

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CAMPUS DE ARARAQUARA

**THAIS FERREIRA ISABEL**

**TOXOPLASMOSE AGUDA EM GESTANTES DE ARARAQUARA-SP:  
AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DO TESTE DE AVIDEZ DE IgG ANTI-  
*Toxoplasma***

ARARAQUARA-SP  
2006

**THAIS FERREIRA ISABEL**

**TOXOPLASMOSE AGUDA EM GESTANTES DE ARARAQUARA-SP:  
AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DO TESTE DE AVIDEZ DE IgG ANTI-  
*Toxoplasma***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista, “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Análises Clínicas, na área de Epidemiologia.

ORIENTADORA: PROFA. DRA. MARIA JACIRA SILVA SIMÕES  
CO-ORIENTADOR: PROF. DR. PAULO INÁCIO DA COSTA

ARARAQUARA-SP  
2006

**THAIS FERREIRA ISABEL**

**TOXOPLASMOSE AGUDA EM GESTANTES DE ARARAQUARA-SP:  
AVALIAÇÃO DA APLICABILIDADE DO TESTE DE AVIDEZ DE IgG ANTI-  
*Toxoplasma***

Dissertação apresentada Programa de Pós-graduação em Análises Clínicas da Universidade Estadual Paulista, da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Análises Clínicas, na área de Epidemiologia.

Aprovado em \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_.

Presidente \_\_\_\_\_  
(Orientadora) Profa. Dra. Maria Jacira Silva Simões

BANCA EXAMINADORA

1ºExaminador \_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Semiramis Guimarães Ferraz Viana

2ºExaminador \_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Herminia Yohko Kanamura

## **DEDICATÓRIA**

**A Deus, pela benção da vida e pela capacidade de pensar.**

**Aos meus maiores incentivadores:**

**minha avó Margarida,  
meus pais, Antonio e Silvia,  
meu melhor amigo, Nicolau,  
meu amor, Galdine.**

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus por me dar sabedoria e força para sempre lutar e nunca desistir.

A Prof. Dra. Maria Jacira Silva Simões, pela orientação, dedicação, incentivo, confiança e por sua enorme competência.

Ao Prof. Dr. Paulo Inácio da Costa pela orientação, apoio e por seu importantíssimo auxílio, sem o qual este trabalho não se realizaria.

Ao Prof. Dr. Antonio Sérgio Spanó Seixas pela atenção, pelo imenso auxílio, pelo valioso incentivo e pelas imprescindíveis idéias.

A meus pais, Antonio e Silvia, que sem seu amor, apoio, compreensão e dedicação nada seria possível.

A minha amada avó Margarida, pelo seu carinho, atenção, cuidados e pelo seu imenso amor.

A meu irmão Tiago, pela amizade, companheirismo, incentivo e pelos maravilhosos momentos de conversas, risadas e ensinamentos.

Ao Galdine pelo seu amor, dedicação e atenção em sempre me ouvir, me ajudar e me incentivar a seguir sempre em frente.

A meu fiel amigo Nicolau pelo seu amor, companheirismo e pela sua infinita alegria.

A Tatiane Cabeça, amiga querida e companheira, que me ensinou, ajudou e sempre esteve ao meu lado nestes dois anos de grande amizade e confiança.

A meus amigos Rosalba e Rodrigo pela amizade verdadeira e incondicional, e por todos os nossos momentos de alegria, união, apoio e amizade.

Aos meus amigos Tatiane, Helen, Marília, Walclécio e Camila pela amizade surgida nestes dois anos de convivência, união, dedicação e alegria.

A Maria Eugenia e a Lílian pelo fundamental auxílio no Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular sem o qual não seria possível realizar este trabalho.

A Marisa pela divertida companhia nas manhãs, pelo incentivo e pelo valioso auxílio.

A Professora Maria Alice Silva pela grande ajuda, pela paciência e dedicação, motivos estes que permitiram a correção deste trabalho.

Ao Gustavo Borges, Marcus Cianciaruso e Daniela Stabili Coutinho pela amizade, incentivo, dedicação e pela grande ajuda.

Ao Rodrigo Fonseca pela grande ajuda prestada, sem a qual não poderia terminar este trabalho.

As pacientes que se dispuseram a participar deste estudo, contribuindo para um melhor diagnóstico da toxoplasmose congênita.

Às secretárias da pós-graduação pelos serviços prestados, pela simpatia e pela eficiência em todas as situações.

A todo o pessoal do Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular do Centro de Referência Diagnóstica do NAC-FCF/UNESP pelo carinho e atenção.

A Prof. Dra. Márcia Graminha por participar da qualificação, fazer sugestões valiosas e por me incentivar e acreditar no meu futuro acadêmico.

Aos membros da banca Profa. Dra. Semiramis Guimarães Ferraz Viana e Profa. Dra. Herminia Yohko Kanamura pelas críticas e sugestões pertinentes ao trabalho.

A todos aqueles que, não citados nominalmente, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

## RESUMO

A toxoplasmose na maioria dos casos é assintomática, porém pode causar seqüelas graves no feto, quando transmitida durante a fase aguda da infecção pela gestante. Diante disso, é de fundamental importância o acompanhamento sorológico de gestantes, a fim de definir o momento em que houve a aquisição da infecção por *T. gondii*, possibilitando assim, o tratamento precoce e diminuindo, portanto, o risco de transmissão congênita. No período de Janeiro a Novembro de 2005, avaliou-se a metodologia sorológica do teste de avides de IgG anti-*Toxoplasma gondii* na rotina laboratorial entre as gestantes com teste sorológico negativo para anticorpos IgM anti-*Toxoplasma* (n = 200) e gestantes com teste sorológico positivo (n = 33) durante o pré-natal, em Araraquara-SP, no Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular NAC-FCF/UNESP. Os resultados foram avaliados, segundo o perfil sorológico das gestantes participantes da pesquisa e a variação do índice de avides de IgG entre as soropositivas para IgM e sua relação com o tratamento antiparasitário. Baseando-se nos resultados ressaltou-se a importância da adoção de medidas profiláticas para a redução da transmissão congênita. Todos os resultados para anticorpos IgG e IgM devem ser notificados na ficha da paciente, outros testes complementares devem ser realizados e a interpretação utilizada para o teste de avides de IgG, precisa ser padronizada. Concluiu-se que alguns profissionais de saúde realizaram desnecessariamente o tratamento antiparasitário nas gestantes. Embora as gestantes realizem em sua maioria, o pré-natal no primeiro trimestre de gestação, a prevalência para toxoplasmose entre as gestantes de Araraquara-SP foi elevada, necessitando, portanto, de melhor acompanhamento da gestante e do recém-nascido e conscientização da importância da assistência à saúde pelos serviços de saúde.

Palavras-chave: Toxoplasmose, gestantes, teste de avides de IgG, tratamento antiparasitário.

## ABSTRACT

Toxoplasmosis usually is asymptomatic but can cause serious sequels in the fetus, when transmitted during the acute stage by the pregnant woman. Therefore, the serological screening of pregnant women has fundamental importance, in order to define the moment of contamination by *T. gondii*, and thus facilitating the precocious treatment and decreasing the risk of congenital transmission. During the period of January to November of 2005, we evaluated the serological methodology of IgG avidity test for toxoplasmosis in the routine laboratory, among pregnant women, with negative serological test for anti-*Toxoplasma* IgM antibodies (n = 200) and pregnant with serological test positive (n = 33), during the prenatal, in Araraquara – SP, in Immunology Clinic's Laboratory and Molecular Biology NAC-FCF/UNESP. The results in this study were evaluated, according to the serological profile of the pregnant women and the variation of anti-*Toxoplasma* IgG avidity index among the pregnant women with positive IgM antibodies and its relationship with the antiparasitic treatment. According to our results, we reinforce the importance of use prophylactics measures to reduce congenital transmission. All results for IgG and IgM antibodies must be notified, other complementary tests should be accomplished and the interpretation used for the IgG avidity test should be standardized. We concluded that some professionals realized unnecessary antiparasitic treatment. Although most of pregnant women at Araraquara-SP accomplish the prenatal in the first trimester of gestation, the prevalence for toxoplasmosis are elevated, needing therefore, a better accompaniment of the pregnant women and of the newly born and conscientiousness about the importance of health assistance during pregnancy by health services.

Keywords: Toxoplasmosis, pregnant women, IgG avidity test, antiparasitic treatment.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Desenho esquemático de um taquizoíto de *T. gondii* com suas organelas.

Página 20.

Figura 2 – Esquema do ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*. Página 25.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Distribuição das gestantes participantes da pesquisa (Grupo I e Grupo II) de acordo com os resultados dos testes sorológicos e conforme a faixa etária. Araraquara – SP, 2005. Página 52.

Tabela 2 – Distribuição das gestantes participantes da pesquisa (Grupo I e Grupo II) conforme o grupo a que pertence e segundo a idade gestacional. Araraquara – SP, 2005. Página 53.

Tabela 3 - Frequência de positividade para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma* em gestantes pertencentes ao Grupo I e Grupo II. Araraquara – SP, 2005. Página 55.

Tabela 4 – Distribuição das gestantes pertencentes ao Grupo I (com sorologia negativa para anticorpos IgM), conforme a faixa etária, subdivididas em grupos de acordo com o resultado da sorologia para anticorpos IgG. Araraquara – SP, 2005. Página 56.

Tabela 5 – Distribuição das gestantes do Grupo II (com sorologia positiva para anticorpos IgM) de acordo com o resultado do teste de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma*. Araraquara – SP, 2005. Página 57.

Tabela 6 – Distribuição das gestantes pertencentes ao Grupo II, conforme a idade gestacional e resultado para teste de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma*. Araraquara – SP, 2005. Página 58.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS/SIDA - síndrome da imunodeficiência adquirida

DEA – dietilamina

DNA – ácido desoxirribonucléico

DO – densidade óptica

ELISA - ensaio imunoenzimático (do inglês Enzyme linked Immunosorbent assay)

FCF - Faculdade de Ciências Farmacêuticas

HIV - vírus da imunodeficiência adquirida

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – ácido sulfúrico

IA – índice de avidéz

IgG - imunoglobulina da classe G

IgA - imunoglobulina da classe A

IgM - imunoglobulina da classe M

IgE - imunoglobulina da classe E

LCR - líquido cefalorraquidiano

NAC - Núcleo de Atendimento à Comunidade

NH<sub>4</sub> SCN - tiocianato de amônio

PCR – reação em cadeia da polimerase (do inglês Polymerase chain reaction)

pH - potencial hidrogeniônico

SMF – sistema mononuclear fagocitário

*T. gondii* - *Toxoplasma gondii*

X<sup>2</sup> - qui quadrado

UNESP - Universidade Estadual Paulista

## LISTA DE SÍMBOLOS

$>$  - maior

$<$  - menor

$\geq$  - maior ou igual

$\leq$  - menor ou igual

$\pm$  - desvio padrão

$^{\circ}\text{C}$  - graus centígrados

$\text{Km}^2$  - quilômetro quadrado

m - metro

mL - mililitros

nm - nanômetro

UI - unidade internacional

$\mu\text{L}$  – microlítros

$\mu\text{m}$  - micrômetro

$\alpha$  - nível de significância

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	15
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	17
2.1 Histórico .....	17
2.2. Biologia do Parasita .....	18
2.2.1. Taxonomia .....	18
2.2.2. Morfologia e Habitat .....	19
2.2.2.1. Taquizoítos .....	21
2.2.2.2. Bradizoítos .....	22
2.2.2.3. Oocistos .....	23
2.2.3. Ciclo de vida .....	24
2.3. Aspectos Epidemiológicos .....	26
2.3.1. Prevalência .....	26
2.3.2. Transmissão .....	27
2.3.2.1. Transmissão materno-fetal .....	28
2.4. Formas Clínicas .....	30
2.4.1. Toxoplasmose em indivíduos imunocompetentes .....	31
2.4.2. Toxoplasmose ocular .....	31
2.4.3. Toxoplasmose em indivíduos imunocomprometidos .....	32
2.4.4 Toxoplasmose congênita .....	33
2.5. Prevenção .....	34
2.6. Tratamento .....	35
2.7. Resposta Imune ao <i>T. gondii</i> .....	37
2.8. Diagnóstico .....	37
2.8.1. Método Direto .....	38
2.8.1.1 Isolamento do parasita .....	38
2.8.1.2. Amplificação de Ácido Nucléico: PCR .....	38
2.8.2. Método Indireto .....	39
2.8.2.1. Diagnóstico sorológico .....	39
2.8.2.2. Avidéz de anticorpos IgG .....	41
3. OBJETIVOS .....	44

4. MATERIAL E MÉTODOS .....	45
4.1. Local do Estudo.....	45
4.2. População de Estudo .....	45
4.1.1 Caracterização do município de Araraquara (segundo sua população feminina) .....	46
4.3. Obtenção de amostras sorológicas .....	46
4.4. Testes Sorológicos .....	47
4.4.1. Teste Imunoenzimático para Anticorpos IgG anti- <i>Toxoplasma</i> .....	47
4.4.2. Teste Imunoenzimático de Captura de Anticorpos IgM anti- <i>Toxoplasma</i> ..	47
4.4.3. Determinação do Índice de Aidez de IgG anti- <i>Toxoplasma</i> .....	48
4.5. Análise Estatística .....	49
5. RESULTADOS .....	50
5.1. Classificação das gestantes .....	50
5.2. Perfil das Gestantes .....	51
5.3. Sorologia para Toxoplasmose .....	55
6. DISCUSSÃO .....	60
7. CONCLUSÕES .....	70
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	71

## 1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial causada por um parasita intracelular obrigatório do grupo dos coccídeos, *Toxoplasma gondii*. Este parasita pode infectar todos os animais de sangue quente, incluindo o homem e é conhecido por infectar mais de 50% da população humana mundial (COPPENS; JOINER, 2001).

Avaliações sorológicas para determinar o momento em que a infecção por *Toxoplasma* foi adquirida e a fase de gestação são de fundamental importância, já que a infecção toxoplasmática, durante a gravidez, requer intervenção e tratamento. Na fase aguda da infecção, podem ocorrer tanto manifestações clínicas em gestantes, como toxoplasmose congênita (CAMARGO et al., 1991).

Os níveis de anticorpos IgM aumentam rapidamente após a infecção aguda adquirida e começam a declinar após vários meses, porém as concentrações detectáveis podem permanecer por um ano ou mais. Por ser possível detectar níveis persistentes de IgM por longo período após a instalação da infecção adquirida, não é recomendável determinar a provável data de aquisição da infecção, baseando-se apenas nos resultados de anticorpos IgM detectáveis contra *T.gondii*. Assim, torna-se útil realizar o ensaio de avididade, pois se tem demonstrado que a avididade do anticorpo IgG é baixa na fase aguda da infecção e vai aumentando com o tempo, podendo ser indicativa de uma infecção antiga ou recente.

No Brasil, são feitos exames de rotina durante a gestação para o diagnóstico da infecção por *Toxoplasma gondii*. O propósito dos exames é, depois de detectada a infecção pelo protozoário, tratar as gestantes infectadas com medicação adequada a fim de reduzir o risco de infecção fetal e, se a infecção fetal ocorreu, reduzir o risco de seqüelas na criança.

Quando ocorre transmissão materno-fetal, sugere-se a forma de transmissão, através da passagem de taquizoítos pela placenta após a infecção materna, e é mais comum ocorrer em mulheres imunocompetentes (REMINGTON et al., 2001). Nessa situação há necessidade de se iniciar o tratamento o mais rápido possível, após o diagnóstico da infecção materna. A aceitação dessa hipótese resultou na política de tratamento continuado ao longo da gravidez em mulheres infectadas e até

mesmo naquelas que apresentam um diagnóstico negativo de infecção fetal (STRAY-PEDERSEN et al., 2000; GILBERT et al., 2001).

As gestantes precisam de um acompanhamento pré-natal de qualidade, no que diz respeito à toxoplasmose, é de suma importância o rastreamento sorológico no início da gravidez, a fim de identificar as pacientes suscetíveis para que possam receber orientações relacionadas à prevenção da doença, assim como seguimento sorológico, com o objetivo de detectar possível soroconversão (OLIVEIRA, 2000).



## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. HISTÓRICO

O nome do gênero *Toxoplasma* é derivado da palavra grega *Toxon* que significa arco e se refere à forma que os taquizoítos se apresentam *in vitro*. O nome da espécie *gondii* refere-se ao roedor *Ctenodactylus gondii* do qual o protozoário foi isolado pela primeira vez, em 1908 (MEIRELES, 2001).

O parasita *T. gondii* foi descoberto em julho de 1908, no Brasil, em São Paulo, por Afonso Splendore que ao trabalhar com coelhos em seu laboratório, observou uma enfermidade onde o quadro anátomo-patológico era semelhante ao da leishmaniose visceral humana. No mesmo ano, em 26 de outubro, Nicolle e Manceaux, do Instituto Pasteur de Tunis, na Tunísia, descreveram um microorganismo com morfologia semelhante ao encontrado por Splendore, em células monocelulares do baço e do fígado do gundi, um roedor africano (AMATO NETO et al., 1982; NEVES, 1978).

O primeiro caso de infecção de origem congênita em humanos foi descrito em 1923, pelo oftalmologista Jankü, em Praga, cuja necrópsia, em cortes do globo ocular direito de uma criança falecida aos onze meses de idade com hidrocefalia e cegueira, evidenciou a presença de parasitas semelhantes a *T. gondii*, na retina (AMATO NETO et al., 1982).

Em 1927, no Rio de Janeiro, Torres ao analisar cortes histológicos de cérebro, miocárdio e músculos esqueléticos de um recém-nascido falecido no 29º dia de vida, descreveu o encontro de microorganismos que ele identificou como *T. gondii* (AMATO NETO et al., 1982).

Wolf e Cowen, em 1937, descreveram um caso de toxoplasmose fatal de um recém-nascido com encefalite, meningite e mielite, nos Estados Unidos da América. Posteriormente, em 1939, Wolf e colaboradores, detectaram o parasita em lesão do sistema nervoso central de um recém-nascido falecido com um mês de vida. No ano seguinte, em 1940, Pinkerton e Weinman, nos Estados Unidos da América, isolaram o parasita, registrando a ocorrência da toxoplasmose em adultos (AMATO NETO et al., 1982).

Em 1948, Sabin e Feldman, criaram o teste do corante (“dye test”) representando importante contribuição para o diagnóstico laboratorial e epidemiológico da toxoplasmose. A seguir, outras reações como a de Hemaglutinação (JACOBS; LUNDE, 1957), de Imunofluorescência Indireta (KELEN et al., 1962), de Fixação de Complemento (WARREN; SABIN, 1942) e o Teste de Sensibilidade Cutânea a Toxoplasmina (para reconhecimento da parasitose) (AMATO NETO et al., 1982) foram descobertas.

Hutchison, em 1965, detectou formas infectantes e resistentes de *T. gondii* nas fezes de gato e observou o gato como sendo o hospedeiro definitivo de *T. gondii*. (AMATO NETO et al., 1982). Em 1970, Frenkel e colaboradores, descreveram a fase sexuada do ciclo de vida de *T. gondii*, no intestino delgado do gato doméstico (AMATO NETO et al., 1982).

## **2.2. BIOLOGIA DO PARASITA**

### **2.2.1. TAXONOMIA**

*Toxoplasma gondii* classifica-se, segundo a Classificação Zoológica a seguir (MEIRELES, 2001):

REINO Protista, SUBREINO Protozoa, FILO Apicomplexa, CLASSE Sporozoea, SUBCLASSE Coccidia, ORDEM Eucoccidiida, SUBORDEM Eimeriina, FAMÍLIA Sarcocystidae, SUBFAMÍLIA Toxoplasmatinae, GÊNERO *Toxoplasma*, ESPÉCIE *gondii*.

### 2.2.2. MORFOLOGIA E HABITAT

*Toxoplasma gondii* são parasitas intracelulares, apresentando afinidade pelas células do sistema reticuloendotelial, leucócitos e células parenquimatosas (REY, 1973), porém desenvolvem-se em quase todos os tecidos orgânicos (exceto hemácias) e líquidos orgânicos (saliva, leite, esperma, líquido peritoneal) (NEVES, 2004), não apresentando especificidade de hospedeiro (FRENKEL, 2002).

*Toxoplasma gondii* pertence ao Filo Apicomplexa que, segundo Meireles (2001), é assim denominado devido a um complexo de organelas filamentosas, tubulares e anelares na extremidade apical, visível somente ao microscópio eletrônico. Esse complexo é constituído de conóides, dois anéis polares, microtúbulos subpeliculares, roptrias, micronemas e grânulos densos (Figura 1). As roptrias, os micronemas e os grânulos densos estão envolvidos na interação do parasita com a célula hospedeira.

