

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

TAIS PIRES TERRA ARAÚJO

**RASTREAMENTO PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM RECÉM-
NASCIDOS DO ESTADO DE GOIÁS**

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Marília Dalva Turchi

Dissertação de Mestrado

Goiânia-GO, 2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

TAIS PIRES TERRA ARAÚJO

**RASTREAMENTO PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM RECÉM-
NASCIDOS DO ESTADO DE GOIÁS**

Orientadora:
Dr^a. Marília Dalva Turchi

Dissertação submetida ao PPGMT/UFG como
requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre,
na área de concentração de Epidemiologia.

Goiânia-GO, 2006

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(GPT/BC/UFG)

Araújo, Tais Pires Terra.
A658e Rastreamento para toxoplasmose congênita em recém-nascidos do estado de Goiás / Tais Pires Terra Araújo. - Goiânia, 2006.
69 f. : il., figs., tabs.

Orientadora: Marília Dalva Turchi.

Dissertação (Mestrado) –Universidade Federal de Goiás, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, 2006.

Bibliografia: f.60-62.
Inclui listas de figuras, tabelas.
Anexos.

1. Toxoplasmose 2. Toxoplasmose congênita – Recém-nascido – Goiás(Estado) 3. Toxoplasmose congênita –Rastreamento – Goiás(Estado) I.Turchi, Marília Dalva II. Universidade Federal de Goiás. Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública. III .Título.

CDU: 616.99-053.31

AGRADECIMENTOS

Á Deus, força suprema, agradeço as oportunidades que me foram concedidas.

Á minha orientadora Prof^a. Dr^a. Marília Dalva Turchi pelo grande ensinamento, disponibilidade e colaboração, fatores que foram essenciais para a concretização desta dissertação e realização de mais esta etapa na minha jornada acadêmica.

Ás professoras Dr^{as}. Ana Maria de Castro, Celina Maria Turchi Martelli, Marisa Martins Avelino e Rita Goreti do Amaral pela leitura cuidadosa e sugestões apresentadas no exame de qualificação e na defesa da dissertação.

Aos meus pais, Hamilton Rios de Araújo e Ilda Pires Terra Araújo que são para mim grande exemplo de estudo e trabalho, agradeço pelo apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida.

Ao meu esposo, José Divino Martins Gouveia, eterno amigo pela compreensão e apoio me ofertado em todos os momentos em que necessitei de sua colaboração.

Aos meus irmãos, Tatiana Pires Terra Araújo e Hamilton Rios de Araújo Júnior, e todos os familiares pela torcida pelo sucesso desse trabalho, e pela compreensão em diversos momentos em que foram privados de atenção e cuidados em benefício da realização deste projeto.

Á direção da APAE Anápolis, na ocasião representada pelo diretor Dr. João Amélio da Silva Júnior, pela oportunidade e apoio na realização deste trabalho.

À Dr^a. Eliane Pereira dos Santos, Coordenadora da Triagem Neonatal do Estado de Goiás, e grande amiga que teve uma contribuição essencial na realização deste trabalho.

Á equipe do Laboratório da APAE Anápolis, em especial meus grandes amigos: Fernanda Lopes Brito Garcia, Flaviane Marcília Pedattela, Maurício Carvalho Suzana,

Eduardo Itacarambi, Valéria Moreno, Patrícia Branquinho pela amizade, apoio, paciência e contribuição prestada sempre que solicitada.

Ao Dr. Marcelo Cecílio Daher, médico infectologista do Serviço de Saúde Municipal de Anápolis, pelo atendimento dos lactentes infectados e colaboração prestada durante a realização do trabalho.

Ao corpo docente e servidores técnico-administrativos do IPTSP pelos ensinamentos e colaboração prestada.

A todos que direta ou indiretamente colaboraram para o êxito do trabalho realizado.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar... as facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito.”

Chico Xavier

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO

FIGURA 1: Ciclo biológico do *T. gondii* e suas formas de transmissão 15

FIGURA 2: Risco de infecção congênita de acordo com o período gestacional..... 17

ARTIGO

FIGURA 1: Triagem para toxoplasmose congênita nos recém-nascidos inseridos no Programa de Triagem Neonatal do Estado de Goiás..... 63

FIGURA 2: Correlação entre os resultados de triagem neonatal para anticorpos IgM específicos para *T. gondii* por ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunofluorometria por tempo resolvido (TRIFMA) em amostras de 538 recém-nascidos. 64

FIGURA 3: Distribuição espacial por município dos casos de toxoplasmose congênita triados no estado de Goiás 65

LISTA DE TABELAS

REVISÃO

TABELA 1: Manifestações clínicas da toxoplasmose congênita de acordo com o período gestacional de aquisição da infecção.....	17
--	----

ARTIGO

TABELA 1: Distribuição por macrorregião do número de nascidos vivos (SINASC 2004) em Goiás e do número de recém-nascidos triados para toxoplasmose congênita em relação à triagem neonatal na APAE em 2005.	66
--	----

TABELA 2: Informações demográficas, laboratoriais e clínicas dos recém-nascidos com amostras positivas na triagem neonatal (TRIFMA ou ELISA) para toxoplasmose congênita	67
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

APAE – Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais

DO - Densidade ótica

ELFA – Enzyme linked fluorescent assay

ELIFA – Like enzyme-linked immunofiltration assay

ELISA – Ensaio imunoenzimático

FEIA – Ensaio imunofluorimétrico

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFI – Imunofluorescência indireta

ISAGA – Aglutinação por imunoabsorção

PCR – Reação em cadeia da polimerase

RN – Recém-nascido

SINASC – Sistema de Informações de Nascidos Vivos

TRIFMA – Imunofluorometria por tempo resolvido

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	i
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS	v
SUMÁRIO	vi
APRESENTAÇÃO.....	8
Referências bibliográficas	10
REVISÃO	12
1. Agente etiológico e ciclo biológico	12
2. Aspectos clínicos e epidemiológicos	15
2.1 Toxoplasmose adquirida em hospedeiro imunocompetente	18
2.2 Toxoplasmose congênita.....	20
3. Triagem para toxoplasmose congênita	22
3.1 Triagem pré-natal	23
3.2 Triagem neonatal.....	25
4. Diagnóstico clínico e laboratorial	29
4.1 Exames específicos diretos	30
4.2 Exames específicos indiretos	31
5. Prevenção primária e tratamento.....	35
6. Referências bibliográficas	37
ARTIGO: Rastreamento para toxoplasmose congênita em recém-nascidos do Estado de Goiás	44
Resumo.....	45

Summary	46
Introdução	47
Materiais e métodos.....	50
Área e população de estudo.....	50
Triagem neonatal	50
Confirmação laboratorial.....	52
Acompanhamento clínico.....	53
Processamento e análise de dados.....	53
Considerações éticas.....	54
Resultados	55
Discussão	56
Agradecimentos	59
Referências bibliográficas	60
CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES	68
ANEXOS	70

APRESENTAÇÃO

A toxoplasmose congênita não é uma doença de notificação compulsória e a sua frequência tem sido estimada através de estudos de triagem pré-natal ou neonatal, com utilização de diversos testes laboratoriais e/ou critérios clínicos, nem sempre comparáveis (Petersen et al, 2001). Estimativas de prevalência variam desde um caso por 10.000 nascidos vivos em algumas regiões da Europa e dos Estados Unidos até valores cerca de 10 vezes maiores na França e no Brasil (Neto et al, 2000; Gilbert & Peckham, 2002; Mozzatto & Procianoy, 2003; Signorell et al, 2006).

São controversos os resultados das avaliações sobre a eficácia da triagem para toxoplasmose, em diferentes cenários epidemiológicos. Revisão sistemática, publicada no final da década de 90, não foi conclusiva sobre a eficácia do tratamento de gestantes infectadas na redução do risco de transmissão congênita ou na redução dos danos fetais (Wallon et al, 1999). Alguns países com baixa prevalência de toxoplasmose congênita, como por exemplo, os Estados Unidos e o Reino Unido consideram que a triagem pré-natal não é custo-efetivo. Porém, outros países, também com baixa prevalência, como por exemplo, a Dinamarca e Suíça, incluíram a triagem neonatal obrigatória na rotina dos serviços de saúde, na última década.

No Brasil, não existe recomendação oficial de triagem para toxoplasmose congênita. Estudos conduzidos em diferentes regiões brasileiras indicam prevalências elevadas, variando de 0,3 até 6,6 casos por 1.000 nascidos vivos (Neto et al, 2000; Petersen et al, 2001; Mozzatto & Procianoy, 2003; Carvalheiro et al, 2005; Lago, 2006; Rodrigues, 2006). Embora a eficácia do tratamento não tenha sido adequadamente comprovada, este provavelmente não seja um argumento suficiente para não fazer triagem para toxoplasmose em regiões de alta prevalência. Pressupõe-se que a triagem pré-natal

seja freqüentemente realizada, porém de forma não sistemática em vários serviços de saúde, no Brasil.

Estudo realizado na região metropolitana de Goiânia, no final da década de 90, detectou uma elevada freqüência de infecção aguda por *T. gondii* em gestantes (Avelino et al, 2003), indicando um cenário de alto risco para toxoplasmose congênita. Em Goiás, triagem para toxoplasmose foi incluída de forma sistemática e gratuita para as gestantes da rede pública, a partir de 2003. Os exames são realizados pelo Instituto de Diagnóstico e Prevenção (IDP) da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (Apae) de Goiânia (SES, 2005). Avaliações sobre a magnitude da toxoplasmose congênita e o impacto da recente implantação da triagem pré-natal compulsória das gestantes em Goiás, ainda não estão disponíveis.

A triagem neonatal para toxoplasmose foi incluída na rotina de programa de triagem para doenças genéticas, em estudo de abrangência nacional conduzido em Porto Alegre. Foi evidenciada uma elevada prevalência de toxoplasmose congênita, com a detecção de um caso para cada três mil recém-nascidos. Essa estratégia mostrou ser operacionalmente prática, possibilitando identificar e tratar precocemente neonatos infectados (Neto et al, 2000).

Em Goiás, o Programa de Triagem Neonatal para doenças genéticas (hemoglobinopatias, fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, hiperplasia adrenal congênita) em papel filtro, foi implantado em 1994. Este programa apresenta ampla cobertura nos municípios do Estado. A triagem para toxoplasmose, em um programa de triagem neonatal, já bem estabelecido e com ampla cobertura regional, possibilitaria estimar a magnitude dessa infecção de forma rápida e logística simplificada.

A experiência do programa de triagem neonatal para doenças genéticas nos

incentiva a pesquisar o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose e sua prevalência em recém-nascidos rastreados pelo Serviço de Referência em Triagem Neonatal – Laboratório da APAE Anápolis em parceria com o Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

A pesquisa intitulada Rastreamento para Toxoplasmose Congênita em Recém Nascidos do Estado de Goiás tem como objetivo estimar a prevalência de toxoplasmose congênita no Estado de Goiás, utilizando como estratégia de diagnóstico a triagem neonatal.

A presente dissertação de mestrado é apresentada em duas partes. A primeira, denominada REVISÃO, aborda aspectos relevantes da infecção pelo *T. gondii* e triagem laboratorial. A segunda parte é apresentada na forma de ARTIGO CIENTÍFICO, intitulado: Rastreamento para Toxoplasmose Congênita em Recém-nascidos do Estado de Goiás.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

Avelino MM, Campos D, Jr., do Carmo Barbosa de Parada J, de Castro AM 2003. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 108: 19-24.

Carvalho CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, De Souza CB, Maciel LM 2005. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect* 133: 485-491.

Gilbert RE, Peckham CS 2002. Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen? *J Med Screen* 9: 135-141.

Lago EG 2006. *Estratégias de controle da toxoplasmose congênita: 1) Triagem neonatal para toxoplasmose em 10.000 recém-nascidos atendidos na rede pública de saúde de Porto Alegre. 2) Sorologia para Toxoplasma gondii na gestação e no momento do parto em 2.513 pacientes consecutivas e avaliação dos recém-nascidos com risco de toxoplasmose congênita.* Doutorado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul: Porto Alegre. 168 pp.

Mozzatto L, Procianoy RS 2003. Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil: a prospective study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 45: 147-151.

Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Schulte J, Becker D, Tuuminen T 2000. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol* 29: 941-947.

Petersen E, Pollak A, Reiter-Owona I 2001. Recent trends in research on congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 31: 115-144.

Rodrigues IMX 2006. *Diagnóstico pós-natal da toxoplasmose congênita através da detecção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA anti-Toxoplasma gondii.* Mestrado. Universidade Federal de Goiás: Goiânia. 114 p.

SES, Secretaria de Estado da Saúde de Goiás. O que é o teste da mamãe. Triagem - A revista no programa de proteção à gestante: Ano IV nº IX p. 2005.

Signorell LM, Seitz D, Merkel S, Berger R, Rudin C 2006. Cord blood screening for congenital toxoplasmosis in northwestern Switzerland, 1982-1999. *Pediatr Infect Dis J* 25: 123-128.

Wallon M, Liou C, Garner P, Peyron F 1999. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. *BMJ* 318: 1511-1514.

REVISÃO

1. Agente etiológico e ciclo biológico

A toxoplasmose é uma antropozoonose causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* - protozoário intracelular do filo Apicomplexa, pertencente à família *Sarcocystidae*, da classe *Sporozoa*, subclasse *Coccidia*. O *T. gondii* consiste de três linhagens clonais designadas I, II e III as quais diferem em virulência e em padrões epidemiológicos de ocorrência (Montoya & Liesenfeld, 2004).

A infecção pelo *T. gondii* é, na grande maioria das vezes, assintomática ou oligossintomática em indivíduos normocompetentes. Entretanto, quando a infecção ocorre durante a gravidez, pode haver transmissão congênita do *T. gondii*, acarretando principalmente seqüelas oculares e neurológicas para o recém-nascido (Lopez et al, 2000; Montoya & Liesenfeld, 2004). O conhecimento a respeito do ciclo do *T. gondii* pelos profissionais da saúde é importante para saber como orientar as gestantes sobre os riscos de infecção primária por toxoplasmose (Kravetz & Federman, 2005).

O *T. gondii* se apresenta de três formas no seu ciclo de vida: oocisto, bradizoíto e taquizoíto. O oocisto é produto de reprodução sexuada, produzido nas células intestinais dos felídeos não imunes e previamente expostos a alimentos infectados; são eliminados não esporulados junto com as fezes aproximadamente duas semanas após a primeira exposição a alimentos contaminados (Markell et al, 1999). São esféricos, medindo cerca de 12,5 x 11 µm e esporulam no meio ambiente onde passam a conter dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítas (Frenkel, 1997). Possuem uma parede

dupla bastante resistente às condições do meio ambiente e resistem à ação do suco gástrico (Kawazoe, 2002).

