfection during pregnancy. *J Clin Microbiol*. 1997;35(5):1276-7.
53. Hennequin C, Dureau P, N'Guyen L, Thulliez P, Gagelin B, Dufier JL. Congenital toxoplasmosis acquired from an immune woman. *Pediatr Infect Dis J*. 1997;16:75-6.
54. Pons JC, Sigrand C, Grangeot-Keros L, Frydman R, Thulliez P. Toxoplasmose congénitale: transmission au fœtus d'une infection maternelle antéconceptionnelle. *Presse Med*. 1995;24:179-82.
55. Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M, Thulliez P, Aufrant C, Valenti D, et al. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N Engl J Med*. 1988 Feb 4;318(5):271-5.
56. Gras L, Gilbert RE, Ades AE, Dunn DT. Effect of prenatal treatment on the risk of intracranial and ocular lesions in children with congenital toxoplasmosis. *Int J Epidemiol*. 2001 Dec;30(6):1309-13.
57. Henderson JB, Beattie CP, Hale EG, Wright T. The evaluation of new services: possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *Int J Epidemiol*. 1984 Mar;13(1):65-72.
58. Lynfield R, Hsu HW, Guerina NG. Screening methods for toxoplasma and risk of disease. *Lancet*. 1999;353(9168):1899-900.
59. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. *J Perinat Med*. 2000;28(5):337-45.
60. Segundo GR, Silva DA, Mineo JR, Ferreira MS. Congenital toxoplasmosis in Uberlandia, MG, Brazil. *J Trop Pediatr*. 2004 Feb;50(1):50-3.
61. Paul M, Petersen E, Pawlowski Z, Szczapa J. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in the Poznan region of Poland by analysis of *Toxoplasma gondii*-specific IgM antibodies eluted from filter paper blood spots. *Pediatr Infect Dis J*. 2000;19(1):30-6.
62. Vaz AJ, Guerra EM, Ferratto LCC, Toledo LAS, Neto RSA. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em centros de saúde de área metropolitana, Brasil. *Rev Saúde Públ S Paulo*. 1990;24:373-9.
63. Guimarães ACS, Kawarabayashi M, Borges MM, Tolezano JE, Jr ILFA. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo Metropolitan region. *rev Soc Bras Med Trop São Paulo*. 1993;35:479-83.

64. Bobic B, Jevremovic I, Marinkovic J, Sibalic D, Djurkovic-Djakovic O. Risk factors for Toxoplasma infection in a reproductive age female population in the area of Blegrade, Yugoslavia. *Eur J Epidemiol.* 1998;14:605-10.
65. Larsen SO, Lebech M. Models for prediction of the frequency of toxoplasmosis in pregnancy in situations of changing infections rates. *Int J Epidemiol.* 1994;23:1309-14.
66. Naoi K, Yano A. A theoretical analysis of the relations between the risk of congenital toxoplasmosis and the annual infection rates with a convincing argument for better public intervention. *Parasitol Int.* 2002;51:187-94.
67. Andrade GMQ. Estudo de prevalência da toxoplasmose-infecção entre crianças de 0-12 anos de idade matriculadas no Ambulatório Geral de Pediatria do Hospital das Clínicas da UFMG. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 1994.
68. Carellos EVM. Avaliação da aplicação do protocolo de triagem pré-natal para toxoplasmose em Belo Horizonte: estudo transversal em puérperas de duas maternidades. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2006.
69. Rey LC, Ramalho ILC. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceará, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 1999;41:171-4.
70. Reiche EMV, Morimoto HK, Farias GN, Hiosatsugu KR, Geller L, Gomes ACLF, et al. Prevalência de tripanosomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). *Rev Soc Bras Med Trop.* 2000;33:519-27.
71. Pereira AK, Cabral ACV, Leite RBS, José VG. Estudo de Prevalência de Toxoplasmose, Rubéola e Sífilis em gestantes do Hospital das Clínicas - UFMG. *Femina.* 2001;29(04):233-7.
72. 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.
73. Varella IS, Wagner MB, Darella AC, Nunes LM, Müller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes. *J Pediatr (Rio J).* 2003;79:69-74.
74. Stella JH. Rastreamento pré-natal para toxoplasmose na rede básica de saúde em Campinas - prevalência dos diferentes perfis sorológicos e comparação da rotina vigente com uma nova proposta. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2004.
75. Leão PRD, Filho JM, Medeiros SF. Toxoplasmose: soroprevalência em puérperas atendidas pelo Sistema Único de Saúde. *Revista Brasileira Ginecologia Obstetrícia.* 2004;26:627-32.

76. Figueiró-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, Júnior VGS, 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.
77. Weigel RM, Dubey JP, Dyer D, Siegel AM. Risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* for residents and workers on swine farms in Illinois. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60(5):793-8.
78. Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carme B. Risk factors for toxoplasma infection in pregnancy: a case-control study in France. *Scand J Infect Dis.* 1999;31:305-9.
79. Cook AJC, Gilbert RE, Buffolano W, Zufferey J, Petersen E, Jenum PA, et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *BMJ.* 2000;321(7254):142-7.
80. Bahia-Oliveira LMG, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CCF, Oréface F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(1):55-62.
81. Buffolano W, Gilbert RE, Holland FJ, Fratta D, Palumbo F, Ades AE. Risk factors for recent toxoplasma infection in pregnant women in Naples. *Epidemiol Infect* 1996;116(3):347-51.
82. Benenson MW, Takafuji ET, Lemon SM, Greenup RL, Suizer AJ. Oocyst-transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med.* 1982;307(11):666-9.
83. Ertug S, Okyay P, Turkmen M, Yuksel H. Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. *BMC Public Health.* 2005;5(1):66-71.
84. Jenum PA, Kapperud G, Stray-Pedersen B, Melby KK, Eskild A, Eng J. Prevalence of *Toxoplasma gondii* specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway. *Epidemiol Infect.* 1998;120(1):87-92.
85. Roghmann MC, Faulkner CT, Lefkowitz A, et al. Decreased seroprevalence for *Toxoplasma gondii* in Seventh Day Adventists in Maryland. *Am J Trop Med Hyg.* 1999;60:790-2.
86. Wallace GD. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by cockroaches. *J Infect Dis.* 1972;126:545-7.
87. Desmonts G, Hassanein RS, Brow E. Transmission of *T. gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil. *Am J Trop Med Hyg.* 1995;53(5):458-68.
88. Montoya JC. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 2002;185(Suppl 1):S72-82.

89. Owen MR, . AJT. Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* from chronically infected house (Mus musculus) and field (Apodemus sylvaticus) mice determined by polymerase chain reaction. Parasitol Res. 1998;116(Pt 4):299-304.
90. Webster JP, Brunton CF, MacDonald DW. Effect of *Toxoplasma gondii* upon neophobic behaviour in wild brown rats, Rattus norvegicus. Parasitol Res. 1994;109(Pt 1):37-43.
91. Carneiro ACAV. Soroepidemiologia da toxoplasmose caprina e ovina no estado de Minas Gerais. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2006.
92. Esteban-Redondo I, Innes EA. Toxoplasma gondii infection in sheep and cattle. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 1997;20(2):191-6.
93. Chiari CA, Lima JD, Lima WS, Antunes CMF. Soroepidemiologia da toxoplasmose caprina em Minas Gerais. Arq Bras Med Vet Zootec. 1987;39:587-600.
94. Newton LH, Hall SM. A survey of health education material for the primary prevention of congenital toxoplasmosis. Commun Dis Rep CDR Rev. 1995;5(2):R21-7.
95. Jones JL, Dietz VJ, Power M, Lopez A, Wilson M, Navin T, et al. Survey of obstetrician-gynecologists in the United States about toxoplasmosis. Infect Dis Obstet Gynecol. 2001;9:23-31.
96. Jones JL, Ogunmodede F, Scheftel J, Kirkland E, Lopez A, Schulkin J, et al. Toxoplasmosis-related knowledge and practices among pregnant women in the United States. Infect Dis Obstet Gynecol. 2003;11:139-45.
97. Camargo ME. Toxoplasmose. In: Ferreira AW, Ávila SLM, editors. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2001. p. 278-88.
98. Lappalainen M, Hedman K. Serodiagnosis of toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. Ann Ist Super Sanita. 2004;40(1):81-8.
99. Jenun PA, Stray-Pedersen B, Gundersen A-G. Improved diagnosis of primary Toxoplasma gondii infection in early pregnancy by determination of antitoxoplasma immunoglobulin G avidity. J Clin Microbiol. 1997;35(8):1972-7.
100. Reis MM, Tessaro MM, D'Azevedo PA. Toxoplasma-IgM and IgG-avidity in single samples from areas with a high infection rate can determine the risk of mother-to-child transmission. Rev Inst Med Trop S Paulo. 2006;48(2):93-8.
101. Flori P, Tardy L, Patural H, Bellete B, Varlet M-N, Hafid J, et al. Reliability of immunoglobulin G antitoxoplasma avidity test and effects of treatment on avidity indexes of infants and pregnant women. Clin Diagn Lab Immunol. 2004;11(4):669-74.
102. Lebech M, Joynson DH, Seitz HM, Thulliez P, Gilbert R, 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;15:799-805.