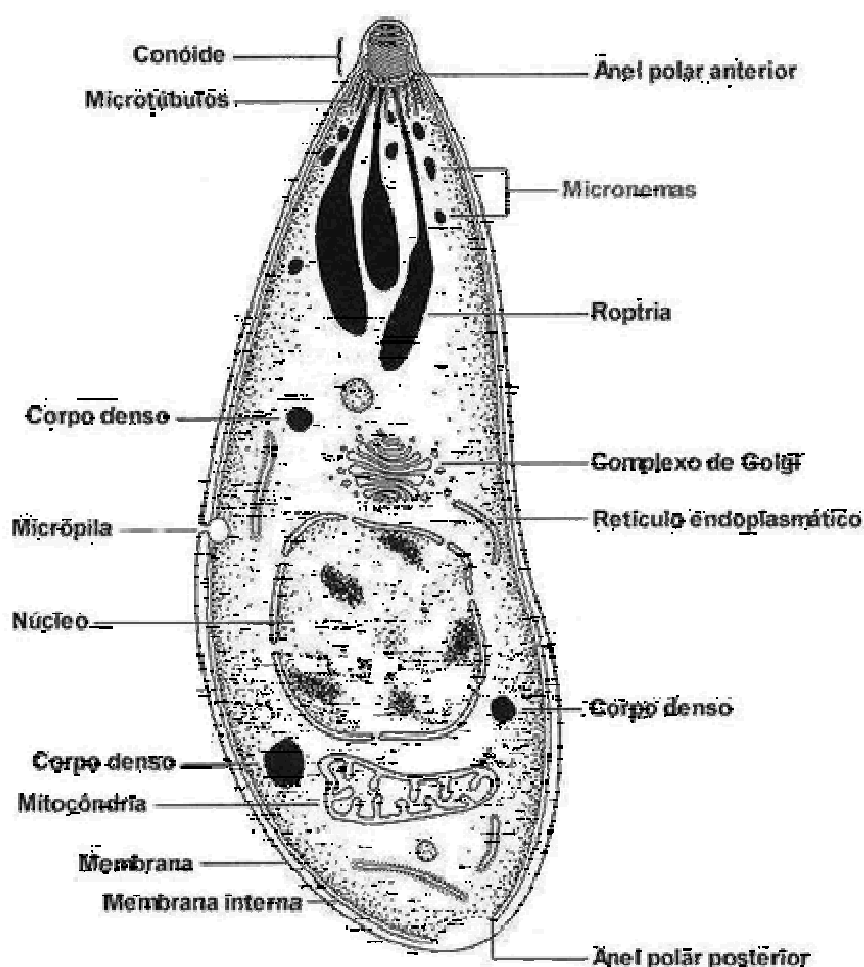


Figura 1 – Desenho esquemático de um taquizoíta de *T. gondii* com suas organelas.

O sucesso de *T. gondii*, como patógeno, deve-se à sua capacidade de invadir, habitar e multiplicar-se dentro da célula hospedeira. No interior da célula, a formação do vacúolo parasitóforo protege o parasita contra radicais livres, variações de pH, flutuações osmóticas e contato com anticorpos, evitando assim, os mecanismos de defesa do hospedeiro (MEIRELES, 2001).

Este parasita apresenta uma múltipla morfologia, dependendo do habitat e do estado evolutivo, apresentando-se sob três formas evolutivas distintas: taquizoíta (forma proliferativa); bradizoíta (forma cística, responsável pela manutenção do ciclo biológico do parasito) e oocisto (forma infectante) (DUBEY et al., 1998).

### 2.2.2.1. TAQUIZOÍTOS

O taquizoíto ou trofozoíto é a forma encontrada durante a fase aguda da infecção e possui importante função na transmissão vertical. Essas formas multiplicam-se por endodiogenia, processo de brotamento interno, onde duas células-filhas são formadas dentro da célula-mãe e liberadas após a ruptura. O taquizoíto é encontrado dentro do vacúolo citoplasmático (vacúolo parasitóforo) de várias células, como nas células do sistema mononuclear fagocitário (SMF), nos líquidos orgânicos, excreções, nas células hepáticas, pulmonares, nervosas, submucosas e musculares. Apresenta-se sob a forma de meia lua, medindo de 4 a 6  $\mu\text{m}$ , com uma extremidade arredondada e outra ligeiramente afilada; o núcleo é esférico, oval ou alongado, de aspecto vesiculoso, e situa-se no meio do corpo ou mais próximo da extremidade posterior, tendo a cromatina disposta em rede ou como grânulos acolados à membrana (REY, 1973).

São sensíveis a condições ambientais, sendo pouco resistentes à ação do suco gástrico, desidratação ou variação osmótica (JACOBS et al., 1960; NEVES, 2004). Entretanto, estudos recentes mostraram que taquizoítos podem, ocasionalmente, sobreviver por no máximo duas horas, em pepsina, além do que a inoculação oral de altas doses de taquizoítos pode causar infecção em gatos e ratos (DUBEY, 1998). Também foi sugerido que os taquizoítos podem penetrar no hospedeiro pela mucosa e assim ganhar acesso à circulação ou sistema linfático do hospedeiro antes de alcançar o estômago (SACKS et al., 1982; JOHNSON, 1997).

Além do leite e do sangue, os taquizoítos podem ser encontrados em outros fluidos corpóreos, incluindo saliva, urina, lágrimas e sêmen (DUBEY; BEATTIE, 1988; REMINGTON et al., 2001), porém não há evidências de transmissão horizontal de *T. gondii* em humanos por essas vias.

### 2.2.2.2. BRADIZOÍTOS

O bradizoíto é a forma encontrada geralmente durante a fase crônica da infecção, podendo ser encontrado em vários tecidos do hospedeiro (nervoso, muscular e retina). Parecidos morfológicamente com os taquizoítos, os bradizoítos apresentam tamanho variável, dependendo da célula parasitada e do número de bradizoítos em seu interior, podendo atingir até 20  $\mu\text{m}$  (NEVES, 2004).

Os bradizoítos são encontrados dentro do vacúolo parasitóforo do cisto, onde a membrana citoplasmática forma a cápsula do cisto. A parede do cisto é resistente e elástica, isolando os bradizoítos dos mecanismos imunológicos do hospedeiro. Os bradizoítos multiplicam-se de forma lenta por endodiogenia ou endopoligenia (NEVES, 2004).

O cisto tecidual apresenta alta afinidade por tecidos neural e muscular, localizando-se principalmente no sistema nervoso central, nos olhos e nos músculos cardíaco e esquelético, e podendo ser encontrados com menor freqüência, em órgãos viscerais como pulmão, fígado e rins (DUBEY et al., 1998). Os cistos podem se desenvolver de seis a sete dias após a infecção do hospedeiro intermediário por oocistos ou cistos teciduais (DINIZ et al., 1991; DUBEY et al., 1998), persistindo por toda a vida do hospedeiro. Entretanto, o número de cistos teciduais que podem desenvolver dentro do hospedeiro e suas localizações, variam muito conforme a espécie de hospedeiro intermediário (DUBEY, 1998; 2000).

Os cistos teciduais são mais resistentes às enzimas digestivas (pepsina e tripsina) do que os taquizoítos (DUBEY, 1998) e são também relativamente resistentes a mudanças de temperatura e permanecem infectantes em carcaças refrigeradas (1° a 4° C) ou em pedaços de carnes cortados por até três semanas (DUBEY et al., 1990). Os cistos teciduais sobrevivem congelados a temperaturas entre -1° e -8° C por mais de uma semana (KOTULA et al., 1991) e são mortos após o congelamento da carne à temperatura de - 20° C ou aquecimento a 65° C (AMATO NETO et al., 1982; DUBEY, 2000).

### 2.2.2.3. OOCISTOS

O oocisto é a forma infectante produzida no interior das células do intestino delgado dos felídeos não imunes, durante a fase sexuada do ciclo do parasita. Os oocistos imaturos são eliminados juntamente com as fezes dos felídeos, e no meio ambiente, sofrem esporulação tornando-se maduros. Os oocistos são formados por esquizogonia e gametogonia, nas células intestinais de felídeos não imunes, são esféricos, medindo 12,5 por 11,0  $\mu\text{m}$  e são eliminados imaturos junto com as fezes e quando maduros, contém dois esporocistos, com quatro esporozoítos, cada. O oocisto sofre o processo de esporulação, no máximo até cinco dias após ser excretado, sob condições de aeração, umidade e calor, tornando-se infectante e permanecendo viável por até um ano, em solo úmido e quente (DUBEY, 1986; JACKSON; HUTCHISON, 1989; NEVES, 2004).

Gatos, geralmente, liberam milhões de oocistos após a infecção primária por *T. gondii*, sendo que um único gato pode liberar mais de 100 milhões de oocistos, no ambiente (JACKSON; HUTCHISON, 1989). Nos felídeos cuja infecção primária resultou da ingestão de cistos teciduais, oocistos serão liberados nas fezes após um período de três a 10 dias (DUBEY, 1986; JACKSON; HUTCHISON, 1989; FRENKEL, 2000). Cerca de um terço dos gatos que se infectam com oocistos, podem liberar outros oocistos nas fezes, 18-49 dias após a infecção, por um período superior a 10 dias (DUBEY, 1996). Os gatos também podem se infectar pela ingestão de um grande número (> 1000) de taquizoítos, liberando os oocistos após 15-19 dias da infecção, por até sete dias (DUBEY, 1998).

### 2.2.3. CICLO DE VIDA

O ciclo de vida, envolve uma fase assexuada que ocorre nos tecidos e nos linfonodos de vários hospedeiros e resulta na produção de taquizoítos e bradizoítos, e uma fase sexuada que ocorre nas células do epitélio intestinal de gatos jovens e outros felídeos não imunes e resulta na produção de oocistos (NEVES, 2004).

Após a ingestão pelo hospedeiro intermediário de cistos teciduais, ou ocasionalmente oocistos esporulados, o parasita penetra nas células do epitélio intestinal e se dissemina por todo o corpo através do sangue e da linfa. Tanto o gato como os hospedeiros intermediários, inclusive o homem, desenvolvem a fase tecidual da infecção, e os cistos teciduais contendo bradizoítos persistem por anos após a infecção. O ciclo de vida de *T. gondii* é completado quando os cistos teciduais são ingeridos por gatos.

Os esporozoítos, bradizoítos ou taquizoítos ao penetrarem no epitélio intestinal do gato, se multiplicarão por endodiogenia e merogonia (esquizogonia), originando vários merozoítos. A célula parasitada se romperá e liberará os merozoítos que penetrarão em novas células epiteliais e se transformarão nas formas sexuadas masculinas ou femininas: os gametócitos (ou gamontes) que após maturação formarão os gametas masculinos móveis com dois flagelos (microgametas) e femininos imóveis (macrogametas). O macrogameta permanecerá dentro de uma célula epitelial, enquanto os microgametas móveis sairão de sua célula e irão fecundar o macrogameta, formando o ovo ou o zigoto, que evoluirá dentro do epitélio, formando uma parede externa dupla, originando o oocisto. Após alguns dias, o oocisto imaturo, após o rompimento da célula epitelial, será liberado no meio externo juntamente com as fezes. A sua maturação no meio externo ocorrerá por esporogonia após um período de um a cinco dias, e resultará na formação de dois esporocistos contendo quatro esporozoítos cada. O oocisto esporulado é infectante para muitos vertebrados, inclusive o homem. O oocisto pode sobreviver por meses ou anos, e em condições favoráveis de umidade e temperatura pode manter-se infectante por cerca de 12 a 18 meses.

O hospedeiro intermediário pode se infectar ao ingerir oocistos maduros contendo esporozoítos, taquizoítos ou cistos contendo bradizoítos. Os taquizoítos que chegarem ao estômago serão destruídos, enquanto aqueles penetrarem na



mucosa oral poderão evoluir do mesmo modo que as outras formas. Após a ingestão, as enzimas proteolíticas degradarão a parede dos oocistos e dos cistos teciduais, havendo liberação de bradizoítos e esporozoítos que invadirão as células do hospedeiro (FRENKEL, 2002; NEVES, 2004). Essas formas se multiplicarão após rápida passagem pelo epitélio intestinal e penetrarão em vários tipos de células do organismo, formando o vacúolo parasitóforo, onde sofrerão divisões por endodiogenia, formando novos taquizoítos (fase proliferativa), que irão romper a célula parasitada, liberando novos taquizoítos, que invadirão novas células. Essa fase inicial da infecção, chamada de fase proliferativa, caracteriza a fase aguda da doença. Alguns parasitos evoluem para a formação de cistos teciduais (Figura 2).

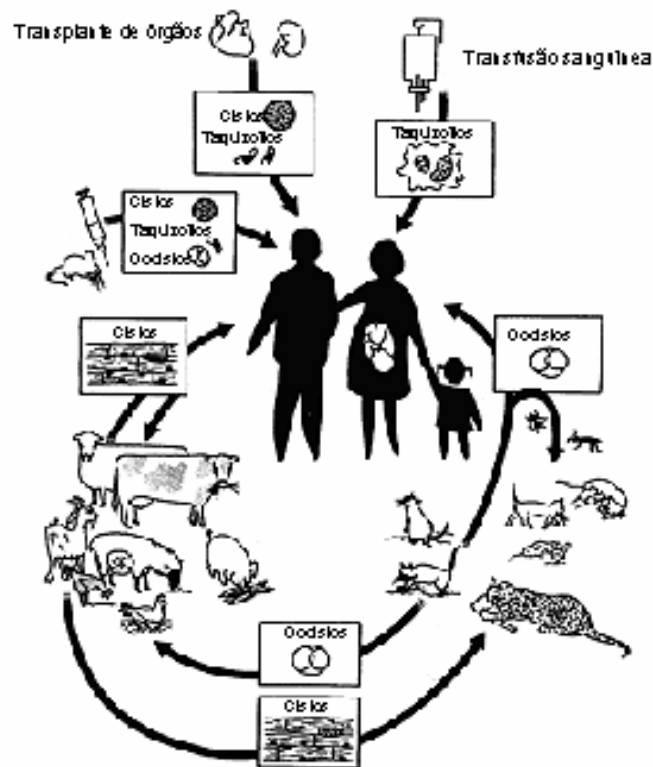


Figura 2 – Esquema do ciclo de vida de *Toxoplasma gondii*.  
 Fonte: <http://www.sgi.co.yu/html/006/00613.html>

## 2.3. ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

### 2.3.1. PREVALÊNCIA

De acordo com Amato Neto e colaboradores (1982), a prevalência da infecção causada pelo *Toxoplasma gondii* é mais freqüente em regiões quentes e úmidas. A prevalência da infecção no homem aumenta com a idade, atinge todos os níveis sociais e é encontrado em quase todos os países com porcentagem de positividade que varia entre 20% a 83% da população (NEVES, 2004). No Brasil, estima-se que 70% da população apresenta-se infectada, em algum momento da vida (VERGARA et al., 1985). Nos estados de São Paulo e Minas Gerais, foi registrada positividade de aproximadamente 68%; no Rio de Janeiro, de 79%; no Rio Grande do Sul, 74,5%; e na Região Amazônica, 71% (GUIMARÃES et al., 1993). Na América Central, América do Sul e Europa Continental, estima-se que a prevalência de infecção por *T. gondii* seja de 50 a 80% e nos Estados Unidos da América, de 16% a 40% (DUBEY, 1998). Na Austrália, a prevalência é de 4%; na Finlândia, 20%; Polônia, 36% Áustria, 37%; Itália, 40%; Etiópia, 48%; Bélgica, 53%; Panamá, 63%; e El Salvador, 75% (McCABE; REMINGTON, 1988; ROOS et al., 1993). A alta prevalência da infecção encontrada na França (71%) relaciona-se ao freqüente hábito de ingestão de carne crua ou mal cozida (DESMONTS et al., 1965).

As diferentes taxas de soroprevalência para toxoplasmose na população humana mundial devem-se a diferentes fatores como: localização geográfica, condições ambientais, tipos de fauna, hábitos culturais, grau de desenvolvimento do país, infra-estrutura hídrica e sanitária (REMINGTON et al., 2001) e metodologia utilizada nos levantamentos epidemiológicos.

*Toxoplasma gondii* apresenta alta infectividade, fato demonstrado pelos dados epidemiológicos de prevalência da infecção, e baixa patogenicidade, se considerarmos a abrangência cosmopolita da infecção, em relação à baixa ocorrência de casos clínicos graves, não obstante, a existência de numerosas cepas de diferentes graus de virulência isoladas de seres humanos e animais infectados (AMATO NETO et al., 1982).

Os gatos são os únicos animais domésticos que são hospedeiros definitivos de *Toxoplasma*, sendo importantes, portanto, na epidemiologia das infecções por este parasita. Após a infecção primária, os gatos que permanecem dentro de casa podem liberar um grande número de oocistos, colocando em risco de infecção os seus donos. Gatos vadios e gatos que vivem em fazendas, podem contaminar o ambiente com oocistos que podem infectar o gado que mais tarde será utilizado para consumo humano. Entretanto, o contato direto com gatos não resulta, geralmente, em risco de infecção por *T. gondii*, já que os oocistos liberados não estão esporulados, assim, não são imediatamente infectantes (TENTER et al., 2000).

A prevalência de gatos domésticos expostos a *T. gondii* na Europa, América do Sul e Estados Unidos da América varia de 9 a 46%, enquanto que na Ásia é de 6 a 9%, porém estas taxas, dependem do tipo de alimentação e do hábito do animal de viver dentro ou fora de casa (TENTER et al., 2000).

Gatos domésticos e outras espécies de felinos, podem tornar-se infectados por *T. gondii* através da ingestão de oocistos esporulados, no ambiente ou por ingestão de cistos teciduais em hospedeiros intermediários. Dependendo da espécie do hospedeiro intermediário, da área geográfica e da estação do ano, mais de 73% dos roedores e mais de 71% das aves selvagens, podem estar infectados por *T. gondii* (JACKSON; HUTCHISON, 1989; FRENKEL, 1995; DEVADA et al., 1998).

### **2.3.2. TRANSMISSÃO**

A maioria das transmissões horizontais em humanos é causada por ingestão de cistos teciduais em alimentos como carne mal cozida (DUBEY; BEATTIE, 1988; DUBEY, 1993; 2000; NEVES, 2004); ingestão de oocistos em frutas, verduras e água contaminadas e pelo contato do solo infectado ou por fezes de gatos domésticos (DUBEY; BEATTIE, 1988; MORRIS, 1996). Acredita-se que a transmissão horizontal por taquizoítos não seja epidemiologicamente importante, entretanto pode ocorrer com pouca frequência (TENTER et al., 2000). O período de incubação para ocorrer infecção por *T. gondii* varia de 10 a 23 dias após a ingestão de alimentos mal cozidos e de 5 a 20 dias após a ingestão de oocistos presentes em fezes de gatos.

Têm sido relatadas transmissões de taquizoítos e cistos teciduais em transplantes de coração, fígado, rins e medula óssea, e transmissões de taquizoítos em transfusões de sangue e derivados (AMATO NETO et al., 1982; DUBEY; BEATTIE, 1988), ocorre ainda transmissão transplacentária com potencial risco para o feto.

Os cistos teciduais de *T. gondii* contidos em carne de animais de produção, são importantes fontes de infecção para humanos. Entre os animais de corte, os cistos teciduais de *T. gondii* são mais freqüentemente observados, em tecidos infectados de gado, porcos, ovelhas e cabras e menos freqüentemente em aves domésticas, coelhos e cavalos (DUBEY, 2000).

Taquizoítos de *T. gondii* foram encontrados em leite de muitos hospedeiros intermediários como ovelhas, cabras e vacas (DUBEY; BEATTIE, 1988; JACKSON; HUTCHISON, 1989; DUBEY, 1993; REMINGTON et al., 2001), porém a toxoplasmose aguda em humanos, somente foi associada ao consumo de leite de cabra, não pasteurizado (SACKS et al., 1982; CHIARI; NEVES, 1984).

De acordo com Neves (2004), sabe-se que os gatos domésticos e os felídeos selvagens são os únicos que podem realizar o ciclo sexuado, liberando pelas fezes milhares de oocistos imaturos após a infecção aguda. Além disso, a ingestão de carnes contendo taquizoítos ou bradizoítos e a disseminação de oocistos por artrópodes, contribuem para a alta disseminação desse protozoário em nosso meio, já que moscas e baratas podem veicular oocistos, nas patas (CHINCHILLA et al., 1994).