O bradizoíto, presente no cisto tecidual, é a forma encontrada em vários tecidos, geralmente durante a fase crônica da infecção; os bradizoítos se multiplicam lentamente e são controlados pela resposta imune. Esta forma é mais arredondada e menos suscetível à destruição péptica e tríptica quando comparado com o taquizoíto. Os cistos teciduais desenvolvem dentro do citoplasma da célula hospedeira. O núcleo da célula permanece fora do cisto e pode degenerar após algum tempo. Os cistos crescem e permanecem intracelulares à medida que os bradizoítos dividem-se por endodiogenia. A membrana do vacúolo citoplasmático transforma-se em cápsula do cisto. A parede do cisto tecidual é elástica e resistente, arginofílica, composta por material do parasito e da célula hospedeira (Frenkel, 1997). O tamanho do cisto é variável e depende da célula parasitada e do número de bradizoítos contidas no seu interior. Os cistos mais novos são pequenos com 5 μm e contém dois bradizoítos em seu interior, enquanto os mais velhos podem atingir 200 μm , contendo centenas ou milhares de organismos (Kawazoe, 2002). A forma cística do toxoplasma é mais frequentemente identificada em tecidos musculares esquelético e cardíaco, tecido nervoso e retina. Os cistos teciduais intactos, geralmente, não causam danos ao hospedeiro e podem persistir por toda a vida do indivíduo infectado (Frenkel, 1997; Calvão, 2002).

Os taquizoítos são encontrados durante a fase aguda da infecção durante a fase assexuada; é uma forma móvel de divisão rápida do *T. gondii* antes de uma adequada resposta imune. Os parasitas penetram na célula hospedeira de forma ativa ou por fagocitose e multiplicam-se dentro do vacúolo citoplasmático de várias células. Esta multiplicação destrói a célula hospedeira, mas o aparecimento de lesões irá depender da capacidade de regeneração das células. Essas formas podem ser encontradas nos líquidos

orgânicos, excreções e secreções, células hepáticas, pulmonares, nervosas e musculares. Apresentam-se como forma de meia lua, com uma das extremidades afilada e a outra arredondada, medindo cerca de 4-9 x 2-4 µm, com o núcleo em posição mais ou menos central (Frenkel, 1997; Calvão, 2002).

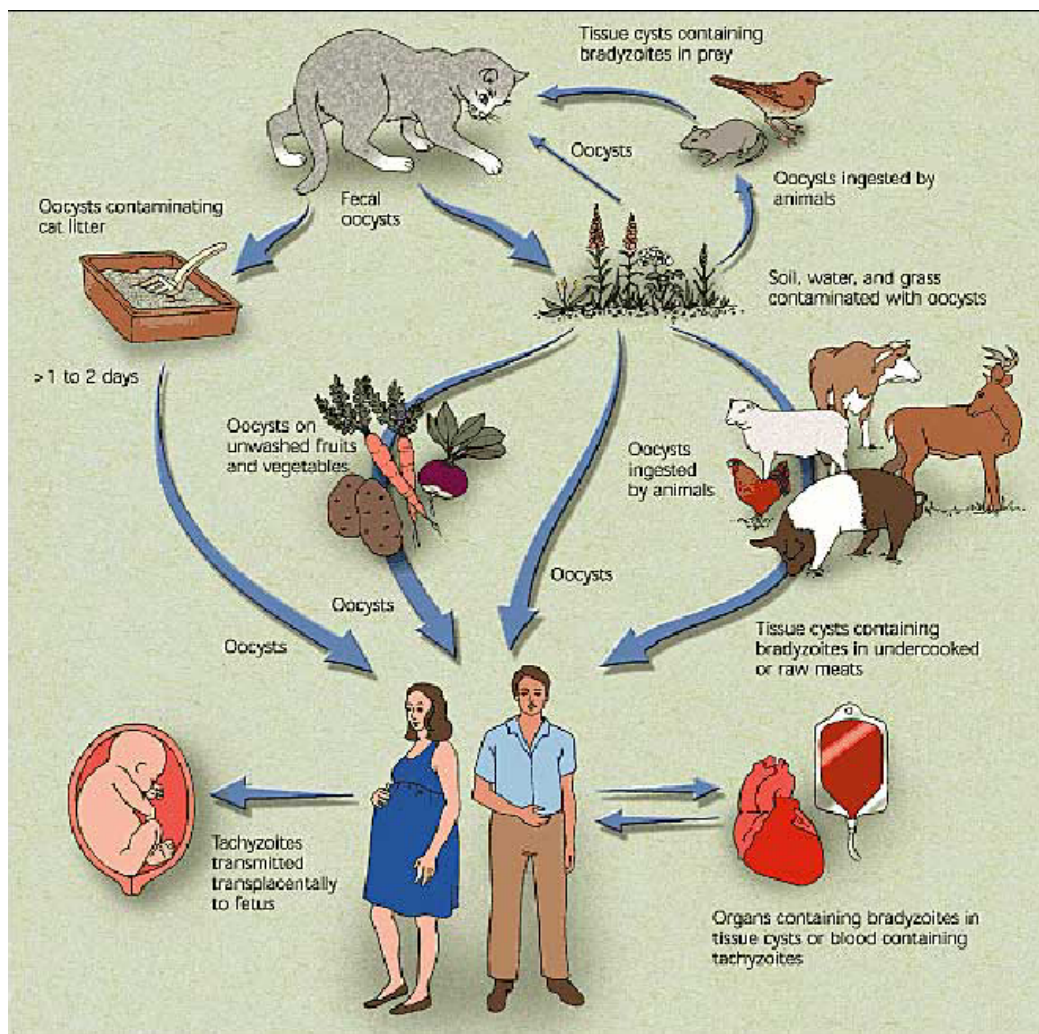
Os hospedeiros definitivos para a forma sexuada do *T. gondii* são os gatos e outros felídeos, os quais são os principais disseminadores da infecção. Os hospedeiros intermediários são os homens e mamíferos não felinos (Kawazoe, 2002).

Felídeos não imunes infectam-se pela ingestão de oocistos, cistos ou taquizoítos, e assim, desenvolvem o ciclo sexual. Essas formas penetram no epitélio intestinal dos felídeos e passam por um processo de multiplicação dando origem a vários merozoítos. O rompimento da célula parasitada libera os merozoítos que penetram em novas células epiteliais e se transformam nas formas sexuadas masculinas e femininas. Após processo de maturação forma-se o ovo ou zigoto, que evolui dentro de epitélio, formando uma parede externa dupla, dando origem ao oocisto. Após alguns dias, a célula epitelial rompe-se liberando o oocisto imaturo. Essa forma, presente nas fezes dos felídeos, alcança o meio externo e, após um período de cerca de quatro dias, amadurece e apresenta dois esporocistos contendo quatro esporozoítos (Kawazoe, 2002).

Um hospedeiro suscetível, por exemplo, o homem ingerindo oocisto, taquizoíto ou cistos contendo bradizoítos na carne crua pode desenvolver a fase assexuada do *T. gondii*. Essas formas sofrem intensa multiplicação e penetram no vacúolo citoplasmático de várias células do organismo. O rompimento das células parasitadas libera novos taquizoítos, que invadem novas células. Essa fase proliferativa caracteriza a fase aguda da infecção, cuja gravidade depende da quantidade de formas infectantes adquiridas, cepa do parasita, e da resistência do hospedeiro. Com

aparecimento da imunidade, os parasitas extracelulares desaparecem do sangue, linfa e órgãos viscerais, e há uma diminuição da multiplicação intracelular. Os parasitas resistentes evoluem para a formação de cisto. Em fase cística, juntamente com a diminuição de sintomas caracteriza a fase crônica (Kawazoe, 2002).

A figura 1 representa o ciclo biológico do *T. gondii* e suas formas de transmissão (Jones et al, 2003).



2. Aspectos clínicos e epidemiológicos

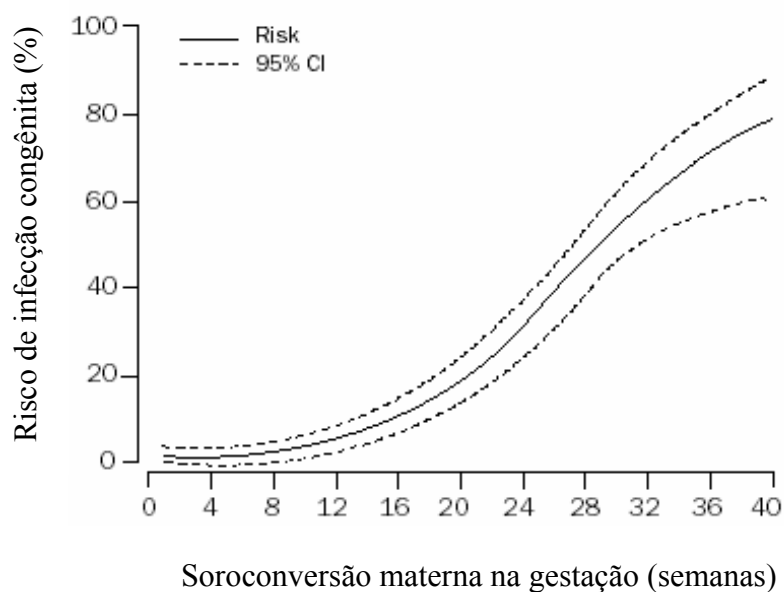
A infecção pelo *T. gondii* pode ser transmitida para o homem pelo consumo de alimentos de origem animal, especialmente de carnes cruas ou mal cozidas contendo

cistos (bradizoítos) do parasita especialmente na carne de porco e carneiro ou pela ingestão inadvertida de oocistos eliminados pelas fezes de gatos ou de outros felídeos na água ou no solo (Camargo, 2001; Kawazoe, 2002). A via oral é a principal rota de infecção pelo *T. gondii* e vários surtos de toxoplasmose, em humanos, foram relacionados com a ingestão de água ou alimentos (Bowie et al, 1997; Bahia-Oliveira et al, 2003; Moura et al, 2006).

No final de 2005 ocorreu um surto de toxoplasmose em Anapólis e Goiânia, no Estado de Goiás. O principal fator de risco para aquisição da infecção foi a ingestão de alimentos à base de carne, servidos em duas festas de confraternização no final de ano. Nos dois eventos a carne servida era procedente de um mesmo açougue em Goiânia (MS, 2006a; MS, 2006b).

Mulheres infectadas durante a gestação podem transmitir o toxoplasma por via transplacentária. O risco de transmissão para o feto varia consideravelmente, de acordo com a época da gestação em que a mulher adquiriu a infecção. O risco de transmissão é maior quando a infecção ocorre no terceiro trimestre. Estima-se em 30% a taxa de transmissão materno-fetal, variando de 10% nas primeiras semanas até cerca de 75% no final da gestação. Entretanto, a frequência de transmissão é inversamente proporcional à gravidade das manifestações clínicas no neonato (Dunn et al, 1999). Infecção materna no início da gestação pode resultar em toxoplasmose congênita grave, com risco de óbito fetal e abortamento espontâneo. Em contrapartida, quando a infecção ocorre no final da gestação, 85% dos recém-nascidos são oligo ou assintomáticos, entretanto, se não tratados, podem desenvolver graves lesões oculares ou neurológicas tardias (Lebech et al, 1999).

A figura 2 representa o risco de infecção congênita de acordo com o período gestacional (Dunn et al, 1999).



A tabela 1 mostra as manifestações clínicas da toxoplasmose congênita de acordo com o período gestacional de aquisição da infecção (Montoya & Liesenfeld, 2004).

	Período de aquisição da infecção		
	1º trimestre	2º trimestre	3º trimestre
Toxoplasmose congênita	9%	27%	59%
Subclínica	22%	74%	90%
Cínica	78%	16%	10%
Abortos e natimortos	5%	2%	0%

Os oocistos podem permanecer viáveis no solo por longo tempo, resistindo a variações de temperatura e a dessecação, ao que torna possível a infecção por inalação de poeiras contaminadas. *T. gondii*, eventualmente, pode ser transmitido por transplante de órgãos e por via sanguínea, incluindo acidentes com perfuro-cortante (Montoya & Liesenfeld, 2004).

2.1 Toxoplasmose adquirida em hospedeiro imunocompetente

A toxoplasmose é uma das infecções parasitárias mais frequentes no mundo. Diferenças de prevalência estão relacionadas com fatores geográficos tais como clima e aridez do solo; fatores sócio-econômicos e culturais, incluindo condições de higiene e hábitos alimentares. A soropositividade da toxoplasmose aumenta com a idade (Montoya & Liesenfeld, 2004). A prevalência elevada na França tem sido relacionada a hábitos alimentares enquanto que na América Central tem sido relacionada à grande dispersão de gatos em um clima que favorece a sobrevivência de oocistos (CDC, 2004).

Nos Estados Unidos, estudo conduzido pelo National Health Nutritional Assessment Survey (NHANES III), no final da década de 90, estimou a soroprevalência de toxoplasmose em 23% na população geral e em 14% em mulheres em idade fértil (Jones et al, 2003).

No Brasil, vários estudos evidenciam elevada positividade para *T. gondii*, em adultos, variando de 23% a 80% em diferentes grupos populacionais (Cantos et al, 2000; Camargo, 2001; Bahia-Oliveira et al, 2003). Inquéritos soroepidemiológicos têm mostrado taxas de infecção aguda durante a gestação de 0,4% na região Centro Oeste, 0,6% no Distrito Federal e 2,0% no Rio grande do Sul (Spalding et al, 2003; Figueiro-Filho et al, 2005; Nobrega & Karnikowski, 2005). Estudo realizado na região

metropolitana de Goiânia detectou uma elevada taxa de soro-conversão para toxoplasmose em gestantes. Infecção aguda por toxoplasmose, definida por critérios sorológicos, foi identificada em 8,6% (45/522) das gestantes vulneráveis estudadas (Avelino et al, 2003), indicando um cenário de alto risco para toxoplasmose congênita, em Goiás.

Na maioria das vezes, a infecção pelo *T. gondii* é assintomática em indivíduos imunocompetentes. Aproximadamente 10% dos infectados podem apresentar manifestações clínicas inespecíficas, auto-limitadas e raramente necessitam tratamento (Montoya & Liesenfeld, 2004). Apresenta-se na forma de síndrome gripal, podendo cursar com linfadenopatia, de evolução benigna. Em alguns casos, a infecção pode generalizar-se e ser acompanhada, por pneumonia difusa, miocardite, miosite, hepatite, encefalite e exantema máculo-papular. Na linfadenite toxoplásmica o quadro se caracteriza por linfadenopatia localizada, em geral, envolvendo os nódulos linfáticos cervicais posteriores ou, mais raramente, linfadenopatia generalizada. Este quadro é capaz de persistir por varias semanas e assemelhar-se à mononucleose infecciosa acompanhada por linfócitos atípicos no sangue periférico (MS, 2004).