103. Roberts A, Hedman K, Luyasu V, Zufferey J, Bessières M-H, Blatz R-M, et al. Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2001;20:467-74.

104. Roberts A, Hedman K, Luyasu V, Zufferey J, Bessières MH, Blatz RM, et al. Multicenter evaluation of strategies for serodiagnosis of primary infection with *Toxoplasma gondii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2001;20(7):467-74.

105. Liesenfeld O, Montoya JG, Tathineni NJ, Davis M, Brown BWJ, Cobb KL, et al. Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortions among women reported to have positive *Toxoplasma* immunoglobulin M antibody titers. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184(2):140-5.

106. Pinon JM, Foudrinier F, Mougeot G, Marx C, Aubert D, Toupance O, et al. Evaluation of risk and diagnostic value of quantitative assays for anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin A (IgA), IgE, and IgM and analytical study of specific IgG in immunodeficient patients. *J Clin Microbiol*. 1995;33(4):878-84.

107. Robert-Gangneux F, Gavinet MF, Ancelle T, Raymond J, Tourte-Schaeffer C, Dupouy-Camet J. Value of prenatal diagnosis and early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: retrospective study of 110 cases. *J Clin Microbiol*. 1999;37(9):2893-8.

108. Foulon W, Pinon JM, Stray-Pedersen B, Pollak A, Lappalainen M, Decoster A, et al. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: a multicenter evaluation of different diagnostic parameters. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;181(4):843-7.

109. Ho-Yen DO, Joss AW, Balfour AH, Smyth ET, Baird D, Chatterton JM. Use of the polymerase chain reaction to detect *Toxoplasma gondii* in human blood samples. *J Clin Pathol*. 1992;45(10):910-3.

110. Romand S, Chosson M, Franck J, Wallon M, Kieffer F, Kaiser K, et al. Usefulness of quantitative polymerase chain reaction in amniotic fluid as early prognostic marker of fetal infection with *Toxoplasma gondii*. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190(3):797-802.

111. Thalib L, Gras L, Romand S, Prusa A, Bessieres MH, Petersen E, et al. Prediction of congenital toxoplasmosis by polymerase chain reaction analysis of amniotic fluid. *BJOG*. 2005;112(5):567-74.

112. Pelloux H, Fricker-Hidalgo H, Pons JC, Bost-Bru C, Brenier-Pinchart MP, Jouk PS, et al. [Congenital toxoplasmosis: prevention in the pregnant woman and management of the neonate]. *Arch Pediatr*. 2002 Feb;9(2):206-12.

113. Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B, et al. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicentre study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180:410-5.



114. Hohlfeld P, Daffos F, Costa JM, Thulliez P, Forestier F, Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med*. 1994;331(11):695-9.
115. Desmonts G, Couvreur J. Congenital toxoplasmosis. Prospective study of the outcome of pregnancy in 542 women with toxoplasmosis acquired during pregnancy. *Ann Pediatr (Paris)*. 1984;31(10):805-9.
116. Couvreur J, Thulliez P, Daffos F, Aufrant C, Bompard Y, Gesquiere A, et al. In utero treatment of toxoplasmosis foetopathy with the combination pyrimethamine-sulfadiazine. *Fetal Diagn Ther*. 1993;8:45-50.
117. Gilbert RE, Dunn DT, Wallon M, et al. Ecological comparison of the risks of mother to child transmission and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis according to prenatal treatment protocol. *Epidemiol Infect*. 2001;127:113-20.
118. Gilbert RE, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, Dunn D. Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: a cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. *Int J Epidemiol*. 2001;30:1303-8.
119. Eskild A, Magnus P. Commentary: Little evidence of effective prenatal treatment against congenital toxoplasmosis - the implications for testing in pregnancy. *Int J Epidemiol*. 2001;30(6):1314-5.
120. Thulliez P. Commentary: Efficacy of prenatal treatment for toxoplasmosis: a possibility that cannot be ruled out. *Int J Epidemiol*. 2001;30(6):1315-6.
121. Gilbert R, Gras L. European Multicentre Study on Congenital Toxoplasmosis. Effect of timing and type of treatment on the risk of mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*. *BJOG*. 2003;110(2):112-20.
122. Gras L, Wallon M, Pollak A, Cortina-Borja M, Evengard B, Hayde M, et al. Association between prenatal treatment and clinical manifestations of congenital toxoplasmosis in infancy: a cohort study in 13 European centres. *Acta Paediatr*. 2005;94(12):1721-31.
123. Thiébaud R, Leroy V, Alioum A, Binquet C, Poizat G, Salmi LR, et al. Biases in observational studies of the effect of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2006;124:3-9.
124. SYROCOT (Systematic Review on Congenital Toxoplasmosis) study group; Thiebaut R LS, Chene G, Gilbert R. . Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients' data. *Lancet*. 2007;369(9556):115-22.
125. 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.

126. Evengård B, Petersson K, Engman ML, Wiklund S, Ivarsson SA, Tear-Fahnehjelm K, et al. Low incidence of toxoplasma infection during pregnancy and in newborns in Sweden. *Epidemiol Infect.* 2001;127(1):121-7.
127. Lago EG. Estratégias de controle da toxoplasmose congênita. Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2006.
128. Carvalheiro CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, Souza CBS, Maciel LMZ. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect.* 2005;133(3):485-91.
129. Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R. Newborn screening for congenital infectious diseases. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(6):1069-73.
130. Diniz EMA, Camargo ME, Vaz FAC. Toxoplasmose congênita. In: Diniz EMA, Vaz FAC, editors. Infecções congênicas e perinatais. São Paulo: Livraria Atheneu Editora; 1991. p. 31-72.
131. Stagno S, Reynolds DW, Amos CS, Dahle AJ, McCollister FP, Mohindra I, et al. Auditory and visual defects resulting from symptomatic and subclinical congenital cytomegaloviral and toxoplasma infections. *Pediatrics.* 1977 May;59(5):669-78.
132. Meenken C, Assies J, van Nieuwenhuizen O, Holwerda-van der Maat WG, van Schooneveld MJ, Delleman WJ, et al. Long term ocular and neurological involvement in severe congenital toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol.* 1995 Jun;79(6):581-4.
133. Freeman K, Oakley L, Pollak A, Buffolano W, Petersen E, Semprini AE, et al. Association between congenital toxoplasmosis and preterm birth, low birthweight and small for gestational age birth. *BJOG.* 2005;112(1):31-7.
134. Lappalainen M, Koskiniemi M, Hiilesmaa V, Ammälä 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.
135. Wong SY, Remington JS. Toxoplasmosis in Pregnancy. *Clin Infect Dis.* 1994;18:853-62.
136. Sibley LD, Howe DK. Genetic basis of pathogenicity in toxoplasmosis. *Curr Top Microbiol Immunol.* 1996;219:3-15.
137. Cristina N, Dardé ML, Boudin C, Tavernier G, al e. A DNA fingerprinting method for individual characterization of *T. gondii* strains, combination with isoenzymatic characters for determination of linkage groups. *Parasitol Res.* 1995;81:32-7.
138. Gazzinelli RT, Hakim FT, Hieny S, Shearer GM, Sher A. Synergistic role CD4+ and CD8+ t lymphocytes in INF-gamma production and protective immunity induced by an attenuated *Toxoplasma gondii* vaccine. *J Immunol.* 1991;146:286-92.