### **2.3.2.1. TRANSMISSÃO MATERNO-FETAL**

A transmissão materno-fetal ocorre quando os taquizoítos, presentes na circulação materna, atingem a placenta e são transmitidos ao feto. Assim, acredita-se que a transmissão congênita só ocorra durante a infecção aguda materna, embora existam relatos de que possa acontecer também durante a fase crônica da infecção (FRENKEL, 2002). A transmissão materno-fetal está relacionada com o fluxo sanguíneo placentário, sendo maior nas fases tardias da gravidez (STRAY-PEDERSEN, 1993; LYENFIELD; GUERINA, 1997; GILBERT et al., 2001).

Dependendo da localização geográfica e da população estudada, a infecção pré-natal ocorre entre um a 120 por 10.000 nascidos vivos (TENTER et al., 2000).

Na transmissão transplacentária, o risco de infecção fetal é grande, somente se a mulher soronegativa adquire a primeira infecção durante a gravidez (CHEMELLO et al., 1998). A infecção fetal pode determinar graves seqüelas (STRAY-PEDERSEN, 1993), entretanto, os efeitos sobre o feto e a gravidade da doença, dependerão da virulência da cepa do parasita, da quantidade de formas infectantes, da competência imunológica da mãe e do período gestacional em que a mulher se infectou (DESMONTS; COUVREUR, 1974).

A transmissão transplacentária ocorre em 10 a 80% das infecções maternas, dependendo da idade gestacional do feto e do tratamento pré-natal (DUNN et al., 1999; FOULON et al., 1999). Quando a transmissão materno-fetal ocorre antes da décima quinta semana de gestação, pode resultar numa taxa de transmissão menor do que 5% podendo atingir 80% se próximo do termo (DESMONTS et al., 1985; FOULON et al., 1999), sendo que o acompanhamento sorológico sistemático durante a gestação, permite apenas uma estimativa indireta do risco de infecção fetal (REMINGTON et al., 2001).

A infecção fetal pode ser atenuada ou prevenida quando há tratamento antiparasitário materno após um diagnóstico precoce (WONG; REMINGTON, 1994; REMINGTON et al., 2001). Assim, se o tratamento for suspenso, a placenta pode se comportar como um reservatório, enviando microrganismos vivos para o feto ao longo da gestação (STRAY-PEDERSEN, 1993).

Ravel (1998) relatou que quando a infecção aguda foi adquirida no primeiro trimestre de gravidez, 14% dos fetos estavam infectados, no segundo trimestre, 29%; e no terceiro, 59%. Observou ainda que, 90% das gestantes que apresentaram infecção aguda eram assintomáticas. Desmonts e Couvreur (1974) verificaram que, embora menos freqüente, a contaminação fetal era mais grave, quando a mãe era infectada durante o primeiro trimestre da gravidez. Em compensação, quando a infecção materna acontecia no último trimestre, a doença fetal ocorria com maior freqüência e com manifestações clínicas discretas. Portanto, no decorrer da gestação, aumenta o risco de transmissão vertical e diminui a gravidade do acometimento fetal (OLIVEIRA, 2002).

Considerando que em pacientes imunossuprimidos ocorre freqüentemente reativação da infecção latente (HEDMAN et al., 1989), enfatiza-se a importância de

se fazer uma correta distinção entre a infecção primária e a reativação, principalmente durante a gestação, para avaliar exatamente o tempo em que ocorreu a infecção primária e, portanto, o risco de infecção intra-uterina (MARCOLINO et al; 2000).

Gestantes imunossuprimidas, como aquelas portadoras do vírus da imunodeficiência humana (HIV), de doença de Hodgkin ou acometidas por lupus eritematoso sistêmico, em uso de corticoterapia, apresentam risco de transmissão fetal, mesmo estando na fase crônica da infecção toxoplasmática, já que cistos de *Toxoplasma* persistem por um período indefinido, podendo ocorrer recrudescimento da doença e levar a uma parasitemia crônica (HASSL; TUMA, 1995). Estima-se que em gestantes HIV positivas e infectadas com *T. gondii*, o risco de transmissão congênita possa ser superior a 50% (TENTER et al., 2000).

Pedreira (1995), analisou casos sintomáticos de toxoplasmose ocorridos, no período de um ano, em uma Unidade Neonatal de hospital Público Universitário na cidade de São Paulo e relatou a incidência de toxoplasmose congênita, em dois de 1.000 nascidos vivos. Oliveira (2000), estimou que ao redor de 3.000 a 6.000 neonatos, eram acometidos com a doença anualmente no país, sendo, portanto, importante o conhecimento do diagnóstico clínico-laboratorial da toxoplasmose, durante a gestação.

## **2.4. FORMAS CLÍNICAS**

A toxoplasmose humana pode ser dividida em quatro formas clínicas: 1- toxoplasmose adquirida por indivíduos imunocompetentes; 2 - toxoplasmose ocular; 3 – toxoplasmose adquirida ou reativada por indivíduos imunodeprimidos; 4 - toxoplasmose congênita (AMATO NETO et al., 1982; REMINGTON et al., 2001).

### **2.4.1. TOXOPLASMOSE EM INDIVÍDUOS IMUNOCOMPETENTES**

Na maioria dos casos, a toxoplasmose ocorre de forma assintomática ou com manifestações sutis como febre, mal-estar, cefaléia, fadiga, dores musculares e linfadenopatias que regredem espontaneamente (MACIEL et al., 1984; WONG; REMINGTON, 1994). Cerca de 10 a 20% dos indivíduos infectados, apresentam sintomas da doença (FRENKEL, 1988), caracterizando a alta infectividade e baixa patogenicidade do agente.

A manifestação clínica mais comumente encontrada é a linfadenopatia (DUBEY; BEATTIE, 1988; BOWIE et al., 1997; MONTOYA, 2002), sendo que manifestações severas como encefalite, sepse, miocardite ou hepatite, raramente ocorrem em indivíduos imunocompetentes (HO YEN, 1992).

### **2.4.2. TOXOPLASMOSE OCULAR**

A coriorretinite é a lesão mais freqüentemente associada à toxoplasmose. Os sintomas estão presentes em mais de 90% dos pacientes com envolvimento ocular, como consequência de uma infecção aguda com a presença de taquizoítos, ou crônica com a presença de cistos contendo bradizoítos localizados na retina (NEVES, 2004). Estudos mostram que mesmo em crianças com doença subclínica ao nascimento, e que realizaram tratamento antiparasitário no primeiro ano de vida, há risco de aparecimento de lesões oculares (DE VROEDE et al., 1979).

A toxoplasmose ocular pode resultar de uma infecção intra-uterina que se manifestou muitos anos após a aquisição pré-natal ou pode ser decorrente de infecção pós-natal. Em ambas, o acometimento pode ser precoce ou tardio, podendo em alguns casos, manifestar-se clinicamente pela primeira vez, muitos anos depois da infecção sistêmica (DE VROEDE et al, 1979; MONTOYA; REMINGTON, 1996). A identificação da coriorretinite pela fundoscopia ocular, é muito freqüente, mesmo em casos sem outros sintomas, e permite realizar o diagnóstico precoce da infecção congênita. Entretanto, a doença é comumente confirmada por testes sorológicos,

devido à dificuldade de se fazer o diagnóstico clínico ou parasitológico (OLIVEIRA, 2002).

Dois tipos de retinite podem ser diagnosticados nos pacientes: a retinite aguda e a retinite crônica. Na retinite aguda, observa-se intensa inflamação de início súbito e que desaparece após curto período. Essa patologia é decorrente da liberação de antígenos durante o processo de invasão celular que leva à destruição da retina, além da presença de hipersensibilidade e inflamação aguda local. Já a retinite crônica, é de evolução progressiva e devido à cicatrização e reativação das lesões, pode determinar a perda acentuada da visão em cerca de 40% dos pacientes (AMATO NETO et al., 1982; REMINGTON et al., 2001).

#### **2.4.3. TOXOPLASMOSE EM INDIVÍDUOS IMUNOCOMPROMETIDOS**

A toxoplasmose em indivíduos imunocomprometidos pode ser decorrente de uma primo-infecção ou da reagudização de uma infecção latente. Os pacientes imunocomprometidos que apresentam alto risco de infecção toxoplasmática incluem aqueles com neoplasias, transplantados de medula e de outros órgãos ou pacientes portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS/SIDA) (MONTROYA, 2002). Como os cistos teciduais de *T. gondii* persistem no organismo por um período prolongado, uma imunossupressão significativa pode ser seguida por uma recrudescência da toxoplasmose.

*Toxoplasma gondii* é um parasita oportunista em pacientes com AIDS e em cerca de 40% dos pacientes soropositivos, a lesão do sistema nervoso central (SNC) mais freqüente é a encefalite (TENTER et al., 2000). Esses pacientes podem apresentar outras manifestações clínicas como: alteração do estado mental, desmaios, fraqueza, anormalidades sensoriais, meningite, desordem de movimento, entre outras (LIESENFELD et al., 1999), além de afetar outros órgãos, como olhos, pulmões e coração (MONTROYA, 2002).

Em pacientes portadores da AIDS/SIDA ao ser diagnosticada toxoplasmose afetando o sistema nervoso central, e uma vez iniciado o tratamento, este deve ser continuado indefinidamente, pois se o tratamento for interrompido, há alta taxa de recidiva. Em pacientes negativos para toxoplasmose e infectados por HIV, medidas



preventivas são prudentes, já que a infecção primária por *T. gondii* nesses pacientes, pode resultar em pneumonia ou outros sintomas mais severos (TENTER et al., 2000).

Na maioria dos pacientes imunocomprometidos, a toxoplasmose resulta da reativação de infecção latente. Em contraste, em pacientes que sofreram transplante de coração, o maior risco de desenvolver a doença, ocorre quando há infecção primária. Para pacientes HIV positivos, com sorologia negativa para toxoplasmose, o risco de infecção aguda e disseminada é significativo e de difícil diagnóstico (LUFT, 1989; MONTOYA, 2002).

Para pacientes imunocomprometidos, com suspeita de toxoplasmose, métodos de diagnóstico adicional são recomendados, como técnicas de PCR (Polymerase Chain Reaction), isolamento do parasita e exames histológicos (MONTOYA, 2002).

#### **2.4.4. TOXOPLASMOSE CONGÊNITA**

Na fase aguda da doença, as gestantes podem abortar o feto, sofrer partos precoces ou a termo, originando crianças saudáveis ou com anomalias e até mesmo levar o feto a óbito. É sabido que, 40% a 50% dos fetos infectados acabam morrendo (NEVES, 2004), nos fetos que sobrevivem podem ocorrer múltiplas manifestações como: convulsões, espasticidade, microcefalia, hidrocefalia, meningo-encéfalo-mielite, retardamento mental, coriorretinite, hepatoesplenomegalia, icterícia e também erupções cutâneas (AMATO NETO et al., 1982).

Quando há infecção aguda durante o primeiro trimestre de gravidez, é possível que ocorra óbito intra-uterino (DESMONTS; COUVREUR, 1974). Porém, em pacientes com infecção crônica da toxoplasmose, o óbito intra-uterino é raro e não significativo (REMINGTON et al., 2001).

No segundo trimestre de gravidez, pode ocorrer aborto ou nascimento prematuro, podendo o feto apresentar-se normal ou já com graves anomalias, descritas por Sabin (1942), cujas características são: coriorretinite bilateral, macular ou perimacular, simétrica (90% dos casos), calcificações cerebrais (69% dos casos),

perturbações neurológicas – retardamento psicomotor (60% dos casos) e alterações do volume craniano – micro ou macrocefalia (50% dos casos).

No terceiro trimestre de gravidez, a criança pode nascer normal e apresentar evidências da doença em alguns dias, semanas ou meses após o parto. No entanto, 85% dos recém-nascidos infectados, não apresentam anormalidades clínicas ao nascimento (BERREBI et al., 1994; GUERINA et al., 1994). Nas formas mais graves, há um comprometimento ganglionar generalizado, anemia, trombocitopenia, edema, hepatoesplenomegalia, pneumonia, colestase, miocardite, meningoencefalite e anormalidades liquóricas e lesões oculares como: inflamação e degeneração da retina, nistagmo, microftalmia, estrabismo, catarata, fotofobia e irite (LYNFIELD; GUERINA, 1997; FRENKEL, 2002; NEVES, 2004). Esses pacientes apresentam risco de seqüelas oftalmológicas e neurológicas graves que podem se manifestar em longo prazo (WILSON et al., 1980; GUERINA et al., 1994).

## 2.5. PREVENÇÃO

Há muitas medidas preventivas que podem reduzir o risco de transmissão horizontal por *T. gondii*. As orientações devem ser intensificadas, em relação às gestantes que apresentarem sorologia negativa para toxoplasmose, na primeira consulta pré-natal que deve ocorrer, obrigatoriamente no primeiro trimestre de gestação (REMINGTON et al., 2001).

Para reduzir o risco de infecção por cistos teciduais de *T. gondii* em animais de produção, é possível realizar medidas intensivas de higiene, confinamento e prevenção como: manter os animais de corte confinados por toda sua vida, manter o abrigo dos animais livre de roedores, pássaros e insetos, e alimentar os animais com ração especializada (TENTER, 2000).

A prevenção da transmissão horizontal de *T. gondii* por alimentação resume-se em não se alimentar de carne crua ou mal cozida, devendo a carne ser cozida a uma temperatura superior a 67° C antes do consumo (COOK et al., 2000). O período de tempo do cozimento é importante para matar todos os cistos teciduais de *T. gondii*, já que alguns cistos podem permanecer infectantes se o procedimento de

cozimento for desigual, como por exemplo, cozimento por microondas (LUNDÉN; UGGLA, 1992).

Se os alimentos foram congelados a uma temperatura inferior a  $-12^{\circ}\text{C}$ , o risco de contaminação é diminuído (COOK et al., 2000). Vale ressaltar, a importância de se lavar as mãos antes de se alimentar ou manipular alimentos, diminuindo assim o risco de transmissão e contaminação por *T. gondii*. Há alta prevalência de soropositividade em vegetarianos (24-47%), portanto daí a importância de se lavar ou cozinhar vegetais e frutas antes do consumo.

Fezes de gatos domésticos devem ser removidas diariamente, sendo a limpeza da caixa de areia do gato realizada com água quente ( $>70^{\circ}\text{C}$ ), detergente, e a manipulação deve ser feita sempre utilizando luvas, porém, preferencialmente, não sendo realizada por indivíduos imunocomprometidos ou gestantes (KAPPERUD et al., 1997). A utilização de luvas ao trabalhar em jardins, também é medida profilática. Caixa de areia utilizada por crianças em creches, por exemplo, pode ser uma fonte de infecção, pois crianças muitas vezes, praticam geofagia, o que está fortemente associado com infecção aguda por *T. gondii*, em crianças de 6 a 11 anos, ou seja, em idade pré-escolar (STAGNO, 1980). Portanto, faz-se necessário prevenir que gatos defiquem em locais habitados por crianças e uma das medidas seria a de se tampar as caixas de areia utilizadas em parquinhos, evitando assim o contato do gato vadio com a areia.

## 2.6. TRATAMENTO

Adultos e crianças imunocompetentes com linfadenopatia causada por toxoplasmose, geralmente não são tratados, a menos que haja sintomas severos e persistentes, havendo necessidade de tratamento administra-se pirimetamina, sulfadiazina e ácido fólico por duas a quatro semanas (MONTROYA; REMINGTON, 1995). O tratamento antiparasitário consegue eliminar os taquizoítos, porém não elimina os cistos teciduais em humanos e animais, que se mantém viáveis por vários anos, podendo reativar a infecção.

Em pacientes com coriorretinite o tratamento é realizado se houver registro de lesão na retina (HOLLAND; LEWIS, 2002), dessa forma, administra-se pirimetamina e sulfadiazina por uma ou duas semanas e corticoesteróides até o desaparecimento dos sintomas.

O número de recém nascidos infectados de mães tratadas com espiramicina, foi reduzido significativamente, em relação às não tratadas (STRAY-PEDERSEN; JENUM, 1992), porém, não elimina o risco de transmissão para o feto. A associação entre sulfadiazina e pirimetamina foi demonstrada em estudo, e é eficaz na diminuição dos efeitos da infecção, no recém-nascido (HOHLFELD et al., 1989).

Após o diagnóstico da infecção aguda materna, independentemente da idade gestacional, administra-se espiramicina, via oral dividido em três tomadas. É necessário ainda fazer o diagnóstico da infecção fetal, no intuito de providenciar tratamento adequado para todas as crianças com risco de embriopatia por *Toxoplasma* (REMINGTON et al., 2001). Nos testes usados para o estabelecimento do diagnóstico fetal da toxoplasmose, incluem a pesquisa do parasito ou do anticorpo no líquido amniótico e no sangue do cordão umbilical. Recentemente, utiliza-se PCR para a detecção do DNA de *T. gondii* no líquido amniótico, que pode ser realizado a partir da 12<sup>a</sup> semana da gestação (HOHLFELD et al., 1994; FORESTIER et al., 1998).

Se o feto está infectado, o tratamento indicado pelo Ministério da Saúde, segundo manual técnico (3<sup>a</sup> edição, Brasília, 2000), em “Gestação de alto risco”, consiste na administração via oral de três medicamentos (pirimetamina, sulfadiazina e ácido folínico). O tratamento tríplice materno alterna com espiramicina por um período de três semanas, até o termo. A sulfadiazina deve ser interrompida quando faltar duas semanas para o parto.

Apesar de não haver ainda um esquema de excelência para o tratamento pré e pós-natal da toxoplasmose congênita, a terapia pré-natal, parece de fato minimizar os efeitos da infecção, tornando-se uma alternativa prática e verdadeira para as gestantes (STRAY-PEDERSEN; JENUM, 1992; DINIZ; VAZ, 2003).

## 2.7. RESPOSTA IMUNE A *T. gondii*

A resposta imunológica do hospedeiro imunocompetente contra *T. gondii*, no andamento da infecção aguda adquirida é responsável pelo encistamento do parasita na musculatura esquelética, cérebro e demais órgãos, podendo permanecer latente por toda a vida do hospedeiro sem lhe causar dano ou morte. Pode haver uma reagudização ou recidiva, ocorrendo desastrosas conseqüências para o hospedeiro, quando ele apresentar algum problema na imunidade celular permitindo a transformação dos bradizoítos encistados em taquizoítos passíveis de proliferação e disseminação, ou quando apresentar alguma deficiência imunológica, como por exemplo, nos casos de imunossupressão induzida por drogas na quimioterapia, nos transplantes de órgão ou durante a AIDS (SHARMA, 1990).

Apesar da imunidade celular ter sido apontada como principal fator de defesa na infecção por *Toxoplasma*, a imunidade humoral dependente de células T, acompanha o curso da infecção crônica, com títulos baixos de anticorpos por toda a vida do indivíduo. Além disso, indivíduos cronicamente infectados pelo parasita, são aparentemente resistentes à infecção (SHARMA, 1990).

## 2.8. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico torna-se difícil, pois a infecção por *Toxoplasma gondii* é um processo sistêmico, com baixa parasitemia, com sintomas e sinais clínicos genéricos que levam a confundir a toxoplasmose com outras afecções de etiologias diversas, necessitando de técnicas laboratoriais para sua confirmação (AMATO NETO et al., 1982; PORSTMANN; KIESSIG, 1992).

## **2.8.1. MÉTODO DIRETO**

### **2.8.1.1. ISOLAMENTO DO PARASITA**

Este método baseia-se no crescimento e isolamento do patógeno em cultura celular ou em animais suscetíveis como os camundongos, sugerindo, portanto, acompanhamento por um longo período de tempo, não sendo, conseqüentemente, utilizado na rotina laboratorial (DESMONTS; REMINGTON, 1980). Além disso, o isolamento de parasitas a partir de tecidos pode refletir somente a presença de cistos, não definindo necessariamente, a infecção aguda (MACRE, 2002).

*Toxoplasma gondii* pode ser isolado mediante inoculação em cobaias ou ter seus componentes antigênicos identificados em líquidos orgânicos, em cortes de tecidos, utilizando técnicas de imuno-histoquímica ou em materiais de esfregaços de biópsia da placenta, de fetos e necropsia de natimortos (CAMARGO et al., 1989; LYNFIELD; GUERINA, 1997; FRENKEL, 2002).