A coriorretinite é a lesão ocular mais freqüentemente associada à toxoplasmose. Estima-se que o *T. gondii* seja o agente etiológico de 30 a 60% de todas as coriorretinites. Essas lesões podem ser decorrentes de infecção congênita ou pós-natal como resultado de infecção aguda ou reativação. Em adultos é freqüentemente imputada como manifestação tardia ou reativação de infecção congênita. Entretanto, mais recentemente essa lesão tem sido associada com infecção aguda pós-natal (Jones et al, 2006). Dois tipos de lesões de retina podem ser observados: retinite aguda, com intensa inflamação e retinite crônica com perda progressiva de visão, algumas vezes chegando à cegueira.

2.2 Toxoplasmose congênita

Quando a infecção ocorre no período gestacional, o protozoário pode atravessar a placenta e alojar-se nos tecidos fetais, afetando principalmente o sistema nervoso central do feto. Sérias lesões podem acontecer em qualquer fase do desenvolvimento fetal e, às vezes, se completam após o nascimento. Os achados comuns são prematuridade, baixo peso, coriorretinite pós-maturidade, estrabismo, icterícia e hepatomegalia. Se a infecção ocorreu no último trimestre da gravidez, o recém-nascido pode apresentar, principalmente, pneumonia, miocardite ou hepatite com icterícia, anemia, plaquetopenia, coriorretinite, ausência de ganho de peso ou pode permanecer assintomático. Se ocorrer no segundo trimestre, o bebê pode nascer prematuramente, mostrando sinais de encefalite com convulsões, pleocitose do líquido e calcificações cerebrais. Pode apresentar a Tétrade de Sabin: microcefalia com hidrocefalia, coriorretinite, retardo mental e calcificações intracranianas (MS, 2004).

Estima-se uma taxa geral de transmissão materno-fetal do *T. gondii* de 20 a 50%, sendo que a probabilidade de transmissão congênita aumenta com o avanço da gestação, variando de 10 a 20% quando a infecção ocorre no primeiro trimestre, chegando até 60 a 90% no final do terceiro trimestre (Jones et al, 2001). Estudo multicêntrico europeu mostrou risco de transmissão vertical de toxoplasmose de até 72% em gestantes não tratadas, enquanto no grupo de mulheres que receberam tratamento pré-natal o risco de transmissão vertical foi de 39% (Foulon et al, 1999).

A gravidade da doença é inversamente proporcional à idade gestacional. Desta forma, as lesões fetais são tanto mais graves quanto mais precocemente o feto for atingido, praticamente não sendo detectados formas graves após a 25ª semana de gestação (Montoya & Liesenfeld, 2004). De acordo com os resultados de estudo multicêntrico

européu o tratamento adequado das gestantes pode reduzir o aparecimento de formas graves de 20% para 3,5% (Foulon et al, 1999).

As manifestações clínicas podem se apresentar no período neonatal ou nos primeiros meses de vida ou ainda na infância e adolescência tendo como sintomas: hidrocefalia, convulsões, calcificações cerebrais e atrofia cerebral, hepatoesplenomegalia, anemia hemolítica e finalmente alterações oculares (Frenkel, 1997; Kawazoe, 2002). A infecção pelo *T. gondii* no início da gestação pode resultar em óbito fetal ou doença grave. Ao contrário, quando a infecção ocorre em fase mais avançada da gestação os recém-nascidos podem ser aparentemente saudáveis. Estimativas apontam que até 85% das infecções congênicas possam ser subclínicas, no entanto, se os recém-nascidos infectados não forem adequadamente tratados poderão desenvolver graves seqüelas neurológicas (Lebech et al, 1999; Calvão, 2002; Kawazoe, 2002).

O risco geral de anormalidades clínicas devido à infecção congênita por toxoplasmose está em torno de 15% (Lebech et al, 1999). Pratlong e colaboradores (1994) encontraram 8,4% com sinais clínicos ou subclínicos; Villena e colaboradores (1998) encontraram sinais clínicos em 23% dos recém-nascidos de mulheres diagnosticadas e tratadas durante a gestação. Esses dados mostram que a maioria das crianças infectadas não apresenta manifestações clínicas ao nascimento e, portanto não seria diagnosticada sem uma triagem laboratorial.

Cerca de 10 a 15% dos recém-nascidos infectados congenitamente tem sintomas ao nascimento (Desmonts & Couvreur, 1974). O diagnóstico de infecção por *T. gondii* é baseado principalmente por testes sorológicos. A presença de anticorpos IgM, IgA e/ou IgE no sangue fetal é altamente sugestivo de toxoplasmose congênita, embora erro de interpretação devido uma possível contaminação de sangue materno durante os primeiros dias de vida possa ser considerado. Por outro lado, ausência de anticorpos IgM

e/ou IgA tem sido descritos em 33% dos recém-nascidos infectados prematuramente. Essa situação pode especialmente ocorrer: a) quando o feto foi infectado precocemente durante a gestação; b) quando o sistema imunológico do recém-nascido é imaturo devido à gravidez de curto prazo; ou c) quando os anticorpos IgG maternos, que podem atravessar a barreira placentária, suprimem a resposta dos anticorpos IgM no feto (Gross et al, 2000).

3. Triagem para toxoplasmose congênita

A toxoplasmose congênita não é uma doença de notificação compulsória, sendo difícil estimar a magnitude do problema em diferentes regiões (Gerber & Hohlfeld, 2003). Estimam a ocorrência de 10 a 30 casos de toxoplasmose congênita por 100.000 nascidos. Nos EUA, extrapolação de resultados de diferentes estudos aponta para uma estimativa de 400 a 4000 casos de Toxoplasmose Congênita por ano (Lopez et al, 2000).

Atualmente, duas estratégias são utilizadas para a prevenção secundária da toxoplasmose congênita. Alguns países europeus adotaram a triagem sistemática de todas as gestantes, desde a década de 70 (Lopez et al, 2000; Jones et al, 2001). Outra estratégia baseia-se na triagem neonatal com intuito de identificar recém-nascidos infectados e oferecer tratamento precoce, com uma estimativa de que 80% dos casos de infecção congênita seriam detectados com essa abordagem (Lebech et al, 1999). Entretanto, dados sobre a eficácia dessas duas estratégias - triagem pré-natal ou neonatal - são ainda escassos. Vários fatores dificultam essas avaliações, como por exemplo, o desconhecimento da frequência de mulheres em idade fértil susceptíveis à infecção pelo *T. gondii*, taxas de transmissão congênita em diferentes populações, bem como questões relacionadas à sensibilidade e especificidade dos testes diagnósticos e eficácia do tratamento antiparasitário durante a gestação (Jones et al, 2001).

3.1 Triagem pré-natal

Desde 1976, a França implantou um programa para detectar e tratar a infecção por *T. gondii* durante a gestação. O objetivo desse programa foi instituir medidas preventivas para mulheres soro-negativas, acompanhamento sorológico, diagnóstico precoce e tratamento para as gestantes infectadas (Jones et al, 2001). As gestantes não imunes à infecção são testadas mensalmente durante a gravidez para detectar a soro-conversão por *T. gondii* (Thulliez, 1992) e recebem orientação sobre medidas de prevenção para evitar a toxoplasmose (Lopez et al, 2000). Estudo realizado com gestantes tratadas para infecção aguda por toxoplasmose detectou um risco de transmissão materno fetal da infecção de 29% (Dunn et al, 1999).

O programa de triagem pré-natal para toxoplasmose na Áustria, implantado em 1975, relata a diminuição na taxa de soropositividade em gestantes nas últimas duas décadas, acompanhada de uma queda ainda maior na incidência de casos de toxoplasmose congênita. Antes da implantação do programa estimava-se em 50 a 70 casos de toxoplasmose congênita por 10.000 nascidos vivos. Desde a década de 90 houve uma redução do número de casos, sendo estimadas frequências de um caso por 10.000 nascidos (Aspöck & Pollak, 1992).

Tradicionalmente, a triagem para toxoplasmose congênita tem sido realizada durante o pré-natal. Entretanto, as dificuldades de abordagem sistematizada nessa fase e a escassez de estudos que comprovem a eficácia do tratamento durante a gestação, estimulam outras propostas e reforçam a necessidade de avaliação da triagem neonatal. Na França e na Áustria a investigação da toxoplasmose é rotina no pré-natal, porém a eficácia do programa é difícil de ser estimada, devido à falta de grupos controles e de estudos de custo (Lopez et al, 2000; Gilbert & Peckham, 2002; Schmidt et al, 2006).

No Brasil, não existe recomendação oficial de triagem pré-natal para toxoplasmose. Entretanto, algumas investigações foram conduzidas em diferentes regiões do país. Entre 2002 e 2003, o Programa de Proteção à Gestante de Mato Grosso do Sul, avaliou 32.512 gestantes com investigação sorológica para 10 infecções (HIV, hepatite B, hepatite C, toxoplasmose, HTLV, doenças de chagas, herpes simples, sífilis, citomegalovírus, e rubéola) em amostras de papel filtro. Para a toxoplasmose aguda o método sorológico utilizado foi o ELISA, com pesquisa de anticorpos IgM e IgG. A prevalência encontrada foi de 92% das gestantes expostas previamente à infecção por toxoplasmose, 8% suscetíveis e 0,4% das gestantes com infecção aguda para *T. gondii* (Figueiro-Filho et al, 2005).

Recentemente em Brasília, foi realizado um estudo sobre a incidência da toxoplasmose realizada com um grupo selecionado de 2.636 gestantes assistidas pelo sistema público de saúde do Guará, Cidade-satélite de Brasília. Nesta investigação, foram detectados dezessete casos de toxoplasmose gestacional; sendo quinze dos casos diagnosticados com infecção materna primária, e os dois restantes consistentes com infecção materna secundária. Estes resultados sugerem uma taxa de soro-conversão anual da ordem de 0,6 % (Nobrega & Karnikowski, 2005).

Em Ribeirão Preto (São Paulo), 112 gestantes foram investigadas sorologicamente utilizando a técnica de imunofluorescência indireta (IFI) para a pesquisa de anticorpos IgM e IgG anti-*T. gondii*. Nenhuma amostra foi reagente para o anticorpo IgM. Foram encontradas 30 amostras positivas (26,8%) considerando como critério de doença aguda a titulação IgG igual ou superior a 1/1024 (Marinzeck et al, 2005).

3.2 Triagem neonatal

Nos estados de Massachusetts e de New Hampshire (EUA) a toxoplasmose congênita foi incluída na lista de agravos do programa de triagem neonatal. No período de 1986 a 1992, um total de 52 dos 635.000 neonatos avaliados apresentou toxoplasmose congênita; 50 recém-nascidos não apresentavam alterações no exame neonatal rotineiro. Exames mais detalhados possibilitaram evidenciar alterações neurológicas ou na retina em 19 (40%) dos 48 infantes avaliados. Após um ano de tratamento, somente uma em 46 crianças (2.2%) apresentava comprometimento neurológico, e quatro de 39 (10.3%) tiveram lesões oftalmológicas (Guerina et al, 1994).

O programa de triagem neonatal estimou a prevalência de um caso de toxoplasmose congênita para dez mil nascidos vivos em Massachusetts e New Hampshire - EUA. Avaliações deste programa demonstraram que a triagem de neonatos para toxoplasmose congênita é viável e que os custos são relativamente baixos considerando que o sistema utiliza amostras de sangue em papel filtro rotineiramente coletadas e processadas para doenças genéticas (Lopez et al, 2000).

Entre dezembro 1998 a abril de 2000, 17.653 recém-nascidos da Polônia foram rastreados para toxoplasmose congênita em amostras de sangue seco em papel filtro, pela detecção dos anticorpos IgA e IgM anti *T. gondii* por ELISA. Os resultados mostraram uma prevalência alta, 1,1 para 1.000 nascidos vivos, quando comparados a outros programas de triagem neonatal (Paul et al, 2001).

Investigadores na Dinamarca conduziram um estudo com o objetivo de avaliar a triagem neonatal para toxoplasmose congênita. Nessa região, a soro-prevalência de anticorpos contra o toxoplasma entre as mulheres foi de 28%. Os resultados deste estudo indicaram que um programa de triagem neonatal que usa, exclusivamente, um

teste Toxoplasma-específico do anticorpo IgM poderia identificar aproximadamente 75% das infecções nas crianças de mães não tratadas (Lopez et al, 2000).

Desde 1999 a Dinamarca incluiu a investigação de toxoplasmose no Programa Nacional de Triagem Neonatal, com base na detecção de anticorpos IgM em amostras de papel filtro pela metodologia enzima imunoensaio fluorimétrico (FEIA). A partir de 2001 o diagnóstico foi realizado pela detecção de anticorpos IgM e IgA por imunofluorometria por tempo resolvido (TRIFMA). A prevalência encontrada foi de 2,1 para 10.000 recém-nascidos, em um total de 262.912 recém-nascidos analisados (Schmidt et al, 2006).

Lebech et al. (1999) mostraram que o programa para triagem neonatal baseado somente na detecção de anticorpos IgM para toxoplasma específico extraídos em papel filtro podem identificar mais de 75% de recém-nascidos infectados de mães não tratadas. Baixas taxas de falso-negativo e positivo mostraram que o método pode ser utilizado em larga escala em rastreamento neonatal para infecção por toxoplasmose congênita.

A identificação de toxoplasmose congênita na triagem neonatal identifica muitos neonatos assintomáticos que não são detectados nas rotinas pediátricas. O principal benefício é o tratamento para prevenir lesões oculares e reduzir o risco de complicações neurológicas (Gilbert & Peckham, 2002).

Estudo realizado por Bessières et al (2001) tinha como objetivo determinar o desempenho de métodos usados para o diagnóstico neonatal de toxoplasmose congênita. O diagnóstico neonatal teve resultado positivo em 88% dos casos. Parasitas foram isolados da placenta ou sangue de cordão umbilical de 61% dos recém-nascidos infectados, mas frequentemente da placenta (60%) do que do sangue do cordão

umbilical (43%). Esse método foi o único critério de infecção em 18% das crianças infectadas. A detecção de anticorpos específicos IgM e IgA realizados em 42 soros de bebês infectados permitiu o diagnóstico de infecção congênita em 81% dos casos. Anticorpos IgA foram mais frequentemente detectados (60%) do que os IgM específicos (50%). A triagem neonatal e pré-natal combinadas diagnosticou 98% das crianças infectadas. O diagnóstico pré-natal identificou 75% dos casos; nove casos foram diagnosticados somente na triagem neonatal e um caso com o acompanhamento neonatal.

No Rio Grande do Sul, na cidade de Passo Fundo, foram analisadas 1.250 amostras de cordão umbilical para triagem de anticorpos IgM anti-toxoplasma por ELFA. A incidência encontrada de toxoplasmose congênita ao nascimento foi de oito casos para 10.000 nascidos vivos (Mozzatto & Procianoy, 2003). Outro estudo, nessa mesma região, envolvendo gestantes com o diagnóstico de toxoplasmose e seus neonatos, ressaltou a importância do acompanhamento dos recém-nascidos, ainda que não apresentem sinais e sintomas ao nascimento (Spalding et al, 2003).

