



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE
MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Nássarah Jabur Lot Rodrigues

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS UTILIZADOS
PARA DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO POR *Toxoplasma
gondii* EM GESTANTES.**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botu-
catu, para obtenção do título de Mestre(a) em
Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Helio Langoni
Coorientador: Prof. Dr. Joelcio Francisco Abadde

**Botucatu
2022**

Nássarah Jabur Lot Rodrigues

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS UTILIZADOS PARA DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* EM GESTANTES.

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre(a) em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Helio Langoni
Coorientador: Prof. Dr. Joelcio Francisco Abbade

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Rodrigues, Nássarah Jabur Lot.

Avaliação de diferentes métodos utilizados para diagnóstico de infecção por *Toxoplasma gondii* em gestantes / Nássarah Jabur Lot Rodrigues. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu
Orientador: Helio Langoni
Coorientador: Joelcio Francisco Abbade
Capes: 40101096

1. Toxoplasmose - Diagnóstico. 2. Toxoplasma.
3. Gestantes. 4. Zoonoses.

Palavras-chave: Diagnóstico; Gestantes; *Toxoplasma gondii*.

Nássarah Jabur Lot Rodrigues

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS UTILIZADOS PARA
DIAGNÓSTICO DE INFECÇÃO POR *Toxoplasma gondii* EM
GESTANTES.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, para obtenção do título de mestre em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Dr. Hélio Langoni

Comissão examinadora

Profa. Dra Lenice do Rosario Souza

Profa. Dra. Luciana R. M. Jaguaribe Ekman

Botucatu, 14 de julho de 2022

Dedicatória

Deus,

Pois, sem Ele não teria chegado até aqui. Por ter dado a graça de passar pela pandemia e ter sobrevivido e conseguido finalizar meu mestrado.

Meus pais, Alexsandra e Marco,

Por sempre me apoiarem, aconselharem, me abençoarem e sempre serem presentes na minha vida. Vocês semearam na minha carreira e estudos e hoje começamos a colher os frutos.

A minha irmã Samyrah e cunhado Erick,

Por sempre estarem ao meu lado, em todos os momentos. Me escutarem e todas as nossas conversas sobre tudo na vida. E que tudo que fazemos juntos, sempre é uma aventura, o que tornou esse tempo mais leve.

Aos meus avós, Pedro e Olínda,

Por sempre acreditarem no meu potencial, e incentivarem na minha carreira. Principalmente meu avô por ter a mesma profissão que eu, e sempre patrocinar cursos, viagens e outros quando meus pais não podiam.

Ao meu orientador Prof. Dr. Hélio Langoni,

Ao me aceitar como residente em 2018, acreditou em mim, e me ajudou a chegar até aqui.

Agradecimento especial

Agradeço a **Deus**, por ter cuidado de mim e de toda a minha família. Por ter me abençoado, e nunca ter me deixado, não importando o tamanho do problema, sempre alcançamos a vitória. Sem Deus nada eu seria. Obrigada meu Deus pelo dom da vida e todas as bênçãos que me concedeu nesses 33 anos de vida.

Aos meus querido e amados pais, **Alexsandra e Marco**, por acreditarem que o estudo é a maior herança que nos deixarão. E sempre nos apoiarem em cursos, pós, congressos, entre outros. Por terem dado base para mim e minha irmã alcançarmos nossos sonhos. E principalmente, por apoiar nossos sonhos, por mais loucos que pareciam e até mesmo por mudarmos de carreira. Amo demais vocês, são muito importante para mim. E sabemos de todo esforço de vocês para cuidarem com tanto carinho e amor conosco.

A minha irmã **Samyrah**, pela companhia nesses 30 anos, pela nossa amizade e amor. Sempre fomos uma pela outra, e cuidamos muito da nossa irmandade. Por me ajudar nas coletas, quando você percebeu que eu precisava de ajuda. E sempre me apoiar e estar ao meu lado, por cuidar com tanto amor, da sua maneira de mim. Te amo!

Ao meu cunhado **Erick**, que foi um irmão que ganhei, pelos conselhos e ajudas. Por perceber que eu precisava de ajuda estar lá para apoiar. Por ir comigo prestar as provas de residência. Obrigada meu gêmuo, amo te ter como irmão na minha vida.

Ao meu avô **Pedro**, por sempre me aconselhar, apoiar, trocar experiências e deixar recortes de jornais que o senhor achava importante para mim. Nessa pandemia pudemos

estar mais próximos, e pude saber mais do senhor e as lindas músicas que ouvimos juntos. Por ser minha inspiração na vida. Obrigada avozinho lindo por sempre estar comigo de alguma maneira, te amo.

A minha avó **Olínda** por sempre orar por mim, pela companhia na pandemia, vou guardar para sempre as nossas conversas, dos conselhos, e suas histórias. Obrigada avozinha te amo!

As minhas tias queridas, **Soraya, Adriana, Jacqueline e Neusa**, por serem como mães para mim e sempre me apoiarem e orarem por mim. Amos vocês!

Ao meu querido orientador Professor Dr. **Helio Langoni**, por ter acreditado em mim, desde a entrevista para a residência. Pelas conversas e conselhos que me trouxeram grande aprendizado. Pelas correções dos papers, resumos e outros, por fazer parte da minha história e crescimento pessoal e profissional. Por sempre estar de portas abertas, sempre acessível e nos ajudar e entender quando passei problemas pessoais e familiares. Agradeço a Deus pela sua vida e peço as mais ricas bênçãos para sua vida.

Agradecimentos

Ao meu coorientador Professor Dr. **Joelcío F. Abadde**, pelas conversas e me acalmar quando achava que não daria nada certo. Por ter me aceitado como orientada e me ajudado em várias etapas que foram tão complicadas, como o senhor me disse 'estamos em uma corrida de obstáculos, mas vamos chegar ao fim'. Por ter me dado a oportunidade de conhecer áreas diferentes da minha rotina. E sempre estar de portas abertas. Agradeço a Deus pela sua vida.

Ao técnico do laboratório SDZ, **Benedito**, por sempre ser solícito e me ajudar nos perrengues que foram aparecendo durante a pesquisa no processamento das amostras. Pelas dicas, conselhos e conversas. Pelo apoio em tudo. Obrigada por tudo, que Deus te abençoe.

Aos meus **primos, tios e familiares**, pelas conversas e orações.

À minha amiga da Pós Graduação **Suzane Manzini**, por toda conversa, parceria e ensinamentos. Por todo apoio, por ter me ajudado nos meu perrengues com as tecnologias. Sem sua amizade nada seria possível. Presente de Deus e da Pós para a vida. Obrigada pela nossa amizade!

As minhas amigas e amigos da vida, **Andreza, Júlia, Amanda, Suelen, Keli, Larissa, Bruna, Ketrin, Bárbara, Samira, Marcelo, Wendel, Danilo, João, Fernando, Pedro, Vinícius**, se me esqueci de alguém me desculpem. Obrigada pelo apoio, conversas, ajuda no projeto, por me ensinarem algo e pelos momentos felizes que passamos juntos. Amo vocês.

As amigas de Pós Graduação, **Thaína, Milena e Larissa**, pelos conselhos, dicas, ensinamentos, conversas que me acrescentaram muito. Obrigada por tudo meninas!

As minhas amigas de laboratório **Samea, Natalie, Mariana e Paula**, por me ensinarem tudo de laboratório. Por me ensinarem a vida de pesquisadora. Dos conselhos, conversas, saídas, risadas e choros juntas. Amos vocês.

As minhas vizinhas queridas, **Carol e Rosinha**, por serem família para mim e cuidarem de mim com tanto amor. Carol, obrigada por ter me ajudado a coletar dados nos prontuários. Ques Deus as abençoe grandemente, amos vocês.

Aos residentes do laboratório SDZ, em especial o **Gustavo**, por ter me salvo quando eu achei que não iria conseguir, por aprendermos juntos. E por sempre deixarem os materiais preparados e sempre me auxiliarem na pesquisa e estudos. Que Deus os abençoe grandemente, gratidão eterna.

As IC **Juliana e Thamires**, pela ajuda durante a pesquisa. Por me ajudarem nos prontuários nas coletas de dados. Ju, por me ensinar a mexer nos programas que eu não entendia nada haha. Que Deus as abençoe grandemente.

Aos meus **cachorros**, que são como filhos, e que me incentivaram seguir essa carreira tão linda, por serem minhas cobiças. Amo demais vocês, e os que já viraram estrelinha, meu amor continua eternamente por vocês.

Ao professor Dr **Rodrigo Costa da Silva**, por ter me ajudado e ensinado na parte de estatística. Muito Obrigada, que Deus te abençoe.

A professora Dra **Luciana R. M. J. Ekman**, pelas correções e ensinamentos que acrescentou muito no meu conhecimento. Muito Obrigada, que Deus te abençoe.

Ao **laboratório SDZ- FMVZ**, por tudo, local onde realizei minha parte do experimento.

Ao **LAC-FMB**, por terem me ajudado na coleta das amostras, obrigada meninas por tudo, pelas conversas e momentos.

À **Faculdade de Medicina de Botucatu - FMB - UNESP**, pela oportunidade de ingressar no Programa de Pós- Graduação em Doenças Tropicais.

À todos os membros da **banca examinadora, titulares e suplentes**, os quais foram escolhidos à dedo para este momento especial em minha vida! Agradeço por compartilharem todo o conhecimento de vocês!

À Seção Técnica de Pós Graduação em especial à **Bruna Quirino e a Tatiane de Fátima Pineiz**, por todo auxílio antes mesmo de ingressar na FMB e durante esses dois e meio anos, que Deus as abençoe grandemente.

À **biblioteca** do campus pelo suporte técnico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**) pelo auxílio financeiro concedido.

À todos que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho e na minha vida, meu muito obrigada!



*Agora, graças a Deus, que sempre nos
faz triunfar em Cristo, e por meio de
nós difunde a fragrância do Seu co-
nhecimento em todos os lugares. ✨*

2 Coríntios 2:14

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial que pode infectar uma grande variedade de espécies animais e humanos. É causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), que causa doença de curso silencioso. Os neonatos com toxoplasmose congênita podem exibir manifestações neurológicas, lesões oftálmicas, comprometimento auditivo e até a morte após o nascimento. Desta forma, durante o período gestacional é de grande importância o acompanhamento periódico por meio de diagnósticos laboratoriais para o bem estar do feto. A toxoplasmose associada à gestação apresenta grande importância para a saúde pública devido à sua prevalência, e gravidade dos casos congênitos. O presente estudo teve como objetivo detectar anticorpos das classes IgM e IgG *T. gondii* em gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB Unesp, câmpus de Botucatu. Foram avaliados os resultados das sorologias pela técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), Teste de Avidéz, Imunoensaio de Micropartículas com Quimiluminescência (QL) e Aglutinação Direta Modificada (MAD). Os resultados foram avaliados, de acordo com as variáveis pesquisadas, como idade, cor, raça, entre outras e os resultados obtidos nos exames realizados. Resultados obtidos no teste de Imunoensaio de Micropartículas com Quimiluminescência com os obtidos nas demais provas, estabelecendo-se como padrão ouro a QL. Os resultados encontrados mostram correlação moderada nas técnicas QL e RIFI para imunoglobulina IgG e foi razoável para a imunoglobulina IgM. Os títulos mais frequentes foram 16, 64, 256 e 1024. Concluiu-se pela importância do diagnóstico realizado no início da infecção para

prevenção, e cuidados indicados para a gestante e o feto. Ressalta-se, que com o diagnóstico precoce no pré-natal pode se evitar de fato a transmissão ao neonato além de reduzir as complicações na transmissão congênita.

Palavras chaves: Gestantes, Diagnósticos, *Toxoplasma gondii*.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a worldwide distribution zoonosis that can infect a wide variety of animal and human species. It is caused by the protozoan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), which causes a disease with a silent course. Neonates with congenital toxoplasmosis may exhibit neurological manifestations, ophthalmic lesions, hearing impairment, and even death after birth. Thus, during the gestational period, periodic monitoring through laboratory diagnoses is of great importance for the well-being of the fetus. *Toxoplasmosis* associated with pregnancy is of great importance for public health due to its prevalence and severity of congenital cases. The present study aimed to detect IgM and IgG *T. gondii* antibodies in pregnant women treated at Hospital das Clínicas da FMB Unesp, Botucatu campus. The results of the serology were evaluated by the technique of Indirect Immunofluorescence Reaction (IFAT), Avidity Test, Microparticle Immunoassay with Chemiluminescence (QL) and Modified Direct Agglutination (MAD). The results were evaluated, according to the variables studied, such as age, color, race, among others, and the results obtained from the tests performed. Results obtained in the Microparticle Immunoassay with Chemiluminescence test with those obtained in the other tests, establishing QL as the gold standard. The results found show a moderate correlation in the QL and RIFI techniques for IgG immunoglobulin and a reasonable correlation for IgM immunoglobulin. The most frequent titers were 16, 64, 256 and 1024. It was concluded that the diagnosis performed at the beginning of the infection is important for prevention, and for the care indicated for the pregnant woman and the fetus. It is noteworthy that with

early diagnosis in prenatal care, transmission to the neonate can actually be avoided, in addition to reducing complications in congenital transmission.