### **2.8.1.2. AMPLIFICAÇÃO DE ÁCIDO NUCLÉICO: PCR**

Teste muito sensível, pois pode detectar o parasita mesmo estando em número reduzido ou lisado e baseia-se na amplificação das seqüências específicas de DNA (HOLLIMAN et al., 1994). O DNA de *T. gondii*, é detectado em fluidos corporais ou fragmentos de tecidos (HOWE et al., 1997) e tem sido usado para diagnosticar toxoplasmose congênita (GROVER et al., 1990), ocular (MONTROYA et al., 1999), cerebral e disseminada (DUPOUY-CAMET et al., 1993). A técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction), revolucionou o diagnóstico de infecção intrauterina por *T. gondii* por permitir um diagnóstico precoce, evitando o uso de procedimentos invasivos para o feto. O diagnóstico por PCR permite, ainda, detectar DNA de *T. gondii* em tecido cerebral, fluido cerebrospinal, fluido aquoso e vítreo, fluido de lavagem broncoalveolar, e sangue em pacientes com AIDS, porém o diagnóstico por PCR não é recomendado para pesquisa de fluido amniótico, devido ao risco de

transmitir o vírus HIV ao feto durante o processo de amniocentese (MONTROYA, 2002).

## **2.8.2. MÉTODO INDIRETO**

### **2.8.2.1. DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO**

O diagnóstico da toxoplasmose é baseado na pesquisa de anticorpos contra o parasita, através de testes sorológicos. A pesquisa de diferentes classes de imunoglobulinas (Ig) – G, M, A e E – anti-*Toxoplasma* constitui a principal fonte de informação laboratorial para o diagnóstico da doença. Ainda, a presença dos anticorpos anti-*Toxoplasma* no decorrer da infecção, permite a análise de perfis sorológicos muito característicos, seja de infecção recente, em fase aguda, ou de infecção antiga, em fase de latência ou crônica (CONTRERAS et al., 2000).

Segundo Montoya (2002), o primeiro passo a ser realizado no diagnóstico de infecção por *T. gondii*, é determinar se o indivíduo em questão foi exposto ao parasita. O teste utilizado para a detecção de anticorpos da classe IgG estabelece se há a presença ou a ausência de infecção. Em um pequeno número de pacientes, anticorpos IgG podem não ser detectados dentro de duas a três semanas após a exposição inicial ao protozoário.

O segundo passo, consiste em estabelecer se o paciente apresenta uma infecção recentemente adquirida ou se a infecção foi adquirida no passado (MONTROYA, 2002). Quando testes para IgM são positivos, há necessidade de se fazer testes confirmatórios (LIESENFELD et al., 1997; 2001).

O terceiro passo, é estabelecer se a condição do paciente é compatível com a toxoplasmose, ou seja, infecção aguda ou reagudização de infecção latente (MONTROYA, 2002).

Há dois tipos principais de testes sorológicos: os que utilizam microorganismos inteiros como antígenos e aqueles que utilizam extrato antigênico de parasitas lisados. Os que utilizam microorganismos inteiros, são representados pelo teste do corante de Sabin Feldman, pelo ensaio de aglutinação por

imunoabsorção de IgM e pela imunofluorescência indireta, que demonstram principalmente anticorpos dirigidos contra os antígenos da membrana do parasita. Os testes sorológicos que utilizam extrato antigênico de parasitas lisados, incluem o teste de hemaglutinação indireta e o ensaio imunoenzimático (DUFFY et al., 1989).

O teste de Sabin-Feldman ou Teste do Corante é o processo sorológico clássico de diagnóstico da toxoplasmose na fase aguda ou crônica da doença, sendo muito sensível, pois pode detectar anticorpos IgG no soro em diluições de até 1:16000. Atualmente este método está em desuso devido à necessidade de se manter *Toxoplasma* vivo em camundongo, o que acarreta risco de contaminação, além do desenvolvimento de outros testes sorológicos de melhor sensibilidade e de mais fácil execução (REMINGTON et al., 2001; NEVES, 2004).

O teste de hemaglutinação indireta é um excelente método de diagnóstico, pois apresenta simplicidade de execução e alta sensibilidade. Porém é inadequado para o diagnóstico precoce e freqüentemente, não detecta toxoplasmose congênita em recém-nascidos, sendo um método adequado para levantamento epidemiológico (NEVES, 2004). Utilizam-se hemácias taninizadas, usualmente não aglutinantes com o soro humano, como as de aves, recobertas com antígenos completos de *Toxoplasma*, que ao reagirem com anticorpos específicos, apresentam uma aglutinação visível que pode ser quantificada pela diluição seriada do soro. Ocasionalmente, observam-se resultados falso-positivos por interferência de anticorpos IgM “naturais”, aglutininas IgM não-específicas, em geral de títulos baixos (MACRE, 2002).

O teste de imunofluorescência indireta apresenta boa especificidade e sensibilidade, podendo ser usado tanto para a fase aguda como para a fase crônica da toxoplasmose. Toxoplasmas formalizados são usados como antígeno e são fixados em lâminas, tornando-o muito mais prático e seguro para a rotina laboratorial. Ainda, esse teste permite que os anticorpos sejam identificados, segundo as classes de imunoglobulinas. O teste de imunofluorescência para IgM pode apresentar resultados falso-positivos, devido a interferência de fatores reumatóides, presentes eventualmente, no soro (CAMARGO et al., 1989; STRAY-PEDERSEN, 1993).

O ensaio imunoenzimático (ELISA - Enzyme - Linked Immunosorbent Assay) é um dos testes mais usados atualmente e apresenta maior sensibilidade do que os testes de reação de imunofluorescência indireta e do corante de Sabin-Feldman.



Os ensaios imunoenzimáticos utilizam antígenos solúveis do parasita adsorvidos à superfície de placas de microtitulação (poliestireno), permitindo a ligação de anticorpos específicos presentes no soro de indivíduos infectados. A detecção de anticorpos, nesta fase, pode ser feita após lavagens dos poços de reação, seguido pela adição de conjugados contendo anti-imunoglobulinas humanas ligados a uma enzima. A reação enzimática, após adição de substrato solúvel específico, produz mudança colorimétrica, que reflete a quantidade de anticorpos anti-*Toxoplasma* ligados, sendo de alta sensibilidade e especificidade (PELLOUX et al., 1998) A quantidade de anticorpos no soro, é diretamente proporcional à intensidade da cor (CAMARGO, 1996; CALVÃO, 2002).

O ELISA-IgM pode apresentar resultados falso-positivos e falso-negativos pelas mesmas razões observadas no teste de imunofluorescência indireta, ou seja, devido a interferência de fatores reumatóides, presentes eventualmente, no soro (CAMARGO, 1996).

O Teste Imunoenzimático de Captura ou ELISA Duplo Sanduíche (DS - ELISA IgM) foi desenvolvido por Naot e Remington (1980) e é um imunoensaio de fase sólida, com imunocaptura de anticorpos IgM ligados à enzima, com revelação quimioluminescente (OLIVEIRA, 2002). O teste imunoenzimático de captura de IgM não sofre interferência de fatores reumatóides e de competição de anticorpos IgG, pois sendo mais sensível, passa a detectar anticorpos IgM por períodos mais longos, o que de certa forma pode prejudicar seu significado como marcador de infecção recente (CAMARGO et al., 1991).

#### **2.8.2.2. AVIDEZ DE ANTICORPOS IgG**

Em 1989, Hedman e colaboradores introduziram um novo método de diagnóstico de infecção aguda da toxoplasmose, baseado na força de ligação de anticorpos específicos IgG para antígenos multivalentes de *Toxoplasma* (ROITT, 1988). Essa força de ligação, chamada avidéz de IgG, caracteriza-se por ser baixa na primeira fase após a infecção aguda, e aumentar com o tempo. A alta taxa de

avidez, no início da gestação é utilizada como parâmetro para excluir a infecção após a concepção (HEDMAN et al., 1989; HOLLIMAN et al., 1994).

Muitos pesquisadores como Lappalainen (1993) e Sensini (1996), apoiaram a importância da determinação de avidez de IgG, no diagnóstico da infecção primária por *T. gondii*. Esse método analisa a afinidade de ligação dos anticorpos IgG ao antígeno toxoplasmático, separando os anticorpos de baixa afinidade, produzidos na fase primária da infecção, daqueles de alta afinidade, indicativos de infecção crônica (JOYNSON et al., 1990).

Análises foram desenvolvidas para diferenciar indivíduos com anticorpo IgG de baixa avidez produzidos num estágio primário da infecção, daqueles com IgG de alta avidez que refletem a forma latente ou crônica da infecção (HEDMAN et al., 1989; CAMARGO et al., 1991; HOLLIMAN et al., 1994; VINHAL et al., 1994; JENUM et al., 1997; COZON et al., 1998). A determinação da avidez por IgG, é um importante marcador sorológico que pode ser usado para distinguir entre a fase aguda e a fase crônica.

A presença de altos títulos de anticorpos IgG e a persistência de anticorpos IgM específicos, têm dificultado a interpretação clínica em prever o período da infecção aguda (BERTOZZI et al., 1999).

Casos de toxoplasmose na fase aguda, podem ser identificados pela presença de IgM específica para *T. gondii* e também por um significativo aumento de IgG em amostras pareadas. Contudo, estes marcadores apresentam resultados conflitantes, uma vez que, anticorpos IgM para *T. gondii* podem ser detectados em alguns pacientes por um longo período após a fase da infecção aguda, enquanto que, altos níveis de IgG podem estar presentes após o início dos sintomas (CAMARGO et al., 1991). Assim, a presença de IgM não é sempre um indicador de infecção aguda. Outros fatores adicionais dificultam o diagnóstico: reativação cruzada de anticorpos IgM que estão presentes em diversas infecções com antígenos comuns ou são induzidos pela estimulação do linfócito B policlonal; a presença do fator reumatóide IgM ou anticorpos antinucleares; e o uso de amostras inativadas por calor (HEDMAN et al., 1989).

Indivíduos parasitados com *T. gondii*, podem não exibir níveis detectáveis de anticorpos IgG no estágio inicial da infecção. Níveis de IgG começam a aumentar de uma a duas semanas após a infecção. O pico máximo é alcançado em seis a oito

semanas, quando gradualmente declina por períodos de meses até anos. Geralmente, baixos níveis de IgG são detectáveis por toda a vida. Níveis de IgM normalmente declinam em quatro a seis meses, porém podem persistir em níveis baixos por até 1 ano após infecção (JEANNEL et al., 1990). Pacientes com coriorretinite em decorrência da toxoplasmose, geralmente têm níveis não detectáveis de IgM (KRICK; REMINGTON, 1978).

A presença de títulos elevados de anticorpos IgG que permanecem positivos ou aumentam em período de até 18 meses, no soro de recém-nascido, indica toxoplasmose congênita, uma vez que, os que decrescem e tendem a se tornar negativos, representam os anticorpos maternos de transferência passiva (CAMARGO et al., 1995).

Apesar do teste de avididade de IgG ser um bom auxiliar no diagnóstico da infecção aguda por toxoplasmose, existem problemas metodológicos que implicam em sua melhor padronização, como o uso do agente caotrópico, tendo sido indicado o uso da uréia (CAMARGO et al., 1991), DEA (dietilamina) e NH<sub>4</sub> SCN (tiocianato de amônio), cada um em concentrações variáveis. Outro fator importante, é se o método de escolha é o de diluição, em que o agente caotrópico é o diluente do soro ou se o método é o de eluição, em que o agente caotrópico é utilizado na lavagem da placa após a incubação do soro.

O agente caotrópico mais usual é a uréia, que é utilizada na maioria dos ensaios em modelo de eluição (MACRE, 2002). O poder caotrópico da uréia é inferior ao do tiocianato de amônio e do tiocianato de sódio em bases químicas e pH neutro, enquanto que a dietilamina e outros agentes têm seu poder caotrópico associado ao pH (HEDMAN et al., 1993; MACRE, 2002). A abundância de escolha dos agentes caotrópicos dos vários estudos, é o principal problema de comparação dos ensaios de avididade e sua padronização (SUZUKI et al., 2001).

### 3. OBJETIVOS

Avaliar a metodologia sorológica do teste de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma gondii* na rotina laboratorial. Para esta avaliação foram utilizados os seguintes parâmetros:

1. Determinar o perfil sorológico para toxoplasmose entre as gestantes do município de Araraquara-SP e região;
2. Determinar a frequência de toxoplasmose entre gestantes, nas duas fases da doença: aguda e crônica;
3. Avaliar o índice de avidéz como fator de risco de toxoplasmose congênita entre as gestantes soropositivas para IgM;
4. Estudar a variação da avidéz para anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma*, em relação à terapia medicamentosa específica;
5. Avaliar os possíveis casos de transmissão congênita.

## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1. LOCAL DO ESTUDO**

A pesquisa foi realizada no Laboratório de Imunologia Clínica e Biologia Molecular do Centro de Referência Diagnóstica (CRD) do Núcleo de Atendimento à Comunidade (NAC) da Universidade Auxiliar Integrada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Campus de Araraquara - UNESP.

### **4.2. POPULAÇÃO DE ESTUDO**

A população estudada foi de 233 gestantes, acima de 18 anos, residentes na cidade de Araraquara - SP e região, encaminhadas ao laboratório para a realização de exames pré-natal, no período de Janeiro a Novembro de 2005.

Todas as participantes foram informadas sobre a pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido conforme estabelecido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Farmacêuticas-UNESP/Campus de Araraquara-SP (Anexo 1).

Após autorização, além dos resultados dos exames sorológicos para toxoplasmose, foram obtidos a partir das fichas das gestantes, dados referentes ao mês de gestação e idade, no momento de realização dos testes sorológicos. Nas fichas, não havia nenhuma informação adicional a respeito de medicação para toxoplasmose.

#### **4.1.1. CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO DE ARARAQUARA (SEGUNDO SUA POPULAÇÃO FEMININA)**

A estimativa populacional de acordo com dados da Fundação IBGE-2004 é de 194.401 habitantes, sendo, 95% residente na área urbana e 5%, na área rural. A população feminina com idade acima de 10 anos é de 93.729 habitantes (51%).

Segundo dados da Maternidade Gota de Leite, Araraquara – SP, no ano de 2004, de um total de 3260 gestantes que realizaram atendimento geral no hospital, 2734 gestantes (84%), pertenciam à cidade de Araraquara – SP, sendo as demais (16%), pertencente a outras cidades da região.

As gestantes participantes da pesquisa pertenciam em sua maioria (83,7%), a cidade de Araraquara – SP e somente, 8,6% e 7,7% pertenciam à cidade de Américo Brasiliense e a outras cidades da região, respectivamente.

#### **4.3. OBTENÇÃO DE AMOSTRAS SOROLÓGICAS**

Amostras sorológicas foram obtidas a partir de 5,0 mL de sangue total, colhido sem anticoagulante das gestantes, para realização de exames pré-natal.

#### **4.4. TESTES SOROLÓGICOS**

Os anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma*, foram pesquisados pelos testes Imunoenzimáticos de detecção Quimioluminescente e os anticorpos da classe IgM anti-*Toxoplasma*, foram pesquisados pelo teste Imunoenzimático de Captura. Os soros das gestantes positivas nas reações sorológicas para pesquisas de anticorpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma*, foram empregados em um teste de avidéz de IgG utilizando um teste diagnóstico comercial.

#### **4.4.1. TESTE IMUNOENZIMÁTICO PARA ANTICORPOS IgG ANTI-*Toxoplasma*.**

Utilizou-se o Analisador IMMULITE 2000 para a determinação quantitativa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma*, em soro humano *in vitro*. O teste imunoenzimático quimioluminescente para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma*, foi realizado seguindo as orientações do fabricante, em sistema automatizado. Os resultados foram quantificados automaticamente e expressos em unidades internacionais por mililitro (UI/mL). A interpretação dos resultados foi feita como se segue: 1) resultado positivo, quando o valor foi superior a 8UI/mL, indicando infecção pregressa; 2) resultado negativo, quando o valor foi inferior a 5 UI/mL, indicando ausência de exposição ao *Toxoplasma* e; 3) resultado indeterminado, quando o valor foi superior ou igual a 5 e inferior a 8UI/mL.

#### **4.4.2. TESTE IMUNOENZIMÁTICO DE CAPTURA DE ANTICORPOS IgM ANTI-*Toxoplasma***

Utilizou-se o Analisador IMMULITE 2000, na detecção de anticorpos IgM anti-*Toxoplasma* no soro humano *in vitro*, e a metodologia foi realizada seguindo as orientações do fabricante, em sistema automatizado. A reação de captura de IgM, teve início após adição da amostra de soro da paciente e uma esfera de poliestireno revestida com anticorpo monoclonal de camundongo anti-IgM humana (captura de IgM). Após incubação e lavagem, foi adicionada a solução de conjugado compreendendo o antígeno de *Toxoplasma* ligado com fosfatase alcalina. Depois do período de incubação e da lavagem, o substrato enzimático quimioluminescente foi adicionado. A partir da hidrólise do substrato, pela fosfatase alcalina, a emissão de fótons, foi detectada em luminômetro: a quantidade de fótons emitidos é proporcional a quantidade de anticorpos IgM anti-*Toxoplasma* presentes na amostra.

Os resultados foram expressos considerando os seguintes parâmetros: 1) resultado positivo para anticorpos IgM anti-*Toxoplasma*, quando o valor obtido foi maior ou igual a 1,1UI/mL, indicando detecção de anticorpos IgM anti-*Toxoplasma*

na amostra, 2) resultado negativo para anticorpos IgM anti-*Toxoplasma*, quando o valor foi menor que 0,9 UI/mL e, 3) resultado indeterminado, quando o valor foi entre 0,9 e 1,0 UI/mL. Em reações onde o resultado era indeterminado, recomendava-se a repetição do teste e, se persistisse, uma nova coleta era sugerida para repetição do teste. Os resultados para os profissionais de saúde são qualificados como positivo e negativo, não havendo quantificação dos valores detectados.

#### **4.4.3. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE AVIDEZ DE IgG ANTI-*Toxoplasma***

Para determinação do índice de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma*, utilizou-se um teste diagnóstico comercial, ENZYWELL®, seguindo-se as instruções do fabricante.

O ensaio foi preparado em duplicata, ou seja, no interior de microplacas revestidas com antígeno *Toxoplasma* purificado e inativado foram colocados: 100µL do branco (por exemplo, poços A1 e B1), 100µL de controle de baixa avidéz (por exemplo, poços C1 e D1), 100µL de controle de alta avidéz (por exemplo, poços E1 e F1) e 100µL das amostras diluídas na proporção de 1:300 (por exemplo, poços G1 e H1, etc). As microplacas foram cobertas com o filme aderente e incubadas durante 1 hora, a temperatura de 37° C.

Após o tempo de incubação, os conteúdos de todos os poços foram aspirados e os poços lavados quatro vezes com 300 µL de solução de lavagem (tampão salina fosfato) diluído com água destilada na proporção de 1:10, sendo o líquido posteriormente aspirado dos poços. 100µL de tampão de lavagem (sem uréia) foram pipetados nos poços de amostra de soro e do controle (por exemplo, poços C1, E1, G1, etc) e 100µL tampão avidéz (solução de uréia 6M) foram pipetados nos outros quatro poços (por exemplo, poços D1, F1, H1, etc), as microplacas foram cobertas com o filme aderente e incubadas por 10 minutos, a temperatura de 37° C.

Após o tempo de incubação, novamente os poços foram aspirados e lavados, e 100µL de conjugado imunoenzimático marcado com peroxidase foi adicionado em todos os poços. As microplacas foram novamente cobertas e incubadas por 45 minutos, a temperatura ambiente (18-25° C), e após o tempo de incubação foram novamente aspiradas e lavadas. Após a lavagem, a revelação da reação foi feita



utilizando 100µL de solução substrato (tetrametilbenzidina e peróxido de hidrogênio estabilizado em tampão citrato) pipetados em todos os poços, incubados por 15 minutos, a temperatura ambiente. A reação foi interrompida pela adição de 100µL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,3mol/l (“Solução de Parada”) em todos os poços. A leitura da absorbância dos poços foi feita utilizando um espectrofotômetro, em comprimento de onda de 450 nm.

O índice de avides (IA), foi calculado pela relação da leitura de densidade óptica (DO) da amostra tratada com uréia, pela DO da amostra sem o tratamento com uréia, multiplicado por 100 e expresso como porcentagem de avides. Valores de avides menores que 30% foram considerados de baixa avides de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma*; valores entre 30 a 60% foram considerados valores “boderline” de avides; e valores maiores que 60% foram considerados de alta avides de anticorpos (Anexo 2).