139. Suzuki Y, Orellana MA, Schreiber RD, Remington JS. Interferon-g: The major mediator of resistance against *Toxoplasma gondii*. *Science*. 1988;240:516–8.
140. Gazzinelli R, Yuhui X, Hieny S, Cheever A, Sher A. Simultaneous depletion of CD4+ and CD8+ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*. *J Immunol*. 1992;149:175 – 80.
141. Subauste CS, Koniaris AH, Remington JS. Murine CD8+ cytotoxic T Lymphocytes lyse *Toxoplasma gondii*-infected cells. *J Immunol*. 1991;147:3955–9.
142. Jacobson NG, Szabo SJ, Weber-Nordt RM, Zhong Z, al. e. Interleukin 12 signaling in T helper type 1 (Th1) cells involves tyrosine phosphorylation of signal transducer and activator of transcription (Stat)3 and Stat4. *J Exp Med*. 1995;181:1755–62.
143. Yamamoto JH, Vallochi AL, Silveira C, Filho JK, Nussenblatt RB, Cunha-Neto E, et al. Discrimination between patients with acquired toxoplasmosis and congenital toxoplasmosis on the basis of the immune response to parasite antigens. *J Infect Dis*. 2000 Jun;181(6):2018-22.
144. McLeod R, Beem OM, Estes RG. Lymphocyte anergy specific to *Toxoplasma gondii* in a baby with congenital toxoplasmosis. *J Clin Lab Immunol*. 1985;17:149-53.
145. Kahi S, Cozon GJN, Peyron F. Early detection of cellular immunity in congenital *Toxoplasma gondii*-infected children. *Pediatr Infect Dis J*. 1998;18:846–7.
146. Fatoohi AF, Cozon GJN, Wallon M, Kahi S, al. e. Cellular Immunity to *Toxoplasma gondii* in Congenitally Infected Newborns and Immunocompetent Infected Hosts. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005;22:181–4.
147. Pinon JM, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E, Lebech M, et al. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J Clin Microbiol*. 2001;39(6):2267-71.
148. Naessens A, Jenum A, Pollak A, Decoster A, Lappalainen M, Villena i, et al. Diagnosis of congenital toxoplasmosis in the neonatal period: a multicenter evaluation. *J Pediatr*. 1999;135(6):714-9.
149. Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Racinet C, Grefenstette I, Bost-Bru C, Goullier-Fleuret A, et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in 94 placentae from infected women by polymerase chain reaction, in vivo, and in vitro cultures. *Placenta*. 1998;19:545-9.
150. Buffolano W, Beghetto E, Pezzo MD, Spadoni A, Cristina MD, Petersen E, et al. Use of recombinant antigens for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2005;43(12):5916-24.
151. Fuentes I, Rodriguez M, Domingo CJ, Castillo Fd, Juncosa T, Alvar J. Urine sample used for congenital toxoplasmosis diagnosis by PCR. *J Clin Microbiol*. 1996;34:2368-71.

152. Chumpitazi BFF, Boussaid A, Pelloux H, Racinet C, Bost M, Goullier-Fleuret A. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by immunoblotting and relationship with other methods. *J Clin Microbiol.* 1995;33(6):1479-85.
153. Rilling V, Dietz K, Krezal D, Knotek F, Enders G. Evaluation of a commercial IgG/IgM Western Blot assay for early postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2003;22:174-80.
154. Faure A-K, Fricker-Hidalgo H, Pelloux H, Bost-Bru C, Goullier-Fleuret A, Ambroise-Thomas P. Lack of value of specific IgA detection in the postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Lab Anal.* 1999;13(1):27-30.
155. Stepick-Biek P, Thulliez P, Araujo F, Remington J. IgA antibodies for diagnosis of acute congenital and acquired toxoplasmosis. *J Infect Dis.* 1990;162(1):270-3.
156. Wallon M, Dunn D, Slimani D, Girault V, Gay-Andrieu F, Peyron F. Diagnosis of congenital toxoplasmosis at birth: what is the value of testing for IgM and IgA? *Eur J Pediatr.* 1999;158:645-9.
157. Pinon JM, Chemla C, Villena I, Foudrinier F, Aubert D, Puygauthier-Toubas D, et al. Early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: value of comparative enzyme-linked immunofiltration assay immunological profiles and anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin M (IgM) ou IgA immunocapture and implications for postnatal therapeutic strategies. *J Clin Microbiol.* 1996;34(3):579-83.
158. Gilbert R, Thalib L, Tan HK, Paul M, Wallon M, Petersen E. Screening for congenital toxoplasmosis: accuracy of immunoglobulin M and immunoglobulin A tests after birth. *J Med Screen.* 2007;14(1):8-13.
159. Buffolano W, Lappalainen M, Hedman L, Ciccimarra F, Pezzo MD, Rescaldani R, et al. Delayed maturation of IgG avidity in congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004;23:825-30.
160. Gross U, Lüder CGK, Hendgen V, Heeg C, Sauer I, Weidner A, et al. Comparative immunoglobulin G antibody profiles between mother and child (CGMC test) for early diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2000;38(10):3619-22.
161. Robert-Gangneux F, Commere V, Tourte-Schaefer C, Dupouy-Camet J. Performance of a Western Blot assay to compare mother and newborn anti-*Toxoplasma* antibodies for the early neonatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1999;18:648-54.
162. Jaisson-Hot I, Wallon M, Kurdi MA, Thulliez P, Kahi S, Cozon G, et al. Toxoplasmose congénitale. Négativation transitoire de la sérologie. *Presse Med.* 2001;30(20):1001-4.
163. Villena I, Aubert D, Leroux B, Dupouy D, Talmud M, Chemla C, et al. Pyrimethamine-sulfadoxine treatment of congenital toxoplasmosis: follow-up of 78 cases between 1980 and 1997. Reims Toxoplasmosis Group. *Scand J Infect Dis.* 1998;30(3):295-300.

164. Lebech M, Petersen E. Detection by enzyme immunosorbent assay of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in dried blood spots on PKU-filter paper from newborns. *Scand J Infect Dis*. 1995;27(3):259-63.
165. Cheng H, Macaluso M. Comparison of the accuracy of two tests with a confirmatory procedure limited to positive results. *Epidemiology*. 1997;8(1):104-6.
166. Pires EC. Avaliação de testes complementares para diagnósticos médicos: uma contribuição estatística. Belo Horizonte: Universidade Federal de Minas Gerais; 2003.
167. Holland GN. Reconsidering the pathogenesis of ocular toxoplasmosis. *American Journal of Ophthalmology*. 1999;128(4):502-5.
168. Perkins ES. Ocular toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol*. 1973;57:1-17.
169. Wallace GD. Serologic and epidemiologic observations on three Pacific atolls. *Am J Epidemiol*. 1969;90:103-11.
170. Glasner PD, Silveira C, Kruszon-Moran D. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. *Am J Ophthalmol*. 1992;114:136-44.
171. Silveira C, Jr RB, Muccioli C, Abreu MT, Martins MC, Victora C, et al. A follow-up study of *Toxoplasma gondii* infection in southern Brazil. *American Journal of Ophthalmology*. 2001;131(3):351-4.
172. Gilbert RE, Stanford MR. Is ocular toxoplasmosis due to prenatal ou postnatal infection? *Br J Ophthalmol*. 2000;84:224-6.
173. Mets MB, Holfels E, Boyer KM, Swisher CN, Roizen N, Stein L, et al. Eye manifestations of congenital toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 1996 Sep;122(3):309-24.
174. Koppe JG, Kloosterman GJ. Congenital toxoplasmosis: long-term follow-up. *Pediatr Padol*. 1982;17(2):171-9.
175. O'Neill JF. The ocular manifestations of congenital infection: a study of the early effect and long-term outcome of maternally transmitted rubella and toxoplasmosis. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 1998;96:813-79.
176. Gilbert RE, Dunn DT, Lightman S, Murray PI, Pavesio CE, Gormley PD, et al. Incidence of symptomatic toxoplasma eye disease: aetiology and public health implications. *Epidemiol Infect*. 1999;123:283-9.
177. Brezin AP, Thulliez P, Couvreur J, Nobre R, McLeod R, Mets MB. Ophthalmic outcomes after prenatal and postnatal treatment of congenital toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol*. 2003 Jun;135(6):779-84.
178. Meenken C, Rothova A, de Waal LP, van der Horst AR, Mesman BJ, Kijlstra A. HLA typing in congenital toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol*. 1995 May;79(5):494-7.