Em Porto Alegre, programa de triagem neonatal, realizado no período de três anos, detectou uma prevalência de um caso de toxoplasmose congênita para cada três mil recém-nascidos (Neto et al, 2000). Lago (2006) realizou rastreamento em dez mil neonatos através da pesquisa de IgM em papel filtro e encontrou seis pacientes com infecção congênita. Um caso já havia sido identificado antes do nascimento. Três casos também já haviam sido descobertos por ocasião do parto, com sorologia das parturientes anteriormente negativas no pré-natal. E dois casos foram detectados somente pelo rastreamento neonatal.

Inquérito populacional realizado em Campos de Goytacazes, Rio de Janeiro, identificou no período de abril de 1999 a junho de 2000 uma prevalência de 1,9 casos

para 1.000 (5/2550) recém nascidos triados para toxoplasmose congênita através da detecção de anticorpos IgM em amostras de papel filtro (Petersen et al, 2001).

Em 2001, 15.162 recém-nascidos inseridos no programa de triagem neonatal de Ribeirão Preto foram rastreados para toxoplasmose congênita em amostras de sangue em papel filtro. Foi utilizada a pesquisa de anticorpos IgM, por FEIA, e as amostras positivas foram confirmadas com sorologia do recém-nascido e mãe por ELISA e IFI; exames clínicos complementares também foi realizado no neonato. O diagnóstico foi confirmado pela persistência de anticorpos IgG no período de 12 meses ou presença de títulos elevados após o término do tratamento. As crianças com queda nos títulos dos anticorpos IgG foram consideradas não infectadas. Seguindo esses critérios a prevalência encontrada foi 3,3 em 10.000 recém-nascidos (Carvalho et al, 2005).

Estudo realizado em maternidade de referência para gestantes de alto risco, em Goiânia – Goiás, para doenças de transmissão vertical, estimou uma prevalência de 6,6 casos de toxoplasmose congênita para 1.000 nascidos vivos, ao analisar sangue de cordão umbilical de 1.514 recém-nascidos através da técnica MEIA e ELFA. A sensibilidade encontrada entre as técnicas foi de 35,7% e quando associado à técnica de IFI obteve sensibilidade de 42,9% (Rodrigues, 2006).

A triagem neonatal oferece uma opção aparentemente atrativa para prevenir seqüelas da toxoplasmose congênita. Evita a inconveniência na repetição de testes durante a gravidez, diminui o risco de técnicas invasivas como a amniocentese e administração prolongada de antibióticos na gestação. Entretanto, não há evidências de qual estratégia, pré-natal ou neonatal é mais efetiva (Gilbert & Dezateux, 2006).

4. Diagnóstico clínico e laboratorial

A infecção pelo *T. gondii* pode ser diagnosticada indiretamente por métodos sorológicos e diretamente pelo PCR, hibridização e isolados do parasita. O diagnóstico diferencial para a toxoplasmose congênita é importante, pois os sinais e sintomas clínicos da toxoplasmose podem ser confundidos com outras patologias incluindo citomegalovírus, malformações congênitas, sífilis, rubéola, herpes, aids, kernicterus, neurocisticercose e outras doenças febris (Montoya & Liesenfeld, 2004).

O diagnóstico é baseado na associação das manifestações clínicas com a confirmação através de estudos sorológicos, ou da demonstração do agente em tecidos ou líquidos corporais por biópsia ou necropsia, ou pela identificação em animais ou em cultivos celulares. A detecção de anticorpos IgM específicos ou aumento dos níveis de anticorpos da classe IgG acima de 1:2048 por IFI indica a presença de infecção ativa (MS, 2004).

A infecção congênita pode ainda ser definida pela persistência ou aumento de anticorpos IgG por mais de 12 meses de idade, embora natimorto ou fetos abortados com achados positivos pela PCR ou inoculação em ratos de fluido amniótico, sangue fetal ou tecido fetal são também aceitos. O critério de exclusão da infecção pode ser definido por valores de anticorpos IgG inferiores às concentrações detectadas antes do tratamento (Dunn et al, 1999; Gross et al, 2000; Gilbert & Peckham, 2002).

Os anticorpos IgM específicos são mais frequentemente detectados quando a soro-conversão materna ocorre no terceiro trimestre (75%) seguido por 35% no segundo trimestre. Por outro lado, os anticorpos IgA são mais frequentemente encontrados quando a soro-conversão ocorre no segundo trimestre (72%) seguido do primeiro trimestre (36%) (Bessieres et al, 2001).

A triagem neonatal é baseada na detecção do IgM específico, e em alguns centros por IgA (Paul et al, 2001), em amostra de sangue seco dos recém-nascidos. A detecção de anticorpos IgM tem sido relatada em 85% das crianças nascidas de mães não tratadas e em 73% das crianças de mães tratadas no pré-natal (Lebech et al, 1999). Entretanto, a triagem neonatal pode perder alguns neonatos infectados com IgM negativo ao nascimento, devido, provavelmente, a infecção ter sido adquirida no início da gestação. Porém, muitos desses neonatos são identificados por manifestações clínicas (Gilbert & Peckham, 2002).

As anomalias ultra-sonográficas podem ser observadas em 30% dos fetos contaminados, principalmente no primeiro (76%) e segundo trimestre (22%). Os fetos assintomáticos (sem alterações clínicas) parecem apresentar prognóstico favorável. Entretanto, a frequência de óbito neonatal e seqüela são elevadas nos fetos que apresentam alterações ultra-sonográficas compatíveis com a toxoplasmose congênita (Couto & Leite, 2004).

4.1 Exames específicos diretos

Na identificação do parasita podem ser utilizadas amostras de cordão umbilical e de placenta. A placenta é macerada e enriquecida com tripsina; depois de filtrada e centrifugada o sedimento é lavado e suspenso com solução de NaCl. A inoculação é feita em camundongos. O sedimento do cordão umbilical também é injetado nas mesmas condições. O sangue do camundongo é colhido de quatro a seis semanas depois da inoculação; os específicos anticorpos podem ser detectados pela imunofluorescência indireta usando o antígeno toxoplasma e o anticorpo marcado com fluoresceína. Os camundongos com sorologia positiva podem ser mortos e confirmados

a presença do cisto do toxoplasma no cérebro (Hitt & Filice, 1992; Bessieres et al, 2001).

Na Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) vários segmentos característicos do DNA do toxoplasma podem ser amplificados para identificação, correspondentes a diferentes genes, como P30, TRG1, B1, SAG1, que têm sido preferidos pela maior sensibilidade, assim como o DNA ribossomal. Ainda que presente em número extremamente reduzido, ou mesmo quando lisado, o toxoplasma pode ser identificado pela detecção de segmentos característicos de seus ácidos nucléicos, depois de ampliados pela PCR (Camargo, 2001). Por razões práticas a avaliação de toda a placenta e a extração do DNA de tecidos é mais difícil que de líquidos; mesmo que a placenta seja um material biológico de fácil obtenção, ela não é o mais indicado para a identificação do genoma parasitário pela baixa sensibilidade. Amostras de sangue da gestante são mais sensíveis que a inoculação em camundongos e menos invasivo do que o exame do líquido amniótico cuja coleta apresenta riscos mínimos de perda fetal, porém, maior sensibilidade e confirmação de que o parasita está invadindo. É importante salientar, porém, que uma PCR negativa não exclui a infecção recente (Spalding et al, 2002).

4.2 Exames específicos indiretos

No teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) os soros reagentes são titulados ensaiando-se diluições crescentes, incubadas sobre toxoplasmas fixados em lâminas de microscopia. Depois de lavadas, estas são novamente incubadas com conjugado fluorescente, anticorpos anti-IgG ou anti-IgM humanos, marcados com fluoresceína. Observados ao microscópio de fluorescência, os toxoplasmas mostram-se fluorescentes

para os soros reagentes. Os resultados quantitativos são expressos pela maior diluição reagente (Camargo, 2001).

Os testes imunoenzimáticos (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA e o Enzyme linked Fluorescent Assay – ELFA) são processados em cavidades de placas plásticas recobertas com extratos antigênicos do toxoplasma. Nessas cavidades incubam-se diluições dos soros a testar e, em seguida, um conjugado enzimático anti-IgM. Segue-se a incubação com produto capaz de, sob a ação da enzima, desenvolver cor (ou fluorescência) cuja intensidade, lida em espectrofotômetro (ou fluorômetro), é diretamente proporcional à quantidade de anticorpos anti-toxoplasma na amostra (Camargo, 2001; Calvão, 2002).

No teste de avidéz de anticorpos IgG a afinidade com que esses anticorpos ligam-se a seus respectivos antígenos pode ser avaliada pela maior ou menor facilidade de quebra dessa ligação. Mede-se no teste imunoenzimático ELISA-IgG modificado, pela dissociação e liberação de anticorpos IgG obtida por uma solução caotrópica, por exemplo, de uréia 6M (Elisa-Uréia). Para este fim, após a incubação do soro na placa, esta é lavada com solução de uréia e, em seguida, prossegue-se a reação pela incubação com o conjugado enzimático. Uma baixa avidéz é indicada por acentuada diminuição do título com relação ao título original obtido sem o tratamento pela uréia. Teste de avidéz é indicado em gestantes com suspeita de toxoplasmose, nos primeiros meses de gestação. Baixa avidéz indica infecção adquirida entre três e cinco meses (Camargo, 2001; Remington et al, 2004).

Nos ensaios de μ -captura ou Fluorometric Enzyme Immunocapture (FEIA) o anticorpo IgM é eluído e imbolizado por um anti-IgM humano. Os anticorpos IgM toxoplasma específico são detectados com o rompimento dos taquizoítos, seguidos pelo anticorpo monoclonal específico para o antígeno SAG1. SAG1 é o maior antígeno de

superfície da fase taquizoíta do *T. gondii* (Velge-Roussel et al, 1997). O passo final para o ensaio de μ -captura envolve a adição de um conjugado marcado seguido pelo substrato e medido por espectrofotometria em 405 nm. A medida no FEIA é por fluorometria (Sorensen et al, 2002).

Nos testes de captura as cavidades plásticas são recobertas por anticorpo anti IgM, incubando-se o soro. Uma amostra de suas IgM prende-se à cavidade. Segue-se nova incubação com antígeno do toxoplasma, que aí irá se fixar na eventualidade de existir, em meio às IgM, aquelas específicas para o toxoplasma. Utilizando-se o antígeno marcado por enzima, nos testes positivos, obtém-se desenvolvimento de cor. Entretanto, de grande sensibilidade, estes testes de captura podem detectar níveis diminutos de anticorpos IgM “naturais” em pacientes não infectados pelo toxoplasma (Camargo, 2001).

O ImmunoSorbent Agglutination Assay (ISAGA) é um teste de captura e os anticorpos IgM anti-toxoplasma, podem ser revelados pela aglutinação de suspensão de toxoplasmas, incubados sobre as cavidades da placa em que foram capturadas as amostras de IgM. A intensidade da aglutinação observada com diferentes quantidades de toxoplasma permite uma avaliação quantitativa, exprimindo-se os resultados em índices correspondentes (Sorensen et al, 2002).

A metodologia por imunofluorometria por tempo resolvido, AutoDelfia, captura anticorpos IgM e IgA eluído de sangue seco em papel filtro. O antígeno SAG1 marcado é usado para detectar anticorpos IgM e IgA específicos para o toxoplasma. Nesse ensaio utilizamos microplacas marcadas com anticorpos anti-IgM. As amostras e controles são eluídos com tampão e reagem com esses anticorpos. Posteriormente, somente os IgM específicos para o *T. gondii* são detectados pela incubação com Europium, marcado com o antígeno *T. gondii*. A adição da solução Enhancement

provoca alta fluorescência que é medida em cada poço da placa. A fluorescência em cada amostra é proporcional a concentração de IgM específico para *T. gondii*. O complexo antígeno anticorpo é medido por fluorometria por tempo resolvido. Esse ensaio mostra uma sensibilidade de 72% quando comparado com o ensaio de μ -captura. A detecção simultânea do anticorpo IgA não aumenta sua sensibilidade (Sorensen et al, 2002).

O diagnóstico de toxoplasmose congênita é difícil de ser feito quando os anticorpos IgM e IgA estão ausentes no sangue do recém nascido. A determinação dos anticorpos IgG não pode ser usada rotineiramente no diagnóstico da infecção congênita, pois podem atravessar a barreira placentária. O ensaio imunoblot comparara o perfil IgG, direcionado contra o *T. gondii*, entre mãe e seus respectivos bebês para o diagnóstico da infecção. O imunoblot utiliza células lisadas de taquizoítas *T. gondii* que são separadas eletroforeticamente em gel de poliacrilamida e transferidos para uma membrana de nitro-celulose. As amostras dos recém-nascidos e suas mães são incubadas overnight em nitro-celulose marcada com antígeno, seguidos por incubação com conjugado de fosfatase alcalina anti IgG humano. No final, bandas protéicas IgG reativa são visualizadas pelo uso de 5-bromo4-cloro3-indolfosfato. O comparativo do perfil de anticorpo IgG entre mãe e criança tem uma sensibilidade de 82,4% e especificidade de 93% e pode ser útil como um método adicional para um rápido diagnóstico de toxoplasmose congênita (Gross et al, 2000). A diferenciação entre a resposta do anticorpo IgG para *T. gondii* pela mãe e seu recém-nascido é útil na elucidação diagnóstica da infecção congênita por toxoplasmose; e a demonstração do anticorpo IgG toxoplasma específico com diferentes especificações no soro da mãe e criança mostra que a criança sintetiza seu próprio anticorpo IgG e confirma que a criança foi infectada por *T. gondii* (Nielsen et al, 2005).

Assim como o imunoblot, o Like Enzyme-linked Immunofiltration Assay (ELIFA) distingue os anticorpos maternos de anticorpos sintetizados pelo feto ou neonato e pode ser aplicado em amostras coletadas ao nascimento ou durante os dez primeiros dias de vida (Chumpitazi et al, 1995). Quando usado juntamente com métodos padrões para detecção das imunoglobulinas esses novos métodos podem melhorar o diagnóstico de toxoplasmose congênita durante o primeiro mês de vida e posteriormente (Pinon et al, 2001).

5. Prevenção primária e tratamento

O tratamento específico nem sempre é indicado nos casos em que o hospedeiro é imunocompetente, exceto em infecção aguda durante a gestação ou na vigência de comprometimento de outros órgãos como olhos e coração (MS, 2004). Crianças com toxoplasmose congênita, mesmo que assintomáticas devem ser tratadas tão precocemente quanto possível, a fim de prevenir sérias lesões oculares e do sistema nervoso central. Em criança com sintomas compatíveis com toxoplasmose, o tratamento deve começar mesmo que não tenha havido tempo para diagnóstico sorológico ou inoculação em animais. Se os resultados dos exames laboratoriais não forem confirmatórios, suspende-se o tratamento. A finalidade da terapêutica é manter o número de toxoplasmas em um nível mínimo, até que seja adquirida uma imunidade celular e humoral eficaz (Frenkel, 1997).