Keywords: Pregnant women, Diagnostics, *Toxoplasma gondii*.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µm- Micrometro

ELISA- enzimaímunensaio

FMB- Faculdade de Medicina de Botucatu

FMVZ- Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

HCFMB- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu

HIV- vírus da imunodeficiência humana

IgA- imunoglobulina A

IgG - imunoglobulina G

IgM- imunoglobulina M

LAC-HCFMB -Laboratório de Análises Clínicas

M- molar

MAD - Aglutinação Direta Modificada

ME - mercapto-etano

mL- mililitros

mg – Miligramas

PBS – Tampão Fosfato Salino

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

pH- Potencial Hidrogeniônico

QL- Imunoensaio de Micropartículas com Quimiluminescência

RIFI- Reação de imunofluorescência indireta

T. gondii - *Toxoplasma gondii*

UI- Unidades Internacionais

UNESP – Universidade Estadual Paulista

Lista de Figuras

Figura 1: As figuras A e B são os resultados da RIFI reagente para <i>T. gondii</i> , visto em microscópio de imunofluorescência.. Fonte: Nupezo- UNESP-Botucatu.....	53
Figura 2: Resultado do diagnóstico sorológico MAD. Fonte: Nupezo- UNESP-Botucatu	54

Lista de Gráficos

Gráfico 1: Dispersão dos resultados sorológicos obtidos para RIFI IgG e por QL IgG, em Botucatu-SP, 2022.....	57
Gráfico 2: Dispersão dos resultados sorológicos obtidos para RIFI IgM e por QL IgM, em Botucatu-SP, 2022.....	57

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Características epidemiológicas das gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, 2022.....	54
Tabela 2 – Distribuição percentual e IC 95% das gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, de acordo com a interpretação dos resultados sorológico para toxoplasmose pelo da QL das gestantes, 2022.....	56
Tabela 3- Análise da concordância pelo coeficiente de Kappa (k) da pesquisa, de gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, de anticorpos IgG para <i>T. gondii</i> pela RIFI e QL, 2022.....	58
Tabela 4- Análise da concordância coeficiente de Kappa (k) da pesquisa, de gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, de anticorpos IgM para <i>T. gondii</i> pela RIFI e QL, 2022.....	58
Tabela 5- Análise da concordância pelo coeficiente de Kappa (k) da pesquisa, de gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, de anticorpos IgG para <i>T. gondii</i> pelo MAD e RIFI-IgG, 2022.....	59
Tabela 6- Análise da concordância pelo coeficiente de Kappa (k) da pesquisa, de gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB-Unesp, campus de Botucatu- SP de anticorpos IgG para <i>T. gondii</i> pelo MAD e QL,2022.....	59

Sumário

1 Introdução.....	21
2 Revisão bibliográfica.....	23
2.1 Histórico.....	23
2.2 Ciclo de vida.....	26
2.3 Epidemiologia.....	26
2.4 Saúde pública.....	27
2.5 Toxoplasmose em humanos.....	29
2.6 Toxoplasmose em gestantes.....	29
2.7 Diagnósticos sorológicos.....	37
3 Objetivos.....	40
3.1 Objetivo geral.....	41
3.2 Objetivos específicos.....	41
4 Material e Métodos.....	42
4.1 Comitê de ética.....	43
4.2 Contexto e local de estudo.....	43
4.3 Participantes.....	43
4.4 Armazenamento e análise de amostras de soro.....	43
4.5 Tamanho amostral.....	44
4.6 Exames sorológicos.....	44
4.6.1 Reação de imunofluorescência indireta.....	45
4.6.2 Método de aglutinação direta modificada.....	48
4.6.3 Imunoensaio de micropartículas com quimiluminescência.....	49

4.6.4 Teste de avidez.....	51
4.7 Análise estatística.....	52
5 Resultados.....	53
6 Discussão.....	60
7 Conclusão.....	67
8 Referências de Bibliográficas.....	69
9 Anexos.....	84
9.1 Anexo 1.....	84

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma doença zoonótica causada pelo *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Trata-se de um protozoário de distribuição mundial, capaz de infectar todos os animais vertebrados e os seres humanos. Estima-se que *T. gondii* infecte um terço da população humana mundialmente, podendo ser considerada como a zoonose de maior prevalência, e associada à imunossupressão (DUBEY et al., 2020a).

A sua prevalência é elevada na Europa, América Central e do Sul, sendo que na Tailândia e Japão é inferior a 20%; Austrália, Polônia, Reino Unido e Bélgica entre 23% e 53%; Taiti e França acima de 60%; e no Brasil as taxas de infecção variam de 50% a 80% em humanos (SANTOS et al., 2016). Por isso, *T. gondii* está entre os parasitos mais estudados entre os coccídeos. Sua importância médica e veterinária faz com que muitos aspectos da biologia e epidemiologia continuem sendo pesquisados (DUBEY et al., 2020a).

Neste contexto, este protozoário é apontado como a terceira maior causa de mortes por alimentos nos Estados Unidos (DUBEY et al., 2020a). Apresenta grande relevância em termos de Saúde Única, pois é uma das principais causas de abortamentos em mulheres, e em pacientes imunossuprimidos costuma causar manifestações clínicas mais severa (AZEVEDO FILHO et al., 2020).

Apresenta três formas infectantes: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Seu ciclo de vida é heteroxeno e envolve a contaminação de hospedeiros definitivos, os felídeos; e intermediários, como cães e o ser humano (DUBEY et al.,

2012) entre outras espécies de animais de companhia, de interesse zootécnico ou não, incluindo as aves e muitas espécies de animais silvestres.

T. gondii está presente em mais de 30 espécies de aves e de 300 mamíferos. Em humanos, pode causar, mudanças de comportamento como esquizofrenia, transtorno de déficit de atenção e transtorno obsessivo compulsivo (DA SILVA et al., 2009; BRESCIANI et al., 2013). Na gestação, pode ocorrer a forma congênita da doença, sendo observados também casos de depressão e ansiedade pré-natal. Entretanto, seu mecanismo de ação não está totalmente elucidado (BRESCIANI et al., 2013).

É de grande relevância o diagnóstico sorológico da toxoplasmose, e neste contexto foram avaliadas no presente trabalho diferentes técnicas para o diagnóstico sorológico da toxoplasmose congênita, para comparação dos seus resultados, permitindo a tomada de condutas minimizando os efeitos da toxoplasmose humana congênita.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Histórico e etiologia

O agente etiológico da toxoplasmose foi descrito em 1908, quase que simultaneamente, em dois países distintos. Na Tunísia, localizada no Norte da África, Nicolle e Manceaux relataram a presença de um parasito intracelular no baço e no fígado do roedor *Ctenodactylus gundii*. Na época, estes pesquisadores acreditaram se tratar de uma forma particular de *Leishmania* spp., sendo assim denominada *Leishmania gondii* (FREYRE, 1989 apud DUBEY et al., 2012). No mesmo ano, em São Paulo, Brasil, Splendore infectou experimentalmente

coelhos da espécie *Oryctolagus cuniculus* o protozoário agente da leishmaniose visceral. Entretanto, um ano depois, em 1909, Nicolle e Manceaux, constataram que se tratava de um novo parasito, sendo, então, criado o gênero *Toxoplasma*. A sua nomeação ocorreu de forma definitiva em 1909, por estes mesmos pesquisadores, que o denominaram *T. gondii*, baseado na forma dos taquizoítos do protozoário (toxon = arco e plasma = célula) e “*gondii*” devido sua descoberta no roedor da espécie *Ctenodactylus gundii* (NOBUTO et al., 1960; VAZ et al., 2011; FREYRE, 1989 apud DUBEY et al., 2012).

O primeiro relato da doença humana ocorreu em 1913, quando Castellani, no Sri Lanka, descreveu-a em um menino com quadro febril e com esplenomegalia (SIMÕES et al., 2015). Fedorovitch, em 1916, observou organismos semelhantes aos relatados por Castellani em amostra de sangue de um menino de 10 anos de uma região do Mar Negro que apresentava anemia, febre e esplenomegalia. Além disso, Chalmers e Kamar em 1920 relataram organismos semelhantes em um soldado no Sudão que tinha dor de cabeça crônica, febre e diarreia. Entretanto, esses casos foram estudados de forma incompleta e como possível diagnóstico, pelos sintomas, sugeriram tratar-se de infecção por *Leishmania* spp. (WEISS; DUBEY, 2009).

Em 1923, na cidade de Praga, um oftalmologista chamado Janku, relatou de modo inédito a toxoplasmose congênita humana em uma criança de 11 anos de idade com hidrocefalia e cegueira, que veio a falecer. Em um corte histológico do globo ocular após necropsia, foi observada a presença de parasitos na retina. No Brasil, em 1927, Carlos Bastos Magarinos Torres evidenciou esta doença pela

primeira vez em humanos no Rio de Janeiro a partir da descrição do micro-organismo em cortes histológicos de cérebro, miocárdio e músculos esqueléticos de um bebê com 29 dias de vida (ORÉFICE et al., 2010).

Em relação à toxoplasmose congênita, em 1939, nos Estados Unidos, Wolf, Cowen e Paige descreveram o primeiro caso em um recém-nascido que morreu com 30 dias de vida, com encefalite, mielite e meningite (VAZ et al., 2011). Posteriormente, em 1942, foram evidenciados os sinais clínicos típicos (hidrocefalia, microcefalia, coriorretinite e calcificação intracraniana), conhecidos como téttrade de Sabin (SIMÕES et al., 2015).

Em 1948, foi desenvolvido o teste sorológico, teste do corante (dye test) de Sabin-Feldman. Pela realização deste exame, houve um incremento no diagnóstico laboratorial desta enfermidade, que permitiu também a realização de inquéritos epidemiológicos (VAZ et al., 2011), para a avaliação da dispersão do *T. gondii* no meio ambiente pela avaliação da resposta de IgG anti-*Toxoplasma* em humanos e diferentes espécies animais.

Em 1953, a infecção toxoplásmica foi diagnosticada com pioneirismo na espécie bovina por Sanger e colaboradores, em Ohio, EUA (GOMES et al., 2021).

Posteriormente, foi elucidado cientificamente que são produzidos oocistos como produto da fase sexuada do *T. gondii* (FRENKEL et al., 1970) e foi demonstrado que os únicos mamíferos que excretam oocistos do parasito, são os felídeos domésticos e selvagens (MILLER et al., 1972; VAZ et al., 2011). Estes pesquisadores, contribuíram substancialmente para a compreensão da

epidemiologia desta zoonose.

2.2 Ciclo de vida do *T. gondii*

T. gondii apresenta três formas evolutivas: taquizoítos, bradizoítos e esporozoítos. Os taquizoítos infectam as células do hospedeiro pela penetração ativa da membrana celular e tornam-se envoltos pelo vacúolo parasitóforo que os protegem dos mecanismos de defesa do hospedeiro (DUBEY et al., 2004). Com multiplicação rápida e reprodução assexuada por sucessivas divisões binárias, causam destruição das células infectadas, rompem a célula do hospedeiro e se disseminam via hematogênica (DUBEY et al., 2012). Medem cerca de 4 x 9 µm de comprimento e 2 x 4 µm de diâmetro (SANTOS et al., 2016).

Na sequência, desenvolvem os cistos teciduais. Os bradizoítos, representam a forma de resistência do parasita, de multiplicação lenta em ampla variedade de hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 2004).

2.3 Epidemiologia

É uma das enfermidades mais comuns, de ampla distribuição mundial, que afeta todos os animais homeotérmicos, incluindo humanos. Apesar da elevada soroprevalência, as manifestações clínicas em humanos e animais são pouco frequentes, estando a doença clínica associada à imunossupressão (KODYM, et al., 2015). Esta é variável em todas as regiões do globo terrestre e a infecção está relacionada aos hábitos higiênico- alimentares e culturais da população (LEÃO et al., 2004).

O ser humano se infecta principalmente pelas vias oral e transplacentária e, raramente, por transfusão de sangue, transplante de órgãos ou acidentes em

laboratório. A transmissão oral ocorre pela ingestão de cistos do parasita contidos na carne crua, ou malcozida, ou pela ingestão de oocistos presentes na terra, água ou alimentos contaminados com fezes de felídeos infectados (DUBEY et al., 2012; GILLOT-FROMONT et al., 2013). É possível ainda pela ingestão de leite de algumas espécies de animais de interesse zootécnico (KOETHE et al., 2017).

2.4 Saúde Pública

T. gondii acomete animais de produção, silvestres, domésticos e o ser humano. Pode causar infecção assintomática, ou quadros sistêmicos graves e prejuízos à saúde pública e à produção animal (DUBEY et al., 2020a). Apresenta considerável relevância quanto aos aspectos de produção animal, bem como para a saúde pública devido à transmissão pelos alimentos contaminados. Destaca-se que é considerada como zoonose oportunista em pacientes portadores do vírus da imunodeficiência humana, ou que apresentam imunodeficiência de outras origens (SILVA; SILVA, 2016).

As implicações da toxoplasmose estão relacionadas diretamente aos grupos de risco como gestantes, crianças e indivíduos imunossuprimidos. Somente para toxoplasmose gestacional e congênita é obrigatória a notificação compulsória (BRASIL, 2018).