179. Fuentes I, Rubio MR, Ramirez C, Alvar J. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2001;39:1566-70.
180. Khan A, Jordan C, Muccioli C, Vallochi AL, Rizzo LV, Jr RB, et al. Genetic divergence of *Toxoplasma gondii* strains associated with ocular toxoplasmosis, Brazil. *Emerg Infect Dis.* 2006;12(6):942-9.
181. Nussenblatt RB, Belfort RJ. Ocular Toxoplasmosis: An Old Disease Revisited. *J Am Med Assoc.* 1994;271(4):304-7.
182. Roberts F, McLeod R. Pathogenesis of toxoplasmic retinochoroiditis. *Parasitology Today.* 1999;15(2):51-7.
183. Oréfice F, Bahia-Oliveira LMG. Toxoplasmose. In: Oréfice F, editor. *Uveíte clínica e cirúrgica: texto e atlas.* 2 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica; 2005. p. 700-804.
184. Gazzinelli RT, Brezin A, Li Q, Nussenblatt RB, Chan CC. *Toxoplasma gondii*: acquired ocular toxoplasmosis in the murine model, protective role of TNF-alpha and IFN-gamma. *Exp Parasitol.* 1994;78(2):217-29.
185. Hayashi S, Chan CC, Gazzinelli RT, Pham NT, Cheung MK, Roberge FG. Protective role of nitric oxide in ocular toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol.* 1996;80(7):644-8.
186. Fatoohi F, Cozon GJN, Wallon M, Kodjikian L, Peyron F. Systemic T cell response to *Toxoplasma gondii* antigen in patients with ocular toxoplasmosis. *Jpn J Ophthalmol.* 2006;50:103-10.
187. Rothova A, Meenken C, Buitenhuis HJ, Brinkman CJ, Baarsma GS, Tan TNB, et al. Therapy for ocular toxoplasmosis. *Am J Ophthalmol.* 1993;115:517-23.
188. Bahia MD, Oréfice F, Andrade GMQ. Análise clínica das lesões de retinocoroidite em crianças portadoras de toxoplasmose congênita. *Rev Bras Oftalmol.* 1992;51(5):13-9.
189. Kodjikian L, Wallon M, Fleury J, Denis P, Binquet C, Peyron F, et al. Ocular manifestations in congenital toxoplasmosis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2006 Jan;244(1):14-21.
190. Wallon M, Caudie C, Rubio S, Bellini L, Girault V, Gay-Andrieu F, et al. Value of cerebrospinal fluid cytochemical examination for the diagnosis of congenital toxoplasmosis at birth in France. *Pediatr Infect Dis J.* 1998;17(8):705-10.
191. Joint Committee on Infant Hearing. Year 2000 position statement: principles and guidelines for early hearing detection and intervention programs. *American Journal of Audiology.* 2000;9:9-29.

192. Isaac ML, Manfredi AKS. Diagnóstico precoce da surdez na infância. *Medicina (Ribeirão Preto)*. 2005;38(3/4):235-44.
193. Nobrega Md, Weckx LLM, Juliano Y. Study of the hearing loss in children and adolescents, comparing the periods of 1990-1994 and 1994-2000. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2005;69:829-38.
194. Cecatto SB, Garcia RID, Costa KS, Abdo TRT, Rezende CEB, Rapoport PB. Análise das principais etiologias de deficiência auditiva em Escola Especial "Anne Sullivan". *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 2003;69(2):235-40.
195. Lima GML, Marba STM, Santos MFC. Hearing screening in a neonatal intensive care unit. *Jornal de Pediatria (Rio de Janeiro)*. 2006;82(2):110-4.
196. Walch C, Anderhuber W, Köle W, Berghold A. Bilateral sensorineural hearing disorders in children: etiology of deafness and evaluation of hearing tests. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*. 2000;53:31-8.
197. Parving A. The need for universal neonatal hearing screening - some aspects of epidemiology and identification. *Acta Paediatr*. 1999;432 (Suppl):69-72.
198. Gravel JS, White KR, Johnson JL, Widen JE, Vohr BR, James M, et al. A multisite study to examine the efficacy of the Otoacoustic Emission/Automated Auditory Brainstem Response newborn hearing screening protocol: recommendations for policy, practice and research. *American Journal of Audiology*. 2005;14:S217-S28.
199. Stagno S, Britt W. Cytomegalovirus Infections. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, editors. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. p. 739-81.
200. Silva AA, Maudonnet O, Panhoca R. A deficiência auditiva na infância. Retrospectiva de dez anos. *ACTA AWHO*. 1995;14(2):72-5.
201. Cóser PL, Vilanova LCP. Rubéola materno-fetal: avaliação da perda auditiva por audiometria de tronco cerebral. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 1996;62(5):366-74.
202. Kadoya R, Ueda K, Miyazaki C, Hidayat Y, Tokugawa K. Incidence of congenital rubella syndrome and influence of the rubella vaccination program for schoolgirls in Japan, 1981-1989. *American Journal Epidemiology*. 1998;148(3):263-8.
203. Matas CG, Sansone AP, Iorio MCM, Succi RCM. Avaliação audiológica em crianças nascidas de mães soropositivas para o vírus da imunodeficiência humana. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*. 2000;66(4):317-24.
204. Wright I. Congenital toxoplasmosis and deafness. An investigation. *Pract Otorhinolaryngol (Basel)*. 1971;33(6):377-87.
205. Kelemen G. Toxoplasmosis and Congenital Deafness. *A M A Archives of Otolaryngology*. 1958;68:547-61.

206. McGee T, Wolters C, Stein L, Kraus N, Johnson D, Boyer K, et al. Absence of sensorineural hearing loss in treated infants and children with congenital toxoplasmosis. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1992 Jan;106(1):75-80.
207. Muhaimed HA. Prevalence of sensorineural hearing loss due to toxoplasmosis in Saudi children: a hospital based study. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology.* 1996;34:1-8.
208. Wilson CB, Desmonts G, Couvreur J, Remington JS. Lymphocyte transformation in the diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection. *the New England Journal of Medicine.* 1980;302:785-8.
209. Potasman I, Davidovitch M, Tal Y, Tal J, Zelnik N, Jaffe M. Congenital toxoplasmosis: a significant cause of neurological morbidity in Israel? *Clinical Infectious Diseases.* 1995 Feb;20(2):259-62.
210. Roizen N, Swisher CN, Stein MA, Hopkins J, Boyer KM, Holfels E, et al. Neurologic and developmental outcome in treated congenital toxoplasmosis. *Pediatrics.* 1995;95(1):11-20.
211. Schmidt DR, Hogh B, Andersen O, Fuchs J, Fledelius H, Petersen E. The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark: results from the initial four years, 1999-2002. *Arch Dis Child.* 2006;91:661-5.
212. Alford CA, Stagno S, Reynolds DW. Congenital toxoplasmosis: clinical, laboratory, and therapeutic considerations, with special reference to subclinical disease. *Bull N Y Acad Med.* 1974;50(2):160-81.
213. McAuley J, Boyer KM, Patel D, Mets M, Swisher C, Roizen N, et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clinical Infectious Diseases* 1994;18:38-72.
214. Kieffer F, Thulliez P, Brezin A, Nobre R, Romand S, Yi-Gallimard E, et al. Traitement de la toxoplasmose congénitale non sévère par sulfadiazine et pyriméthamine en continu pendant un an: a propos de 46 cas. *Arch Pediatr.* 2002;9(1):7-13.
215. Petersen E, Eaton RB. Control of congenital infection with *Toxoplasma gondii* by neonatal screening based on detection of specific immunoglobulin M antibodies eluted from phenylketonuria filter-paper blood-spot samples. *Acta Paediatr.* 1999;88(432):36-9.
216. Wallon M, Kodjikian L, Binquet C, Garweg J, Fleury J, Quantin C, et al. Long-term ocular prognosis in 327 children with congenital toxoplasmosis. *Pediatrics.* 2004 Jun;113(6):1567-72.
217. Peyron F, Wallon M, Bernardoux CRN. Long-term follow-up of patients with congenital ocular toxoplasmosis. *N Engl J Med.* 1996;334(15):993-4.