A prevenção da toxoplasmose congênita ou de suas seqüelas repousa sobre quatro eixos: 1- identificar as mulheres suscetíveis e limitar o risco de contaminação durante a gestação (prevenção primária); 2- identificar o mais precocemente possível à toxoplasmose gestacional, evitando ou limitando a transmissão placentária do *T. gondii*,

pelo tratamento da gestante (prevenção secundária); 3- sendo detectada a soropositividade materna, realizar o diagnóstico da infecção fetal e tratar o feto; 4- identificar, diagnosticar e tratar os recém-nascidos com toxoplasmose congênita, mesmo os assintomáticos (Ambroise-Thomas, 2003).

Como medida de controle é importante evitar o uso de produtos animais crus ou mal cozidos (porco, carneiro, galinha e gado) e não ingerir frutas ou vegetais sem lavá-los (Kravetz & Federman, 2005). Isso porque o cozimento total da carne a uma temperatura acima de 66°C mata o toxoplasma, mas o seu congelamento apesar de causar nítida redução da viabilidade do toxoplasma na carne, não é suficiente para destruir todos os microorganismos (Frenkel, 1997).

Os gatos são infectados primariamente pela ingestão de carne crua e, portanto a proteção mais eficaz contra a contaminação ambiental dependerá do controle de sua dieta. Além disso, as fezes dos gatos devem ser atiradas em vasos sanitários, tratadas com água fervida ou incineradas. Isso porque a areia e o solo contaminados por fezes de gato representam fontes de infecção duradouras, sendo de difícil erradicação. O hábito dos felinos de defecar próximos de seu habitat natural e cobri-las aumentam sua umidade e propicia a sobrevivência dos oocistos (Frenkel, 1997).

As moscas e baratas têm servido adequadamente como vetores experimentais de oocistos, devendo ser controlados. Conviria que mulheres grávidas evitassem comer carne crua ou mal cozida. Além disso, elas devem lavar as mãos após manipular carne crua, não devem manipular fezes de gatos, cães, terra ou areia, e sempre lavar as mãos antes das refeições. Deveriam usar luvas, ao trabalhar com o solo, e nunca cuidar de gatos. Nos Estados Unidos possuir gatos tem aumentado a frequência de anticorpos anti-toxoplasmáticos, embora alimentos secos e enlatados sejam freqüentemente dados aos animais domésticos. Na Inglaterra, conviver em domicílio

com gatos e cães se associa a uma prevalência aumentada de anticorpos nos proprietários que manipulam carne crua para dar aos seus animais domésticos (Frenkel, 1997).

Várias vacinas experimentais para seres humanos estão sendo testadas em camundongos. As vacinas atenuadas do taquizoíta do *T. gondii* têm sido utilizadas com sucesso, mas vacinas com organismos vivos não podem ser utilizadas com segurança em seres humanos. A maioria dos trabalhos utiliza os antígenos de superfície do taquizoíta, especialmente o SAG1. Outras vacinas candidatas utilizam antígenos presentes no bradizoíta. Essas vacinas candidatas têm demonstrado boa proteção quando utilizadas em animais (Bhopale, 2003).

6. Referências bibliográficas

Ambroise-Thomas P 2003. [Congenital toxoplasmosis: different preventative strategies]. *Arch Pediatr 10 Suppl 1*: 12-14.

Aspöck H, Pollak A 1992. Prevention of prenatal toxoplasmosis by serological screening of pregnant women in Austria. *Scand J Infect Dis Suppl 84*: 32-37.

Avelino MM, Campos D, Jr., do Carmo Barbosa de Parada J, de Castro AM 2003. Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 108*: 19-24.

Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG 2003. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis 9*: 55-62.

Bessieres MH, Berrebi A, Rolland M, Bloom MC, Roques C, Cassaing S, Courjault C, Seguela JP 2001. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 94*: 37-45.

Bhopale GM 2003. Development of a vaccine for toxoplasmosis: current status. *Microbes Infect* 5: 457-462.

Bowie WR, King AS, Werker DH, Isaac-Renton JL, Bell A, Eng SB, Marion SA 1997. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team. *Lancet* 350: 173-177.

Calvão AD 2002. *Manifestações oftalmológicas na toxoplasmose congênita*. Medicina. Universidade Federal Fluminense: Niterói.

Camargo ME 2001. Toxoplasmose. In AW Ferreira, SLM Ávila, *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-imune*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. p. 278-288.

Cantos GA, Prando MD, Siqueira MV, Teixeira RM 2000. [Toxoplasmosis: occurrence of antibodies anti *Toxoplasma gondii* and diagnosis]. *Rev Assoc Med Bras* 46: 335-341.

Carvalho CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, De Souza CB, Maciel LM 2005. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect* 133: 485-491.

CDC Centers of Disease Control and Prevention 2004. Toxoplasmosis. Disponível em: <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/Toxoplasmosis.htm>. Acessado em: Julho de 2006.

Chumpitazi BF, Boussaid A, Pelloux H, Racinet C, Bost M, Goullier-Fleuret A 1995. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by immunoblotting and relationship with other methods. *J Clin Microbiol* 33: 1479-1485.

Couto JCF, Leite JM 2004. Sinais ultra-sonográficos em fetos portadores de toxoplasmose congênita. *RBGO* 26: 377-382.

Desmonts G, Couvreur J 1974. Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. *Bull N Y Acad Med* 50: 146-159.

Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R 1999. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet* 353: 1829-1833.

Figueiro-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, Souza Junior VGS, Botelho CA, Figueiredo MS, Duarte G 2005. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vetical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. *Rev. Bras. Ginecol. Obstet.* 27: 442-449.

Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B, Decoster A, Lappalainen M, Pinon JM, Jenum PA, Hedman K, Naessens A 1999. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: a multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. *Am J Obstet Gynecol* 180: 410-415.

Frenkel JK 1997. Toxoplasmose. In R Foccacia, R Veronesi, *Ttratado de Infectologia*. São Paulo. p. 1290-1213.

Gerber S, Hohlfeld P 2003. Screening for infectious diseases. *Childs Nerv Syst* 19: 429-432.

Gilbert R, Dezateux C 2006. Newborn screening for congenital toxoplasmosis: feasible, but benefits are not established. *Arch Dis Child* 91: 629-631.

Gilbert RE, Peckham CS 2002. Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen? *J Med Screen* 9: 135-141.

Gross U, Luder CG, Hendgen V, Heeg C, Sauer I, Weidner A, Krczal D, Enders G 2000. Comparative immunoglobulin G antibody profiles between mother and child (CGMC test) for early diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 38: 3619-3622.

Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, Abrams I, Pasternack MS, Hoff R, Eaton RB, et al. 1994. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional Toxoplasma Working Group. *N Engl J Med* 330: 1858-1863.

Hitt JA, Filice GA 1992. Detection of *Toxoplasma gondii* parasitemia by gene amplification, cell culture, and mouse inoculation. *J Clin Microbiol* 30: 3181-3184.

Jones J, Lopez A, Wilson M 2003. Congenital toxoplasmosis. *Am Fam Physician* 67: 2131-2138.

Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M 2003. *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999-2000. *Emerg Infect Dis* 9: 1371-1374.

Jones JL, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R 2001. Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet Gynecol Surv* 56: 296-305.

Jones JL, Muccioli C, Belfort R, Jr., Holland GN, Roberts JM, Silveira C 2006. Recently acquired *Toxoplasma gondii* infection, Brazil. *Emerg Infect Dis* 12: 582-587.

Kawazoe U 2002. *Toxoplasma gondii*. In DP Neves, AL Melo, PM Linardi, RWA Vitor, *Parasitologia Humana*. São Paulo. p. 147-156.

Kravetz JD, Federman DG 2005. Prevention of toxoplasmosis in pregnancy: knowledge of risk factors. *Infect Dis Obstet Gynecol* 13: 161-165.

Lago EG 2006. *Estratégias de controle da toxoplasmose congênita: 1) Triagem neonatal para toxoplasmose em 10.000 recém-nascidos atendidos na rede pública de saúde de Porto Alegre. 2) Sorologia para Toxoplasma gondii na gestação e no momento do parto em 2.513 pacientes consecutivas e avaliação dos recém-nascidos com risco de toxoplasmose congênita*. Doutorado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul: Porto Alegre. 168 pp.

Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B, Rechnitzer C, Larsen SO, Norgaard-Pedersen B, Petersen E 1999. Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group. *Lancet* 353: 1834-1837.

Lopez A, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL 2000. Preventing congenital toxoplasmosis. *MMWR Recomm Rep* 49: 59-68.

Marinzeck GC, Borges DC, Piran PA, Valleri FV, Anibal FF 2005. Incidência parcial da toxoplasmose congênita em gestantes pertencentes à classe sociais A e B no município de Ribeirão Preto, SP. 2005

Markell EK, John DT, Krotoshi WA 1999. *Toxoplasma gondii*. In Markell, Voges's, *Medical Parasitology*. Saunders, Philadelphia, USA. p. 161-171.

MS Ministério da Saúde 2004. Doenças infecciosas e parasitárias: Guia de bolso. 2004

MS Ministério da Saúde, SVS Secretaria de Vigilância em Saúde 2006a. Nota Técnica - Surto de toxoplasmose no município de Anápolis - GO, fevereiro de 2006.

MS Ministério da Saúde, SVS Secretaria de Vigilância em Saúde 2006b. Nota Técnica - Surto de toxoplasmose no município de Goiânia - GO, fevereiro de 2006.

Montoya JG, Liesenfeld O 2004. Toxoplasmosis. *Lancet* 363: 1965-1976.

Moura L, Bahia-Oliveira LM, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, Ramalho WM, Camargo NJ, Trevisan R, Graca RM, da Silva AJ, Moura I, Dubey JP, Garrett DO 2006. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerg Infect Dis* 12: 326-329.

Mozzatto L, Procianoy RS 2003. Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil: a prospective study. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 45: 147-151.

Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Schulte J, Becker D, Tuuminen T 2000. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol* 29: 941-947.

Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R 2004. Newborn screening for congenital infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 10: 1068-1073.

Nielsen HV, Schmidt DR, Petersen E 2005. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by two-dimensional immunoblot differentiation of mother and child immunoglobulin g profiles. *J Clin Microbiol* 43: 711-715.

Nobrega OT, Karnikowski MGO 2005. An estimation of the frequency of gestational toxoplasmosis in the Brazilian Federal District. 2005

Paul M, Petersen E, Szczapa J 2001. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznan region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. *J Clin Microbiol* 39: 1912-1916.

Petersen E, Pollak A, Reiter-Owona I 2001. Recent trends in research on congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 31: 115-144.

Pinon JM, Dumon H, Chemla C, Franck J, Petersen E, Lebech M, Zufferey J, Bessieres MH, Marty P, Holliman R, Johnson J, Luyasu V, Lecolier B, Guy E, Joynson DH, Decoster A, Enders G, Pelloux H, Candolfi E 2001. Strategy for diagnosis of congenital toxoplasmosis: evaluation of methods comparing mothers and newborns and standard methods for postnatal detection of immunoglobulin G, M, and A antibodies. *J Clin Microbiol* 39: 2267-2271.

Pratlong F, Boulot P, ISSERT E, Msika M, Dupont F, Bachelard B, Sarda P, Viala JL, Jarry D 1994. Fetal diagnosis of toxoplasmosis in 190 women infected during pregnancy. *Prenat Diagn* 14: 191-198.

Remington JS, Thulliez P, Montoya JG 2004. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 42: 941-945.

Rodrigues IMX 2006. *Diagnóstico pós-natal da toxoplasmose congênita através da detecção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA anti-Toxoplasma gondii*. Mestrado. Universidade Federal de Goiás: Goiânia. 114 pp.

Schmidt DR, Høgh B, Andersen O, Fuchs J, Fledelius H, Petersen E 2006. The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark: results from the initial four years, 1999-2002. *Arch Dis Child* 91: 661-665.

Sorensen T, Spenter J, Jaliashvili I, Christiansen M, Norgaard-Pedersen B, Petersen E 2002. Automated time-resolved immunofluorometric assay for *Toxoplasma gondii*-specific IgM and IgA antibodies: study of more than 130,000 filter-paper blood-spot samples from newborns. *Clin Chem* 48: 1981-1986.

Spalding SM, Amendoeira MR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L 2003. [Prospective study of pregnant and babies with risk of congenital toxoplasmosis in municipal district of Rio Grande do Sul]. *Rev Soc Bras Med Trop* 36: 483-491.

Spalding SM, Amendoeira MRR, Coelho JMC, Angel SO 2002. Otimização da reação de polimerase em cadeia para detecção de *toxoplasma gondii* em sangue venoso e placenta de gestantes. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* 38: 105-110.

Thulliez P 1992. Screening programme for congenital toxoplasmosis in France. *Scand J Infect Dis Suppl* 84: 43-45.

Velge-Roussel F, Moretto M, Buzoni-Gatel D, Dimier-Poisson I, Ferrer M, Hoebeke J, Bout D 1997. Differences in immunological response to a *T. gondii* protein (SAG1) derived peptide between two strains of mice: effect on protection in *T. gondii* infection. *Mol Immunol* 34: 1045-1053.

Villena I, Aubert D, Leroux B, Dupouy D, Talmud M, Chemla C, Trenque T, Schmit G, Quereux C, Guenounou M, Pluot M, Bonhomme A, Pinon JM 1998. Pyrimethamine-sulfadoxine treatment of congenital toxoplasmosis: follow-up of 78 cases between 1980 and 1997. Reims Toxoplasmosis Group. *Scand J Infect Dis* 30: 295-300.

ARTIGO: Rastreamento para toxoplasmose congênita em recém-nascidos do Estado de Goiás

RESUMO

A triagem neonatal para toxoplasmose congênita é considerada uma estratégia simples, de baixo custo e efetiva para o diagnóstico e prevenção da toxoplasmose congênita, entretanto, essa triagem não integra a rotina dos serviços de saúde, no nosso meio. **Objetivo:** estimar a prevalência da toxoplasmose congênita no Estado de Goiás, utilizando como estratégia de diagnóstico a triagem neonatal. **Metodologia:** Recém-nascidos inseridos na rede de triagem de doenças não infecciosas, do Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Estado de Goiás, Laboratório da APAE Anápolis. Foram rastreados 3.828, em um período de oito dias, em 2005 e 2006. Utilizou-se Imunofluorometria por Tempo Resolvido AutoDelfia[®] para a detecção de anticorpos IgM específicos para o *T. gondii* em amostras de sangue seco. A metodologia ELISA foi usada paralelamente, em 538 amostras, como padrão ouro. **Resultados:** Cinco recém-nascidos apresentaram critérios laboratoriais compatíveis com o diagnóstico de toxoplasmose congênita, resultando em uma estimativa de prevalência de 1,3 (IC95% 0,5 – 3,2) casos de toxoplasmose congênita a cada 1.000 recém-nascidos, em Goiás. Nenhum dos cinco casos havia sido diagnosticado durante a gestação. Conclusão: A utilização de amostras de sangue seco para triagem de doenças infecciosas mostrou ser uma ferramenta simples, nos estados onde o Programa de Triagem Neonatal está bem estabelecido. O estudo evidenciou uma elevada prevalência de toxoplasmose congênita e possibilitou identificar infecções que não haviam sido diagnosticadas durante a gestação.