#### **4.5. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

A amostra do estudo foi analisada do ponto de vista descritivo, por ocasião do primeiro exame sorológico pré-natal para detecção de anticorpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma*, quanto a idade e ao mês de gestação no momento da coleta da sorologia para toxoplasmose. As variáveis quantitativas estão expressas em média, desvio padrão, valor mínimo e valor máximo.

As comparações entre as gestantes dos grupos I e II quanto as variáveis idade e mês de gestação no momento da coleta dos exames sorológicos para toxoplasmose foram realizados através do Teste do Qui-quadrado ( $X^2$ ) considerando-se 5% para rejeição da hipótese de nulidade.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. CLASSIFICAÇÃO DAS GESTANTES

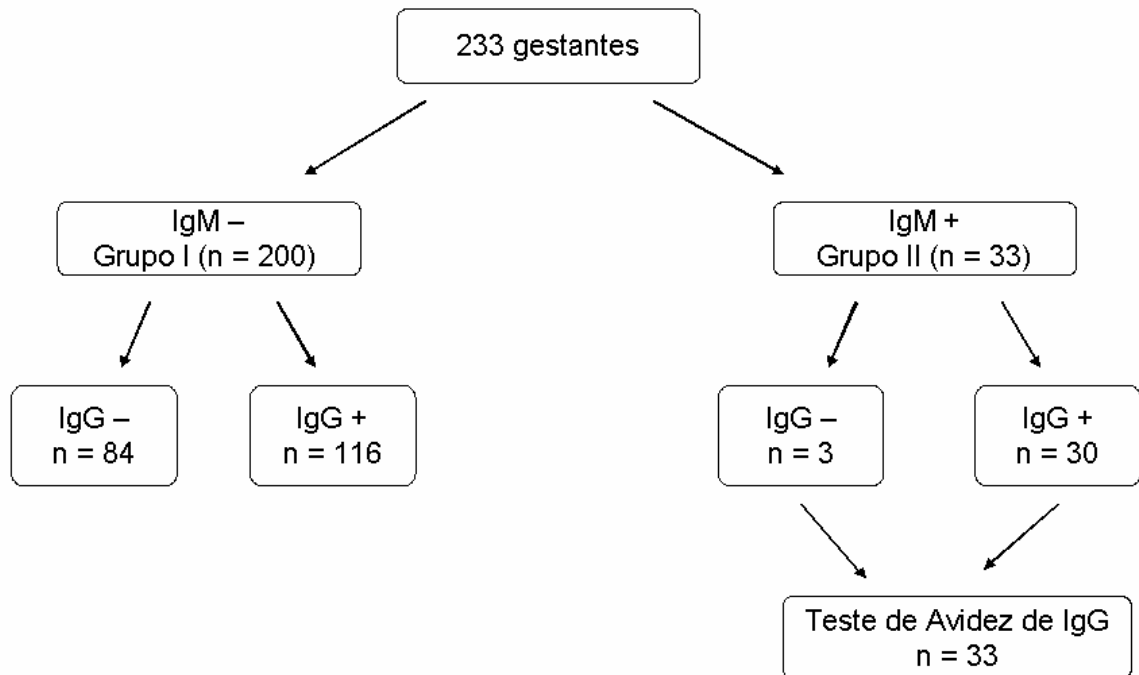
As gestantes foram agrupadas em categorias que puderam definir o perfil das mesmas de acordo com a faixa de idade e idade gestacional. As gestantes participantes desta pesquisa foram divididas em dois grupos, levando-se em consideração os perfis sorológicos, previamente definidos segundo os resultados das reações sorológicas caracterizados por ensaios convencionais de laboratório que possibilitaram classificar as amostras como se segue: Grupo I – soros de 200 gestantes que apresentaram teste sorológico negativo para anticorpos IgM específicos para *Toxoplasma*, no período de Agosto a Novembro de 2005 e Grupo II - 33 gestantes com suspeita de estarem na fase aguda da toxoplasmose, ou seja, aqueles cuja presença de anticorpos IgM específicos para *Toxoplasma* tenham sido detectados pelo Teste Imunoenzimático de Captura, no período de Janeiro a Novembro de 2005.

Após confirmação do diagnóstico sorológico para suspeita de infecção aguda por *Toxoplasma gondii*, as gestantes seguiram indicação médica no sentido de realizar ou não tratamento antiparasitário de acordo com os resultados dos exames sorológicos. Os tratamentos, quando clinicamente indicados, eram realizados com espiramicina desde o diagnóstico até três semanas após o termo.

O parâmetro materno que sugeriu risco de transmissão congênita foi a taxa de avidéz de IgG menor que 30%. Todos os recém-nascidos foram avaliados e o diagnóstico de toxoplasmose congênita foi definido clinicamente pelo médico responsável, não sendo, portanto, realizada a pesquisa de anticorpos IgM nos recém-nascidos.

## 5.2. PERFIL DAS GESTANTES

As gestantes participantes deste estudo foram divididas em dois grupos, conforme perfil sorológico, como observado no organograma abaixo:



A amostra total constituiu-se de 233 gestantes que realizaram testes sorológicos para anticorpos das classes IgG e IgM anti-*Toxoplasma*. A média de idade encontrada na amostra de 233 gestantes foi de 24,75 anos, com desvio padrão  $\pm$  de 5,26, sendo a mais jovem com 18 anos e a mais velha com 40 anos (Tabela 1). Para a realização da pesquisa estipulou-se como idade mínima, 18 anos.

O Grupo I (Tabela 1) foi composto por 200 gestantes que realizaram testes sorológicos para pesquisa de anticorpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma*, e que apresentaram resultado negativo para anticorpos da classe IgM. A média de idade neste grupo foi de 24,82 anos,  $\pm$  5,27, sendo a mais jovem com 18 anos e a mais velha com 39 anos. Quando a distribuição das faixas etárias foi analisada estatisticamente pelo Teste do  $X^2$ , encontrou-se um  $p = 0,567$  para  $\alpha = 5\%$ , graus de liberdade = 4, mostrando não haver diferenças estatisticamente significativas entre o Grupo I (200) e o total ( $n = 233$ ).

O Grupo II (Tabela 1) foi composto por 33 gestantes que realizaram testes sorológicos para IgG e IgM anti-*Toxoplasma* e teste de aidez de IgG anti-

*Toxoplasma*. A média de idade das gestantes foi de 24,21 anos,  $\pm$  5,41. A gestante mais nova tinha 18 anos e a mais velha 40. Quando a distribuição das faixas etárias foi analisada estatisticamente pelo Teste  $X^2$ , encontrou-se um  $p= 20,005$  para  $\alpha = 5\%$ , graus de liberdade = 4, mostrando apresentar diferenças estatisticamente significantes em relação as faixas etárias das gestantes pertencentes ao Grupo II ( $n = 33$ ), quando comparadas as gestantes do total ( $n = 233$ ).

Tabela 1 – Distribuição das gestantes participantes da pesquisa (Grupo I e Grupo II) de acordo com os resultados dos testes sorológicos e conforme a faixa etária. Araraquara – SP, 2005.

Faixa Etária (anos)	Grupo I		Grupo II		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<b>18 – 20</b>	46	(23)	12	(37)	58	(25)
<b>21 – 25</b>	73	(36)	9	(27)	82	(35)
<b>26 – 30</b>	50	(25)	8	(24)	58	(25)
<b>31 – 35</b>	25	(13)	3	(9)	28	(12)
<b>36 – 40</b>	6	(3)	1	(3)	7	(3)
<b>Total</b>	<b>200</b>	<b>-</b>	<b>33</b>	<b>-</b>	<b>233</b>	<b>(100)</b>

A idade média gestacional na ocasião da inclusão das pacientes no estudo foi de  $4,06 \pm 2,05$  meses. Das 233 gestantes participantes da pesquisa, 12 (5,15%) desconheciam o período de gestação em que se encontravam. Com relação as gestantes que tinham conhecimento do período gestacional, 119 gestantes (51,07%) realizaram a sorologia para toxoplasmose no primeiro trimestre de gravidez, 60 (25,75%) no segundo trimestre, e 42 gestantes (18,03%) no terceiro trimestre (Tabela 2).

Para o Grupo I ( $n = 200$ ), a idade média gestacional por ocasião da inclusão das pacientes no estudo foi de  $4,07 \pm 2,10$  meses. Dessas 200 gestantes participantes da pesquisa, 11 gestantes (5,5%) desconheciam o período da gestação em que se encontravam. Com relação as gestantes que tinham

conhecimento do período gestacional, 104 gestantes (52%) realizaram a sorologia para toxoplasmose no primeiro trimestre de gravidez, 46 (23%) no segundo trimestre, e 39 gestantes (19,5%) no terceiro trimestre (Tabela 2).

Para o Grupo II (n = 33), a idade média gestacional por ocasião da inclusão das pacientes no estudo foi de 3,97 meses,  $\pm$  1,73. Dessas 33 gestantes que apresentaram sorologia positiva para IgM anti-*Toxoplasma* e que realizaram o teste de avidéz de IgG, uma gestante desconhecia o período da gestação em que se encontrava, 15 gestantes (45,45%) realizaram o teste para toxoplasmose no primeiro trimestre de gravidez, 14 (42,42%) no segundo trimestre, e três (9,09%) no terceiro trimestre (Tabela 2).

O total de gestantes foi comparado com o Grupo I e com o Grupo II, utilizando o Teste do  $X^2$ . Observou-se que o Grupo I, comparado ao total, não apresentou diferenças estatisticamente significantes em relação a idade gestacional, com  $p = 1,060$  para  $\alpha = 5$ , e com grau de liberdade igual a 3. O Grupo II, quando comparado ao total, apresentou-se estatisticamente diferente, com  $p = 38,938$  para  $\alpha = 5$ , e com grau de liberdade igual a 3.

Tabela 2 – Distribuição das gestantes participantes da pesquisa (Grupo I e Grupo II) conforme o grupo a que pertence e segundo a idade gestacional. Araraquara – SP, 2005.

IDADE GESTACIONAL (trimestre)	Grupo I		Grupo II		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<b>Desconhecida</b>	11	(5,5)	1	(3,03)	12	(5,15)
<b>Primeiro</b>	104	(52)	15	(45,45)	119	(51,07)
<b>Segundo</b>	46	(23)	14	(42,42)	60	(25,75)
<b>Terceiro</b>	39	(19,5)	3	(9,09)	42	(18,03)
<b>Total</b>	<b>200</b>	<b>-</b>	<b>33</b>	<b>-</b>	<b>233</b>	<b>(100)</b>

Das 233 gestantes que realizaram o exame pré - natal, oito (3,43%) eram procedentes da zona rural, sendo que 50% apresentaram sorologia negativa e 50% apresentaram sorologia positiva para anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma*. A média de idade dessas gestantes foi de 25 anos, tendo a mais nova 18 anos e a mais velha, 35 anos. Dessas oito gestantes habitantes da zona rural, na ocasião da coleta de sangue para os exames pré-natal, três (37,5%) não souberam informar o mês de gestação, uma gestante estava no primeiro trimestre, outra gestante no segundo trimestre e três gestantes no terceiro trimestre de gestação. Em relação à procedência das gestantes do Grupo II (n = 33), todas eram residentes na zona urbana de Araraquara – SP.

### 5.3. SOROLOGIA PARA TOXOPLASMOSE

Foram utilizados para o diagnóstico da toxoplasmose o Teste Imunoenzimático Quimioluminescente para a detecção de anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma*, o Teste Imunoenzimático de Captura, para a detecção de anticorpos da classe IgM anti-*Toxoplasma* e o Teste de Aidez de IgG anti-*Toxoplasma*, quando a sorologia para anticorpos IgM era positiva.

As gestantes do Grupo I (n = 200), com sorologia negativa para anticorpos IgM anti-*Toxoplasma* e que realizaram teste sorológico para detecção de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma*, 116 (58%) apresentaram sorologia positiva para IgG (valores compreendidos entre 5 a >250 UI/mL), indicando infecção pregressa latente, e 84 (42%) apresentaram sorologia negativa para IgG (valores <5UI/mL) (Tabela 3).

As gestantes do Grupo II, com sorologia positiva para anticorpos IgM anti-*Toxoplasma*, 30 gestantes apresentaram sorologia positiva para IgG e três apresentaram sorologia negativa para IgG (Tabela 3).

Tabela 3 - Frequência de positividade para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma* em gestantes pertencentes ao Grupo I e Grupo II. Araraquara – SP, 2005.

IgG (UI/mL)	Grupo I		Grupo II		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<b>Negativo</b> (< 5,0)	84	42	3	9,09	87	37,3
<b>Positivo</b> (5,0 - > 250)	116	58	30	90,9	146	62,7
<b>Total</b>	<b>200</b>	<b>-</b>	<b>33</b>	<b>-</b>	<b>233</b>	<b>(100)</b>

As gestantes pertencentes ao Grupo I foram agrupadas, conforme a idade e de acordo com o resultado do teste sorológico para anticorpos IgG (Tabela 4). A média de idade das gestantes pertencentes ao grupo das gestantes soronegativas para toxoplasmose (< 0,5 UI/mL) foi de 23,94 anos,  $\pm$  4,99. A gestante mais nova tinha 18 anos e a mais velha 37 anos. As gestantes pertencentes ao grupo das soropositivas para toxoplasmose (0,5 - > 250 UI/mL) apresentaram média de idade de 25,49,  $\pm$  5,35.

Tabela 4 – Distribuição das gestantes pertencentes ao Grupo I (com sorologia negativa para anticorpos IgM), conforme a faixa etária, subdivididas em grupos de acordo com o resultado da sorologia para anticorpos IgG. Araraquara – SP, 2005.

Faixa Etária (anos)	IgG -		IgG +		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
18 – 20	20	(23,81)	25	(21,55)	45	(22,5)
21 – 25	36	(42,86)	38	(32,76)	74	(37)
26 – 30	19	(22,62)	30	(25,86)	49	(24,5)
31 – 35	7	(8,33)	19	(16,38)	26	(13)
36 – 40	2	(2,38)	4	(3,45)	6	(3)
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>(42)</b>	<b>116</b>	<b>(58)</b>	<b>200</b>	<b>(100)</b>

As gestantes pertencentes ao Grupo II (n = 33) realizaram testes sorológicos para detecção de anticorpos IgG e IgM anti-*Toxoplasma* e após confirmação da positividade nos testes sorológicos para estes anticorpos, foi realizado o teste de avidéz de IgG com o objetivo de se avaliar a afinidade dos anticorpos maternos anti-*Toxoplasma* e o risco de toxoplasmose congênita. Todas as gestantes deste grupo, foram positivas para anticorpos IgM, sendo que, testes positivos para IgG foram encontrados em 30 gestantes e testes negativos para anticorpo IgG anti-*Toxoplasma* em três gestantes. Essas três gestantes foram avaliadas pelo teste de Avidéz, mesmo não existindo critério clínico-laboratorial para a realização deste teste. Entretanto, observamos que pela diferença entre os métodos de detecção de IgG e Avidéz, foi possível identificarmos pequena quantidade de IgG com baixa afinidade nessas gestantes (Tabela 5).

As gestantes do Grupo II foram divididas em três subgrupos conforme o resultado do teste de avidéz de IgG: (a) baixa avidéz com taxas de avidéz menor que 30%; (b) alta avidéz com taxas de avidéz acima de 60% e (c) avidéz inconclusiva com taxas de avidéz entre 30 – 60% (Tabela 5).



Tabela 5 – Distribuição das gestantes do Grupo II (com sorologia positiva para anticorpos IgM) de acordo com o resultado do teste de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma*. Araraquara – SP, 2005.

Taxa de Avidéz (%)	IgG -*		IgG +		Total	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
< 30	1	-	1	(3,33)	2	(6,1)
30 – 60	2	-	13	(43,33)	15	(45,4)
> 60	0	-	16	(53,33)	16	(48,5)
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>(9,1)</b>	<b>30</b>	<b>(90,9)</b>	<b>33</b>	<b>(100)</b>

\*O teste de avidéz de IgG somente é recomendado quando os testes empregados para pesquisa de anticorpos IgG e IgM são positivos.

As 30 gestantes que apresentaram valores positivos para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma* e que realizaram o teste de avidéz de IgG, foram agrupadas de acordo com a taxa de avidéz de IgG e a idade gestacional em que se encontravam na ocasião da coleta de material para realização dos testes sorológicos, sendo que uma gestante apresentava taxa de avidéz de IgG entre 0-30% e estava no segundo trimestre de gestação, 13 gestantes (43,33%) apresentavam taxa de avidéz entre 30-60% e se agruparam da seguinte forma: cinco gestantes (38,46%) no primeiro trimestre, sete gestantes (53,85%) no segundo trimestre e uma gestante (7,7%) no terceiro trimestre de gestação. 16 gestantes (53,33%) apresentavam taxa de avidéz de IgG acima de 60% e se agruparam da seguinte forma: uma gestante desconhecia o mês de gestação em que se encontrava, nove gestantes (56,25%) estavam no primeiro trimestre, quatro no segundo trimestre e duas gestantes, no terceiro trimestre de gestação (Tabela 6).

Tabela 6 – Distribuição das gestantes pertencentes ao Grupo II, conforme a idade gestacional e resultado para teste de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma*. Araraquara – SP, 2005.

Idade gestacional (trimestre)	Taxa de avidéz (%)						Total	
	< 30%		30- 60%		> 60%			
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	n	(%)
<b>primeiro</b>	0	(0)	5	(38,46)	9	(56,25)	14	(46,7)
<b>segundo</b>	1	(100)	7	(53,85)	4	(25)	12	(40)
<b>terceiro</b>	0	(0)	1	(7,7)	2	(15,5)	3	(10)
<b>Desconhecida</b>	0	(0)	0	(0)	1	(6,25)	1	(3,3)
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>(3,33)</b>	<b>13</b>	<b>(43,33)</b>	<b>16</b>	<b>(53,33)</b>	<b>30</b>	<b>(100)</b>

As gestantes que realizaram teste de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma* (Grupo II) e após o diagnóstico realizaram terapêutica específica, prescrita por um profissional de saúde, foram divididas em dois subgrupos: as que foram tratadas 21 (63,64%) e as que não foram tratadas 12 (36,36%).

Entre as gestantes Grupo II que apresentaram valores negativos para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma* e que realizaram teste de avidéz de IgG (n = 3), apenas uma delas realizou tratamento antiparasitário. Essa gestante apresentou taxa de avidéz menor que 30% e estava no quinto mês de gestação. As gestante que não foram tratadas, apresentaram taxas de avidéz de IgG na faixa de 30 a 60% e encontravam, uma no terceiro mês e a outra, no sexto mês de gestação.

As gestantes do Grupo II que apresentaram positividade para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma* e que realizaram teste de avidéz de IgG, foram subdivididas de acordo com o mês de gestação em que se encontravam, com o resultado do teste de avidéz de IgG e com a realização de tratamento, ou não. A gestante que estava no quinto mês de gestação e que apresentava porcentagem de avidéz de IgG menor do que 30%, realizou tratamento antiparasitário. A maioria das gestantes que apresentou taxas de avidéz compreendidas entre 30-60%, realizou tratamento antiparasitário (76,92%). Três gestantes (23,07%) não foram tratadas durante a gestação, dessas gestantes duas estavam no primeiro trimestre e uma estava no segundo trimestre de gestação. Entre as gestantes que apresentaram taxas de avidéz de IgG acima de 60%, nove (56,25%) realizaram tratamento antiparasitário

enquanto que sete (43,75%) não foram tratadas. A gestante que desconhecia o mês de gestação, não realizou tratamento. No primeiro trimestre de gestação, cinco gestantes realizaram tratamento antiparasitário e quatro não realizaram. No segundo trimestre duas gestantes realizaram tratamento e duas não realizaram, no terceiro trimestre duas gestantes realizaram o tratamento.

Do total de 33 gestantes positivas para anticorpos IgM e que realizaram o teste de avidéz de IgG, três gestantes (9,1%) apresentaram suspeita de infecção toxoplasmática congênita. A gestante que abortou o feto no segundo mês de gestação, não realizou tratamento antiparasitário e apresentou taxa de avidéz de 49%. As mães dos dois fetos que nasceram com problemas na visão realizaram tratamento para prevenção da toxoplasmose congênita e apresentaram taxa de avidéz de 52 e 75%.

## 6. DISCUSSÃO

A toxoplasmose é uma das infecções mais temidas durante a gravidez devido ao risco de acometimento fetal, fato esse que torna fundamental o diagnóstico precoce durante o acompanhamento pré-natal.