218. Mombro M, Perathoner C, Leone A, Buttafuoco V, Zotti C, Lievre MA, et al. Congenital toxoplasmosis: assessment of risk to newborns in confirmed and uncertain maternal infection. *Eur J Pediatr.* 2003;162(10):703-6.
219. Djurkovic-Djakovic O, Romand S, Nobre R, Couvreur J, Thulliez P. Serological rebounds after one-year-long treatment for congenital toxoplasmosis. *Ped J Inf Dis.* 2000;19:81-3.
220. McAuley J, Boyer KM, Patel D, Mets M, Swisher C, Roizen N, et al. Early and longitudinal evaluations of treated infants and children and untreated historical patients with congenital toxoplasmosis: the Chicago Collaborative Treatment Trial. *Clin Infect Dis.* 1994 Jan;18(1):38-72.
221. Patel DV, Holfels EM, Vogel NP, Boyer KM, Mets MB, Swisher CN, et al. Resolution of intracranial calcifications in infants with treated congenital toxoplasmosis. *Radiology.* 1996;199(2):433-40.
222. Lopez, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL. Preventing congenital toxoplasmosis. *MMWR Recomm Rep.* 2000;49(RR-2):57-75.
223. Bessières MH, Berrebi A, Rolland M, Bloom MC, Roques C, Cassaing S, et al. Neonatal screening for congenita toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;94(1):37-45.
224. Forestier F, Hohlfeld P, Sole Y, Daffos F. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by PCR: extended experience. *Prenat Diagn.* 1998;18(4):407-9.
225. Pawlowski ZS, Gromadecka-Sutkiewicz M, Skommer J, Paul M, Rokossowski H, Suchocka E, et al. Impact of health education on knowledge and prevention behavior for congenital toxoplasmosis: the experience in Poznań, Poland. *Health Educ Res.* 2001;16(4):493-502.
226. Foulon W, Naessens A, Derde MP. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *Am J Perinatol.* 1994;11:57-62.
227. Carter AO, Gelmon SB, Wells GA, Toepell AP. The effectiveness of a prenatal education programme for the prevention of congenital toxoplasmosis. *Epidemiol Infect.* 1989;103(3):539-45.
228. Breugelmans M, Naessens A, Foulon W. Prevention of toxoplasmosis during pregnancy. An epidemiologic survey over 22 consecutive years. *J Perinat Med.* 2004;32:211-4.
229. Ambroise-Thomas P, Schweitzer M, Pinon JM, Thiebaugeorges O. [Prevention of congenital toxoplasmosis in France. Risk assessment. Results and perspectives of prenatal screening and newborn follow up]. *Bull Acad Natl Med.* 2001;185(4):665-83; discussion 84-8.

230. Lappalainen M, Koskela P, Koskiniemi M, Ämmälä 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.
231. Ferreira AW, Camargo ME. Toxoplasmosis and the laboratory: diagnosis and a constant striving for improvement. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 2002;44(3):119-20.
232. Brasil, Ministério da Saúde, DATASUS. Indicadores e Dados Básicos (IDB/DATASUS). [banco de dados online]. Disponível em <URL: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/idb2006/CapituloF.pdf>> [2007 nov 4].
233. Khoshnood B, Vigan CD, Goffinet F, Leroy V. Prenatal screening and diagnosis of congenital toxoplasmosis: a review of safety issues and psychological consequences for women who undergo screening. *Prenat Diagn.* 2007;27(5):395-403.
234. Andrade GMQ, Carvalho AL, Carvalho IR, Mello BF, Tibúrcio FR, Castro FC. Toxoplasmose na gestante e no recém-nascido. Estudo de 86 pares de mãe-filho atendidos no período de 1996-99 no ambulatório de Infectologia Pediátrica do HC-UFMG. *Rev Med Minas Gerais.* 2001;11:202-7.
235. Paul M, Petersen E, Szczapa J. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznan region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. *J Clin Microbiol.* 2001;39(5):1912-6.
236. Eaton RB, Petersen E, Seppänen H, Tuuminen T. Multicenter evaluation of a fluorometric enzyme immunocapture assay to detect *Toxoplasma*-specific immunoglobulin M in dried blood filter paper specimens from newborns. *J Clin Microbiol.* 1996;34:3147-50.
237. Jara M, Hsu HW, Eaton RB, Demaria AJ. Epidemiology of congenital toxoplasmosis identified by population-based newborn screening in Massachusetts. *Pediatr Infect Dis J.* 2001;20(12):1132-5.
238. Greig JR, Holliman R. Neonatal screening for toxoplasma infection. *Lancet.* 1999;354:1030-1.
239. Schoen EJ, Black S, Cohen D. Screening for neonatal toxoplasmosis. *N Engl J Med.* 1994;331(21):1458.
240. Potasman I, Pick N, Sruogo I. Screening for neonatal toxoplasmosis. *N Engl J Med.* 1994;331(21):1459.
241. Signorell LM, Seitz D, Merkel S, Berger R, Rudin C. Cord blood screening for congenital toxoplasmosis in Northwestern Switzerland, 1982-1999. *Pediatr Infect Dis J.* 2006;25(2):123-8.
242. Gilbert R, Tan HK, Cliffe S, Guy E, Stanford M. Symptomatic toxoplasma infection due to congenital and postnatally acquired infection. *Arch Dis Child.* 2006;91:495-8.

243. Holliman RE. Congenital toxoplasmosis: prevention, screening and treatment. *J Hosp Infect.* 1995 Jun;30 Suppl:179-90.
244. Mittendorf R, Pryde P, Herschel M, Williams MA. Is routine antenatal toxoplasmosis screening justified in the United States? Statistical considerations in the application of medical screening tests. *Clin Obstet Gynecol.* 1999;42(1):163-73.
245. UFMG. Nucleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (NUPAD) - Faculdade de Medicina. [Sítio eletrônico] 2007 [Capturado em 28 de agosto 2007]; Disponível em: <http://www.nupad.medicina.ufmg.br/>
246. Camargo ME. Comparative evaluation of toxoplasmosis indirect fluorescent and Sabin-Feldman dye tests in a thousand human sera. A few unexpected results. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1966;8(2):62-8.
247. Voller A, Bidwell DE, Bartlett A, Fleck DG, Perkins M, Oladehin B. A microplate enzyme-immunoassay for toxoplasma antibody. *J Clin Pathol.* 1976;29(2):150-3.
248. Cozon GJ, Ferrandiz J, Nebhi H, Wallon M, Peyron F. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17(1):32-6.
249. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1979;76(9):4350-4.
250. Gorga MP, Kaminski JR, Beauchaine KA, Jesteadt W, Neely ST. Auditory brainstem responses from children three months to three years of age: II. Normal patterns of response. *Journal of speech and hearing research.* 1989;32:281-8.
251. Azevedo MF, Pereira LD, Vilanova LCP, Goulart AL. Avaliação do processamento auditivo central: identificação de crianças em risco para alteração da linguagem e aprendizado durante o primeiro ano de vida. In: Marchesan IQ, Bolaffi C, Gomes ICD, Zorzij L, editors. *Tópicos em fonoaudiologia.* São Paulo: Lovise; 1995. p. 447-62.
252. Goulart EMA. *Metodologia e informática na pesquisa médica.* 1 ed. Belo Horizonte: Gráfica e Editora Cultura; 2000.
253. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.
254. Gomes HR. Líquido Cefalorraquidiano na Infância. In: Fonseca LF, Pianetti G, Xavier CdC, editors. *Compêndio de neurologia infantil.* Rio de Janeiro: Medsi; 2002. p. 199-202.
255. Hulley SB, Cummings SR, Browner WS, Grady D, Hearst N, Newman TB. *Delineando a pesquisa clínica: uma abordagem epidemiológica.* 2 ed. Porto Alegre: Artmed; 2003.