SUMMARY

Neonatal screening for congenital toxoplasmosis is considered a simple strategy, of low cost and effective for the diagnosis and prevention of congenital toxoplasmosis; however, this screening strategy is not routinely offered in health centers, in Brazil. **Objective:** to estimate the prevalence of congenital toxoplasmosis in the State of Goiás, through neonatal screening. **Methodology:** newborns inserted in the screening program for genetic disease at the Reference Center for Neonatal Screening of the State of Goiás, Laboratory of the APAE Anápolis. In an eight days period, 2005 e 2006, 3 828 had been screened. Time-resolved fluoroimmunoassay AutoDelfia[®] was used for the detection of specific IgM antibodies for the *T. gondii* in samples of dry blood spot. ELISA methodology was used parallel, in 538 samples, as gold standard. **Results:** Five newborns had presented compatible laboratories criteria with the diagnosis of congenital toxoplasmosis, resulting in a prevalence of 1.3 (CI95% 0.5 – 3.2) cases of congenital toxoplasmosis per 1,000 newborns, in Goiás. None of the five cases had been diagnosed during the pregnancy. **Conclusion:** The use of samples of dry blood spots for screening of infectious disease showed to be a simple tool, in the states where the Program of Neonatal Screening is well established. The study disclosed high prevalence of congenital toxoplasmosis and made possible to identify infections that had not been diagnosed during the pregnancy.

RASTREAMENTO PARA TOXOPLASMOSE CONGÊNITA EM RECÉM-NASCIDOS DO ESTADO DE GOIÁS

INTRODUÇÃO:

A toxoplasmose é uma das infecções parasitárias mais frequentes na população mundial, sendo, na maioria das vezes, assintomática ou oligossintomática em indivíduos normocompetentes. Quando a infecção ocorre durante a gravidez, pode haver transmissão congênita do *Toxoplasma gondii*, acarretando óbito fetal/neonatal ou graves seqüelas neurológicas para o recém-nascido (Montoya & Liesenfeld, 2004). A toxoplasmose congênita não é uma doença de notificação compulsória, sendo difícil estimar a magnitude do problema. Nos EUA, extrapolação de resultados de diferentes estudos apontam para uma estimativa de 400 a 4000 casos de toxoplasmose congênita por ano (Lopez et al, 2000).

Duas estratégias de triagem têm sido preconizadas para a prevenção secundária da toxoplasmose congênita: triagem pré-natal e triagem neonatal. França e Áustria adotaram a triagem sistemática de todas as gestantes, desde a década de 70 (Lopez et al, 2000; Jones et al, 2001). No início da década de 90 foi instituída a rede européia de pesquisa em toxoplasmose com a finalidade de avaliar intervenções de saúde pública para prevenção da toxoplasmose congênita. Resultados desses estudos sugerem que a triagem pré-natal possa ser eficaz tanto em áreas de baixa como de alta incidência de toxoplasmose congênita. Entretanto, as evidências de custo-efetividade dessa estratégia são ainda insuficientes e poucos países adotaram oficialmente essa abordagem (Lopez et al, 2000; Gilbert & Peckham, 2002; Gilbert & Dezateux, 2006).

A triagem neonatal tem como objetivo identificar recém-nascidos infectados e oferecer tratamento precoce. Estudo realizado na Dinamarca, utilizando teste específico para detecção de IgM anti-toxoplasma em papel filtro evidenciou que, aproximadamente, 80% dos casos de infecção congênita seriam detectados com essa abordagem (Lebech et al, 1999). Na região de New England (EUA) a toxoplasmose congênita foi incluída na lista de agravos do programa de triagem neonatal, desde 1986 (Guerina et al, 1994; Lopez et al, 2000). No final da década de 90, Dinamarca, regiões da Suíça e Polônia propuseram a inclusão da pesquisa da toxoplasmose na rotina da triagem neonatal (Paul et al, 2001; Schmidt et al, 2006; Signorell et al, 2006).

Até o presente, não existe consenso na literatura quanto à estratégia de triagem ou de tratamento mais adequados para a prevenção da toxoplasmose congênita (Gilbert & Peckham, 2002). Avaliações sobre a efetividade da triagem pré-natal ou neonatal são ainda limitados. Vários fatores dificultam essas avaliações, como por exemplo, o desconhecimento da frequência de mulheres em idade fértil susceptíveis à infecção pelo *T. gondii*, taxas de transmissão congênita, bem como questões relacionadas à sensibilidade e especificidade dos testes diagnósticos e eficácia do tratamento antiparasitário durante a gestação (Jones et al, 2001).

No Brasil, não existe recomendação oficial para a triagem de toxoplasmose, na rotina dos serviços de saúde, sendo escassas as estimativas de prevalência desta infecção em recém-nascidos. Na última década, alguns estudos brasileiros incluíram a detecção de toxoplasmose, em papel filtro, no programa de triagem para doenças metabólicas e hemoglobinopatias dos recém-nascidos. Avaliação de abrangência nacional, porém com predomínio de amostras do Rio Grande do Sul, evidenciou uma prevalência de toxoplasmose congênita de um caso para 3.000 nascidos vivos (Neto et al, 2000). Estudo realizado em Ribeirão Preto - São Paulo, estimou em 3,3 casos/10.000

nascidos vivos (Carvalho et al, 2005) e em Campos dos Goytacazes - Rio de Janeiro esta frequência foi cerca de seis vezes maior com a detecção de 1,9 casos de toxoplasmose congênita por 1.000 nascidos vivos (Petersen et al, 2001). Em Goiânia, Goiás, estudo conduzido em maternidade de referência para gestantes de alto risco, incluindo para doenças de transmissão vertical, estimou uma prevalência de 6,6 casos de toxoplasmose congênita/1.000 nascidos vivos, ao analisar sangue de cordão umbilical de 1.514 RN (Rodrigues, 2006).

O Programa de Triagem Neonatal no Estado de Goiás, Brasil, foi implantado em 1994 e oferece um painel de testes de triagem para doenças genéticas (fenilcetonúria, hipotireoidismo congênito, hiperplasia adrenal congênita e hemoglobinopatias) em papel filtro. Este programa apresenta ampla cobertura nos municípios do Estado com inclusão de, aproximadamente, 92% dos recém-nascidos vivos de Goiás. Nos últimos anos, testes de triagem em papel filtro tem sido utilizados e validados para o diagnóstico de doenças infecciosas, incluindo a toxoplasmose (Sorensen et al, 2002; Neto et al, 2004; Toledo et al, 2005). Desta forma a inclusão da triagem para toxoplasmose, em um programa de triagem neonatal, já bem estabelecido e com ampla cobertura, possibilitaria estimar a magnitude dessa infecção de forma rápida e logística simplificada.

O presente estudo tem por objetivo estimar a prevalência de toxoplasmose congênita no Estado de Goiás, entre os recém-nascidos atendidos pelo programa de triagem neonatal, bem como identificar e tratar precocemente os recém-nascidos infectados, reduzindo o risco de danos neurológicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Área e população de estudo:

O Estado de Goiás está localizado na região centro-oeste do Brasil, 5.619.917 habitantes (IBGE, 2006) e aproximadamente 91.231 nascidos vivos por ano (DATASUS, 2006). O Programa de Triagem Neonatal no Estado de Goiás rastreia aproximadamente 92% dos recém-nascidos vivos de Goiás, correspondendo a cerca de 7.000 recém-nascidos por mês. As amostras de sangue do calcâneo dos recém-nascidos são coletadas, por profissionais treinados, até o trigésimo dia de nascido, preferencialmente do terceiro ao décimo dia de vida, em papel filtro (S&S 903) conforme protocolo padronizado. Essas amostras, procedentes dos serviços de saúde da rede pública e privada de todos os municípios de Goiás, são encaminhadas ao Laboratório da Associação de Pais e Amigos do Excepcional (APAE), localizado no município de Anápolis.

No presente estudo, a triagem para toxoplasmose foi incluída na rotina do Programa de Triagem Neonatal do Estado de Goiás, no período de 20 a 24 de junho de 2005 e 30 de janeiro a dois de fevereiro de 2006. Foram colhidas sequencialmente 3.828 amostras de sangue em papel filtro de recém-nascidos procedentes de todas as regiões de Goiás, encaminhadas e processadas no Laboratório da APAE em Anápolis.

Triagem Neonatal:

Amostras de sangue seco em papel filtro, foram utilizadas para a detecção de anticorpos IgM contra *T. gondii*, utilizando a metodologia de imunofluorometria por tempo resolvido (TRIFMA) AutoDelfia Neonatal Toxoplasma-Screen (PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Wallac Oy, Mustionkatu 6, Turku, Finland).

TRIFMA é um fluoroimunoensaio em fase sólida, cuja finalidade é a determinação de anticorpos IgM para o *T. gondii* em amostras de sangue seco em papel

filtro. O ensaio pode ser dividido em duas fases separadas: a captura de todos os anticorpos IgM e a detecção do IgM específico para o *T. gondii*. Na primeira fase, o tampão de caseína elui anticorpos IgM dos controles e das amostras testes, que reagem com anticorpos policlonais imobilizados, direcionados contra a cadeia μ de IgMs humanos. Na segunda fase, os anticorpos IgM específicos anti *T. gondii* são detectados pela incubação das moléculas de IgM imobilizadas com a preparação do *T. gondii* marcado com európio. A solução intensificadora dissocia os íons de európio do anticorpo marcado e em seguida formam quelatos altamente fluorescentes com componentes da solução intensificadora. A fluorescência em cada poço é medida. A fluorescência de cada amostra é proporcional a concentração de anticorpos IgM específicos do *T. gondii* na amostra (Hemmila et al, 1984; Sorensen et al, 2002). As amostras foram consideradas normais se a contagem fosse menor que 11,5 IU/mL; limítrofe entre 11,5 – 23,1 IU/mL e positivas se a contagem fosse maior que 23,1 IU/mL.

Todas as amostras positivas ou limítrofes no TRIFMA e 523 (13,7%) amostras negativas para TRIFMA foram retestadas utilizando a metodologia de ensaio imunoenzimático (ELISA Q-Preven, Bio-Rad Laboratories). Nas cavidades das microplacas sensibilizadas com anticorpo monoclonal anti-IgM humana, adicionou-se picotes das amostras e o tampão de eluição. Durante a primeira incubação o anticorpo monoclonal sensibilizado na microplaca captura especificamente anticorpos IgM presentes nas amostras. Após aspiração e lavagem os picotes e outros componentes da amostra não ligados foram removidos. Em uma segunda incubação as ligações de IgM anti-toxoplasma, foram detectados pela adição de antígeno do toxoplasma purificado e inativado, ligado a um anticorpo monoclonal específico (imunocomplexo), conjugado com peroxidase. A atividade enzimática fixada nessa fase sólida, agindo com uma solução cromógeno-substrato, gerou um sinal óptico que foi proporcional a quantidade de

anticorpos IgM presentes na amostra. A intensidade da cor desenvolvida foi medida por meio da leitura espectrofotométrica a 405 nm (Naot & Remington, 1980; Paul et al, 2001; Giraldo et al, 2002). A leitura foi feita em densidade óptica (DO) de 405 nm; o valor do cut-off (CO) foi estabelecido pela DO do controle negativo acrescido de 0,25 para cada reação e os resultados foram interpretados com relação ao valor da DO e o valor de cut-off (S/CO). Valores da relação S/CO menores que 0,90 foram considerados negativos, entre 0,91 e 1,10 limítrofes e maiores que 1,10 foram considerados positivos, de acordo com as instruções do fabricante.

Confirmação Laboratorial:

Todos os recém-nascidos com resultados positivos ou limítrofes na triagem com papel de filtro (TRIFMA e/ou ELISA), bem como suas respectivas mães, foram convocados para coleta de sangue para a determinação quantitativa de anticorpos IgM e IgG anti *T. gondii* por imunofluorescência indireta (IFI). A primeira coleta de sangue para detecção de anticorpos por IFI nos pares mães-lactentes foi realizada entre 15 e 30 dias após a triagem neonatal.

Na IFI os soros reagentes foram titulados ensaiando-se diluições crescentes, incubadas sobre toxoplasmas fixados em lâminas de microscopia. Depois de lavadas, estas foram novamente incubadas com conjugado fluorescente, anticorpos anti-IgG ou anti-IgM humanos, marcados com fluoresceína. Observados ao microscópio de fluorescência, os toxoplasmas mostram-se fluorescentes para os soros reagentes. Os resultados quantitativos foram expressos pela maior diluição reagente (Camargo, 2001).

Para os lactentes que apresentavam apenas anticorpos IgG por IFI, foram solicitadas novas amostras de sangue, com quatro a cinco semanas de intervalo entre as coletas, para acompanhamento dos títulos de IFI.

Para o diagnóstico de toxoplasmose congênita foi utilizado um dos seguintes critérios: a) IFI positivo, com títulos de anticorpos específicos IgM no lactente e IgM e/ou IgG na respectiva mãe; b) aumento ou persistência do título de IgG no lactente e anticorpos específicos IgM e/ou IgG positivos na sorologia materna. Foram considerados não infectados os lactentes que não apresentavam anticorpos IgM e que apresentaram queda nos títulos de anticorpos IgG, em pelo menos duas amostras de sangue colhidas em intervalos de quatro a cinco semanas.

Acompanhamento clínico:

As crianças com suspeita diagnóstica de toxoplasmose congênita foram encaminhadas para acompanhamento clínico, avaliação oftalmológica, exames complementares de imagem e tratamento específico, quando indicado. Os pacientes foram inicialmente atendidos por infectologista no serviço público da Secretaria de Saúde de Anápolis. O seguimento clínico das crianças foi concluído na cidade de origem, supervisionado pelo serviço de Vigilância de cada município.

Processamento e Análise de Dados:

O tamanho da amostra foi estabelecido para detectar uma prevalência de 0,2% de toxoplasmose congênita com uma precisão de 0,15% e intervalo de confiança de 95%, resultando em 3.397 recém-nascidos. Levando-se em conta o número de nascidos vivos/mês em Goiás, estimou-se um período de 10 dias para captação dos casos necessários.