Nos indivíduos imunocompetentes, a toxoplasmose manifesta-se quase sempre de forma subclínica, sem repercussões mais sérias na maioria dos casos, entretanto, a toxoplasmose ocular ocorre em cerca de 85% dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita que não apresentam sinais clínicos evidentes ao nascimento. Entretanto, uma avaliação mais detalhada pode revelar

alterações como restrição do crescimento intrauterino, prematuridade, anormalidades liquóricas e cicatrizes de retinocoroidite. Quando presentes, as manifestações clínicas podem ser encontradas no período neonatal, ou ao longo dos primeiros meses de vida, podendo também surgir sequelas da doença, previamente não diagnosticada, apenas na adolescência ou na idade adulta (BRASIL, 2018).

Em recém-nascidos assintomáticos ao nascimento, estima-se que 85% apresentarão cicatrizes de retinocoroidite nas primeiras décadas de vida e 50% evoluirão com anormalidades neurológicas. As sequelas são, ainda, mais frequentes e mais graves nos bebês recém-nascidos sintomáticos, por apresentarem sintomas ao nascer, como acometimento visual em graus variados, retardo mental, crises convulsivas, anormalidades motoras e surdez. Mais de 70% desses recém-nascidos desenvolverão novas lesões oculares ao longo da vida. A maior gravidade tem sido identificada, possivelmente, devido à exposição a cepas mais virulentas do *T. gondii* ou pela maior suscetibilidade individual (BRASIL, 2018).

Os estudos soro epidemiológicos demonstram uma soroprevalência variável em humanos, principalmente, devido às diferenças de condições socioeconômicas, hábitos culturais e alimentares da população e aspectos climáticos da região envolvida (DUBEY et al., 2012). Outro aspecto que deve ser considerado são as diferentes técnicas sorológicas realizadas para o diagnóstico, tipo de antígenos utilizados, entre outros fatores.

2.5 Toxoplasmose em humanos

É a maior causa de mortalidade em pacientes convivendo com HIV/ aids. No estado de São Paulo 25,4% de 71 pacientes soropositivos, morreram devido à toxoplasmose entre os anos de 1998 a 2002 (DELGADO et al., 2019). A prevalência no Brasil é alta, porém sua patogenia é baixa em hospedeiros humanos (DUBEY et al., 2012), devendo-se levar em consideração a imunocompetência do paciente.

A infecção no ser humano pode ocorrer por via transplacentária, ou oral pela ingestão de água ou alimentos contaminados por oocistos, além dos bradizoítos, a partir de produtos cárneos. Na maioria das vezes, ocorre de forma assintomática, entretanto, sintomas como mal-estar, dor de cabeça, febre, perda de força e dores musculares podem estar presentes. Em alguns casos, observa-se linfadenopatia, e, em quadros mais graves, o acometimento de órgãos vitais como pulmão, coração e fígado. Alguns pacientes desenvolvem a forma ocular que resulta em coriorretinite aguda ou crônica. Em indivíduos imunossuprimidos, a doença pode resultar em quadros de hepatite, pneumonite e lesão do sistema nervoso central, severa e muitas vezes fatais (AZEVEDO et al., 2020).

2.6 Toxoplasmose em gestantes

A toxoplasmose adquirida durante a gestação é de elevada importância, pois pode resultar em infecção fetal com graves sequelas (SOUZA et al., 2010). O monitoramento sorológico de gestantes é importante durante toda a gestação avaliando o diagnóstico de possível primo-infecção (VIDIGAL et al., 2002). A fase subclínica da toxoplasmose, na maioria das gestantes infectadas, representa um

desafio clínico tanto para a paciente como para a saúde pública (ALMEIDA et al., 2017).

A transmissão placentária, foi a primeira forma conhecida de transmissão de *T. gondii*. O feto se infecta por taquizoítos que cruzam a placenta a partir da circulação materna decorrente da infecção primária (BICHARA, 2014). Nas áreas de alta soroprevalência de toxoplasmose, a triagem neonatal sistemática pode detectar crianças com doença congênita causada por reinfecção e reativação durante a gestação (ANDRADE et al., 2010).

O risco materno, de contrair a toxoplasmose, durante o período gestacional, está relacionado à prevalência na comunidade, à parasitemia adquirida, ao número de mulheres susceptíveis e à resposta imunológica materna ao *T. gondii* (BRASIL, 2018).

A primo-infecção, no primeiro trimestre da gestação, pode ocasionar lesões fetais mais graves. Se a infecção materna ocorrer no último trimestre, o dano fetal será de menor gravidade. No decorrer da gestação há um aumento no risco de transmissão vertical com diminuição da gravidade das lesões fetais (BRASIL, 2018). Mulheres que apresentam soropositividade antes do período gestacional, geralmente, não transmitem a infecção para o neonato. Porém, os cistos teciduais em quiescência de infecção anterior, podem reiniciar o ciclo de vida do parasita nas imunodeprimidas e, em casos raros, em gestantes imunocompetentes (WALCHER et al., 2016).

Há relatos de casos de infecção congênita em crianças nascidas de mulheres que se infectaram com *T. gondii* antes da concepção, apresentando

imunodeficiência ou sistema imune normal (SOUZA; BELFORT JR, 2014). A maioria dos recém-nascidos infectados não apresenta sintomas, outros desenvolvem sequelas após o nascimento, como coriorretinite, retardo mental e moderada perda da audição (LECHER et al., 2016). Em 15% dos recém-nascidos infectados, as lesões oculares são o único sinal clínico, sendo a retinocoroidite a principal lesão observada, podendo estar acompanhada de outras alterações oculares, como iridociclite, catarata, glaucoma, estrabismo, nistagmo e descolamento da retina (LAGO et al., 2014).

Nos casos mais graves de infecção congênita, o recém-nascido pode apresentar alterações do volume craniano, calcificações intracerebrais e/ou convulsões. No soro do recém-nascido, a presença de títulos elevados de anticorpos da classe IgG, que aumentam ou permanecem reativo em período de até 18 meses, é indicativa de toxoplasmose congênita, já que aqueles que decrescem, tendendo a se tornarem negativos representam anticorpos maternos de transferência passiva (PEREIRA et al., 2015).

A toxoplasmose congênita, bem como suas sequelas, podem ser evitadas pela prevenção primária, com informações à gestante sobre as fontes de infecção, triagem sorológica pré-natal, estratégias que podem ser alternativas em regiões com prevalência baixa de infecção toxoplásmica, e indispensáveis em regiões com elevada prevalência (LAGO et al., 2014).

O período entre a primeira à décima sétima semana da gestação, é o mais crítico e grave para o feto, com 15% de chances de infecção. Caso isso ocorra, a tendência de abortamento espontâneo é alta e as alterações mais comuns do

recém-nascido são coriorretinite, calcificações intracranianas e hidrocefalia. Também são frequentes a alteração do líquido cefalorraquidiano, icterícia, trombocitopenia, anemia, febre, hepatomegalia, dentre outras alterações (MCLEOD et al, 2006; MALDONADO, 2017). No terceiro trimestre, o risco de transmissão vertical se torna maior, porém, os riscos de sequelas decrescem consideravelmente (AMENDOEIRA, CAMILLO-COURA, 2010).

A prevalência da infecção adquirida durante a gravidez varia de 10,3% a 75,2% em diferentes países. No Brasil a soroprevalência dos anticorpos IgG variam de 49,2% a 91,6% e a incidência de toxoplasmose congênita varia de 0,3 a 5,0 por 1000 nascimentos (CAPOBIANGO et al., 2016). Estudo realizado no Brasil, detectou que 67,3% das mulheres pesquisadas apresentaram título para *T. gondii* (BECK et al., 2013).

O risco de transmissão fetal depende de fatores como a resposta imune materna, idade gestacional na infecção, e virulência do parasita. O risco de transmissão congênita varia de até 2% no período periconcepcional, 10-25% no primeiro trimestre da gravidez, 30-45% no segundo trimestre, 60-65% no terceiro trimestre e até 80% antes do parto. A gravidade da doença congênita é elevada quando a transmissão ocorre no início da gravidez diminuindo com o período gestacional (CAPOBIANGO et al., 2016).

O diagnóstico da toxoplasmose adquirida durante a gravidez é baseado em exames laboratoriais visto que mais de 90% das gestantes infectadas são assintomáticas. Quando as manifestações clínicas estão presentes, em geral,

são inespecíficas e incluem febre, cefaleia, mialgia, linfadenopatia e erupção cutânea, presentes no feto (CAPOBIANGO et al., 2016).

Raramente, a toxoplasmose congênita ocorre em decorrência da reativação de infecção crônica em gestantes imunossuprimidas, principalmente as portadoras de HIV, ou pela reinfecção por nova cepa mais virulenta. Infecções agudas adquiridas duas a três semanas previamente à concepção são de muito baixo risco para o feto (AHMED et al., 2020).

A frequência de transmissão fetal aumenta proporcionalmente à idade gestacional, pois a maior maturidade da placenta, em idades gestacionais mais avançadas, favorece a passagem do protozoário. Por outro lado, infecções em períodos gestacionais iniciais geralmente, cursam com desfechos fetais mais graves, com abortamento e acometimento neurológico (AHMED et al., 2020). Taxas de transmissão materno-fetal menores que 9% para infecções maternas ocorridas no primeiro trimestre, 21% no segundo e de 45% no terceiro trimestre de gestação foram relatadas por Prusa et al (2015). A estimativa da idade gestacional na qual ocorreu a infecção materna auxilia na avaliação de risco de transmissão vertical e de sequelas fetais.

Em indivíduos imunocompetentes, a infecção pelo *T. gondii* é geralmente assintomática ou ocasiona sintomas inespecíficos, sendo linfadenopatia o mais comum (AHMED et al., 2020). Por esse motivo, a prevenção secundária por meio da vigilância sorológica é o método mais eficaz para detectar a infecção em gestantes (PRUSA et al., 2015; PEYRON et al., 2019).

Não existe consenso internacional a respeito da vigilância pré-natal para toxoplasmose. Entretanto, países como a França e Austria, que realizam o acompanhamento mensal de todas as gestantes suscetíveis, obtiveram significativa redução da incidência de toxoplasmose congênita (WALLON et al., 2013; PRUSA et al., 2015).

Os testes sorológicos durante o exame pré-natal e em amostras de crianças são realizados por métodos laboratoriais de rotina convencional. Os anticorpos IgG *T. gondii* são pesquisados por reação de imunofluorescência indireta (RIFI) com taquizoitos de *T. gondii* obtidos do líquido ascítico de ratos experimentalmente infectados e a quimioluminescência (QL) a partir de antígenos recombinantes de *T. gondii* p30 (SAG1) e p35 (GRA8). Os anticorpos IgM *T. gondii* também são detectados pela QL com antígeno p30 e lisado total de *T. gondii* (CAPOBIANGO et al., 2016).

A soroprevalência elevada é um indicador da maior exposição da população aos fatores de risco determinantes da doença (GENNARI et al., 2015), podendo se considerar como um marcador para se avaliar a dispersão do agente tanto em animais como em humanos e especificamente nas gestantes (CAPOBIANGO et al., 2016).

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda a realização de triagem sorológica na primeira consulta do pré-natal, por meio da detecção de anticorpos IgM e IgG específicos (BRASIL, 2018). A infecção aguda cursa inicialmente com elevação dos níveis de anticorpos IgM específicos, seguida por elevação dos níveis de IgG em cerca de duas a três semanas (OZ, 2014). De acordo com o protocolo

brasileiro, resultados não reagentes para IgG e IgM sinalizam que a gestante é suscetível à infecção aguda e deve ser orientada sobre as medidas de prevenção primária contra a doença, além de receber acompanhamento adicional durante a gestação, principalmente em locais com elevada prevalência da doença (BRASIL, 2018).

Em caso de soroconversão para IgG e IgM em gestantes anteriormente identificadas como suscetíveis, há confirmação de infecção aguda por *T. gondii* durante o período gestacional, sendo recomendado o tratamento imediato da gestante. Em contrapartida, resultados IgG reagente e IgM não reagente sugerem contato prévio com o parasita e resposta imune remota, indicando baixo risco de infecção fetal em gestantes imunocompetentes (BRASIL, 2018).

As limitações do emprego da sorologia para o diagnóstico de toxoplasmose consistem no fato de que a detecção de anticorpos IgM específicos para *T. gondii* podem persistir por meses ou anos após a infecção primária. Sendo assim, a interpretação do resultado IgM reagente é complexa, já que pode sugerir infecção recente ou anticorpos remanescentes de infecção prévia. Recomenda-se a repetição do exame em duas a três semanas conhecido como sorologia pareada, em caso de suspeita de infecção aguda (CHAUDHRY et al., 2014). Os testes para detecção de IgM apresentam alta sensibilidade, porém baixa especificidade, uma vez que os antígenos utilizados podem reagir com anticorpos IgM naturais na ausência de infecção, sendo o resultado falso positivo (TEIMOURI et al., 2020).