A doença seria facilmente controlada se as fontes de infecção, tanto o ambiente, como animais de produção fossem adequadamente monitorados. Contudo, devido às características da doença, os estudos de monitoração contínua de transmissão da toxoplasmose são escassos (DESMONTS; COUVREUR, 1974).

A importância de se estabelecer o perfil sorológico de gestantes reside na possibilidade de adoção de medidas profiláticas e terapêuticas para minimizar a transmissão vertical e a ocorrência de danos, durante o desenvolvimento fetal (WONG; REMINGTON, 1994; REMINGTON et al., 2001).

A idade média encontrada no grupo estudado, composto por amostra de 233 gestantes, foi de 24,75 anos, com desvio padrão de  $\pm 5,26$ , para as gestantes pertencentes ao Grupo I, amostra de 200 gestantes IgM negativas, a média de idade foi de 24,82 anos,  $\pm 5,27$ . O valor médio encontrado nessas duas amostras foi semelhante ao valor encontrado para a cidade de Araraquara - SP, de acordo com o site da Maternidade Gota de Leite, Araraquara – SP e de outras cidades do estado de São Paulo, como citado por Vaz e colaboradores (1990), que encontraram média de idade de 24,5 anos em São Paulo-SP.

A maioria das gestantes do Grupo II (37%), com risco de toxoplasmose congênita, apresentou idade entre 18-20 anos. A baixa faixa etária deve ser um importante fator a ser considerado na assistência pré-natal, principalmente pelo desconhecimento dos riscos de infecções nesta fase. Há evidências de que a soropositividade para toxoplasmose aumenta em proporção direta com a idade das gestantes. Deve-se esperar exatamente que a primo-infecção, e conseqüentemente, a toxoplasmose aguda ocorra em faixas etárias mais jovens (FIGUEIRÓ-FILHO et al., 2005; VARELLA et al., 2003).

A gravidez na adolescência continua sendo motivo de preocupação, principalmente porque, os índices são elevados e continuam a existir os agravos psicológico-emocionais a ela relacionados, ainda que os riscos biológicos são diminuídos através de pré-natal adequado (SILVA; LEAL, 2002).

De maneira ideal, a precocidade do início da assistência pré-natal é de fundamental importância para a promoção da saúde da gestante e do concepto. É muito importante a realização do teste sorológico para toxoplasmose logo no início da gravidez, ou até mesmo antes da concepção, uma vez que, permite reconhecer o risco da gestante em adquirir a infecção aguda e assim instituir medidas profiláticas na prevenção da doença. Se o diagnóstico for realizado tardiamente, a probabilidade de haver infecção fetal, mesmo com o auxílio de medicação, aumenta bastante (DESMONTS et al., 1985; FOULON et al., 1999), já que a taxa de transmissão materno-fetal varia, principalmente, de acordo com a idade gestacional no momento da infecção materna, ou seja, quando esta ocorre antes da décima quinta semana de gestação, e pode resultar numa taxa de transmissão menor do que 5% podendo atingir 80%, se próximo do termo.

Quando analisada a idade gestacional durante os exames sorológicos, observou-se que as gestantes participantes da pesquisa (Grupos I e II) realizaram o pré-natal em sua maioria no primeiro trimestre de gestação (52% e 45,45%, respectivamente). O resultado positivo encontrado compara-se ao encontrado por Vaz e colaboradores (1990) e mostra que o ingresso precoce destas gestantes na assistência pré-natal provavelmente se deve a melhor qualidade no atendimento prestado e as estratégias que viabilizam o ingresso precoce das gestantes, garantindo a oferta e acesso aos serviços. O resultado encontrado no presente estudo difere do encontrado por Nagahama (2006), onde 44,5% das gestantes estudadas iniciaram tardiamente a assistência pré-natal (no segundo trimestre de gestação).

Apesar da alta cobertura pré-natal no município, existem desigualdades nos cuidados oferecidos às gestantes, já que foi observado que o desconhecimento do mês de gestação por 5,5% das gestantes pertencentes ao Grupo I e 3,03% de gestantes do Grupo II sugere a pouca preocupação dos profissionais de saúde em relação a se estimar o provável mês de gestação. Importante lembrar que as gestantes do Grupo II são aquelas com suspeita de infecção aguda por *Toxoplasma gondii* e que a importância do diagnóstico precoce juntamente com o tratamento antiparasitário implica na redução de transmissão congênita. Em relação às próprias gestantes, pode estar ocorrendo falta de conscientização acerca da importância do início precoce no pré-natal, o que provavelmente está relacionado a fatores educacionais, baixa escolaridade das pacientes estudadas e de seus companheiros,

fatores financeiros, desinteresse em seu próprio bem-estar e do bem-estar do feto e falta de esclarecimento a respeito da importância em se fazer o pré-natal adequadamente.

As gestantes pertencentes à zona rural representam 3,43% da população total de gestantes participantes da pesquisa. Quando analisado os resultados sorológicos, 50% delas apresentaram soropositividade para *T. gondii*. O valor encontrado difere de outros autores (GARCIA; NAVARRO, 1995; GARCIA et al., 1999), que relataram positividade superior a 60%.

Apesar do pequeno número (8) de gestantes pertencentes à zona rural neste trabalho, o que preocupa é a porcentagem de gestantes (37,5%) que desconheciam o mês de gestação em que se encontravam no momento da coleta dos exames de pré-natal. Além disso, três dessas gestantes realizaram o pré-natal no terceiro mês de gestação e somente uma realizou no primeiro trimestre. A preocupação em relação a esses valores deve-se ao fato de gestantes pertencentes à zona rural, apresentam maior risco de infecção toxoplasmática (SOUZA et al., 1987; BARROS et al., 1993; GARCIA; NAVARRO, 1995), devido ao hábito e ao contato freqüente com as fontes de infecção (GARCIA et al., 1999).

A importância de se determinar a prevalência não se deve somente à adoção de medidas profiláticas para gestantes soronegativas, mas também à adoção de medidas para o diagnóstico precoce da toxoplasmose na fase aguda e o emprego de terapêutica adequada com a finalidade de reduzir a agressão fetal (FOULON et al., 1994).

No presente estudo, a soroprevalência para toxoplasmose no Grupo I, foi de 58%, sendo esta porcentagem de acordo com o observado por Camargo e col. (1977) que encontraram positividade de 54,8% em 3.752 pacientes escolhidos ao acaso, e Vaz e col. (1990) que observaram 324 (67,4%) soros reagentes para toxoplasmose. Em diversos estudos no Brasil, as taxas variam de 50 a 76% da população (RICCIARDI et al., 1978; VERGARA et al., 1985; GUIMARÃES et al., 1993; BORGES et al., 1997; ANDRADE, et al., 2001), esta grande variação dentro da população do país, deve-se a fatores socioeconômicos e condições médico-sanitárias, já descritas como um fator importante na epidemiologia da toxoplasmose (JARA et al. 2001).

A alta prevalência de toxoplasmose no Brasil sugere a necessidade de acompanhamento sorológico para toxoplasmose durante toda a gestação, um

trabalho de conscientização das gestantes e uma maior divulgação da importância da assistência à saúde da mulher, que poderiam viabilizar o ingresso precoce dessas pacientes, no acompanhamento pré-natal. Estudos na população são necessários a fim de orientar as gestantes sobre as formas de transmissão da doença e como evitar a infecção, a fim de evitar a transmissão congênita (COOK et al., 2000).

Nos casos negativos, a sorologia deve ser repetida trimestralmente até um mês após o parto (THULLIEZ et al., 1992; FOULON et al., 1999; CHEMLA et al., 2002). Se ocorrer soroconversão durante o período gestacional, é necessário tratar a gestante a fim de reduzir seqüelas no feto (FOULON et al., 1999). É de suma importância à oferta e o acesso aos serviços e, principalmente, a promoção de melhorias na qualidade da assistência prestada à mulher, no período da gestação e após o nascimento do bebê (AMATO NETO et al., 1982; VERGARA et al., 1985; GUIMARÃES et al., 1993).

O perfil sorológico detectado evidenciou a existência de risco de toxoplasmose aguda entre as gestantes da região estudada, semelhante ao observado em estudos nacionais de soroprevalência (MOZZATO et al., 2003; SEGUNDO et al., 2004). Os fatores que influenciam a primo-infecção são: a prevalência da infecção na comunidade, a freqüência do provável contato com as fontes de infecção e o número de mulheres em idade fértil que não apresentaram primo-infecção (REMINGTON et al., 2001). Frequentemente apenas uma amostra de soro é colhida durante a gestação, não havendo, portanto, seguimento sorológico da gestante. A importância da realização do pré-natal corretamente, realizando múltiplas coletas em gestantes soronegativas para anticorpos IgG anti-*Toxoplasma*, a fim de obter um diagnóstico precoce e se houver infecção aguda, tratamento adequado a fim de reduzir as seqüelas no feto.

No Grupo I, observou-se que 42,86% das gestantes com sorologia negativa para toxoplasmose, apresentavam em sua maioria, idade entre 21-25 anos. Este dado está de acordo com a literatura, que mostra quanto menor a faixa etária menor o número de indivíduos infectados (GUIMARÃES et al., 1993; CAMARGO, 1996; FRENKEL, 2002). Provavelmente, de acordo com o passar dos anos do indivíduo, a exposição ao *Toxoplasma* aumenta. Uma alternativa para redução de custos com métodos diagnósticos e tratamentos, especialmente em regiões de alta prevalência da doença, seria a implantação de um programa de prevenção da toxoplasmose

congenita em gestantes suscetíveis, principalmente jovens (OSIS et al., 1993), a identificação dos fatores de risco para toxoplasmose durante a gestação e o fornecimento de orientação por escrito a essas gestantes soronegativas na primeira consulta pré-natal (FUOLON et al., 1988; KAPPERUD et al., 1997).

A detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* pelo método ELISA é comumente utilizada e o resultado desses testes, é geralmente bem aceito pelos clínicos devido à sua excelente sensibilidade, à rapidez na disponibilidade dos resultados e o relativo baixo custo dos testes, porém, é importante entender que um único teste sorológico não é suficiente para diagnosticar a toxoplasmose (TANYUKSEL et al., 2004). Os testes de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma* são utilizados nos dias de hoje para diagnóstico em gestantes, para diferenciar uma infecção adquirida de uma infecção passada, pois anticorpos da classe IgM podem persistir por meses ou anos após a infecção primária (MARCOLINO et al., 2000).

O teste de avidéz de IgG é um teste auxiliar confirmatório (MONTROYA, 2002) para caracterizar se a infecção é aguda ou pregressa, quando a reação sorológica com IgM é positiva em um paciente assintomático. Dependendo da porcentagem de avidéz de IgG e dos índices de anticorpos específicos IgG e IgM para *Toxoplasma*, o laboratório pode inferir se a infecção é aguda ou crônica e, conseqüentemente, qual o período mais provável que a infecção ocorreu. Por essa razão, durante a gestação, o teste de avidéz não deve ser solicitado isoladamente, devendo fazer parte do conjunto de testes sorológicos que o laboratório realiza, e o laudo final deve ser fornecido por aqueles que tenham real conhecimento e domínio da técnica empregada.

Dependendo da análise dos resultados dos anticorpos IgG e IgM específicos para *Toxoplasma* realizados em uma amostra de soro, o teste de avidéz, poderá ser anexado ou não ao resultado como um diferencial. Desse modo, quando numa reação sorológica a pesquisa de IgM é negativa, independente se os índices de IgG são elevados ou não, o teste de avidéz de IgG não é realizado, pois a infecção é pregressa, já que não foram detectados anticorpos IgM específicos. Para valores de IgM inferiores a 4 UI/mL, faz-se o teste de avidéz de IgG anti-*Toxoplasma* (LESER, et al., 2000), pois esses valores preocupam o obstetra, especialmente se a amostra for de uma gestante assintomática para toxoplasmose.

No presente estudo, testes negativos para anticorpo IgG anti-*Toxoplasma* foi realizado em três gestantes. Essas três gestantes foram avaliadas pelo teste de



avidez de IgG, mesmo não existindo critério clínico-laboratorial para a realização deste teste. Entretanto, foi observado que pela diferença entre os métodos de detecção de IgG e avidez, foi possível identificar pequena quantidade de IgG com baixa afinidade nessas gestantes. Estes resultados confirmam a baixa imunidade dessas gestantes e o risco aumentado de toxoplasmose congênita.

No presente estudo, baixa taxa de avidez de anticorpos IgG foi encontrada em uma gestante que apresentava anticorpos IgG e IgM positivos. Essa gestante, onde aliado ao diagnóstico da toxoplasmose, realizou tratamento contra a infecção por toxoplasmose, não houve transmissão congênita documentada. No entanto sabe-se que valores baixos de avidez de IgG podem permanecer por mais de um ano, o que diminui seu valor como marcador diferencial das fases agudas e crônica da infecção por *T. gondii*, não indicando necessariamente infecção recente. Aproximadamente 40% das pacientes com testes negativos para IgM apresentam avidez baixa ou intermediária (MONTROYA et al., 2002), e muitas gestantes com testes sorológicos IgM positivos apresentam resultados inconclusivos (taxa de avidez entre 30 a 60%) (REMINGTON et al., 2004), fato que ocorreu em 43,33% das gestantes pertencentes ao Grupo II participantes da pesquisa.

O teste de avidez de IgG teve sua importância reduzida para o diagnóstico da infecção congênita, pois o fato de estarem as mães, no segundo e terceiro trimestre de gestação com avidez intermediária ou elevada, não excluía a possibilidade da infecção materna ter ocorrido no primeiro trimestre. Confirmando, portanto, a importância de se realizar o teste de avidez de IgG no primeiro trimestre de gestação, pois uma porcentagem de avidez maior que 30% indica que a infecção ocorreu há mais de quatro meses, excluindo, portanto, infecção após o início da gestação.

Deve ficar claro para o clínico geral, para o infectologista ou para o obstetra que as reações sorológicas positivas para IgM, devem ser interpretadas com a cautela necessária para saber se a sua presença, traduz uma infecção aguda, uma infecção pregressa, ou não tem nenhum significado, por ser decorrente de uma reação cruzada, ou seja, falso positivo. Alguns laboratórios fornecem o resultado da sorologia para IgM simplesmente como positivo ou reagente, não indicando qual o título ou a densidade óptica ou o índice da reação, impossibilitando qualquer identificação quanto a ser ou não um anticorpo residual. O clínico, na tentativa de melhor interpretar o resultado, solicita um teste de avidez de IgG, mas não tendo

conhecimento de como é feito o teste de avidéz e da correta interpretação da porcentagem de avidéz, pode ser induzido a um raciocínio errôneo quanto a IgM ser residual ou não, e ao provável período que a infecção ocorreu. Então, quando a presença de altos títulos de anticorpos IgM é utilizada como critério para a identificação de infecção por *T. gondii*, há a possibilidade de falsa identificação de infecção aguda na gestação, e desnecessariamente, muitas gestantes realizarão tratamento antiparasitário. Dessa forma, sugerimos a documentação de todos os valores encontrados para anticorpos IgG e IgM, e não somente se são positivos ou negativos para gestantes.

A presença de anticorpos IgM, durante a fase crônica da infecção tem sido reportada, o que dificulta a interpretação dos resultados positivos, principalmente na gestação. A importância maior da detecção isolada de IgM, é a de determinar se a gestante não foi recentemente infectada. Portanto, nessa situação, é necessário associar a determinação de IgA, que por possuir cinética mais rápida, é capaz de identificar com maior segurança a fase aguda da infecção (LIESENFELD et al., 1997; BERTOZZI et al., 1999; SPALDING et al., 2003). Portanto, sugere-se outros testes complementares além dos testes sorológicos para a detecção de IgG e IgM e testes de avidéz de IgG, quando houver altos índices de IgM, como por exemplo, a pesquisa de anticorpos IgA específicos.

O tratamento antiparasitário deve ser realizado quando realmente há a necessidade, ou seja, somente após a análise de todos os resultados sorológicos e confirmada a presença de infecção aguda por *Toxoplasma gondii*. Porém, muitos profissionais de saúde, prescrevem o tratamento para as gestantes que apresentam suspeita da infecção por *Toxoplasma*, como relatada por Gilbert e colaboradores (2001). Nas gestantes que apresentaram valores “boderline” de avidéz, ou seja, valores compreendidos entre 30-60%, a maioria realizou tratamento antiparasitário (76,92%).

De acordo com MONTROYA (2002), se o Índice de Avidéz de IgG for maior que 60%, é provável que a infecção tenha ocorrido há mais de 60 dias e o anticorpo IgM presente, passa a ser considerado como um anticorpo residual. Em relação às nove gestantes (56,25%) com índice de avidéz maior que 60% e que realizaram tratamento antiparasitário, acredita-se que as cinco gestantes que foram tratadas no primeiro trimestre de gestação, foram tratadas desnecessariamente, uma vez que, caso a amostra de sangue da gestante foi colhida dentro dos últimos 60 dias, o

obstetra poderá supor que a infecção tenha ocorrido antes da paciente engravidar e provavelmente, não haverá nenhum risco para o feto (LESER et al., 2000). A gestante que desconhecia o mês de gestação e as que estavam no segundo e no terceiro trimestres de gestação, deveriam ter realizado novos testes sorológicos antes de serem tratadas, já que foi descrito anteriormente que a realização do diagnóstico sorológico, no segundo e terceiro trimestre de gestação tem sua importância reduzida, no diagnóstico da toxoplasmose congênita.

Segundo Wilson (1990), crianças que foram infectadas durante o período pré-natal, mas são assintomáticas ao nascimento, desenvolverão manifestações da toxoplasmose, como coriorretinite mais tarde na vida. O tratamento dessas crianças diagnosticadas precocemente com infecção pré-natal, pode diminuir manifestações tardias (McAULEY et al., 1994). O tratamento precoce resulta em uma redução significativa do número de crianças severamente infectadas (FOULON et al., 1999).

No presente estudo, uma gestante com índice de avidéz de IgG menor que 30% e que estava no segundo trimestre de gestação, realizou tratamento antiparasitário a partir do diagnóstico da toxoplasmose. Neste caso, o recém nascido não apresentou qualquer clínica relacionada à infecção por *Toxoplasma*, porém, vale ressaltar que 85% dos casos onde os recém-nascidos são infectados, não apresentam nenhuma manifestação clínica ao nascimento, podendo manifestar a doença dias, meses, ou anos após o parto (WILSON et al., 1980; BERREBI et al., 1994; GUERINA et al., 1994).

A estimativa da suspeita de transmissão congênita, em nosso estudo, foi de 9,1%, encontrada nas gestantes do Grupo II, segundo os dados clínicos colhidos após os nascimentos. Este dado está de acordo com trabalhos realizados em gestantes tratadas, cujos valores variaram de 1,2 a 28,9% conforme a fase da gestação em que ocorreu a infecção (MIRLESSE et al., 1993). Caso as gestantes não fossem tratadas, a taxa de transmissão congênita poderia ser mais elevada, pois outros autores têm avaliado em 20 a 70% o risco em gestantes não tratadas (McCABE; REMINGTON, 1988; KOSKINIEMI et al., 1989).

As taxas de transmissão congênita e as manifestações clínicas variam de forma acentuada entre os indivíduos com infecção por *Toxoplasma gondii*. Dentre os fatores envolvidos, estão variações da resposta imune e idade do hospedeiro, variações étnicas, cepa do parasita, quantidade de inóculo, condições

socioeconômicas, hábitos culturais e condições climáticas da região envolvida (SPALDING et al., 2003).

Das 21 gestantes (63,64%) que realizaram tratamento, dois recém-nascidos apresentaram sintomatologia característica da infecção, ao nascimento, caracterizando possível transmissão congênita. Uma possível justificativa para o baixo número de fetos com problemas ao nascimento deve-se ao fato do não acompanhamento dessas crianças, por parte dos pesquisadores, após o nascimento, já que se sabe que lesões oculares e outras manifestações clínicas, podem ocorrer após um longo período, pois os cistos teciduais podem permanecer inativos na retina e serem ativados a qualquer momento.

Embora exista monitoramento recomendado para a toxoplasmose na gestação, nem sempre está disponível no sistema público de maneira rápida e eficiente (CASTILHO-PELLOSO et al., 2005). Este fato foi observado em uma gestante que ao segundo mês de gestação, realizou o exame pré-natal e antes de receber o resultado referente à toxoplasmose, abortou o feto. A gestante em questão, apresentou índice de avidéz de IgG de 49%, sugerindo resultado indeterminado quanto à toxoplasmose.