Informações sobre a cidade de origem, idade, prematuridade e peso do recém-nascido são coletadas na rotina pelo Programa de Triagem Neonatal do Estado de Goiás e foram disponibilizadas para a presente pesquisa (Microsoft Access 1997). Procedeu-se à criação de arquivo informatizado (Microsoft Office Excel 2003) contendo dados sócio-

demográficos, resultados de exames sorológicos dos neonatos e de suas mães, bem como dados de evolução clínica das crianças.

Após digitação e conferência os dados foram analisados utilizando os programas Epi-Info 6.04 CDC, Atlanta, GA, USA e Statistical Packagem for Social Science (SPSS/PC) versão 13.0. Foram utilizadas medidas de tendência central e dispersão para variáveis contínuas; distribuição percentual para variáveis categorias e intervalo interquartilico. Estimou-se a prevalência de toxoplasmose congênita tendo como numerador os casos que preencheram os critérios diagnóstico de infecção e como denominador o total de neonatos testados. O cálculo do IC95% desta proporção foi baseado na distribuição binomial. Diagrama de dispersão foi construído para avaliar a correlação entre os valores de densidade óptica (DO) do ELISA e os títulos da TRIFMA para a detecção de toxoplasmose congênita. Utilizou-se o teste de Spearman para estimar o coeficiente de correlação entre os valores da DO - ELISA e os títulos da TRIFMA (Kirkwood, 1988). Estabeleceu-se como nível de significância estatística $p < 0,05$.

Considerações Éticas:

Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Médica Humana e Animal do HC/UFG. O termo de consentimento escrito para seguimento clínico e laboratorial das crianças foi obtido de todas as crianças com resultados positivos ou limítrofes na triagem neonatal. Orientado tratamento específico, de acordo com as recomendações atuais (MS, 2004), para todas as crianças com diagnóstico de toxoplasmose congênita.

RESULTADOS

Foram rastreados 3.828 recém-nascidos para toxoplasmose congênita, procedentes de 211 municípios do estado de Goiás, atendidos pelo Serviço de Referência em Triagem Neonatal - APAE Anápolis-GO. A tabela 1 apresenta a distribuição das amostras coletadas na rotina do serviço de triagem da APAE em 2005 e das amostras rastreadas para toxoplasmose durante o período de estudo, em comparação com o número de nascidos vivos por macroregião em Goiás (SINASC).

A quase totalidade (98,6%) das amostras foi colhida até o 30º dia de vida. O tempo médio decorrido entre o nascimento e a coleta de sangue foi de 8,3 dias com cinco a dez dias de intervalos interquartílicos (25 e 75%). O peso médio dos recém-nascidos foi de 3.214 gramas (dp=490 g) e 3,5% foram classificados como prematuros.

Entre as 3.828 amostras rastreadas por TRIMFA, 16 (0,42%) apresentaram resultados positivos ou limítrofes e foram repetidas pela mesma técnica. Após a dupla testagem por TRIFMA foram identificados 12 neonatos com resultados positivos e quatro com resultados limítrofes para IgM anti *T. gondii* (Figura 1). A pesquisa de anticorpos IgM pela metodologia de ELISA foi realizada em 15 das 16 amostras positivas ou limítrofes pelo TRIFMA e em 523 amostras negativas. Foram identificadas seis amostras positivas e uma limítrofe por ELISA, das quais cinco também eram positivas pelo TRIFMA. A Figura 2 apresenta a correlação entre os resultados de triagem neonatal para anticorpos IgM específicos para *T. gondii* por ELISA e TRIFMA em 538 neonatos. O coeficiente de correlação de Spearman entre os valores da DO do ELISA e os títulos da TRIFMA foi de 0,99 ($p < 0,001$).

Dezoito recém-nascidos apresentaram resultados de triagem indicativos de infecção congênita pelo *T. gondii*, sendo que cinco amostras eram TRIFMA e ELISA

positivas, sete amostras TRIFMA positivas e ELISA negativas, uma amostra ELISA positiva e TRIFMA negativa e quatro TRIFMA limítrofes e uma ELISA limítrofe. Em 17 pares de mãe-lactentes foi realizado pesquisa de IgM e IgG por IFI, resultando em cinco recém-nascidos com diagnóstico sorológico compatível com toxoplasmose congênita. A tabela 2 mostra os principais aspectos demográficos, laboratoriais e clínicos dos lactantes com suspeita diagnóstica de toxoplasmose congênita. Em três casos o critério diagnóstico foi a presença de IgM e IgG no lactente e na mãe; em dois casos houve persistência/aumento de títulos de IgG no lactente e a detecção de IgM e IgG na mãe. Os cinco recém-nascidos identificados com toxoplasmose congênita foram diagnosticados somente pela triagem neonatal. Quatro mães fizeram exames no pré-natal e a investigação de toxoplasmose foi realizada apenas uma vez no primeiro trimestre de gestação, com valores não reagentes; uma mãe não fez pré-natal.

Considerando que cinco crianças de um total de 3.828 foram identificadas como infectadas a prevalência de toxoplasmose congênita foi estimada em 1,3 (IC95% 0,5 - 3,2) casos para 1.000 nascidos vivos. A figura 3 mostra a distribuição espacial por município dos casos de toxoplasmose congênita rastreados no estado de Goiás.

DISCUSSÃO

No presente estudo, a prevalência de toxoplasmose congênita foi estimada em 1,3 (IC95% 0,5 - 3,2) casos por 1.000 nascidos vivos em Goiás. Esta prevalência é muito elevada quando comparada com resultados obtidos em locais onde a triagem neonatal para toxoplasmose foi implantada há quase duas décadas, tais como Massachusetts e New Hampshire nos EUA (Guerina et al, 1994). No Brasil, estudos que incluíram a detecção de IgM anti *T. gondii* em papel filtro, na rotina de programas oficiais de triagem neonatal

para doenças metabólicas, de forma semelhante ao nosso estudo, também detectaram prevalências elevadas de toxoplasmose congênita, variando de 0,3 a 1,9 casos por 1.000 nascidos vivos (Petersen et al, 2001; Neto et al, 2004; Carvalheiro et al, 2005). A análise desses resultados dimensiona a importância da toxoplasmose congênita no nosso meio e reforça a necessidade de estratégias oficiais de prevenção.

A estratégia de triagem neonatal para toxoplasmose, utilizada no presente estudo, teve como vantagem operacional o fato de ter sido incorporada à rotina de um Programa de Triagem Neonatal para doenças metabólicas, implantando e bem estabelecido no nosso meio, garantindo a representatividade da amostra populacional, a padronização de procedimentos de coleta e de processamento das amostras.

A triagem neonatal para toxoplasmose, baseada na detecção de IgM específico, pressupõe a identificação de recém-nascidos infectados, muitas vezes assintomáticos, que não seriam diagnosticados por avaliação clínica de rotina nos serviços de saúde. No presente estudo, a triagem neonatal seguida de teste confirmatório identificou cinco casos de toxoplasmose congênita (1,3 casos/1.000 neonatos), dos quais metade era assintomática. Crianças infectadas e não tratadas apresentam risco de graves sequelas neurológicas e/ou oftalmológicas. Cabe destacar, também, que quatro das cinco mães referiam triagem pré-natal com resultados não reagentes para toxoplasmose. Esses resultados corroboram a indicação para o acompanhamento sorológico das gestantes soronegativas, conforme preconizado em alguns países (Gilbert et al, 2001).

Sabe-se que um teste pré-natal negativo não exclui infecção fetal pelo *T. gondii* (Bessieres et al, 2001). Em contrapartida, a triagem neonatal não detecta abortos e nem natimortos causados pela toxoplasmose congênita. Estima-se, também, que cerca de 15% dos neonatos infectados não sejam diagnosticados na triagem neonatal (Lebech et al, 1999). Anticorpos IgM anti *T. gondii* podem não ser detectados quando a infecção ocorre

no início da gestação ou quando as gestantes recebem medicação específica no pré-natal. (Guerina et al, 1994; Paul et al, 2001; Rodrigues, 2006). A utilização seqüencial de triagem pré-natal e neonatal possibilitaria identificar a maioria dos casos de toxoplasmose congênita (Bessieres et al, 2001), entretanto não existe avaliação de custo-efetividade para triagem seqüencial.

A triagem neonatal pode ser utilizada como vigilância sentinela para toxoplasmose congênita, sendo que estudos de prevalência em série poderiam indicar tendências epidêmicas. No presente estudo, foram identificados 1,3 casos de toxoplasmose congênita a cada 1.000 neonatos. Considerando que aproximadamente 85.000 recém-nascidos são rastreados anualmente no programa de triagem neonatal, esse programa poderia identificar em torno de 399 recém nascidos com suspeita de toxoplasmose congênita, com necessidades de outros testes confirmatórios. Estima-se que cerca de 111 casos de toxoplasmose congênita seriam confirmados e necessitariam de acompanhamento clínico, exames complementares e tratamento específico.

A metodologia utilizada, no presente estudo, imunofluorometria por tempo resolvido IgM específico do sistema Autodelfia para triagem neonatal de toxoplasmose congênita, tem como vantagem ser uma técnica totalmente automatizada e poder ser realizada juntamente com outras doenças congênitas (Hipotireoidismo Congênito, Hiperplasia Adrenal Congênita e Fibrose cística) rastreadas por Programa de Triagem Neonatal já estabelecido. O desempenho da metodologia TRIFMA (IgM e IgA) para detecção da toxoplasmose na triagem neonatal em papel filtro em comparação com ELISA e FEIA mostrou que o TRIFMA pode ser utilizado como método de triagem neonatal e que a detecção simultânea do anticorpo IgA não aumenta a sensibilidade do teste (Sorensen et al, 2002). Programa nacional de triagem neonatal para toxoplasmose na Dinamarca utiliza desde 2001 a metodologia TRIFMA considerando uma das

principais vantagens dessa técnica ser automatizada e realizada simultaneamente com outros testes de triagem neonatal (Schmidt et al, 2006).

No presente estudo, o percentual de falso-positivos na triagem com TRIFMA foi alto (68,7%). Outros investigadores utilizando testes com princípio semelhante (TRIFMA e/ou FEIA) na triagem e critérios laboratoriais e clínicos para confirmação diagnóstica encontraram percentuais de falso-positivos variando de 43,0 a 92,0% (Neto et al, 2000; Carvalheiro et al, 2005; Schmidt et al, 2006). Embora percentuais elevados de falso-positivos aumentem custos, são considerados aceitáveis em programas de triagem.

A triagem neonatal para toxoplasmose, em amostras de sangue seco colhidas em papel filtro, mostrou ser uma ferramenta simples, provavelmente de baixo custo e facilmente incluída no Programa de Triagem Neonatal para doenças metabólicas. Outros estudos são necessários para avaliar a sensibilidade e especificidade de testes de triagem e confirmatórios na rotina de serviços de saúde, além de estudos para avaliar custo-efetividade da triagem neonatal em regiões de alta prevalência de toxoplasmose congênita.

AGRADECIMENTOS

Este estudo recebeu apoio do Laboratório da Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Anápolis. Agradecemos à PerkinElmer Life and Analytical Sciences, Wallac Oy, da Finlândia, pela doação feita ao Laboratório da APAE Anápolis, Goiás, de 4000 ensaios para a pesquisa de IgM anti-*T. gondii*, e à Bio-oxford (Bio-Rad Laboratories) pela doação de 576 testes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Bessieres MH, Berrebi A, Rolland M, Bloom MC, Roques C, Cassaing S, Courjault C, Seguela JP 2001. Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on the results of neonatal tests. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 94: 37-45.

Camargo ME 2001. Toxoplasmose. In AW Ferreira, SLM Ávila, *Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-imune*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. p. 278-288.

Carvalho CG, Mussi-Pinhata MM, Yamamoto AY, De Souza CB, Maciel LM 2005. Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants. *Epidemiol Infect* 133: 485-491.

DATASUS 2006. Informações de saúde - Estatísticas vitais - Mortalidade e nascidos vivos. Disponível em: <http://w3.datasus.gov.br/datasus/datasus.php?area=359A1B378C5D0E0F359G22H011Jd5L25M0N&VInclude=../site/infsaude.php&VObj=http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sinasc/cnv/nv>. Acessado em: Julho 2006.

Gilbert R, Dezateux C 2006. Newborn screening for congenital toxoplasmosis: feasible, but benefits are not established. *Arch Dis Child* 91: 629-631.

Gilbert RE, Peckham CS 2002. Congenital toxoplasmosis in the United Kingdom: to screen or not to screen? *J Med Screen* 9: 135-141.

Gilbert RE, Gras L, Wallon M, Peyron F, Ades AE, Dunn DT 2001. Effect of prenatal treatment on mother to child transmission of *Toxoplasma gondii*: retrospective cohort study of 554 mother-child pairs in Lyon, France. *Int J Epidemiol* 30: 1303-1308.

Girald M, Portela RW, Snege M, Leser PG, Camargo ME, Mineo JR, Gazzinelli RT 2002. Immunoglobulin M (IgM)-glycoinositolphospholipid enzyme-linked immunosorbent assay: an immunoenzymatic assay for discrimination between patients with acute toxoplasmosis and those with persistent parasite-specific IgM antibodies. *J Clin Microbiol* 40: 1400-1405.

Guerina NG, Hsu HW, Meissner HC, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, Abroms I, Pasternack MS, Hoff R, Eaton RB, et al. 1994. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. The New England Regional Toxoplasma Working Group. *N Engl J Med* 330: 1858-1863.

Hemmila I, Dakubu S, Mikkala VM, Siitari H, Lovgren T 1984. Europium as a label in time-resolved immunofluorometric assays. *Anal Biochem* 137: 335-343.

IBGE 2006. Brasil estado por estado. Disponível em:

<http://www.ibge.gov.br/estadosat/perfil.php?sigla=go>. Acessado em: 31/07/2006.

Jones JL, Lopez A, Wilson M, Schulkin J, Gibbs R 2001. Congenital toxoplasmosis: a review. *Obstet Gynecol Surv* 56: 296-305.

Kirkwood B 1988. *Essentials of Medical Statistics*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 234 pp.

Lebech M, Andersen O, Christensen NC, Hertel J, Nielsen HE, Peitersen B, Rechnitzer C, Larsen SO, Norgaard-Pedersen B, Petersen E 1999. Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group. *Lancet* 353: 1834-1837.

Lopez A, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL 2000. Preventing congenital toxoplasmosis. *MMWR Recomm Rep* 49: 59-68.

Montoya JG, Liesenfeld O 2004. Toxoplasmosis. *Lancet* 363: 1965-1976.

Ministério da Saúde M 2004. Doenças infecciosas e parasitárias: Guia de bolso. 2004

Naot Y, Remington JS 1980. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. *J Infect Dis* 142: 757-766.