Em caso de detecção de IgM reagente em mulheres em idade gestacional inferior a 16 semanas, o Ministério da Saúde, no Brasil, recomenda a utilização do teste de avidéz para IgG, para avaliar se a infecção é recente e, assim, estimar com maior precisão se a infecção ocorreu durante a gestação, com risco aumentado para o feto (BRASIL, 2016). Alta avidéz para IgG exclui infecção aguda no período de 3 meses e, portanto, representa baixo risco de transmissão materno-fetal, caso o teste seja realizado no primeiro trimestre. Por outro lado, uma baixa avidéz identificada no primeiro trimestre gestacional indica possibilidade de infecção aguda recente, mas não a confirma, já que baixa avidéz pode persistir por anos em algumas pessoas (TEIMOURI et al., 2020).

O tratamento precoce da infecção materna reduz o acometimento fetal, por prevenir a transmissão vertical e infecção congênita, ou por minimizar as manifestações clínicas na criança (WALLON et al., 2013).

Cerca de 80% dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita são assintomáticos ao nascimento, principalmente se a infecção materna ocorreu em idade gestacional avançada (WALLON et al., 2013). As manifestações clínicas mais comuns da infecção congênita são lesões oftalmológicas, lesões em sistema nervoso central como calcificações cerebrais, coriorretinite, hidrocefalia, icterícia, dentre outras. Podem ainda ocorrer, caso não haja identificação e tratamento adequado da gestante ou do neonato, repercussões e sequelas permanentes nessas crianças (BRESCIANI et al., 2013), como complicações oculares e neurológicas que se desenvolvem durante a infância ou adolescência, levando a sequelas como prejuízo da acuidade visual, déficit cognitivo e atraso no

desenvolvimento psicomotor, o que evidencia a importância do diagnóstico e tratamento materno e fetal precoce (SOARES et al., 2011).

2.7 Diagnóstico sorológico

O diagnóstico isolamento por bioensaio em camundongos é importante, entretanto é um método demorado, laborioso e dispendioso, além de apresentar baixa sensibilidade. O diagnóstico sorológico pode ser realizado pela reação de imunofluorescência indireta considerada uma técnica simples e economicamente viável, que apresenta boa especificidade e sensibilidade (SILVA; SILVA, 2016). Essa reação tem a vantagem de utilizar parasitos preservados, fixados em lâminas de microscopia, o que é muito prático e seguro para a rotina laboratorial. Além do mais, permite a identificação dos anticorpos segundo as classes de imunoglobulinas, como IgG na fase crônica, IgM na fase aguda e eventualmente, IgA (BRESCIANI et al., 2013).

O teste de Aglutinação Modificada Direta (MAD) é um teste de leitura macroscópico, comumente utilizado para diferentes espécies animais, devido à facilidade de realização e concordância com outros testes de diagnóstico (SILVA et al., 2002). Sua vantagem é não necessitar de microscópio de imunofluorescência e também de conjugados específicos e ser de baixo custo.

O teste de avidéz de IgG mensura a afinidade funcional de anticorpos IgG específicos para toxoplasmose. Esse método é bastante utilizado para diagnosticar infecção aguda nas gestantes sendo mais útil nos primeiros trimestres. O teste de avidéz de IgG determina a época da infecção pelo *T. gondii* na gestante, visto que alta avidéz indica que os anticorpos foram produzidos há mais de 12-

16 semanas, isto é, alta avidéz em gestantes que apresentam IgG e IgM positivos já na primeira amostra coletada no primeiro trimestre de gestação, significando que a toxoplasmose foi adquirida há mais de quatro meses, antes da concepção (BRASIL, 2018).

No Brasil, os testes laboratoriais mais indicados para detecção e quantificação de anticorpos IgG *T. gondii* no soro são ensaio imunoenzimático; teste imunoenzimático de micropartículas, quimioluminescência e eletroquimioluminescência, e imunoensaio fluorescente ligado à enzima. Para detecção de IgM *T. gondii* no soro são indicados ensaio imunoenzimático por captura (ELISA-captura), teste imunoenzimático de micropartículas, quimioluminescência e eletroquimioluminescência, imunoensaio fluorescente ligado a enzima. Há também o diagnóstico por métodos diretos por técnicas moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase, por isolamento do agente e ainda histológico e imunohistoquímico. Os métodos mais utilizados são os sorológicos IgM e IgG e avidéz de IgG, bem como a PCR (BRASIL, 2018).

Pelloux et al (1998), demonstraram que há correlação entre titulações por RIFI e por ELISA, que se mostraram reagentes com títulos entre 16 à 64. Essa correlação permite que os perfis sorológicos, segundo o comportamento de anticorpos anti-*Toxoplasma*, detectados pelos testes de RIFI-IgG e RIFI-IgM, no curso da infecção pelo *T. gondii* (CAMARGO et al., 1964) possam ser utilizados para os valores identificados por ELISA.

Considerando-se a importância dos diagnósticos sorológicos na toxoplasmose em gestantes, os objetivos do presente trabalho foram: detectar anticorpos

da classe IgM e IgG *T. gondii* em gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB Unesp, campus Botucatu.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Estimar a soroprevalência para toxoplasmose em gestantes, de acordo com:

Interpretação da sorologia	Resultado da sorologia
Infecção prévia	IgG (+) e IgM (-)
Possível infecção recente	IgG (+) e IgM (+) ou IgG (-) e IgM (+)
Susceptível	IgG (-) e IgM (-)

3.2 Objetivos específicos:

3.2.1 identificar os títulos de IgG e IgM anti-*T.gondii* nos diagnósticos RIFI e MAD e verificar a relação entre os resultados obtidos na QL.

3.2.2 avaliar a concordância do teste de avidéz com os perfis sorológicos da toxoplasmose na QL, no caso de positividade da QL, conforme a rotina do laboratório de análises clínicas.

3.2.3 avaliar a concordância do teste MAD em relação à RIFI e QL.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Comitê de Ética

O presente projeto de pesquisa utilizou material biológico (soro) de um estudo de outro projeto de pesquisa, já concluído e publicado, o qual foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética- CEP da Faculdade de Medicina– FMB – UNESP sob número 4.417.854 (ANEXO1) . Ressalta-se, que as amostras de sangue já haviam sido colhidas e que não houve contato direto com as pacientes, além de que os dados utilizados foram obtidos retrospectivamente e as pacientes não tiveram mais contato com o serviço.

4.2 Contexto e local de estudo

Foram utilizadas amostras de soro de gestantes que realizaram pré-natal no ambulatório de pré-natal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu (HCFMB), ou na atenção básica do município de Botucatu, ou nos municípios do Polo Cuesta, no período de 2020-2021. Essas amostras foram coletadas de acordo com a rotina de exames sorológicos para diagnóstico de toxoplasmose em gestantes no estado de São Paulo (Resolução SS - 200, de 6-10-2010, Diário Oficial do Estado de São Paulo) e foram obtidas junto ao Laboratório de Análises Clínicas-HCFMB (LAC-HCFMB). Essas já tinham sido submetidas ao teste de quimioluminescência e teste de avidéz. As amostras de soro foram encaminhadas para o Serviço de Diagnóstico de Zoonoses-FMVZ, onde foram realizadas as reações de imunofluorescência indireta (RIFI) e o Método de Aglutinação Direta Modificada (MAD).

4.3 Participantes

Foram incluídas no estudo todas as gestantes que tiveram seu sangue colhido para exames de rotina de pré-natal, para diagnóstico de toxoplasmose. Não houve restrição quanto a condições clínicas prévias (hipertensão arterial crônica, diabetes mellitus, doenças de tireoide, doenças cardiovasculares, reumatológicas, neurológicas ou outras doenças infecciosas como sífilis, hepatite B ou portadoras do vírus da imunodeficiência humana). Em geral, essas amostras de sangue são colhidas no primeiro trimestre de gestação. Foram incluídas amostras de gestantes a partir de 18 anos e não houve limite de idade, e de qualquer idade gestacional. Com relação às raças, cor amarela e parda, foram incluídas na branca e preta, respectivamente.

4.4 Armazenamento e análise das amostras de soro

Após a realização dos exames sorológicos para toxoplasmose de rotina, o laboratório de Sorologia LAC-HCFMB armazenou o soro dessas pacientes. Uma amostra de 100 microlitros do soro armazenado foi encaminhada para o Serviço de Diagnóstico de zoonoses da FMVZ UNESP de Botucatu para exames laboratoriais referentes à reação de imunofluorescência indireta, e MAD sem custos para o hospital. As amostras foram acondicionadas em tubos coletores de 1,5 ml, identificados com número da paciente e mantidas sob a temperatura de congelamento a -20°C até o seu processamento.

4.5 Tamanho amostral

Para o estudo de correlação dos resultados dos diagnósticos sorológicos, considerou-se o coeficiente de correlação de 0,1, e com significância de 5% e poder estatístico de 80%. Foram usadas 504 amostras de soro para avaliação

da relação entre os diferentes métodos utilizados (RIFI, QL, MAD e Teste de avidéz) para o diagnóstico de infecção pelo *T. gondii*. Este cálculo foi realizado pelo Sample Size Calculators (www.sample-size.net/correlation-sample-size/).

Para a estimativa de prevalência de infecção prévia para toxoplasmose foram necessárias no mínimo 384 amostras reagentes, considerando-se a frequência antecipada de pelo menos 50%, com precisão absoluta de 5% e intervalo de confiança de 95%. As estimativas de soroprevalência de gestantes com possível infecção recente e susceptíveis foram realizadas a partir dessa amostra, utilizando-se a ferramenta de cálculo de tamanho amostral do OPENEPI (<https://www.openepi.com/SampleSize/SSPropor.htm>).

Os exames com resultados positivos (IgG e/ou IgM) do estudo de correlação foram utilizados como o tamanho amostral para a avaliação da concordância do teste de avidéz com os perfis sorológicos da toxoplasmose identificados pela QL, como ocorre na rotina do LAC-HCFMB, utilizando somente amostras que foram positivas para ambos os testes QL e RIFI. A acurácia do teste MAD foi estimada em relação à RIFI e à QL.

4.6 EXAMES SOROLÓGICOS

4.6.1 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

Foi utilizada a técnica de RIFI, de acordo com Camargo (1964).

No momento do exame, a amostra de soro foi diluída em PBS 0,01M pH 7,2 nas diluições 1:16, 1:64, 1:256, e assim por diante. Em microplaca devidamente identificada, pipetou-se 150 microlitros de SST 0,01M pH 7,2 nas suas perfurações, formando uma fileira, equivalente às diluições realizadas.

Adicionou-se ao primeiro poço respectiva ao soro teste, 10 microlitros do soro, obtendo-se a diluição 1:16. Após a homogeneização, transferiu-se 50 microlitros para o segundo poço, obtendo-se a diluição 1:64. Procedeu-se da mesma forma para as demais poços obtendo-se diluições em quadruplicada. Ao final, após a homogeneização, desprezou-se os 50 microlitros, referentes a última diluição testada. Procedeu-se da mesma maneira para os soros controles positivo e negativo, pipetando-se 10 microlitros de soro sabidamente positivo e 10 microlitros de soro sabidamente negativo.

Em lâmina fixada previamente com o antígeno, distribuiu-se 10 microlitros de cada diluição do soro em cada perfuração, em fileira, ordenados em forma crescente de diluição, pipetando-se inversamente, ou seja, da maior diluição para a menor, protocolando-se o esquema adotado. Procedeu-se da mesma forma com os controles positivo e o negativo.

As lâminas foram incubadas à 37°C, em câmara úmida por 30 minutos e a seguir, realizou-se duas lavagens em PBS 0,01M pH 7,2 por 10 minutos cada. Inicialmente, escoou-se a lâmina com a solução e a seguir colocou-se em uma cuba contendo a solução tamponada mantendo-a por 10 minutos. A seguir, desprezou-se o conteúdo da cuba, preenchendo-se novamente com a solução, procedendo-se como anteriormente.

A seguir, acrescentou-se à reação o conjugado (anticorpo anti-IgG específico para a espécie examinada), conjugado com o isotiocianato de fluoresceína, diluído de acordo com o seu título previamente estabelecido, em solução de azul

de Evans a 20 mg%, também previamente preparada, que no momento do uso é diluída a 1:5, ou seja, 1 ml de azul de Evans e 4 ml de PBS 0,01M pH 7,2.

O conjugado foi adicionado no volume de 10 µl em cada uma das diluições. A lâmina foi incubada à 37°C, em câmara úmida por 30 minutos e a seguir lavada em PBS 0,01M pH 7,2 duas vezes durante 10 minutos cada, adotando-se o mesmo procedimento, descrito anteriormente.

Após a secagem das lâminas com o auxílio de ventilador, colocaram-se duas gotas de solução glicerizada pH 8,5 sobre a lâmina, cobrindo-se com lamínula. Procedeu-se a leitura em microscópio de imunofluorescência, com objetiva de 40X e ocular de 10X Carl Zeiss, e o modelo é o HBO 100.AX10. Após a leitura dos controles, sem discordância com o resultado esperado, procedeu-se a leitura das amostras em teste, considerando-se como ponto final da reação a maior diluição do soro, em que ainda houve fluorescência completa e intensa na borda de pelo menos 50% dos taquizoítos, sendo este então o título de anticorpos.