256. Schatzkin A, Connor RJ, Taylor PR, Bunnag B. Comparing new and old screening tests when a confirmatory procedure cannot be performed on all screenees. *Am J Epidemiol.* 1987;4:672-8.
257. Pepe MS, Alonzo TA. Comparing disease screening tests when true disease status is ascertained only for screen positives. *Biostatistics.* 2001;2:249-60.
258. Friche AAL, Caiaffa WT, César CC, Goulart LMF, Almeida MCM. Indicadores de saúde materno infantil em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 2001: análise dos diferenciais intra-urbanos. *Cad Saude Publica.* 2006;22(9):1955-65.
259. Mohan B, Dubey ML, Malla N, Kumar R. Seroepidemiological study of toxoplasmosis in different sections of population of Union Territory of Chandigarh. *J Commun Dis.* 2002;34(1):15-22.
260. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M. *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999-2000. *Emerg Infect Dis.* 2003;9(11):1371-4.
261. Kim K. Time to screen for congenital toxoplasmosis. *Clin Infect Dis.* 2006;42(10):1395-7.
262. Dubey JP, Navarro IT, Graham DH, Dahl E, Freire RL, Prudencio LB, et al. Characterization of *Toxoplasma gondii* isolates from free range chickens from Parana, Brazil. *Vet Parasitol.* 2003;117(3):229-34.
263. Vallochi AL, Muccioli C, Martins MC, Silveira C, Belfort RJ, Rizzo LV. The genotype of *Toxoplasma gondii* strains causing ocular toxoplasmosis in humans in Brazil. *Am J Ophthalmol.* 2005;139:350-1.
264. Kravetz JD, Federman DG. Prevention of toxoplasmosis in pregnancy: knowledge of risk factors. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2005;13(3):161-5.
265. Stray-Pedersen B, Lorentzen-Styr AM. Epidemiological aspects of *Toxoplasma* infections among women in Norway. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1980;59:323-6.
266. Dubey JP. Toxoplasmosis. *J Am Vet Med Assoc.* 1994;205:1593-8.
267. Riemann HP, Brant PC, Franti CE, Reis R, Buchanan AM, Sturmont C, et al. Antibodies to *Toxoplasma gondii* and *Coxiella burnetii* among students and other personnel in veterinary colleges in California and Brazil. *Am J Epidemiol.* 1974;100:197-208.
268. DiGiacomo RF, Harris NV, Huber NL, Cooney MK. Animal exposures and antibodies to *Toxoplasma gondii* in a university population. *Am J Epidemiol.* 1990;131:729-33.
269. Arvin AM, Whitley RJ, Gutierrez KM. Herpes Simplex Virus Infections. In: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Baker CJ, editors. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant.* 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006. p. 845-65.

## **ANEXOS**

---

**ANEXO 1: QUESTIONÁRIO TOXOPLASMOSE CONGÊNITA – ABORDAGEM DA MÃE**

<b>PERGUNTAS QUE DEVEM SER FEITAS AO ACOMPANHANTE DA CRIANÇA NO MOMENTO DA COLETA DE SANGUE PARA O TESTE DO PEZINHO</b>	<b>Codificação (Não preencher)</b>
<p>Número do teste do pezinho: _____</p> <p>Data da entrevista: ___/___/___</p> <p>Unidade de Saúde (código): _____</p> <p>Nome da criança: _____</p> <p>Nome da mãe: _____</p> <p>Data de nascimento da <b>mãe</b>: ___/___/___ ou idade em anos _____</p> <p>Data de nascimento da <b>criança</b>: ___/___/___</p> <p>Peso de nascimento da criança: [ ] [ ] [ ] [ ] g</p> <p>Local de nascimento: ___(1)HOSPITAL ___(2)DOMICÍLIO</p> <p>Município: _____</p> <p>Criança necessitou de CTI? 1-Sim <input type="checkbox"/> 2-Não <input type="checkbox"/> 9-Não sei <input type="checkbox"/></p> <p>Pessoa entrevistada:</p> <p>___(1) Mãe ___(2) Pai ___(4) Avós ___(8) Tios</p> <p>___(16) Vizinhos ___(32) Especificar _____</p> <p>A mãe fez Pré-natal? ___(1) SIM (2)___ NÃO</p> <p>Início do Pré-natal: _____ mês de gestação</p> <p>Número de consultas no Pré-natal: _____</p> <p>Fez exame de sangue <b>para toxoplasmose</b> no Pré-natal?</p> <p>___(1) SIM ___(2) NÃO</p> <p>Quantos exames de sangue <b>para toxoplasmose</b> foram realizados no Pré-natal? _____</p> <p>Tomou remédio para toxoplasmose na gravidez?</p> <p>___(1) SIM ___(2) NÃO</p> <p>Qual? _____</p> <p>Quanto tempo? _____</p> <p>Durante o pré-natal o médico informou como evitar a infecção?</p> <p>___(1)SIM ___(2)NÃO ___(3)Não sabe informar</p> <p>A informação dada pelo médico sobre como evitar a toxoplasmose foi:</p> <p>___(1)Escrita ___(2)Falada ___(4)Não informou nada ___(9)NS</p>	<p>numero _____</p> <p>datentrev ___/___/___</p> <p>codigo _____</p> <p>inicicri _____</p> <p>inicimae _____</p> <p>datnasma ___/___/___</p> <p>datnascr ___/___/___</p> <p>pesonasc [ ] [ ] [ ] [ ]</p> <p>locnasci ___</p> <p>necescti _____</p> <p>pesstrev _____</p> <p>prenatal _____</p> <p>incipre _____</p> <p>numcons _____</p> <p>examtoxo _____</p> <p>numexam _____</p> <p>remedtox _____</p> <p>informa _____</p> <p>infescri _____</p>

<p>Qual a ocupação da mãe?</p> <p>__ (1) Serviço doméstico no lar    __ (2) Serviço doméstico fora do lar</p> <p>__ (4) Comerciaría    __ (8) Industriária    __ (16) Professora</p> <p>__ (32) Outro    Citar _____</p> <p>A mãe trabalha com animais?</p> <p>__ (1) Sim, Gatos    __ (2) Sim, Cachorros    __ (4) Sim, Outros _____</p> <p>__ (8) Não    __ (99) Não sabe informar</p> <p>Quantas filhas a mãe dessa criança já teve (vivos ou mortos)?</p> <p>Especificar o número ____</p> <p>Já teve algum aborto?    __ (1) SIM    __ (2) NÃO    __ (9) NS</p> <p>Qual a escolaridade da mãe?</p> <p>__ (1) Analfabeta    __ (2) Completou 4ª série    __ (3) Completou 8ª série</p> <p>__ (4) Completou o 3º ano do 2º grau    __ (5) Tem curso superior</p> <p>Há quantos anos a mãe mora em Belo Horizonte?</p> <p>__ (1) Sempre morou    Se não, especificar número de anos ____</p> <p>Nos últimos dois anos a mãe da criança teve gato em casa?</p> <p>__ (1) SIM    __ (2) NÃO    __ (9) Não sabe informar</p> <p>Nos últimos dois anos observou gatos na vizinhança?</p> <p>__ (1) SIM    __ (2) NÃO    __ (9) Não sabe informar</p> <p>Qual o tipo de carne que a mãe costuma comer com maior frequência?</p> <p>__ (1) boi    __ (2) porco    __ (4) galinha    __ (8) peixe</p> <p>__ (16) Outra    Especificar _____</p> <p>Como a mãe costuma comer a carne?</p> <p>__ (1) Mal passada    __ (2) Ao ponto    __ (4) Bem passada    __ (8) cozida</p> <p>__ (99) Não sabe informar</p> <p>Enquanto cozinha, a mãe da criança tem o hábito de experimentar a comida para ver o tempero?</p> <p>__ (1) SIM    __ (2) NÃO    __ (9) NS</p> <p>A mãe costuma comer fora de casa?</p> <p>__ (1) Nunca    __ (2) Mais de uma vez por semana</p> <p>__ (3) Menos de uma vez por semana</p> <p>A mãe costuma comer vegetais crus (salada)?</p>	<p>Ocupacao ____</p> <p>Trabanim ____</p> <p>Numepart ____</p> <p>Aborto ____</p> <p>Escolari ____</p> <p>ResidBH ____</p> <p>Gatocasa ____</p> <p>Gatovizi ____</p> <p>Tipocarn ____</p> <p>cozicarn ____</p> <p>Testacom ____</p> <p>Comefora ____</p> <p>Vegetcru ____</p>
--	---