Apesar do pequeno número de pacientes em acompanhamento, esses dados corroboram com os da literatura, que indica que o diagnóstico e tratamento precoce durante a gestação evitam e minimizam as lesões no neonato (HOHLFELD et al., 1995; MIRLESSE et al., 1993; LYNFIELD et al., 1999).

A interpretação utilizada para o teste de avidéz de IgG precisa ser padronizada para permitir uma definição individual em gestantes suspeitas que deveriam sofrer procedimentos invasivos ou terapias agressivas. Essa definição individual é muito complexa, pois as condições de determinação dependem de inúmeros fatores como: pH, temperatura ambiental, diluição do soro e preparação de antígenos, além dos sistemas de revelação do anticorpo. Geralmente, não encontramos na literatura estudos relacionados com a definição prospectiva multicêntrica deste teste reportado como auxiliar e associado retrospectivamente à determinação da época da infecção (CAMARGO et al., 1991; BERTOZZI et al., 1999). A padronização da técnica é complexa, e apesar de existirem kits comerciais disponíveis, resultados conflitantes são muito frequentes (HOLLIMAN, 1995; BARBIERI, 2001).

Os resultados deste trabalho ressaltam a importância do acompanhamento de fetos de mães com sorologia compatível com a infecção, ainda que não apresentem sinais e sintomas sugestivos de toxoplasmose congênita. Também mostram, a importância das medidas profiláticas primárias, na redução da transmissão congênita de *T. gondii*.

## 7. CONCLUSÕES

- A baixa faixa etária das gestantes com risco de toxoplasmose congênita (Grupo II) é um importante fator a ser considerado na assistência pré-natal.
- A maioria das gestantes participantes da pesquisa, realizou o pré-natal no primeiro trimestre de gestação.
- Apesar da alta cobertura do pré-natal no município, ainda 5,5% das gestantes, desconheciam o mês de gestação em que estavam.
- A soroprevalência para toxoplasmose em Araraquara-SP foi semelhante às taxas encontradas no Brasil.
- O teste de avidéz de IgG, teve sua importância reduzida para o diagnóstico da infecção congênita, nas gestantes que estavam no segundo e terceiro trimestre de gestação.
- Todos os resultados encontrados para anticorpos IgG e IgM, devem ser notificados como valores quantitativos e não somente como qualitativos (positivos ou negativos).
- Alguns profissionais de saúde, ainda realizam desnecessariamente o tratamento antiparasitário em gestantes.

Finalmente, baseado nos resultados obtidos, sugere-se um melhor acompanhamento das gestantes e dos recém-nascidos e conscientização da importância da assistência à saúde das gestantes, pelos serviços de saúde.

Bem como, a interpretação utilizada para o teste de avidéz de IgG, precisa ser padronizada.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V.; CAMPOS, R.; BARUZZI, R.G.; DUARTE, M.I.S. **Toxoplasmose**. São Paulo: Sarvier, 1982. (Monografias Médicas: Série Clínica Médica; v. 10).
2. ANDRADE, G.M.Q.; CARVALHO, A.L.; CARVALHO, I.R.; MELLO, B.F.; TIBÚRCIO, F.R.; CASTRO, F.C. Toxoplasmose na gestante e no recém nascido Estudo de 86 pares de mãe-filho atendidos no período de 1996-99 no ambulatório de infectologia pediátrica do HC-UFMG. **Rev. Med. Minas Gerais**, v. 11, p. 202-207. 2001.
3. ANGEL, S.O.; MATRAJT, M.; MARGARIT, J.; NIGRO, M.; ILLESCAS, E.; PSZENNY, V.; AMENDOEIRA, M.R.R.; GUARNERA, E.; GARBERI, J.C. Screening for active toxoplasmosis in patients by DNA hybridization with the ABGTg7 probe in blood samples. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, n. 3, p. 591-595. 1997.
4. BARROS, M.A.I.; NAVARRO, I.T.; MARANA, E.R.M.; SHIDA, P.N. Toxoplasmose humana: inquérito sorológico em habitantes da região rural de Londrina, Paraná, Brasil. Em: VIII Seminário Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Londrina: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária; 1993. p. 16.
5. BARBIERI, A.; GISTRÌ, A.; CAPPELLETTI, F.; GIORDANO, I. Diagnostic value of IgG avidity in *Toxoplasma* infection: Comparison of 3 commercial kits. **J. Infect. Dis.**, v. 184, p. 944. 2001.
6. BERREBI, A; KOBUCH, W.E.; BESSIERES, M.H. et al. Termination of pregnancy for maternal toxoplasmosis. **Lancet**, v. 344, p. 36-39. 1994.
7. BERTOZZI, L.C.; SUZUKI, L.A.; ROSSI, C.L. Serological diagnosis of toxoplasmosis: usefulness of IgA detection and IgG avidity determination in a patient with a persistent IgM antibody response to *Toxoplasma gondii*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 41, n.3. 1999.
8. BORGES, A.S.; FONSECA, A.M.; FERREIRA, M.S.; SILVESTRE, M.T.A.; VALENTE, S.R.G. Anticorpos anti-*T. gondii* nos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Uberlândia, MG. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 1, p. 88. 1997.

9. BOWIE, W.R.; KING, A.S.; WERKER, D.H.; ISAAC-RENTON, J.L.; BELL, A.; ENG, S.B.; MARION, S.A. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC *Toxoplasma* Investigation Team. **Lancet**, v. 350, p. 173-177. 1997.
10. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Política de Saúde. **Saúde da Mulher. Gestação de alto risco**: manual técnico. Brasília, 3ª ed. 2000.163p.
11. BURG, J.L.; GROVER, C.M.; POULETTY, P.; BOOTHROYD, J.C. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol.**, v. 27, n. 8, p. 1787-1792. 1989.
12. CALVÃO, A.D. **Manifestações oftalmológicas na toxoplasmose congênita**. 46 f. (Monografia) - Curso de Medicina, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2002.
13. CAMARGO, M.E.; LESER, P.G.; LESER, W.S.P. Definição de perfis sorológicos na toxoplasmose: importância diagnóstica e epidemiológica. **Rev. Bras. Patol. Clin.**, v. 13, p. 113-127. 1977.
14. CAMARGO, M.E.; MOURA, M.E.G.; LESER, P.G. Toxoplasmosis serology: an efficient hemagglutination procedure to detect IgG and IgM antibodies. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 31, p. 279-285. 1989.
15. CAMARGO, M.E.; SILVA, S.M.; LESER, P.G.; GRANATO, C.H. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 33, p. 213-218. 1991.
16. CAMARGO, M.C.; ANTUNES, C.M.; CHIARI, C. de A. Epidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in the municipality of Ribeirão das Neves, MG. Importance of domestic animals as sources of *T. gondii* infection in humans. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 28, n. 3, p. 211-214.1995.
17. CAMARGO, M.E. Toxoplasmose. In: FERREIRA, A.W. & AVIDA, S.L.M. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. 1ª ed. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan. 1996. p. 165-174.



18. CANTOS, G.A.; PRANDO, M.D.; SIQUEIRA, M.V.; TEIXEIRA, R.M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. **AMB.**, v. 46, n. 4, p. 335-341. 2000.
19. CASTILHO-PELOSO, M.P.; FALAVIGNA, D.L.M.; ARAÚJO, S.M.; FALAVIGNA-GUILHERME, A.L. Monitoramento de gestantes com toxoplasmose em serviços públicos de saúde. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n.6, p. 532-533. 2005.
20. CHEMELLO, D.; ECKERT G.U. & TEIXEIRA C.G. Imunidade a Parasita. In: Scroferneker, M.L.; Pohlmann, P.R. (Eds). **Imunologia Básica e Aplicada**. Porto Alegre: Sagra Luzatto. 373 p. 1998.
21. CHEMLA, C.; VILLENA, D.A.; HORNOY, P.; DUPOY, D.; LEROUX, B.; BORY, J.P.; PINON, J.M. Preconception seroconversion and maternal seronegativity at delivery do not rule out the risk of congenital toxoplasmosis. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 9, p. 489-490. 2002.
22. CHIARI, C.A.; NEVES, D.P. Toxoplasmose humana adquirida através da ingestão de leite de cabra. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 79, n.3, p. 337-340. 1984.
23. CHINCHILLA, M.; GUERRERO, O.M.; CASTRO, A.; SABAH, J. Cockroaches as transport hosts of the protozoan *Toxoplasma gondii*. **Rev. Biol. Trop.**, v. 42, p. 329-331. 1994.
24. CONTRERAS, M.D.; SANDOVAL, M.L.; SALINAS, P.; et al. Utilidad diagnóstica de ELISA IgG, IgM, IgA y ELISA avidéz de IgG em toxoplasmosis reciente y cronica. **Bol. Chil. Parasitol.**, v. 55, p. 1-10. 2000.
25. COOK, A.J.; GILBERT, R.E.; BUFFOLANO, W.; ZUFFEREY, J.; PETERSEN, E.; JENUM, P.A.; FOULON, W.; SEMPRINI, A.E.; DUNN, D.T. Sources of *Toxoplasma* infection in pregnant women: european multicentre case control study. **BMJ.**, v. 321, p. 142-147. 2000.
26. COPPENS, I.; JOINER, K.A. Parasite-host cell interactions in toxoplasmosis: new avenues for interventions. **Expert Rev. Mol. Med.**, p. 1-20. 2001.
27. COZON, G.J.N.; FERRANDIZ, J.; NEBHI, H.; WALLON, M.; PEYRON, F. Estimation of the avidity of immunoglobulin G for routine diagnosis of chronic

- Toxoplasma gondii* infection in pregnancy women. **Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 17, p. 32-36. 1998.
28. DEROUIN, F.; MAZERON, M.C.; GARIN, Y.J. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. **J. Clin. Microbiol.**, v. 25, n. 9, p. 1597-1600. 1987.
29. DESMONTS, G.; COUVREUR, J.; ALISON, F.; BAUDELLOT, J.; GERBEAUX, J.; LELONG, M. Epidemiological study on toxoplasmosis: the influence of cooking slaughter-animal meat on the incidence of human infection. **Rev. Fr. Etud. Clin. Biol.**, v. 10, n. 9, p. 952-958. 1965.
30. DESMONTS, G.; COUVREUR, J. Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 378 pregnancies. **N. Engl. J. Med.**, v. 290, p. 1110-1116. 1974.
31. DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **J. Clin. Microbiol.**, v. 11, n. 6, p. 562-568. 1980.
32. DESMONTS, G.; FORESTIER, F.; THULLIEZ, P.H.; DAFFOS, F.; CAPELLA-PAVLOVSKY, M.; CHARTIER, M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. **Lancet**, v. 2, p. 500-504. 1985.
33. DEVADA, K.; ANANDAN, R.; DUBEY, J.P. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Madras, India. **J. Parasitol.**, v. 84, n. 3, p. 621-622. 1998.
34. DE VROEDE, M.; DODION, J.; DE MENTER, F.; et al. Congenital toxoplasmosis: late appearance of retinal lesions after treatment. **Acta Paediatr. Scand.**, v. 68, p. 767-772. 1979.
35. DINIZ, E.M.A.; CAMARGO, M.E.; COSTA VAZ, F.A. Toxoplasmose congênita. In: DINIZ, E.M.A; COSTA VAZ, F.A. **Infecções congênitas e perinatais**. São Paulo. Atheneu. 1991. p. 31-72.
36. DINIZ, E. M. A.; VAZ, F. A. C. Qual é a recomendação atual para o tratamento da toxoplasmose congênita? **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 49, n. 1, p. 1-23. 2003.
37. DUBEY, J.P. Toxoplasmosis in cats. **Feline Pract.**, v. 16, p. 12-45. 1986.

38. DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton, FL: CRC Press, 1988.
39. DUBEY, J.P.; KOTULA, A.W.; SHARAR, A.K.; ANDREWS, C.D.; LINDSAY, D.S. Effect of high temperature on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. **J. Parasitol.**, v. 7, p. 201-204. 1990.
40. DUBEY, J.P. *Toxoplasma*, *Neospora*, *Sarcocystis*, and other tissue cystis-forming coccidian of humans and animals. In: KREIER, J.P., editor. **Parasitic protozoa**, 2° ed., v. 6, p. 1-158. 1993.
41. DUBEY, J.P. Infectivity and pathogenicity of *Toxoplasma gondii* oocysts for cats. **J. Parasitol.**, v. 82, p. 957-961. 1996.
42. DUBEY, J.P. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. In: Palmer, S.R.; Soulsby, E.J.L.; Simpson, D.J.H. (eds.). **Zoonoses**. Oxford: Oxford University Press, p. 579-597. 1998.
43. DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. **J. Clin. Microbiol.**, Review, v. 11, n. 2, p. 267-299. 1998.
44. DUBEY, J.P. The scientific basis for prevention of *Toxoplasma gondii* infection: studies on tissue cysts survival, risk factors and hygiene measures. In: Ambroise Thomas, P.; Petersen, E. (eds.). **Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control**. Paris: Springer Verlag. p. 271-275. 2000.
45. DUFFY, K.T.; WHARTON, P.J.; JOHNSON, J.D. NEW, L.; HOLLIMAN, R.E. Assessment of immunoglobulin-M immunosorbent agglutination assay (ISAGA) for detecting *Toxoplasma* specific IgM. **J. Clin. Pathol.**, v. 42, n. 12, p. 1291-1295. 1989.
46. DUNN, D.; WALLON, M.; PEYRON, F.; PETERSEN, E.; PECKHAM, C.S.; GILBERT, R.E. Mother to child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counseling. **Lancet**, v. 353. p. 1829-1833. 1999.

47. DUPOUY-CAMET, J.; LAVAREDA de SOUZA, L.; MASLO, C. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in venous blood from AIDS patients by polimerase chain reaction. **J. Clin. Microbiol.**, v.31, p. 1866-1869. 1993.
48. FIGUEIRÓ-FILHO, E.A.; LOPES, A.H.A.; SENE FONTE, F.R.A.; SOUZA JÚNIOR, V.G.; BOTELHO, C.A.; FIGUEIREDO, M.S.; DUARTE, G. Acute toxoplasmosis: study of the frequency, vertical transmission rate and the relationship between maternal-fetal diagnostic tests during pregnancy in a Central-Western state of Brazil. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v.27, n.8. p. 442-449. 2005.
49. FORESTIER, F.; HOHLFELD, P.; SOLE, Y.; DAFFOS, F. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis by PCR: extended experience. **Prenat. Diagn.**, v. 18, p. 407-409. 1998.
50. FOULON, W.; NAESSENS, A.; LAUWERS, S.; DE MEUTER, F.; AMY, J.J. Impact of primary prevention on the incidence of toxoplasmosis during pregnancy. **Obstet. Gynecol.**, v. 72, p. 363-366. 1988.
51. FOULON, W.; NAESSENS, A.; DERDE, M.P. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. **Am. J. Perinatol.**, v. 11, n. 1, p. 57-62. 1994.
52. FOULON, W.; VILLENA, I.; STRAY-PEDERSEN, B.; et al. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicenter study impact on fetal transmission and children sequelae at age 1 year. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 180, p. 410-415. 1999.
53. FOULON, W.; PINON, J.M.; STRAY-PEDERSEN, B.; POLLAK, A.; LAPPALAINEN, M.; DECOSTER, A.; VILLENA, I.; JENUM, P.A.; HAYDE, M. NAESSENS, A. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: a multicenter evaluation of different diagnostic parameters. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 181. p. 843-847. 1999.
54. FRENKEL, J.K. Pathophysiology of toxoplasmosis. **Parasitol. Today**, v.4, n. 10, p. 273-278. 1988.
55. FRENKEL, J.K. Prevention of *Toxoplasma* infection in pregnant women and their fetuses. **Clin. Infect. Dis.**, v. 20, n. 3, p. 727-729. 1995.

56. FRENKEL J.K. Biology of *Toxoplasma gondii*. In: Ambroise Thomas P, Peterse E (eds.). **Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control**. Paris: Springer Verlag. 2000. p. 9-25.
57. FRENKEL, J.K. Toxoplasmose. In: Veronesi, R.; Focaccia, R. (eds.) **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Guanabara Koogan. 2002. p. 1310-1324.
58. GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. Levantamento soroepidemiológico da toxoplasmose em moradores da zona rural do município de Guaraci - Paraná - Brasil. **Semina**, v. 16, n. 1, p. 63-67. 1995.
59. GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; CLARET de OLIVEIRA, L.O.R.; KOBILKA, E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapitã (Paraná), Brasil. **Rev. Panam. Salud. Publica/Pan. Am. J. Públ. Health.**, v. 6, n.3, p. 157-163. 1999.
60. GILBERT, R.E.; GRAS, L.; WALLON, M.; PEYRON, F.; ADES, A.E.; DUNN, D.T. Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: retrospective cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. **Internat. J. Epidemiol.**, v. 30, p. 1303-1308. 2001.
61. GROVER, C.M.; THULLIEZ, P.; REMINGTON, J.S.; BOOTHROYD, J.D. Rapid prenatal diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. **J. Clin. Microbiol.**, v. 28, p. 2297-2301. 1990.
62. GUERINA N.G.; HSU H.W.; MEISSNER H.C.; et al. 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.**, v. 330, p. 1858-1863. 1994.
63. GUIMARÃES, A.C.S.; KAWARABAY, M.; BORGES, M.M.; TOLEZANO, J.E.; ANDRADE, JR. H.F. Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the São Paulo metropolitan region. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 35, n. 6, p. 479-483. 1993.
64. HASSL, A.; TUMA, W. Toxoplasmosis diagnosis in pregnant women infected with human immunodeficiency virus. **Ped. Infect. Dis.**, v. 14, p. 1016-1017. 1995.

65. HEDMAN, K.; LAPPALAINEN, M.; SEPPAIA, I.; MAKELA, O. Recent primary *Toxoplasma* infection indicated by a low avidity of specific IgG. **J. Infect. Dis.**, v. 159, p. 736-740. 1989.
66. HEDMAN, K.; LAPPALAINEN, M.; SODERLUND, M.; HEDMAN, L. Avidity of IgG in serodiagnosis of infectious diseases. **Reviews in Medical Microbiol.**, v. 4, p. 123-129. 1993.
67. HO YEN, D.O. Immunocompromised patients. In: Ho Yen, D.O.; Joss, A.W.L. (eds.). **Human toxoplasmosis**. Oxford: Oxford University Press, p. 184-203. 1992.
68. HOHLFELD, P.; DAFFOS, F.; THULLIEZ, P.; AUFRANT, C.; COUVREUR, J.; MACALEESE, J.; DESCOMBEY, D.; FORESTIER, F. Fetal toxoplasmosis outcome of pregnancy and infant follow-up after in utero treatment. **J. Pediatr.**, v. 115, p. 765-769. 1989.
69. HOHLFELD, P.; DAFFOS, F.; COSTA, J.M.; THULLIEZ, P.; FORESTIER, F.; VIDAUD, M. Prenatal diagnosis using polymerase chain reaction test on amniotic fluid. **N. Engl. J. Med.**, v. 331, p. 695-699. 1994.
70. HOHLFELD, P.; BIEDERMANN, K.; EXTERMANN, P.; GYR, T. Toxoplasmosis in pregnancy: prevention, prenatal diagnosis and treatment. **Schweiz. Med. Wochenschr. Suppl.**, v. 65, p. 62S-69S. 1995.
71. HOLLAND, G.N.; LEWIS, K.G. An update on current practices in the management of ocular toxoplasmosis. **Am. J. Ophthalmol.**, v. 134, p. 41-46, 2002.
72. HOLLIMAN, R.E.; RAYMOND, R.; RENTON, N.; JOHNSON, J.D. The diagnosis of toxoplasmosis using IgG avidity. **Epidemiol. Infect.**, v. 112, p. 399-408. 1994.
73. HOLLIMAN, R.E. Congenital toxoplasmosis: prevention, screening and treatment. **J. Hosp. Infect.**, v. 30, p. 179-190. 1995.
74. HOWE, D.K.; HONORE, S.; DEROUIN, F.; SIBLEY, L.D. Determination of genotypes of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients with toxoplasmosis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, n. 6, p.1411-1414. 1997.