4.6.2 Método de Aglutinação Direta Modificada (MAD)

Usou-se a técnica, segundo Desmonts e Remington (1980). O soro testado foi diluído em placa de polietileno de fundo reto com 96 poços. Em seguida, adicionou-se 150 microlitros de PBS pH 7,2 em todos os poços, inclusive nos controles positivo e negativo. Dois poços controles positivos e negativos e dois poços de cada amostra com a primeira e a segunda diluição.

Adicionou-se 10 microlitros dos soros controles e soro teste no primeiro poço obtendo-se assim a diluição 1:16, e homogenizou-se, transferindo-se 50 microlitros para o segundo poço obtendo-se a diluição 1:64. A seguir, realizou-

se a diluição dos controles e da amostra de soro transferindo-se 25 microlitros de cada diluição para uma placa de fundo em “V”. Adicionou-se 25 microlitros de 2 ME (2 mercapto–etanol) aguardando-se 15 minutos para a reação nas pontes, dissulfídicas de IgM permanecendo somente as imunoglobulinas IgG.

Adicionou-se 50 microlitros do antígeno diluído. A placa foi tampada, e envoltada com parafilme, mantendo-se em estufa a 37°C overnight, com a realização da leitura e interpretação dos resultados. As amostras reagentes na triagem foram tituladas para observação do título final.

As amostras foram então diluídas, utilizando-se cinco poços de placa de fundo reto, da mesma forma que na triagem, pipetando-se 25 microlitros das amostras reagentes, obtendo-se as diluições 1:256; 1:1024; 1:4096.

4.6.3 Imunoensaio de micropartículas com quimioluminescência (QL).

O diagnóstico pela QL foi realizado no LAC-HCFMB, pelo método CMIA (Imunoensaio de Micropartículas por Quimioluminescência) com tecnologia Architect – Abbot. A amostra foi pré-diluída, com o diluente do kit e o antígeno de *T. gondii* (contendo antígenos recombinantes P30 (SAG1) e P35 (GRA8) e as micropartículas paramagnéticas revestidas são combinadas. Anticorpos específicos para o *T. gondii* presentes na amostra se ligam ao antígeno recombinante de *T. gondii* revestido nas micropartículas. Após a lavagem, adicionou-se a marcação murina com acridínio, o conjugado IgG anti-humano é para permitir uma ligação na reação. Após outro ciclo de lavagem, soluções de disparo foram adicionadas à mistura de reação. A QL resultante é medida como relativa unidade

de luz (RLUs). Existe uma relação direta entre o valor IgG anti-Toxo na amostra e as RLU detectadas pelo ARCHITECT i System optic.

Este teste é totalmente automatizado, denominado imunoensaio de micropartículas quimioluminescentes de 2 passos (CMIA), projetado para determinação quantitativa de anticorpos IgG para *T. gondii*. Anticorpos específicos para *T. gondii* presentes na amostra se ligam ao antígeno recombinante de *T. gondii* P30 (SAG1) e micropartículas revestidas com P35 (GRA8), formando um complexo antígeno-anticorpo. Após a lavagem, o conjugado murino anti-humano marcado com acridina IgG é adicionado para permitir uma mistura reacional com IgG específica para *T. gondii* ligada às micropartículas. Após novo ciclo de lavagem, as soluções de pré-trigger e trigger são adicionadas. O quimioluminescente final da reação é expresso como unidades relativas de luz (RLUs).

Existe uma relação entre a concentração de anticorpos *T. gondii* IgG na amostra e as RLUs detectadas pelo sistema óptico ARCHITECT. Considerou-se IgG reagente quando a concentração foi superior a 3 UI/mL e não reagente quando a dosagem de anticorpos foi inferior a 1,6 UI/mL. A dosagem de IgM foi considerada reagente para resultados superiores a 0,19 e não reagente quando inferior a 0,18. Valores entre 1,6 UI/mL e 3,0 UI/mL para IgG e 0,18 e 0,19 para IgM foram considerados inconclusivos de acordo com o Manual do Fabricante – Abbot Laboratórios do Brasil Ltda. – Architec Toxo IgG e Archites Toxo IgM. Junho, 2008.

4.6.4 Teste de Aidez

O teste de avidéz foi realizado no LAC-HCFMB, que é conduzido somente no caso de gestantes com o resultado de toxoplasmose reagente ($>0,50$). Se tiver resultado anterior a toxoplasmose com alta avidéz, não é repetido, ou seja, o exame é suspenso. Em caso de baixa avidéz, deve-se repetir o exame. Para calibrar Toxo IgG reagente, deve-se calibrar a Toxo IgG previamente. Para calibrar a toxo avidéz, é necessário colocar o calibrador da avidéz em dois “sample cups” e pesquisar calibração da ToxoAvi 1 e ToxoAvi 2. O controle deve ser realizado na aba Multiconstituent – Toxo Avit – Lote- Nível 1 ou 2.

Para cadastrar o exame manualmente, deve-se selecionar Toxo IgG reagente e zz_3019. A rack não deve ser retirada até piscar a luz verde. Coloca-se o resultado da porcentagem no sistema, mas sem símbolo (%).

Se a IgG for > 200 e a máquina não conseguir calcular a avidéz, deve-se cadastrar a diluição na máquina como Toxo IgG.

4.7 Análise Estatística

A interpretação dos resultados do exame sorológico foi calculada pelo número total de gestantes com um determinado resultado do exame sorológico durante um ano (2020-2021). Foram estudadas as seguintes variáveis epidemiológicas: faixa etária, raça, cor, trimestre da coleta do exame e paridade da gestante de acordo com os prontuários de cada gestante. O resultado foi apresentado em porcentagem e intervalo de confiança (IC) de 95%. Para avaliar a correlação entre os diferentes métodos sorológicos utilizados foram usados os testes de correlação de Pearson e o de Spearman, ambos com nível de significância de 5%.

A concordância do teste de avidéz com os perfis sorológicos de toxoplasmose na QL quando reagente, havendo relação positiva entre a QL e RIFI, foi apresentado na forma de porcentagem e respectivos IC de 95%.

Realizou-se também, as concordâncias dos resultados sorológicos para IgM e IgG obtidos nas técnicas RIFI, QL e MAD, que foram calculadas pelo coeficiente Kappa (k) (Agresti, 1990) e classificadas como descrito por Landis & Koch (1977).

RESULTADOS

5 Resultados

As 504 amostras avaliadas foram processadas pelas técnicas sorológicas: RIFI, MAD e QL. Todas as reagentes para *T. gondii* na técnica de QL, foram submetidas ao teste de avides.

Das 468 gestantes que fizeram parte da pesquisa, de algumas foi obtida mais de uma amostra, de acordo com o período pré natal, que recomenda-se o exame a cada três meses. Dependendo do período gestacional não foi possível cumprir essa recomendação, salientando-se que em alguns casos não foi possível avaliar os três trimestres gestacionais.

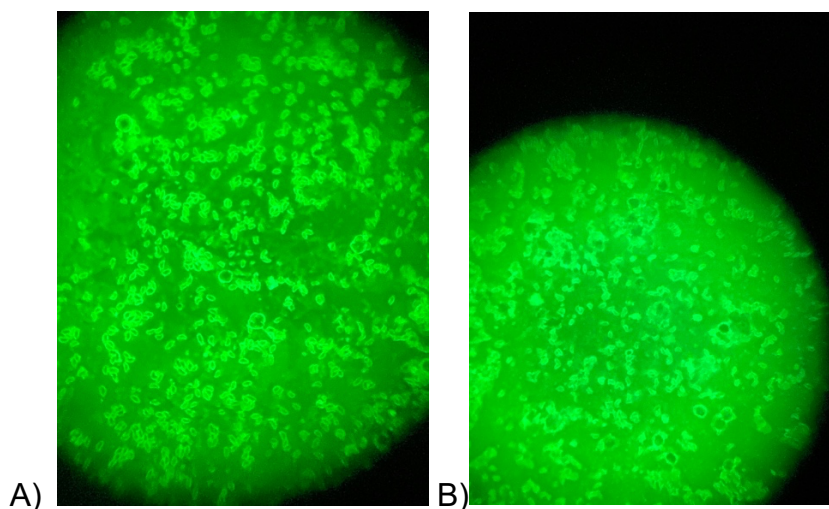
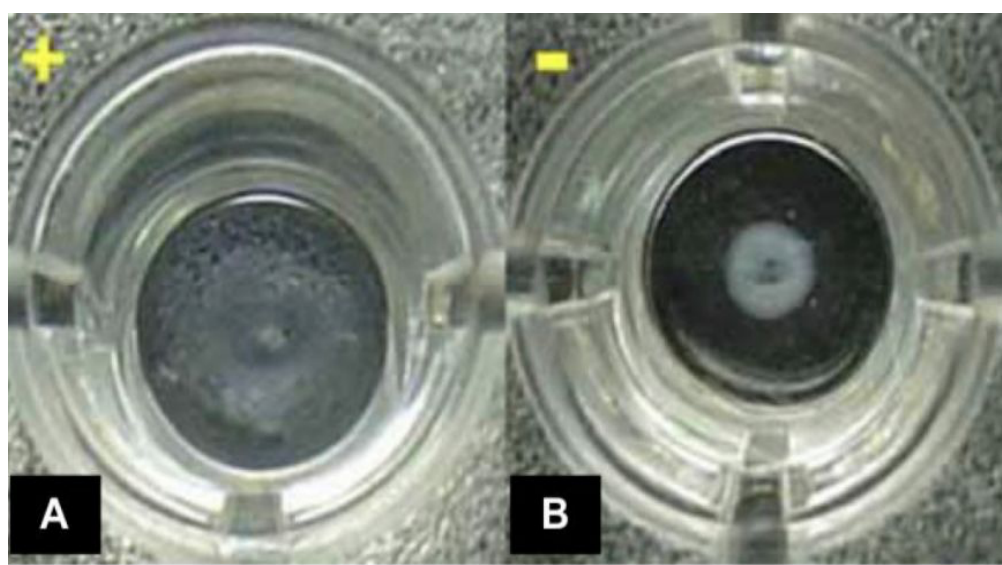


Figura 1- As figuras A e B são os resultados da RIFI reagente para *T. gondii*, visto em microscópio de imunofluorescência. Fonte: NUPEZO- FMVZ- UNESP-Botucatu.



Técnica de aglutinação direta modificada (MAT). Reação positiva (A) e negativa (B). Nupezo, 2009. (A)

Figura 2- Diagnóstico sorológico pelo MAD. Fonte: NUPEZO- FMVZ- UNESP-Botucatu.

As características epidemiológicas das gestantes, podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1 – Características epidemiológicas das gestantes atendidas no HCFMB- Unesp, campus de Botucatu- SP, 2022.

Variáveis	N	%	IC 95%
Faixa etária			
<20 anos	43	9,2	7,0 - 12,0
20 a <30 anos	267	57,1	52,5 - 61,5
30 a <40 anos	140	29,9	26,0 - 34,2
40 anos ou mais	18	3,8	24,4 - 60,0
Raça e Cor			
Branca	380	81,2	77,4 - 84,4
Preta	83	17,7	14,5 - 21,4
Não declarada	5	1,1	4,0 - 2,0

Trimestre coleta do exame			
1o Trimestre	274	58,5	54,0 - 63,0
2o Trimestre	86	18,4	15,1 - 22,1
3o Trimestre	108	23,1	19,4 - 27,1
Paridade			
Nulípara	174	37,2	33,0 - 42,0
Primípara	146	31,2	27,1 - 35,5
Múltipara	148	31,6	27,5 - 36,0

Os trimestres descritos anteriormente, foram aqueles em que a gestante se encontrava no dia da coleta de sangue.

A paridade das gestantes se relaciona ao número de partos da paciente. As nulíparas não tiveram partos anteriormente. As primíparas já tiveram um parto, sendo esse o segundo. As múltiparas tiveram vários partos anteriormente, como exemplo, algumas estavam no sexto parto.

Como o presente estudo utilizou o método de análise de prontuário como técnica, não foi possível avaliar outras variáveis como, por exemplo, contato com animais e hábitos alimentares, por não constarem nos prontuários. Quanto às variáveis epidemiológicas (idade, raça/ cor, paridade e trimestre de coleta) não houve diferença quanto ao resultado, reagentes ou não reagentes ao *T. gondii*.

De acordo com a tabela 2, infecção prévia refere-se à IgG positiva e IgM negativa. As suscetíveis, classificadas em IgG e IgM, não reagentes, foram a maioria. A menor frequência encontrada foi a de possível infecção recente com IgM e IgG reagentes, ou IgM reagente e IgG não reagente. As gestantes com

possível infecção recente, são monitoradas e submetidas a tratamento. Ao nascer, a criança é acompanhada pela pediatria, durante o seu primeiro ano de vida.

Os resultados da soroprevalência dos anticorpos anti *T. gondii* nas gestantes, estão expressos na tabela 2.

Tabela 2 – Resultado da soroprevalência para toxoplasmose pela QL em gestantes atendidas no Hospital das Clínicas da FMB-Unesp, campus de Botucatu-SP, 2022.

Resultados	N	%	IC 95%
Suscetível			
IgG NR / IgM NR	335	71,6	67,3 - 75,5
Possível Infecção Recente			
IgG NR / IgM R ou IgG R / IgM R	8	1,7	0,8 - 3,3
Infecção Prévia			
IgG R / IgM NR	133	28,41	22,9 - 30,9

**NR= Não reagente, *R= Reagente.

Os resultados da QL e da RIFI das taxas de anticorpos IgM e IgG *T. gondii*, e a relação entre eles, estão demonstrados nos gráficos 1 e 2.