<p>__ (1) Sim, em casa    __ (2) Sim, fora de casa    __ (4) Não</p> <p>A mãe lava as mãos após cozinhar?    __ (1) SIM    __ (2) NÃO    __ (9) NS</p> <p>A mãe costuma mexer na terra do jardim ou horta?</p> <p>__ (1) SIM    __ (2) NÃO    __ (4) Não sabe informar</p> <p>Usa luvas para mexer na terra?    __ (1) SIM    (2) __ NÃO</p> <p>A mãe costuma lavar as mãos antes das refeições?</p> <p>__ (1) SIM    __ (2) NÃO    __ (9) NS</p> <p>Como a mãe costuma comer ovo?</p> <p>__ (1) cru    __ (2) mole    __ (4) cozido    __ (8) frito</p> <p>__ (16) Não come ovo    __ (99) NS</p> <p>Se a mãe come ovo, com que frequência isso ocorre?</p> <p>__ (1) Uma vez por semana    __ (2) Mais de uma vez por semana</p> <p>__ (3) Menos de uma vez por semana    __ (4) raramente    __ (9) NS</p>	<p>Lavamao __</p> <p>terra __</p> <p>Luvas __</p> <p>lavarefe __</p> <p>Tipooovo __ __</p> <p>Freqovo __</p>
---	--



**ANEXO 2**

Variáveis investigadas durante a consulta das crianças com suspeita de hipoacusia no serviço de Audiologia do HCUFMG

1. Nome
2. Idade
3. Sexo
4. Tipo de disacusia:
  - 4.1. sensorineural
  - 4.2. condutiva
  - 4.3. mista
5. Grau:
  - 5.1. leve
  - 5.2. moderada
  - 5.3. severa
  - 5.4. profunda
6. Lateralidade (unilateral ou bilateral)
7. Gestação / Parto / Intercorrências (uso de fototerapia por mais que 2 dias, uso de incubadora por mais que 5 dias, uso de ventilação mecânica por mais que 5 dias)
8. Causas:
  - 8.1. Hereditária / congênita
  - 8.2. Pré-natal: rubéola, toxoplasmose, sífilis, citomegalovirose, herpes, drogas abortivas, drogas ototóxicas, sarampo.
  - 8.3. Perinatal: hipóxia (Apgar entre 0-4 no 1º minuto e 0-6 no 5º minuto), prematuridade (idade gestacional pelo método de Capurro ou New Ballard), baixo peso de nascimento, hiperbilirrubinemia (bilirrubina total  $\geq 20\text{mg/dl}$ ), trauma de parto, drogas ototóxicas, ruído.
  - 8.4. Pós-natal: otites de repetição, sarampo, meningite bacteriana, caxumba, encefalite, drogas ototóxicas (uso por mais que 5 dias), TCE, trauma acústico, sepsis.
9. Casos na família
10. Idade do primeiro exame
11. Idade da confirmação
12. Idade da intervenção
  - 12.1. Estimulação
  - 12.2. Prótese auditiva
13. Exame ORL (se necessário)

## ANEXO 3

### EXAME OFTALMOLÓGICO

• Para ser preenchido pelo oftalmologista após cada exame:

Data de nascimento da criança (dd/mm/aa)	Em caso de gêmeos, favor indicar: Gêmeo 1 <input type="checkbox"/> Gêmeo 2 <input type="checkbox"/>	Número do registro/SAME
--	---	-------------------------

1. Data do exame \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

**Olho direito**

**Olho esquerdo**

2. Visão testada Sim  Não

*Em caso afirmativo: a visão foi considerada* Normal  Reduzida  Normal  Reduzida

Método utilizado \_\_\_\_\_

3. Qual era a acuidade visual?

Exame não realizado

(Ambos olhos)

**Olho direito**

**Olho esquerdo**

4. As pupilas foram dilatadas?

Sim  Não   Sim  Não

5. Qual foi o método oftalmoscópico utilizado?

Indireto  Direto   Indireto  Direto

6. O fundo de olho foi facilmente visualizado?

Sim  Não   Sim  Não

Em caso negativo, indique a razão: Exame difícil  Opacidade corneana  Opacidade vítrea  Opacidade de cristalino

7. Alguma lesão retinocoroidiana foi detectada?

Sim  Não   Sim  Não

Em caso afirmativo:

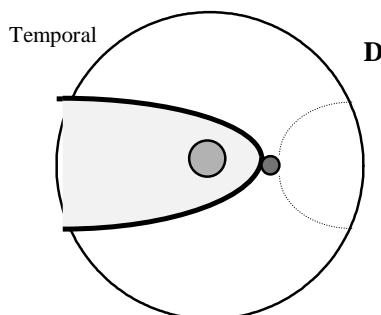
Qual a localização das lesões:

Pólo posterior  Periferia   Pólo posterior  Periferia

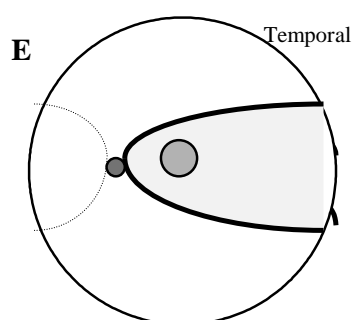
8. Alguma lesão retinocoroidiana ativa?

Sim  Não   Sim  Não

9. Favor desenhar TODAS as lesões nos diagramas abaixo: marque com uma seta as lesões ativas (A) e lesões inativas ou cicatrizadas (I) além do tamanho da lesão através de diâmetro de discos (DD):



Nasal



Comentários:

10. Alguma outra anormalidade oftalmológica foi detectada? Sim  Não  Dado desconhecido

Em caso afirmativo, favor especificar: \_\_\_\_\_

11. Na sua opinião, esta criança possui manifestações oculares de toxoplasmose?

Definitivamente sim  Provavelmente  Possível, mas improvável  Definitivamente não

12. Formulário preenchido por \_\_\_\_\_

13. Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Se não foi preenchida pelo oftalmologista, como a informação foi obtida?

Entrevista com o oftalmologista por telefone  Anotações do oftalmologista  Outro (especificar)  \_\_\_\_\_

## ANEXO 4

### **PROGRAMA DE TRIAGEM NEONATAL (TESTE DO PEZINHO) INFORME SOBRE A PESQUISA DE TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM BELO HORIZONTE**

A toxoplasmose é uma infecção que pode acontecer quando a criança está no útero de sua mãe. A maioria das crianças com toxoplasmose congênita não tem sintomas, mas algumas podem desenvolver problemas com a visão, audição ou atraso no desenvolvimento. Para esclarecer se a triagem para toxoplasmose congênita, como parte do “TESTE DO PEZINHO” nos primeiros dias de vida, pode ser útil para identificar essas crianças, estaremos realizando, durante um ano, **na mesma amostra de sangue do seu bebê colhida para o “TESTE DO PEZINHO”**, o teste para toxoplasmose congênita e convidamos você a fazer parte deste estudo.

A toxoplasmose congênita é incomum, mas se seu filho tem a doença, ele/ela poderá se beneficiar recebendo o tratamento adequado, gratuitamente.