75. JACKSON M.H.; HUTCHISON, W.M. The prevalence and source of *Toxoplasma* infection in the environment. **Adv. Parasitol.**, v. 28, p. 55-105. 1989.
76. JACOBS, L.; LUNDE, M. A hemagglutination test for toxoplasmosis. **J. Parasitol.**, v. 43, p. 308-314. 1957.
77. JACOBS, L.; REMINGTON, J.S.; MELTON, M.L. The resistance of the encysted form of *Toxoplasma gondii*. **J. Parasitol.**, v. 46, p. 11-21. 1960.
78. JARA, M.; HSU, H.W.; EATON, R.B.; DEMARIA Jr., A. Epidemiology of congenital toxoplasmosis identified by population-based newborn screening in Massachusetts. **J. Pediatr. Infect. Dis.**, v. 20, p. 1132-1135. 2001.
79. JEANNEL, D.; et al. What is known about the prevention of congenital toxoplasmosis? **Lancet**, v. 336, p. 359-61. 1990.
80. JENUM, P.A.; STRAY-PEDERSEN, B.; GUNDERSEN, A.G. Improved diagnosis of primary *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by determination of anti-*Toxoplasma* immunoglobulin G activity. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35, p. 1972-1977. 1997.
81. JOHNSON A.M. Speculation on possible life cycles for the clonal lineages in the genus *Toxoplasma*. **Parasitol. Today**, v. 13, p. 393-397. 1997.
82. JOYNSON, D.H.M.; PAYNE, R.A.; RAWAL, B.K. Potential role of IgG avidity for diagnosis of toxoplasmosis. **J. Clin. Pathol.**, v. 43, p. 1032-1033. 1990.
83. KAPPERUD, G.; JENUM, P.A.; STRAY-PEDERSEN, B.; MELBY, K.K. ESKILD, A. Eng. J. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: results of a prospective case control study in Norway. **Am. J. Epidemiol.**, v. 144, p. 405-412. 1997.
84. KELEN, A.E.; ALLYON-LEINDLE, L.; LABZOFFSKY, M.A. Indirect fluorescent antibody method in serodiagnosis of toxoplasmosis. **Can. J. Microbiol.**, v. 8, p. 545-554. 1962.
85. KOSKINIEMI, M.; LAPPALAINEN, M.; HEDMAN, K. Toxoplasmosis needs evaluation. **Am. J. Dis. Child.**, v. 143, p. 724-728. 1989.

86. KOTULA, A.W.; DUBEY, J.P.; SHARAR, A.K.; ANDREWS, C.D.; SHEN, S.K.; LINDSAY, D.S. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissues cysts in pork. **J. Food Prot.**, v. 54, p. 687 -690. 1991.
87. KRICK, J.A.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis in the adult: an overview. **N. Engl. J. Med.**, v. 298, p. 550-553. 1978.
88. LAPPALAINEN, M.; KOSKELA P.; KOSKINIEMI, M.; et al. Toxoplasmosis acquired during pregnancy: improved serodiagnosis based on avidity of IgG. **J. Infect. Dis.**, v. 167, p. 691-697. 1993.
89. LAPPIN, M.R. Feline toxoplasmosis: interpretation of diagnostic test results. **Semin. Vet. Med. Surg. (Small Anim.)**, v. 11, p. 154-160. 1996.
90. LESER, P. G. et al. A utilização do teste de avidéz de IgG para auxiliar a interpretação das reações sorológicas para toxoplasmose com IgM positiva. **Rev. Soc. Bras. Med. Fetal**, v. 5, p. 16-20, 2000.
91. LIESENFELD, O.; PRESS, C.; MONTOYA, J.G.; GILL, R.; ISAAC-RENTON, J.L.; HEDMAN, K.; REMINGTON, J.S. False-positive results in immunoglobulin M (IgM) *Toxoplasma* antibody tests and importance of confirmatory testing: the Platelia Toxo IgM test. **J. Clin. Microbiol.**, v. 35. p. 174-178. 1997.
92. LIESENFELD, O.; KANG, H.; PARK, D.; NGUYEN, T.A.; PARKHE, C.V.; WATANABE, H.; ABO, T.; SHER, A.; REMINGTON, J.S.; SUZUKI, Y. TNF- $\alpha$ , nitric oxide and IFN- $\gamma$  are all critical for development of necrosis in the small intestine and early mortality in genetically susceptible mice infected perorally with *Toxoplasma gondii*. **Parasite Immunol.**, v. 21, p. 365. 1999.
93. LIESENFELD, O.; MONTOYA, J.G.; KINNEY, S.; PRESS, C. REMINGTON, J.S. Effect of testing for IgG avidity in the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant woman: experience in a US reference laboratory. **J. Infect. Dis.**, v. 183. p. 1248-1253. 2001.
94. LUFT, B.J. *Toxoplasma gondii*. In: Walzer D.P.; Genta, R.M. (eds.). **Parasitic infections in the compromised host**. New York: Marcel Dekker. p. 179-279. 1989.



95. LUNDÉN, A.; UGGLA, A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing smoking, freezing or microwave cooking. **Int. J. Food Microbiol.**, v. 15, p. 357-363. 1992.
96. LYNFIELD R.; GUERINA N.G. Toxoplasmosis. **Pediatr. Rev.**, v. 18, n. 3, p. 75-85, 1997.
97. LYNFIELD, R.; HSU, H.W.; GUERINA, N.G. Screening methods for congenital *Toxoplasma* and risk of disease. **Lancet**, v. 353, p. 1899-1900.1999.
98. MACIEL, C.J.; PHILOREON, G.R.; LEITE, M.S.B. Toxoplasmose Congênita. **Rev. Goiânia Med.**, v. 30, p. 167-176, 1984.
99. MACRE, M.S. **Avaliação da quantificação da avidéz dos anticorpos maternos na abordagem laboratorial da toxoplasmose congênita.** 121 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.
100. MARCOLINO, P.T.; SILVA, D.A.O.; LESER, P.G.; et al. Molecular markers in acute and chronic phases of human toxoplasmosis: Determination of imunoglobulin G avidity by western blotting. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 7, n 3, p. 384-389. 2000.
101. McAULEY, J.; BOYER, K.M.; PATEL, D.; METS, M.; SWISHER, C.; ROIZEN, N.; WOLTERS, C.; STEIN, L.; STEIN, M.; SCHEY, W. 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.**, v. 19, n. 4, p. 820. 1994.
102. McCABE, R.E.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis: the time has come. **The New Engl. J. Med.**, v. 318, p. 313-315. 1988.
103. MEIRELES, L.R. **Estudos das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do estado de São Paulo.** 171 f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.
104. MIRLESSE, V.; JACQUEMARD, F.; DAFFOS, F. Toxoplasmose au cours de la grossesse: diagnostic et nouvelles possibilités thérapeutiques. **La Presse médicale**, v. 22, p. 258-262. 1993.

105. MONTOYA, J.G.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis. **Clin. Infect. Dis.**, v. 23, p. 277-282. 1996.
106. MONTOYA, J.G.; PARMLEY, S.; LIESENFELD, O.; JAFFE, G.J.; REMINGTON, J.S. Use of the polymerase chain reaction for diagnosis of ocular toxoplasmosis. **Ophthalmology**, v. 106, p. 1554-1563. 1999.
107. MONTOYA, J.G.; REMINGTON, J.S. *Toxoplasma gondii*, In: Mandell, G.L.; Bennett, J.E.; Dolin, R., eds. **Principles and practice of infectious diseases**. Philadelphia: Churchill Livingstone. P. 2858-2888. 2000.
108. MONTOYA, J.G.; REMINGTON, J.S. Studies on the serodiagnosis of toxoplasmic lymphadenitis. **Clin. Infect. Dis.**, v. 20, p. 467-474. 2001.
109. MONTOYA, J.G. Laboratory diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis. **J. Infect. Dis.**, v. 185, p. S73-82. 2002.
110. MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O.; KINNEY, S.; PRESS, C.; REMINGTON, J.S. VIDAS test for avidity of *Toxoplasma*-specific immunoglobulin G for confirmatory testing of pregnant women. **J. Clin. Microbiol.**, v. 40, n. 7, p. 2504-2508. 2002.
111. MORRIS, J.G. Food safety symposium: The safety of foods of animal origin. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 209, p. 2045-2047. 1996.
112. MOZZATO, L.; SOIBELMANN PROCIANOY, R. Incidência da toxoplasmose congênita no sul do Brasil: estudo prospectivo. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 45, p. 147-151. 2003.
113. NAGARRAMA, E.E.I.; SANTIAGO, S.M. O cuidado pré-natal em hospital universitário: uma avaliação de processo. **Cad. Saúde Pública**, v. 22, n. 1. 2006.
114. NAOT, Y.; REMINGTON, J.S. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies of *Toxoplasma gondii*: use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. **J. Infect. Dis.**, v. 142, p. 757-766. 1980.

115. NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10<sup>a</sup> ed. São Paulo: Atheneu. 2004. p. 147-156.
116. NEVES, J. **Diagnóstico e Tratamento das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1978. p. 671-686.
117. OLIVEIRA, B.C. **Toxoplasmose: perfil sorológico durante a gravidez e repercussões neonatais em maternidade pública de referência na cidade de Belém do Pará**. 89 f. Dissertação (mestrado) - Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo. 2002.
118. OLIVEIRA, V.M. **Um lugar no cuidado pré-natal: possibilidades e opções das gestantes**. São Paulo, 131p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.
119. OSIS, M.J.D.; FAÚNDES, E.H.A.; ALVES, G. Fatores associados à assistência pré-natal entre mulheres de baixa renda no Estado de São Paulo, Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v.27, n.1, p. 49-53. 1993.
120. PEDREIRA, D.A.L. **Contribuição ao estudo da toxoplasmose congênita**. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.
121. PELLOUX, H.; BRUN, E.; VERNET, G.; MARCILLAT, S.; JOLIVET, M.; GUERGOUR, D.; FRICKER-HIDALGO, H.; GOULLIER-FLEURET, A.; AMBROISE-THOMA, A. Determination of anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin G avidity: adaptation to the Vidas system (bioMérieux). **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, v. 32, p. 69-73. 1998.
122. PORSTMANN, T.; KIESSIG, S.T. Enzyme immunoassay techniques. An overview. **J. Immunol. Methods**, v. 150, p. 5-21. 1992.
123. RAVEL, R. **Laboratório Clínico. Aplicações Clínicas de dados Laboratoriais**. Rio de Janeiro, 6<sup>a</sup> ed., 1998.
124. REMINGTON, J.S.; MCLEOD, R.; THULLIEZ, P.; DESMONTS, G. Toxoplasmosis. In: Remington, J.S.; Klein, J.O. (eds.). **Infectious Diseases of the Fetus and the Newborn Infant**. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2001. p. 205-346.

125. REMINGTON, J.S.; THULLIEZ, P.; MONTOYA, J.G. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n.3, p. 941-945. 2004.
126. REY, L. **Parasitologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1973. p. 330-341.
127. RICCIARDI, I.D.; SABROZA, P.C.; SANDOVAL, E.D.; MAYRINK, W. Seroepidemiological study in the prevalence of human toxoplasmosis in Brazil. **Rev. Microbiol.**, v. 9, p. 181-187. 1978.
128. ROITT, I.M. **Essential immunology**. 6<sup>a</sup> ed. Oxford: Blackwell Scient. Publ., 1988. p. 60-63.
129. ROOS, T.; MARTIUS, J.; SCHROD, L. Systematic serologic screening for toxoplasmosis in pregnancy. **Obstet. Gynecol.**, v. 81, n. 2, p. 243-50. 1993.
130. SABIN, A.B. Toxoplasmosis: recently recognized disease in human being. **Adv. Pediatr.**, v. 1, p. 1-54. 1942.
131. SABIN A.B.; FELDMAN, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v. 108, p.600-603. 1948.
132. SACKS J.J.; ROBERTO, R.R.; BROOKS N.F. Toxoplasmosis infection associated with raw goat's milk. **J. Am. Assoc.**, v. 248, p. 1728-1732. 1982.
133. SEGUNDO, G.R.S.; SILVA, D.A.O.; MINEO, J.R.; FERREIRA, M.S. A comparative study of congenital toxoplasmosis between public and private hospitals from Uberlândia, MG, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v. 99. p. 13-17. 2004.
134. SENSINI, A.; PASCOLI, S.; MARCHETTI, D.; et al. IgG avidity in the serodiagnosis of acute *Toxoplasma gondii* infection: a multicenter study. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 2, p. 25-29. 1996.
135. SHARMA, S.D. Immunology of toxoplasmosis. In: David J.W., **Modern parasite biology: cellular, immunological and molecular aspects**. New York: W.H. Freeman, p. 184-199. 1990.

136. SILVA, L.E.V.; LEAL, M.M. **Problemas de saúde**. In: Marcondes, E.; Vaz, F.A.C.; Ramos, J.L.A.; Okay, Y. *Pediatria básica*. Tomo I: pediatria geral e neonatal. 9. ed. São Paulo: Sarvier, 2002. p. 677-682.
137. SOUZA, W.J.S.; COUTINHO, S.G.; LOPES, C.W.G.; SANTOS, C.S.; NEVES, N.M.; CRUZ, A.M. Epidemiological aspects of toxoplasmosis in schoolchildren residing in localities with urban or rural characteristics within the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 82, n. 4, p. 475-482. 1987.
138. SPALDING, S.M.; AMENDOEIRA, M.R.; RIBEIRO, L.C.; SILVEIRA, C. GARCIA, A.P.; CAMILO-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.**, v. 36. p. 483-491. 2003.
139. STAGNO, S. Congenital toxoplasmosis. **Am. J. Dis. Child.**, v. 134, n. 7, p. 635-637. 1980.
140. STRAY-PEDERSEN, B.; JENUM, P. Economic evaluation of preventive programs against congenital toxoplasmosis. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 84, p. 86-98. 1992.
141. STRAY-PEDERSEN, B. Toxoplasmosis in pregnancy. **Bailliere's Clin. Obstet. Gynaecol.**, v. 1, p. 107-137. 1993.
142. STRAY-PEDERSEN, B.; ABRAHAMSEN, T.G.; FROLAND, S.S. Primary immunodeficiency diseases in Norway. **J. Clin. Immunol.**, v. 20, n. 6, p. 477-485. 2000.
143. SUZUKI, L.A.; ROCHA, R.J.; ROSSI, C.L. Evaluation of serological markers for the immunodiagnosis of acute acquired toxoplasmosis. **J. Med. Microbiol.**, v. 50, n. 1, p. 62-70. 2001.
144. TANYUKSEL, M.; GUNEY, C.; ARAZ, E. SARACLI, M.A.; DOGANCI, L. Performance of the immunoglobulin G avidity and enzyme immunoassay IgG/IgM screening tests for differentiation of the clinical spectrum of toxoplasmosis. **J. Microbiol.**, v. 42, n. 3, p. 211-215. 2004.
145. TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animal to humans. **Internat. J. Parasitol.**, v. 30, p. 1217-1258. 2000.

146. THULLIEZ, P.; DAFFOS, F.; FORESTIER, F. Diagnosis of *Toxoplasma* infection in the pregnant woman and the unborn child: current problems. **Scand. J. Infect. Dis.**, v. 84, p. 18-22. 1992.
147. VARELLA, I.S.; WAGNER, M.B.; DARELA, A.C.; NUNES, L.M.; MÜLLER, R.W. Seroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women. **J. Pediatr.**, v. 79, n.1, p. 69-74. 2003.
148. VAZ, A.J.; GUERRA, E.M.; FERRATO, L.C.C.; TOLEDO, L.A.S.; AZEVEDO NETO, R.S. Sorologia positiva para sífilis, toxoplasmose e doença de Chagas em gestantes de primeira consulta em Centros de Saúde de área metropolitana, Brasil. **Rev. Saúde Públ.**, v. 24, n. 5, p. 373-379. 1990.
149. VERGARA, T.R.C.; GONÇALVES, A.J.R; et al. Epidemia de toxoplasmose do sistema nervoso central em enfermos com AIDS na cidade do Rio de Janeiro. **Arq. Bras. Med.**, v. 59, n. 6, p. 397-406. 1985.
150. VINHAL, F.A.; PENA, J.D.O.; KATINA, J.H.; et al. Analysis of aqueous humor in ocular toxoplasmosis: detection of low avidity IgG specific to *Toxoplasma gondii*. **Appl. Parasitol.**, v. 35, p. 1-7. 1994.
151. WARREN, J.; SABIN, A.B., The complement fixation reaction in toxoplasmic infection. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 51, p. 11-16. 1942.
152. WILSON, C.B.; REMINGTON, J.S.; STAGNO, S. Development of adverse sequelae in children born with subclinical congenital *Toxoplasma* infection. **Pediatrics**, v. 66, n. 5, p.767-774. 1980.
153. WILSON, C.B. Treatment of congenital toxoplasmosis. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, v. 9, p. 682-683.1990.
154. WONG, S.Y.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis in pregnancy. **Clin. Infect. Dis.**, v. 18, p. 853-862. 1994.

**ANEXO 1** – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelas gestantes participantes da pesquisa.

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_, RG \_\_\_\_\_, Estado Civil \_\_\_\_\_, Idade \_\_\_\_anos, residente na \_\_\_\_\_, nº \_\_, Bairro \_\_\_\_\_, Cidade \_\_\_\_\_, Telefone \_\_\_\_\_.

Declaro ter sido esclarecida sobre os seguintes pontos:

1. O trabalho tem por finalidade estabelecer um índice de avidéz IgG anti-Toxoplasma, que melhor represente o estado de proteção imunológica da gestante, implicando na redução da toxoplasmose congênita ou na decisão de indicação de abortos pré-natal, além de determinar a freqüência de Toxoplasmose, em gestantes, na cidade de Araraquara-SP.
- 2. Ao participar desse trabalho contribuirei para um melhor diagnóstico da toxoplasmose.**
3. Autorizo a utilização de meus resultados do exame para Toxoplasmose.
4. Não terei nenhuma despesa ao participar desse estudo.
5. A utilização dos resultados dos meus exames não provocará danos físicos ou financeiros e por isso não haverá necessidade de ser indenizada por parte da equipe responsável por esse trabalho ou da instituição (FCF/UNESP).
6. Meu nome será mantido em sigilo, assegurando assim minha privacidade.
7. Poderei me recusar a participar ou mesmo retirar meu consentimento a qualquer momento da realização dessa pesquisa, sem nenhum prejuízo ou penalização.
8. Qualquer dúvida ou solicitação de esclarecimentos poderei entrar em contato com a equipe científica pelo telefone (16) 33721012. Equipe científica: Thais Ferreira Isabel (Pesquisadora Responsável); Prof. Dra. Maria Jacira Silva Simões (Orientadora) e Prof. Dr. Paulo Inácio da Costa (Co-orientador).
- 9. Recebi uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.**
10. Diante dos esclarecimentos prestados, concordo em participar do estudo: Avaliação da resposta imune anti-*Toxoplasma gondii* utilizando o teste de avidéz IgG em gestantes na cidade de Araraquara-SP e região, como voluntária.

Araraquara , \_\_\_\_de \_\_\_\_\_ de 2005.

\_\_\_\_\_  
Assinatura da participante da pesquisa

\_\_\_\_\_  
Dra. Maria Jacira S. Simões      Dr. Paulo Inácio da Costa      Thais Ferreira Isabel

**ANEXO 2** – Distribuição das gestantes submetida ao Teste de Aidez de IgG anti-*Toxoplasma* no diagnóstico da toxoplasmose.

n	Idade	Mês de Gestação	IgG (UI/mL)	IgM (positiva ou negativa)	% Aidez de IgG
1	20	3	>250	Positivo	71,5
2	24	3	>250	Positivo	96
3	23	6	<5,0	Positivo	46
4	20	5	>250	Positivo	61
5	19	5	43,6	Positivo	45
6	22	3	>250	Positivo	68
7	29	8	>250	Positivo	55
8	28	3	>250	Positivo	78
9	20	5	>250	Positivo	44
10	27	2	>250	Positivo	52
11	20	4	>250	Positivo	58
12	33	3	<5,0	Positivo	58,4
13	20	4	>250	Positivo	53
14	22	3	>250	Positivo	92
15	29	4	>250	Positivo	32
16	23	3	>250	Positivo	47
17	29	5	>250	Positivo	25
18	23	4	205	Positivo	48
19	31	7	>250	Positivo	71
20	29	1	125	Positivo	34
21	21	5	<5,0	Positivo	18
22	27	3	>250	Positivo	73
23	23	4	>250	Positivo	76
24	20	6	>250	Positivo	81
25	40	2	>250	Positivo	49
26	18	2	>250	Positivo	48,5
27	19	2	179	Positivo	61
28	33	3	62,5	Positivo	61
29	24	2	>250	Positivo	97
30	29	8	>250	Positivo	75
31	18	*NI	162	Positivo	100
32	18	5	>250	Positivo	49
33	18	4	> 250	Positivo	90

\*NI: Gestantes que não souberam identificar o mês de gestação em que se encontravam.