Gráfico 1- Dispersão dos resultados sorológicos obtidos na RIFI IgG e por QL IgG Botucatu-SP, 2022.

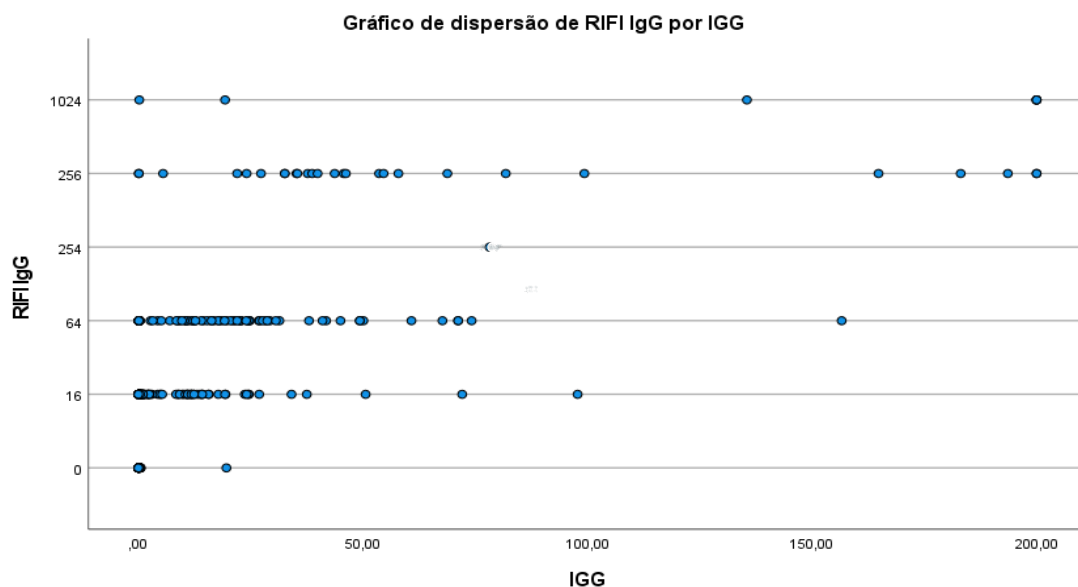
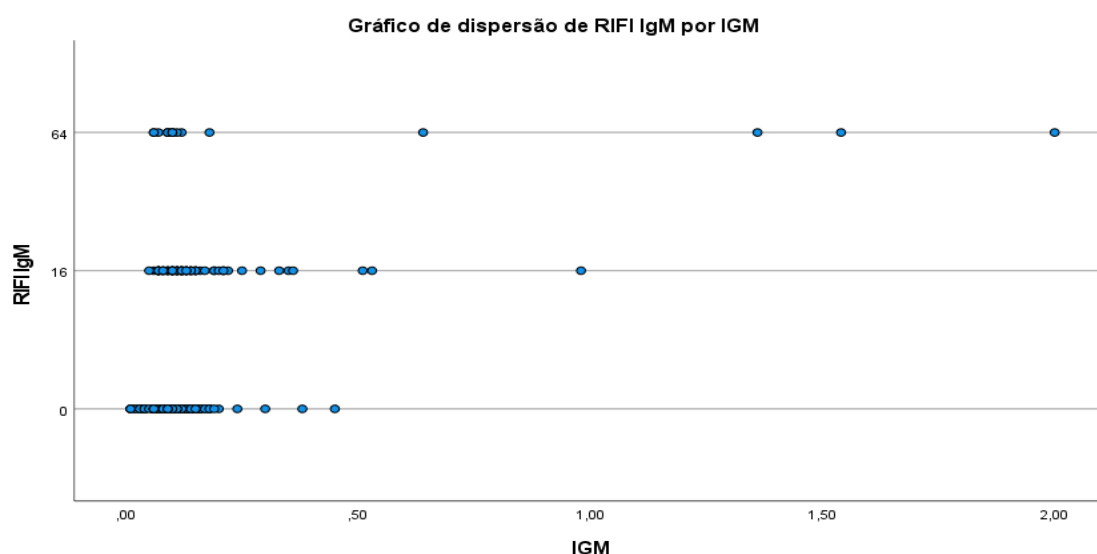


Gráfico 2- Dispersão dos resultados sorológicos obtidos na RIFI IgM e por QL IgM Botucatu-SP, 2022.



Há concordância do teste de avidéz com os perfis sorológicos da toxoplas-mose de acordo com a QL. Houve uma correlação positiva entre QL e RIFI para detecção de anticorpos IgG com coeficiente de correlação $r = 0,678$ (IC 95%: 0,628 - 0,723) e $P < 0,001$, pela correlação de Pearson entre QL e RIFI. Por outro lado, ocorreu correlação fraca para IgM na correlação de Spearman, entre QL e RIFI.

Na análise da concordância pelo coeficiente Kappa (k) para anticorpos IgG *T. gondii* pela RIFI e QL foi moderada, com coeficiente k = 0,5514 (IC95% 0,4858-0,6170).

Tabela 3- Análise de concordância pelo coeficiente de Kappa (k) da pesquisa de anticorpos IgG para *T. gondii* pela RIFI e QL, de gestantes atendidas no HCFMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, 2022.

QL (IgG)	RIFI-IgG	
	Reagente	Não reagente
Reagente	139	0
Não reagente	111	241

k = 0,5514 (IC95% 0,4858-0,6170)

A análise de concordância pelo coeficiente de Kappa (k) para pesquisa de anticorpos IgM para *T. gondii* pela RIFI e QL mostram resultado razoável, com coeficiente de correlação k = 0,3974 (IC95% 0,2869-0,5080).

Tabela 4- Análise de concordância pelo coeficiente de Kappa (k) da pesquisa, de anticorpos IgM para *T. gondii* pela RIFI e QL, de gestantes atendidas no HCFMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, 2022.

QL (IgM)	RIFI-IgM	
	Reagente	Não reagente
Reagente	26	1
Não reagente	63	401

k = 0,3974 (IC95% 0,2869-0,5080)

Na realização da técnica sorológica MAD, a utilização do 2-ME inativa a IgM, não detectando-a. É possível pesquisar IgG, sem interferência de IgM. Foi avaliada, portanto, a concordância do teste MAD em relação à RIFI e a QL, sendo os resultados obtidos apresentados nas tabelas 5 e 6, respectivamente. Utilizou-

se o método estatístico Kappa (k), que foi considerado o mais adequado para a este tipo de análise. A concordância entre a MAD e RIFI foi quase perfeita, com coeficiente k = 0,7686 (IC95% 0,7129-0,8243).

Tabela 5- Análise de concordância pelo coeficiente de Kappa (κ) da pesquisa, de anticorpos IgG para *T. gondii* pelo MAD e RIFI de gestantes atendidas no HCFMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, 2022.

RIFI-IgG	MAD	
	Reagente	Não reagente
Reagente	202	49
Não reagente	8	232

κ = 0,7686 (IC95% 0,7129-0,8243)

A análise de concordância pelo coeficiente de Kappa (k) pela MAD e QL foi forte, com coeficiente k = 0,6397 (IC95% 0,5724-0,7070).

Tabela 6- Análise de concordância pelo coeficiente de Kappa (k) da pesquisa, de anticorpos IgG para *T. gondii* pelo MAD e QL de gestantes atendidas no HCFMB-Unesp, campus de Botucatu- SP, 2022.

QL (IgG)	MAD	
	Reagente	Não reagente
Reagente	134	7
Não reagente	76	274

k = 0,6397 (IC95% 0,5724-0,7070)

DISCUSSÃO

6 Discussão

A indicação da triagem sorológica para toxoplasmose durante a gestação não é um consenso mundial devido à soroprevalência variada em diferentes regiões do globo terrestre. Há países que defendem a triagem para todas as gestantes, enquanto outros apenas investigam a infecção quando há alterações fetais, ou uma condição clínica sugestiva da doença (NASCIMENTO et al., 2017; ROUATBI et al., 2019; ROSTAMI et al., 2020).

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda a inclusão de sorologia para toxoplasmose nos exames solicitados na primeira consulta do pré-natal. Essa medida possibilita identificar gestantes imunes (somente IgG reagente), suscetíveis (IgM e IgG não reagentes) e aquelas com infecção aguda e risco de transmissão vertical (NASCIMENTO et al., 2017; ROUATBI et al., 2019; ROSTAMI et al., 2020). Este foi um dos objetivos do estudo, para se acompanhar as pacientes durante o período gestacional.

O teste de avidéz de IgG é importante para determinar o período da infecção. A alta avidéz indica que os anticorpos foram produzidos entre 12 e 16 semanas (MARQUES et al., 2015). Então, quando se verifica alta avidéz em gestantes com IgG e IgM reagentes no primeiro trimestre de gestação, diagnostica-se que a doença foi adquirida há mais de 4 meses, possivelmente antes da concepção. O teste de avidéz é realizado apenas nas pacientes com o resultado de QL reagente ou inconclusivo, na rotina do HCFMB.

Estudos sobre toxoplasmose, são importantes, especialmente em gestantes, e têm sido realizados em várias partes do mundo. A ocorrência no presente

estudo foi de 28,41% e a suscetibilidade de 71,6%. Quanto às que apresentaram infecção recente para toxoplasmose, a prevalência obtida foi de 1,7%. Estes resultados discordam dos relatados por Câmara et al (2015), que encontraram prevalência de 77,9%, susceptibilidade de 22,1% e infecção recente em 0,9% dos casos.

As gestantes com possível infecção recente (1,7%) foram monitoradas e submetidas ao tratamento de acordo com cada caso. Ao nascer, a criança é acompanhada ambulatorialmente na pediatria durante o seu primeiro ano de vida, que é a conduta do HCFMB. De acordo com Remington et al (2011), todas as crianças, cujas mães tiveram toxoplasmose aguda durante à gestação, são consideradas suspeitas, e devem ser submetidas a uma investigação sorológica para a detecção de anticorpos anti-*T. gondii*.

A maioria das crianças com toxoplasmose congênita não demonstra sintomas ao nascimento, porém, há um risco de desenvolver sequelas tardias, principalmente comprometimento ocular e neurológico (REMINGTON et al., 2011). Desta forma, é importante o diagnóstico sorológico confirmando a infecção por *T. gondii* com resposta de anticorpos específicos IgM (REMINGTON et al., 2011).

Portanto, os anticorpos IgG contra *T. gondii* em amostras de soro seriada deve ser analisada e a criança deve continuar sob acompanhamento ambulatorial, que pode levar meses até a definição do diagnóstico (CAPOBIANGO et al., 2014). Ressalta-se, a importância do acompanhamento dos casos em que a

gestante demonstre infecção recente, bem como também no período pós parto, nos primeiros meses de vida da criança, como medida de vigilância epidemiológica.

Na literatura pode-se verificar discordância de resultados em função dos métodos empregados. Há necessidade da utilização de diagnóstico precoce e rápido, por um método de baixa complexidade que permita com que os laboratórios de referência em toxoplasmose diferenciem os resultados suspeitos, obtidos com os métodos sorológicos convencionais de rotina, como RIFI e QL (CAPOBI-ANGO et al., 2016).

No presente estudo, foram utilizadas as técnicas sorológicas RIFI, QL e MAD, sendo que a última é menos utilizada devido ao tempo de execução dessa técnica. Esta é utilizada no diagnóstico de toxoplasmose, principalmente em animais silvestres por não haver a necessidade de utilização de conjugado específico à espécie animal estudada, e também pela não utilização de microscópio de imunofluorescência. A QL utiliza dois antígenos recombinantes p31 e p35. As reações de RIFI e MAD ocorrem em função dos anticorpos de superfície dos taquizoítos, utilizados como antígenos. A reação de ELISA, por sua vez, é realizada, normalmente, com antígenos lisados totais de *T. gondii*. Dessa forma, é esperado que ocorram diferenças nos resultados, aspecto que deve ser avaliado quando se analisa os resultados obtidos nos diferentes estudos, destacando-se ainda as particularidades no desenvolvimento das técnicas nos diferentes laboratórios.

Os dados de soroprevalência no Brasil são elevados quando comparados a outros países: 11,9% no Reino Unido (FLATT; SHETTY, 2013), 10,3% no Japão (SAKIKAWA et al., 2012), 28,3% na Tailândia (NISSAPATOR et al., 2011) e 28,6% na Espanha (BATET et al., 2004). No México, a soroprevalência é considerada baixa, variando entre 6,1% e 8,2% (ALVARADO-ESQUIVEL et al., 2009).

Há variação na soroprevalência de IgG *T. gondii* nas gestantes brasileiras. Em Minas Gerais, foi encontrada soroprevalência de 49,5% (FONSECA et al., 2016); no Rio Grande do Sul, de 59,8% (VARELLA et al., 2003); no estado do Paraná, de 67% (REICHE et al., 2000); no Mato Grosso, de 70,7% (LEÃO et al., 2004); no estado do Maranhão, de 77,9% (CÂMARA et al., 2015); Mato Grosso do Sul, de 91,4% (FIGUEIRÓ-FILHO et al., 2005) e, em Goiás, de 67,7% (SARTORI et al., 2011). No presente estudo encontrou-se 26,7% de soroprevalência no interior do estado de São Paulo, resultado discordante dos citados anteriormente.