Se o teste do seu filho(a) for positivo para toxoplasmose, vocês (mamãe e filho) serão comunicados e solicitados a comparecer para consulta com pediatra que realizará novos testes e iniciará o tratamento. **Você não será cobrado por nenhum exame, procedimento ou tratamento que será oferecido como parte deste estudo.** Sua participação no estudo é voluntária e se você se recusar a participar ou abandonar este estudo mais tarde, isto não afetará os cuidados que seu filho receberá ou a realização do Teste do Pezinho. **Se você concordar em participar, escreva seu nome no envelope de encaminhamento do exame.**

## **ANEXO 5**

Envelope

## ANEXO 6

### CONSENTIMENTO PARA PARTICIPAR EM UM ESTUDO DE PESQUISA CLÍNICA

**TÍTULO:** Toxoplasmose congênita: modelo de abordagem através de triagem neonatal na região norte de Minas Gerais e Belo Horizonte.

**PESQUISADORES (ordem alfabética):** Arminda L. Siqueira, Eugênio Goulart, Gláucia M. Q. Andrade, José Nélio Januário, Luciana M. Resende, Ricardo W. A. Vitor, Roberto Gonçalves Martins.

#### INTRODUÇÃO:

Antes de aceitar participar desta pesquisa clínica, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Esta declaração descreve o objetivo, procedimentos, benefícios, riscos, desconfortos e precauções do estudo. Também descreve os procedimentos alternativos que estão disponíveis a seu filho e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

#### OBJETIVO:

O objetivo deste estudo é avaliar a ocorrência de Toxoplasmose Congênita em recém-nascidos no norte do Estado de Minas Gerais e Belo Horizonte e desenvolver um modelo de atenção a essa doença, em relação ao diagnóstico precoce e tratamento específico. Pretende-se ainda conhecer as características clínicas das crianças sorologicamente positivas e a evolução, nas crianças tratadas, das complicações tardias da doença.

#### RESUMO:

A toxoplasmose ocorre com frequência em Minas Gerais e estima-se que muitas crianças nasçam com a infecção, sem sintomas, apresentando manifestações, principalmente oculares, só na vida adulta, o que dificulta o tratamento.

As crianças que nascem com toxoplasmose congênita podem ser prematuras, ter baixo peso, podem nascer com sintomas de infecção, mas acredita-se que a maioria nasça a termo e sem sintomas, o que retarda o diagnóstico e tratamento nestes casos. O fato da toxoplasmose congênita ter melhor prognóstico, isto é complicar menos, se tratada no primeiro ano de vida, e a possibilidade de se conhecer as áreas de maior ocorrência da infecção no norte do estado e em Belo Horizonte, torna este estudo de fundamental importância.

#### PROCEDIMENTOS:

Os pacientes incluídos no estudo serão as crianças participantes do programa “Teste do Pezinho” no norte do estado de Minas Gerais e Belo Horizonte, inicialmente, e depois as participantes do mesmo programa, mas moradoras de todo o estado.

A participação de seu filho neste estudo se iniciará com a colheita de sangue que é feita rotineiramente no “teste do pezinho”. O exame para toxoplasmose será feito no mesmo material do teste.

Se esse exame de triagem para toxoplasmose for negativo, a senhora será informada de que seu filho não nasceu com a doença.

Se o exame for positivo, a senhora e o seu filho precisarão realizar outro exame de sangue, colhido no posto de saúde perto da sua casa. Esse sangue será encaminhado pelo posto de saúde para realizar o exame no laboratório do NUPAD em Belo Horizonte.

Se esse segundo exame for negativo, a senhora será informada que seu filho não adquiriu a doença ao nascimento.

Se esse segundo exame for positivo, a senhora será orientada a levar seu filho no posto de saúde de referência ou no Hospital das Clínicas da UFMG, em Belo Horizonte, para outros exames (exame de fundo de olho e radiografia de crânio) e tratamento.

A realização dos testes será encerrada após seis a doze meses de avaliação nas regiões do norte do estado e Belo Horizonte. Mas, o controle e tratamento das crianças com toxoplasmose congênita será garantido pelo sistema de saúde no local de referência mais próximo.

**DESCONFORTOS:**

A retirada do sangue poderá resultar em sensação de tontura, inflamação da veia ou dor, ferimento, ou sangramento no local da punção. Há também a remota possibilidade de ocorrer infecção.

**DANOS:**

No caso de seu filho apresentar uma reação adversa durante a realização do estudo, você deverá entrar imediatamente em contato com a Dra. Gláucia Queiroz, nos telefones: 3248 9547, 3248 9865 ou 3277 4341. Se ela não estiver disponível, por favor peça para falar com outro médico pediatra da Instituição no mesmo telefone: 3248 9547, 3248 9865 ou 3277 4341.

Se seu filho vier a sofrer qualquer dano físico como resultado desse estudo, observadas as recomendações do protocolo, ele receberá todos os cuidados médicos providos pela Instituição na qual o estudo se realizou. Ao participar, você concorda em cooperar com qualquer convênio médico ou seguro médico disponível a seu filho em relação a estes cuidados médicos. A reparação de eventuais danos está disponível a seu filho sem quaisquer compensações financeiras. Seu filho não abrirá mão de seus direitos legais após você assinar o termo de consentimento informado.

**BENEFÍCIOS:**

Um benefício da participação de seu filho neste estudo é a contribuição ao conhecimento médico. Ele também poderá se beneficiar do diagnóstico e tratamento da toxoplasmose congênita, com boas chances de evoluir sem complicações de acometimento ocular e danos neurológicos. Não haverá nenhum custo para qualquer exame e procedimentos exigidos durante sua participação no estudo.

**TRATAMENTO ALTERNATIVO:**

Existe a alternativa de não participar do estudo. Você poderá discutir com o médico esta alternativa antes de permitir que seu filho participe do estudo.

No momento não existe um programa de triagem neonatal implantado para diagnóstico da toxoplasmose congênita. Como a maior parte das crianças portadoras dessa infecção nascem sem sintomas, geralmente o diagnóstico é feito tardiamente, a partir de queixas visuais ou atrasos no desenvolvimento observadas na vida escolar.

**CONFIDENCIALIDADE:**

Os registros da participação de seu filho neste estudo serão mantidos confidencialmente até onde é permitido por lei. No entanto, o Comitê de Ética em Pesquisa/UFMG poderá verificar e ter acesso aos dados confidenciais que o identificam pelo nome. Qualquer publicação dos dados não o identificará. Ao assinar este formulário de consentimento, você autoriza o pesquisador a fornecer os registros médicos do seu filho para o Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG.

**DESLIGAMENTO / AFASTAMENTO MÉDICO**

A participação de seu filho neste estudo é voluntária e sua recusa em participar ou seu desligamento do estudo não envolverá penalidades ou perda de benefícios aos quais seu filho tem direito. Você poderá cessar a participação de seu filho a qualquer momento sem afetar seu acompanhamento médico em andamento.

Seu médico poderá finalizar sua participação neste programa de pesquisa por qualquer uma das seguintes razões:

- Incapacidade de tomar o medicamento conforme orientado;
- Incapacidade de comparecer às consultas agendadas.

**NOVAS DESCOBERTAS:**

Todos os novos achados descobertos durante a realização desta pesquisa que possam influenciar razoavelmente seu desejo de continuar a permitir a participação de seu filho neste estudo serão fornecidos a você assim que tais informações se tornarem disponíveis.

**COMPENSAÇÃO:**

Você não receberá qualquer compensação financeira pela participação do seu filho no estudo.

**EMERGÊNCIA / CONTATO COM A COMISSÃO DE ÉTICA:**

Durante o estudo, se você tiver qualquer dúvida sobre este estudo ou se seu filho apresentar qualquer problema médico, por favor, contate o Comitê de Ética em Pesquisa-COEPE/UFMG, no telefone: 3248 9364.

**CONSENTIMENTO:**

Li e entendi as informações precedentes. Tive oportunidades de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, representante legal desta criança, indicando meu consentimento para participar neste estudo, até que eu decida o contrário.

---

Assinatura do representante legal do paciente

---

Data

---

Assinatura da testemunha

---

Data

---

Assinatura do pesquisador

---

Data