A prevalência de indivíduos sororeagentes para *T. gondii* varia muito nas diversas regiões do mundo, inclusive em regiões dentro do próprio país (MONTTOYA; ROSSO, 2005), razão pela qual não é plausível fazer extrapolações dos resultados disponíveis na literatura, como relatado anteriormente na presente pesquisa, que foi realizada no estado de São Paulo. É imprescindível que cada país ou região tenha suas próprias informações epidemiológicas, visando a tomada de decisões para elaboração de estratégias que melhor atendam a necessidade de cada realidade, visando a qualidade de vida das gestantes e de seus conceitos.

É importante destacar a suscetibilidade das pacientes de IgG e IgM não reagentes de 22,1% em nosso meio, considerando-as suscetíveis à infecção por *T. gondii* (CÂMARA et al., 2015). No presente estudo foram encontradas 71,6% gestantes não reagentes ao *T. gondii*, discordando de Câmara et al (2015), e de Nascimento et al (2017), e de Rouatbi et al (2019) e de Rostami et al (2020). Tal observação é preocupante em relação ao possível risco da toxoplasmose congênita na região estudada.

Acredita-se, que o resultado obtido no presente estudo deve-se ao papel da UNESP de Botucatu, na orientação da população em relação a doenças de maneira geral, por meio da realização de projetos sociais no município.

Os resultados referentes a MAD não foram encontrados em literatura atual em relação a humanos não sendo possível comparações. Sugere-se estudos futuros com a utilização desta técnica, em humanos, uma vez que foi bem estudada em animais de diferentes espécies (SILVA et al., 2002). Salientando-se, que os resultados encontrados na avaliação de concordância foram interessantes. Considerando-se o baixo custo, e não ser necessária a utilização de equipamentos sofisticados como microscópio de imunofluorescência, além da elevada sensibilidade e especificidade da técnica de acordo com Fulton e Turk (1960) e Silva et al (2002), é uma ferramenta que pode ser recomendada no diagnóstico de toxoplasmose em algumas situações. Sugerem-se a sua utilização como método de triagem.

Em relação aos dados epidemiológicos, como o presente estudo utilizou o método de análise de prontuário, não foi possível avaliar outras variáveis

como, por exemplo, contato com animais e hábitos alimentares, pois essas informações não constavam nos prontuários. Quanto às variáveis epidemiológicas, com relação à idade e o estudo de Varella et al (2003), revelou uma tendência linear de aumento na proporção de soropositividade com o aumento da idade da gestante, discordando do presente estudo. Entretanto, em relação a variante raça, cor, ambos os estudos concordam que não houve diferença entre essas variáveis.

Ressalta-se, ainda que toxoplasmose associada à gestação é de grande importância para a saúde pública, devido à sua prevalência, e gravidade dos casos congênitos, e que o conhecimento do perfil epidemiológico e sorológico da gestante possibilita a tomada de medidas terapêuticas para minimizar a transmissão vertical, na vigência de infecção aguda.

É importante realizar o diagnóstico precoce dessa infecção, pela realização de inquéritos sorológicos, mesmo na ausência de sinais e sintomas sugestivos de toxoplasmose. Ressalta-se ainda que com o diagnóstico precoce no pré-natal pode se evitar a transmissão fetal além de reduzir as complicações na transmissão congênita, como as neurológicas e oftalmológicas, além do aborto.

CONCLUSÃO

7 Conclusão

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, foi possível concluir que:

- 1- Os títulos sorológicos encontrados nas gestantes foram: 16, 64, 256 e 1024.
- 2- Ocorreu concordância do teste de avidéz com os perfis sorológicos da toxoplasmosse identificada pela QL. Para IgM foi fraca no método de Spearman e no de Kappa foi razoável. Para IgG foi forte no método de Pearson e moderada no de Kappa.
- 3- Concordância do teste MAD com a QL foi forte, e do MAD com RIFI foi quase perfeita no método Kappa, nas duas situações.
- 4- Os resultados, da técnica MAD, encontrados na avaliação de concordância foram interessantes para a prevalência da parasitose.

REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agresti, A. *Categorical data analysis*. John Wiley & Sons: Nova Iorque, 1990.

Ahmed, M.; Sood, A.; Gupta, J. **Toxoplasmosis in Pregnancy**. European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology n.255, p. 44–50, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2020.10.003>.

Almeida, M. J.; Oliveira, L. H. H.; Freire, R. L.; Navarro, I. T. **Aspectos sociopolíticos da epidemia de toxoplasmose em Santa Isabel do Ivaí (PR)**. Revista Ciência & Saúde Coletiva. v.16, n.1, p.1363-1373, 2011.

Alvarado-Esquivel, C.; Torres-Castorena, A.; Liesenfeld, O.; García-López, C.R.; Estrada-Martinez, S.; Sifuentes-Avarezi, A. **Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in rural Durango, México**. J Parasitol. V.95, n.2, p. 271-4, 2009.

Amendoeira, M. R. R.; Camillo-Coura, L. F. **Uma breve revisão sobre toxoplasmose na gestação**. Scientia Medica, Porto Alegre, v. 20, n. 1, p. 113-119, 2010.

Andrade, G. M. Q.; et al. **Toxoplasmose congênita em filho de mãe cronicamente infectada com reativação de retinocoroidite na gestação**. Jornal de Pediatria. v. 86, n. 1, p. 85-88, 2010.

Azevedo Filho, P. C. G.; Ribeiro-Andrade, M.; Santos, J. F.; Reis, A. C.; Valença, S. R. F. A.; Fernandes, E. F. T. S.; Junior, J. W. P.; Mota, R. A. **Serological survey and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in cattle from Amazonas, Brazil**. Preventive Veterinary Medicine. v.176, p.104-106, 2020. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.104885>

Barbosa, I.R. **Estudo Epidemiológico da Toxoplasmose em gestantes atendidas na maternidade escola Januário Cicco, Natal, Rio Grande do Norte.** Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2008.

Batet, C.M.; Llobet, C.G.; Morros, T.J.; Domenech, L.V.; Soler, M.S.; Sala, I.S.; et al. **Toxoplasmosis y embarazo. Estudio multicéntrico realizado en 16.362 gestantes de Barcelona.** Med Clin.v.123, n.1, p.12-6, 2004.

Bártova, E.; Lukášová, R.; Vodicka, R.; Váhala, J.; Pavlacik, L.; Budikova, M. **Epizootiological study on *Toxoplasma gondii* in zoo animals in the Czech Republic.** Acta Trop, v.187, p. 222-228, 2018.

Beck, S.; Konopka, C.K.; Silva, A.K.; Diehk F.P. **Importância do rastreamento sorológico da toxosorológico com gestantes atendidas em ambulatório de pré-natal de alto risco.** Revista Saúde. v.36, n.1, p.29-36, 2013.

Bichara, C.C.; Andrade, G.M.Q.; Lago, E.G. Toxoplasmose Congênita. In: Souza, W.; Belfort, Jr., R., **comp. *Toxoplasmose & Toxoplasma gondii*** [online]. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, p.137-155, 2014. ISBN: 978-85-7541-571-9. <https://doi.org/10.7476/9788575415719.0012>.

Brasil. **Ministério da Saúde:** Portaria nº 204, de 17 de Fevereiro de 2016. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2016/prt0204_17_02_2016.html>. Acesso em 27. Nov. 2021.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Protocolo de Notificação e Investigação: Toxoplasmose gestacional e congênita [recurso eletrônico]/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de**

Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2018.
Disponível em: < https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_notificacao_investigacao_toxoplasmose_gestacional_congenita.pdf>.

Breganó, R. M; Mori, F. M. R. L; Navarro, I. T. **Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas.** EDUEL, Londrina. v. 62. n. 1. 2010

Bresciani, K.D.S.; Galvão, A.L.B.; Vasconcellos, A.L.; Santos, R.R.; Neto, L.S.; et al. **Toxoplasmosis in Public Health. Toxoplasma Gondii – Prevalence in Humans and Animals, Genetic Structure and Role in Disease Distribution.** Nova Biomedical Chapter, v.8, 2013.

Câmara, J. T.; Silva, M. G.; Castro, A. M. **Prevalência de toxoplasmose em gestantes atendidas em dois centros de referência em uma cidade do Nordeste, Brasil.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. v. 37, n. 2, p. 64-70, 2015.

Camargo, M. E. **Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis.** Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. v. 6, p.117-118, 1964.

Capobianco JD, Mitsuka-Breganó R, Navarro IT, Rezende Neto CP, Casella AM, Lopes-Mori FM, et al. **Congenital toxoplasmosis in a reference center of Paraná, Southern Brazil.** Braz J Infect Dis. 2014;18:364-71.

Capobianco, J. D.; Monica, T. C.; Ferreira, F. P.; Bregano, R. M.; Navarro, I. T.; Garcia, J. L.; Reiche, E. M. V. **Avaliação do método *Western Blotting* para**

diagnóstico de toxoplasmose congênita. J. Pediatr. Rio Janeiro. v.92, n.6, 2016.

Capobianco, J. D.; Monica, T. C.; Ferreira, F. P.; Bregano, R. M.; Navarro, I. T.; Garcia, J. L.; Reiche, E. M. V. **Evaluation of the Western blotting method for the diagnosis of congenital toxoplasmosis.** Jornal de Pediatria. v. 92, n. 6, p. 616-623, 2016.

Chaudhry, S.A.; Gad, N.; Koren, G. **Toxoplasmosis and pregnancy.** Can Fam Physician, v. 60, n. 4, p. 334-336, 2014. PMID: 24733322; PMCID: PMC4046541.

Silva, Rodrigo Costa; LANGONI, Helio . **Toxoplasma gondii: host-parasite interaction and behavior manipulation.** Parasitology Research, v. 105, p. 893-898, 2009.

Delgado, E.B.; Hamid, B.; Fabian, B.T.; Klotz, C.; Hartmann, S.; Seeber, F. **From Entry to Early Dissemination—Toxoplasma gondii's Initial Encounter With Its Host.** Front. Cell. Infect. Microbiol. v.9, p.46, 2019. doi: 10.3389/fcimb.2019.00046

De Camps, S.; Dubey, J.P.; Saville, W.J.A. **Seroepidemiology of Toxoplasma gondii in zoo animals in selected zoos in the midwestern United States.** J Parasitol, v.94, n.3, p. 648-653, 2008. <http://dx.doi.org/10.1645/GE-1453.1> PMID:18605803.» <http://dx.doi.org/10.1645/GE-1453.1>

Dubey, J. P. **Distribution of cysts and tachyzoites in calves and pregnant cows inoculated with toxoplasma gondii oocysts.** Veterinary Parasitology, v.13, n.3, p.199–211, 1983. doi:10.1016/0304-4017(83)90057-2.

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

Dubey, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans**. 2 Ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.

Dubey, J.P.; Lago, E.G.; Gennari, S.M.; Su, C.; Jones, J.L. **Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology**. Parasitology, v.139, n.11, p.1375-424, 2012.

Dubey, J. P.; Murata, F. H. A.; Cerqueira-Cezar, C. K.; Kwok, O. C. H.; Yang, Y.; Su, C. **Toxoplasma gondii infections in dogs: 2009-2020**. Veterinary Parasitology. 2020a. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109223>

Dubey, J. P.; Cerqueira-Cezar, C. K.; Murata, F. H. A.; Kwok, O. C. H.; Hill, D.; Yang, Y. R.; Su, C. **All about Toxoplasma gondii infections in pigs: the past decade**. Veterinary Parasitology. 2020b. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109185>

Dubey, J.P.; Murata, F.H.A.; Cerqueira-Cézar, C.K.; Kwok, O.C.H. **Toxoplasma gondii infections in horses, donkeys, and other equids: the last decade**. Research in Veterinary Science, v.132, p. 492–499, 2020c.

Figueiró-Filho, E. A.; Lopes, A. H. A.; Senefonte, F. R. A.; Souza, V. G. **Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. v. 27, n. 8, p. 442-9, 2005.

Flatt, A.; Shetty, N. **Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis among antenatal women in London: a re-examination of risk in an ethnically diverse population.** Eur J Public Health, v. 23, n.4, p. 648-52, 2013.

Fonseca, Z. C.; Rodrigues, I. M. X.; Melo, N. C.; Castro, A. M.P.; Avelino, M.M. **Importância do Teste de Avidéz.** Revista de Patologia Tropical. v. 45, n.1, 42-54, 2016.

Frenkel, J. K.; Dubey, J. P.; Miller, N. L. ***Toxoplasma gondii* in cats: Fecal stages identified as coccidian oocysts.** Science, v. 167, n. 919, p. 893-896, 1970.

Freyre, A. **Toxoplasmosis en las especies domesticas y como zoonosis.** Montevideo: Departamento de Publicaciones de la Universidad de la Republica do Uruguay. 332p, 1989.

Gennari, S.M.; Ogrewalska, M.H.; Soares, H.S.; Saraiva, D.G.; Pinter, A.; Nierli-Bastos, F.A. ***Toxoplasma gondii* antibodies in wild rodents and marsupials from the Atlantic Forest, state of São Paulo, Brazil.** Rev Bras Parasitol Vet, v.24, n.3, p. 379-382, 2015. <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015045PMid:26444068>.» <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015045>

Gilot-Fromont, E.; Lélou, M.; Dardé, M. L.; Richomme, C.; Aubert, D.; Afonso, E.; Mercier, A.; Gotteland, C.; Villena, I. **The life cycle of *Toxoplasma gondii* in the natural environment.** In: Djurkovic-Djakovic, O. (Ed.). *Toxoplasmosis – Recent Advances.* Rijeka: InTech, 2012.

Hulley, S.B.; Cummings, S. R.; Browner, W. S.; Grady, D. G.; Newman, T. B. **Designing clinical research: an epidemiologic approach.** PA: Lippincott Williams & Wilkins, v.4, n.6, p. 79, 2013.

Gomes, D. F. C.; Mendes, L. A.; Dias, J. M.; Ribeiro-Andrade, M.; De Oliveira, P. R. F.; Mota, R. A.; Arnhold, E.; Fioravanti, M. C. S.; Oliveira, C. H. S. **Seroprevalence, spatial distribution and risk factors associated with *Toxoplasma gondii* infection among cattle in a quilombola community in the Brazilian cerrado.** Brazilian Journal of Veterinary Parasitology, v.30, n.1, p. 18720, 2021. Doi: <https://doi.org/10.1590/S1984-296120201080>

Kodym, P.; MalyA, M.; Beran, O.; Jilich, D.; Rozsypal, H.; Machala, L.; Holub, M. **Incidence, immulogical and clinical characteristic of reactivation of latent *Toxoplasma gondii* infection in HIV-infected patients.** Epidemiol. Infect, v.143, n.3, p.600-607, 2015.

Koethe, M.; Schade, C.; Fehlhaber, K.; Ludewig, M. **Survival of *Toxoplasma gondii* tachyzoites in simulated gastric fluid and cow'smilk.** Veterinary Parasitology. 15; 233: 111-114. 2017. Doi: 10.1016/j.vetpar.2016.12.010

Lago, E. G.; Oliveira, A. P.; Bender, A. L. **Presence and duration of anti-Toxoplasma gondii immunoglobulin M in infants with congenital toxoplasmosis.** Jornal de Pediatria. v.90, n.4, p.363-369, 2014.

Landis, J.R., Koch, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*, v.33, n.1, p.159-174, 1977. <https://doi.org/10.2307/2529310>.

Leão, P. R. D.; Meirelles-Filho, J.; Medeiros, S. F. **Toxoplasmose: soroprevalência em puérperas atendidas pelo Sistema único de Saúde.** Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. v. 26, n. 8, p. 75-84, 2004.

Lecher, S.; Williams, J.; Fonjungo, P.N.; Kim, A. A.; Ellenberger, D.; Zhang, D. **Progress with Scale-Up of HIV Viral Load Monitoring — Seven Sub-Saharan**

African Countries, January 2015–June 2016. Morbidity Mortality Week Rep, v.65, n.47, p. 1332-1335, 2016.

Maldonado, Y. A. Read, J. S. **Diagnosis, Treatment, and Prevention of Congenital Toxoplasmosis in the United States.** Pediatrics. Clin Infect Dis., v. 139, n. 2, 2017.

Marques, B. A. **Revisão sistemática dos métodos sorológicos utilizados em gestantes nos programas de triagem diagnóstica pré-natal da toxoplasmose.** Rev Med Minas Gerais; v.25, n.6, p.68-S81. 2015.

Mcleod, R.; Boyer, K.; Karrison, T.; Kasza, K.; Swisher, C.; Roizen, N.; Jalbrzikowski, J.; Remington, J.; Heydemann, P.; Noble, A. G.; Mets, M.; Holfels, E.; Withers, S.; Latkany, P.; Meier, P. **Toxoplasmosis Study Group. Outcome of treatment for congenital toxoplasmosis, 1981-2004: the National Collaborative Chicago-Based, Congenital Toxoplasmosis Study.** Clin Infect Dis. v. 42, n. 10, p. 1383, 2006.

Miller, N. L.; Frenkel, J. K.; Dubey, J. P. **Oral infections with Toxoplasma cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds.** Journal of Parasitology, v. 58, n. 5, p. 928-937. 1972.

Montoya, M. D.; Rosso, M. D. **Diagnosis and Management of Toxoplasmosis.** Clinics in Perinatology. v. 32, p. 705 – 726, 2005.

Nascimento, T. L.; Pacheco, C. M.; Souza, F. F. **Toxoplasma gondii prevalence in pregnant women attended by the Unified Health System.** Ciência&Saúde v.10, n.2, p.96-101, 2017.

Negri, D.; Cirilo, M.B.; Salvarini, R.S.; Neves, M.F. **Toxoplasmose Em Cães E Gatos**. Revista Científica Eletrônica De Medicina Veterinária – ISSN: 1679-7353. Disponível em http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/Plnrs8cwK0Yc3nV_2013-6-13-15-16-0.pdf.

Nissapator, V.; Suwanrath, C.; Sawngjaroen N., Ling, L.Y.; Chandeying, V. **Toxoplasmosis-serological evidence and associated risk factors among pregnant women in Southern Thailand**. Am J Trop Med Hyg, v.85, n.2, p.243-247, 2011.

Nobuto, K.; Suzuki, K.; Omura, M.; Ishii, S. **Studies on toxoplasmosis in domestic animals**. National Institute of Animal Health, v.40, p.32, 1960.

Oréfice, F.; Filho, R. C.; Barboza, A. L.; Oréfice, J. L.; Calucci, D. **Toxoplasmose ocular adquirida - Toxoplasmose ocular pós-natal**. Revista Brasileira de Oftalmologia, v.69, n.3, p. 184-207, 2010

Oz, H.S. **“Maternal and Congenital Toxoplasmosis, Currently Available and Novel Therapies in Horizon.”** Frontiers in Microbiology, v.5, p. 1–6, 2014. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00385>.

Pelloux, H., E.; Guy., S. E. **A second European collaborative study on polymerase chain reaction for Toxoplasma gondii, involving 15 teams**. FEMS Microbiol Lett, v.165, n.2, p.231-237, 1998.

Pereira, D.A.P.; Maia, B.P.; Seto, I.I.C.; Bichara, C.N.C. **Infecção congênita em pacientes matriculados em programa de referência materno infantil**. Revista Paraense de Medicina, v.19, n.1. 2015.

Peyron, F.; Coralie, L.; Laurent, M.; Martine, W.; Renaud, P.; François, K.; Eve, H.; Luc, P.; Garcia-Meric, P. **“Maternal and Congenital Toxoplasmosis: Diagnosis and Treatment Recommendations of a French Multidisciplinary Working Group.”** Pathogens, v. 8, n.1, p.1–15, 2019. <https://doi.org/10.3390/pathogens8010024>.

Prusa, A.R.; Kasper, D.C.; Pollak, A.; Gleiss, A.; Waldhoert, T.; Hayde, M. **“The Austrian Toxoplasmosis Register, 1992-2008.”** Clinical Infectious Diseases, v.60, n.2, p. 4–10, 2015. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu724>.

Reiche, E. M. V.; Morimoto, K. M.; Farias, G. N.; Hisatsugu, K. R.; Geller, L.; Gomes, A. C. L. F.; Inoue, H. Y.; Gisele Rodrigues, G.; Matsuo, T. **Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil).** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v.33, n.6, 2000.

Remington, J. S.; Thulliez, P.; Montoya, J. G. **Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis.** Journal of Clinical Microbiology. v. 42, p. 941-945, 2004.

Remington JS, McLeod R, Wilson CB, Desmonts G. Toxoplasmosis. Em: Remington JS, Klein JO, Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, editores. **Infectious disease of the fetus and newborn infant.** Philadelphia: Elsevier Saunders. v.7, p. 918-1041, 2011.

Rostami, A.; Riahi, S.M.; Gamble, H.R.; Fakhri, Y.; Shiadeh, M.N.; Danesh, M.; et al. **Global prevalence of latent toxoplasmosis in pregnant women: a systematic review and meta-analysis**. Clinical Microbiology and Infection, 2020.

Rouatbi, M.; Amairia, S.; Amdouni, Y.; Boussadoun, M.A.; Ayadi, O.; Al-Hosary, A.A.T.; et al. **Toxoplasma gondii infection and toxoplasmosis in North Africa: a review**. Parasite, v. 26, p.6, 2019.

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

Santos, T. R.; Maia, M. O.; Gomes, J. F.; Suzuki, C. T. N.; Costa, A. J.; Bresciani, K. D. S. **Congenital Toxoplasmosis In Cattle**. Congenital Toxoplasmosis Human and Domestic Animals, p.122-129, 2016.

Sartori, A. L.; Minamisava, R.; Avelino, M. M.; Martins, C. A. **Triagem pré-natal para toxoplasmose e fatores associados à soropositividade de gestantes em Goiânia, Goiás**. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia. v .33, n. 2, p.93-98, 2011.

Silva, A. V.; Cutolo, A. A.; Langoni, H. **Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-Toxoplasma em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos**. Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo, v. 69, n. 1, p. 7-11, 2002.

Silva, A.; Boareto, H.; Isbrecht, F. B.; Silva, R. C.; Langoni, H. **Ocorrência de anticorpos antiToxoplasma gondii em suínos da região Oeste do Paraná, Brasil.** Veterinária e Zootecnia, v. 15, n. 2, p. 263-266, 2008.

Silva, R.C.; Silva, A.V. **Toxoplasmose em animais domésticos. Doenças infecciosas em animais de produção e companhia.** Rio de Janeiro: Roca, p.1040-1053, 2016.

Simões, L.; Favaron, P. O.; Anunciação, A. R. A.; Miglino, M. A. **Toxoplasma gondii and pregnancy: toxoplasmosis characteristics, clinical signs, diagnosis and the importance of the disease in public health – review.** Revista Científica De Medicina Veterinária. ISSN:1679-7353. 2015.

Soares, J.A.S.; Násser, L.S.; Guimarães-Carvalho, S.F.G.; Caldeira A.P. **Ocular Findings in Children with Congenital Toxoplasmosis.** Arquivos Brasileiros de Oftalmologia, v.74, n.4, p. 255–57, 2011. <https://doi.org/10.1590/s0004-27492011000400005>.

Souza, C. O.; Tashima, N. T.; Silva, M. A.; Tumitan, A. R. P. **Estudo transversal de toxoplasmose em alunas de um curso superior da região de Presidente Prudente, Estado de São Paulo.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v.43, n.1, 2010.

Souza, W. D. E.; Belfort, J. R. R. **Toxoplasmose e Toxoplasma gondii / Toxoplasmosis and Toxoplasma gondii.** Editora Fiocruz, 2014.

Teimouri, A.; Mohtasebi, S.; Kazemirad, E.; Keshavarz, H. **“Role of Toxoplasma Gondii IgG Avidity Testing in Discriminating between Acute and Chronic**

Toxoplasmosis in Pregnancy.” *Journal of Clinical Microbiology*, v.58, n.9, p. 1–13, 2020. <https://doi.org/10.1128/JCM.00505-20>.

Tialla, D.; Dahourou, L.D.; Gbati, O.B. **Seroprevalence and factors associated with bovine and swine toxoplasmosis in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.** *Veterinary World*, v.12, n.10, p.1519-1523, 2019. doi: 10.14202/vet-world.2019.1519-1523.

Varella, I. S.; Wagner, M. B.; Darella, A. C.; Nunes, L. M.; Muller, R. W. **Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestantes.** *Jornal de Pediatria*. v. 79, n. 1, 2003.

Vaz, R. S.; Rauli, P.; Mello, R. G.; Cardoso, M. A. **Toxoplasmose Congênita: Uma Doença Negligenciada? Atual política de saúde pública brasileira.** *Field Actions Science Reports*. Special Issue v.3, 2011.

Vidigal, P. V. T.; Santos, D. V. V.; Castro, F. C.; Couto, J. C. F.; Vitor, R. W.A. ; Filho, G. B. **Prenatal toxoplasmosis diagnosis from amniotic fluid by PCR.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 35, n. 1, p. 1-6, 2002.

Walcher, D. L.; Comparsi, B.; Pedroso, D. **Toxoplasmose gestacional: uma revisão.** *Revista RBAC*, v. 49, n.4, 2016. DOI: 10.21877/2448-3877.201600273

Wallon, M.; Peyron, F.; Cornu, C.; Vinault, S.; Abrahamowicz, M.; Bonithon, K.O.P.P.C.; Biquet C. **“Congenital Toxoplasma Infection: Monthly Prenatal Screening Decreases Transmission Rate and Improves Clinical Outcome at Age 3 Years.”** *Clinical Infectious Diseases*, v.56, n.9, p.1223–31, 2013. <https://doi.org/10.1093/cid/cit032>.

Weiss, L. M.; Dubey, J. **Toxoplasmosis: a history of clinical observations.**
International. Journal for Parasitology, v.39, n.8, p.895–901, 2009.
doi:10.1016/j.ijpara.2009.02.004