Neto EC, Anele E, Rubim R, Brites A, Schulte J, Becker D, Tuuminen T 2000. High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study. *Int J Epidemiol* 29: 941-947.

Neto EC, Rubin R, Schulte J, Giugliani R 2004. Newborn screening for congenital infectious diseases. *Emerg Infect Dis* 10: 1068-1073.

Paul M, Petersen E, Szczapa J 2001. Prevalence of congenital *Toxoplasma gondii* infection among newborns from the Poznan region of Poland: validation of a new combined enzyme immunoassay for *Toxoplasma gondii*-specific immunoglobulin A and immunoglobulin M antibodies. *J Clin Microbiol* 39: 1912-1916.

Petersen E, Pollak A, Reiter-Owona I 2001. Recent trends in research on congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 31: 115-144.

Rodrigues IMX 2006. *Diagnóstico pós-natal da toxoplasmose congênita através da detecção de anticorpos das classes IgG, IgM e IgA anti-Toxoplasma gondii*. Mestrado. Universidade Federal de Goiás: Goiânia. 114 pp.

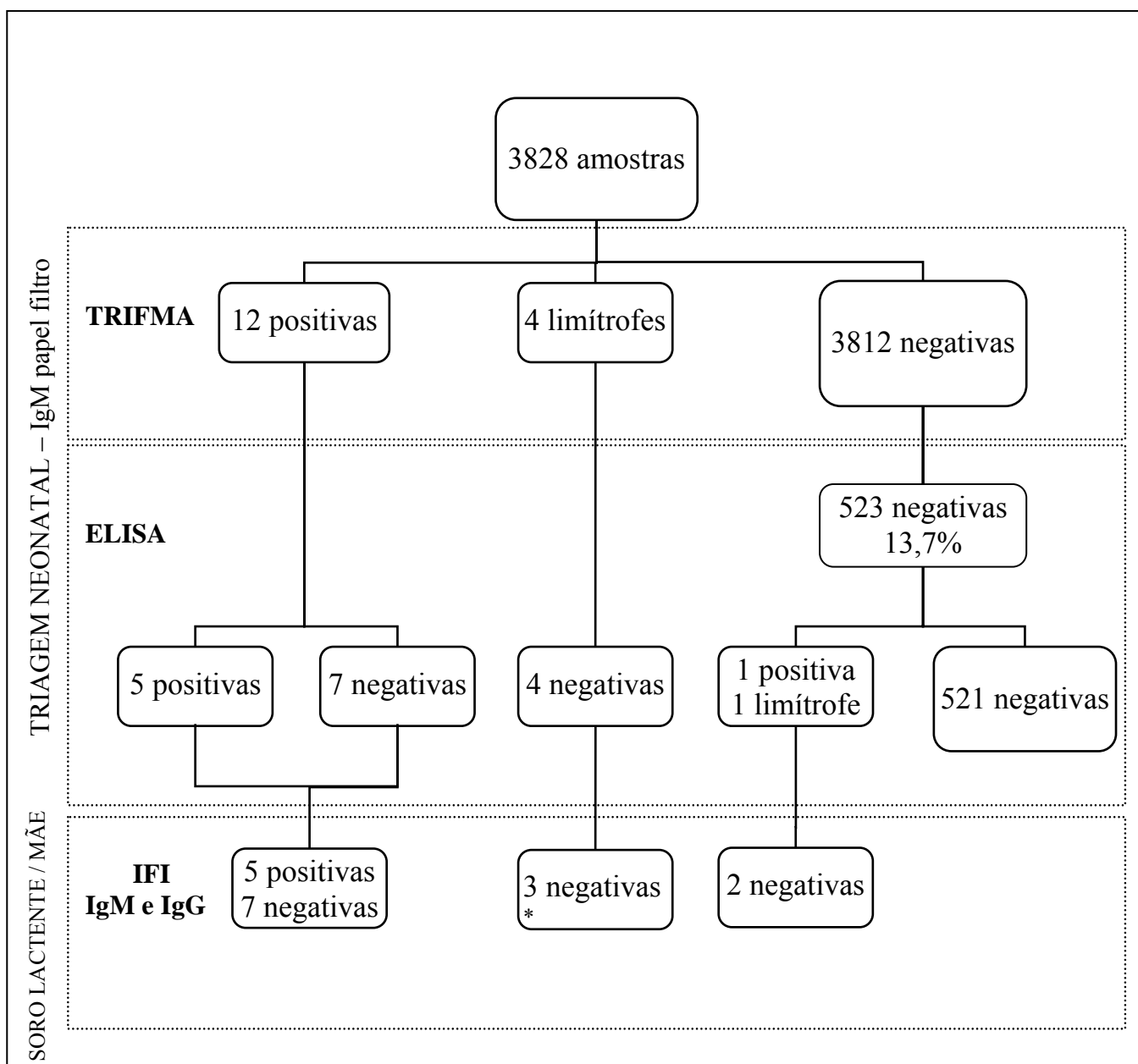
Schmidt DR, Høgh B, Andersen O, Fuchs J, Fledelius H, Petersen E 2006. The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark: results from the initial four years, 1999-2002. *Arch Dis Child* 91: 661-665.

Signorell LM, Seitz D, Merkel S, Berger R, Rudin C 2006. Cord blood screening for congenital toxoplasmosis in northwestern Switzerland, 1982-1999. *Pediatr Infect Dis J* 25: 123-128.

Sorensen T, Spenter J, Jaliashvili I, Christiansen M, Norgaard-Pedersen B, Petersen E 2002. Automated time-resolved immunofluorometric assay for *Toxoplasma gondii*-specific IgM and IgA antibodies: study of more than 130,000 filter-paper blood-spot samples from newborns. *Clin Chem* 48: 1981-1986.

Toledo AC, Jr., Januario JN, Rezende RM, Siqueira AL, Mello BF, Fialho EL, Ribeiro RA, Silva HL, Pires EC, Simoes TC, Greco DB 2005. Dried blood spots as a practical and inexpensive source for human immunodeficiency virus and hepatitis C virus surveillance. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100: 365-370.

FIGURA 1: Triagem para toxoplasmose congênita nos recém-nascidos inseridos no Programa de Triagem Neonatal do Estado de Goiás



TRIFMA – imunofluorometria por tempo resolvido

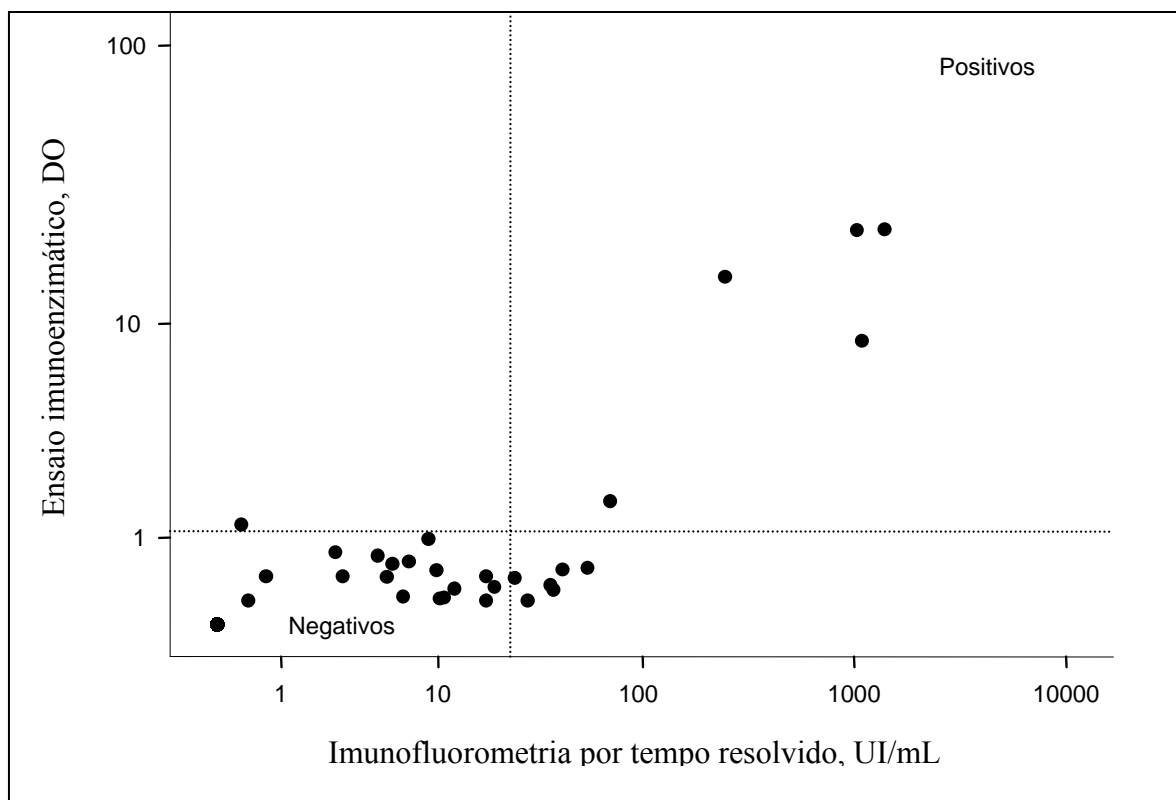
ELISA – ensaio imunoenzimático

IFI – imunofluorescência indireta

Lactentes com resultados positivos ou limítrofes para anticorpos IgM anti *T. gondii* na triagem em papel filtro, TRIFMA ou ELISA, (n=18) foram convocados para coleta de soro (média de 15 dias) para pesquisa de anticorpos IgM e IgG por IFI.

* Uma amostra não testada – perda de seguimento.

FIGURA 2: Correlação entre os resultados de triagem neonatal para anticorpos IgM específicos para *T. gondii* por ensaio imunoenzimático (ELISA) e imunofluorometria por tempo resolvido (TRIFMA) em amostras de 538 recém-nascidos



Eixo x e y em escala logarítmica

DO = densidade óptica

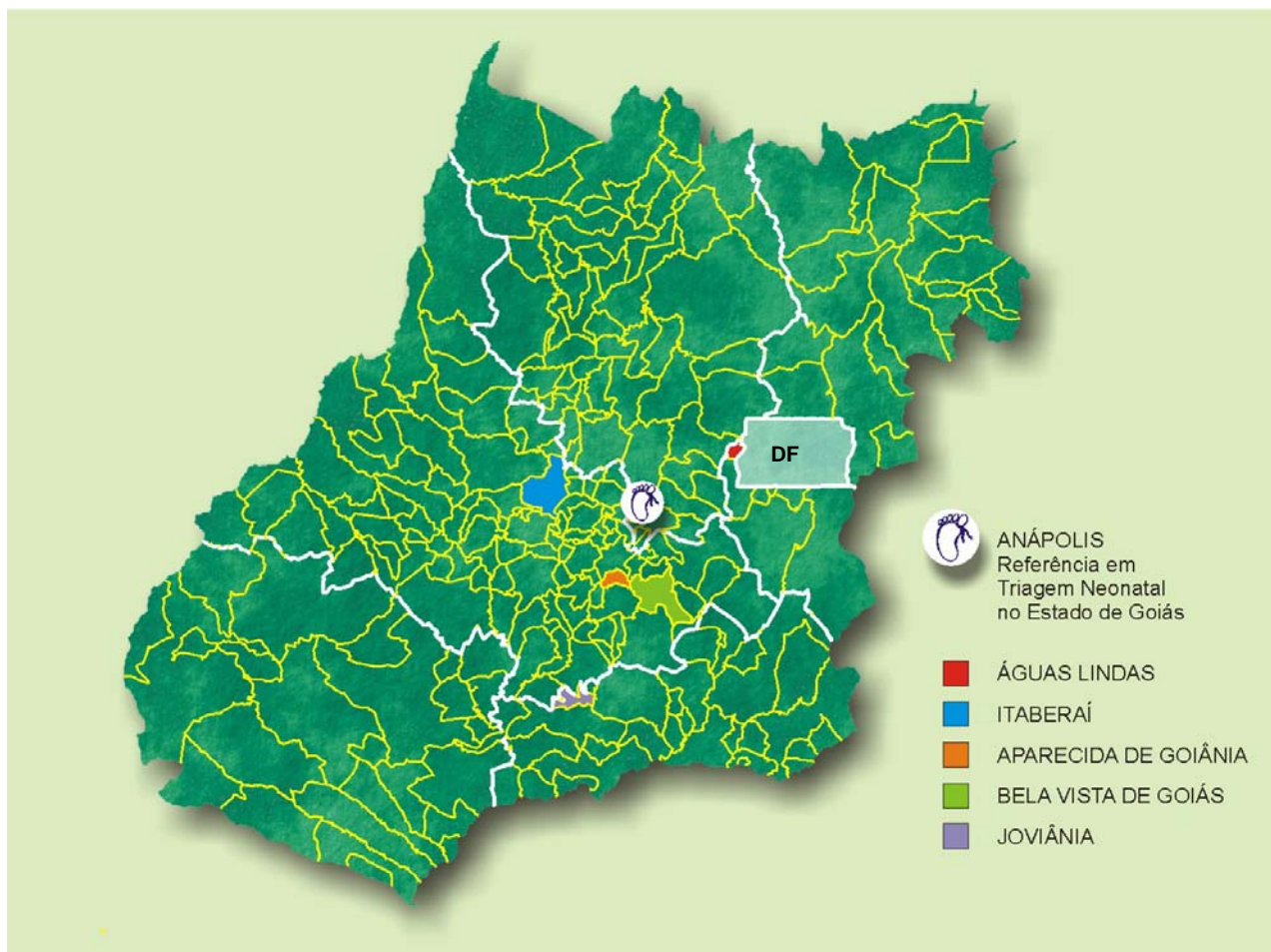
Linha pontilhada horizontal representa o ponto de corte do ELISA, $DO > 1,1$

Linha pontilhada vertical representa o ponto de corte do TRIFMA, valores $> 23,1$

UI/mL

Cada ponto pode representar mais de uma amostra para valores sobrepostos

FIGURA 3: Distribuição espacial por município dos casos de toxoplasmose congênita triados no estado de Goiás



DF – Distrito Federal

Linhas amarelas delimitam os municípios goianos

Linhas brancas delimitam as macroregiões do Estado de Goiás

Tabela 1: Distribuição por macroregião do número de nascidos vivos (SINASC 2004) em Goiás e do número de recém-nascidos triados para toxoplasmose congênita em relação à triagem neonatal na APAE em 2005.

Macroregião, GO	SINASC 2004 (%)	Triados na APAE em 2005 (%)	Triados para toxoplasmose congênita (%)
Centro Oeste	41.599 (45,60)	37.161 (43,83)	1.598 (41,75)
Nordeste	19.178 (21,02)	17.553 (20,70)	1.004 (26,23)
Centro Norte	15.409 (16,89)	15.136 (17,85)	661 (17,27)
Sudoeste	8.338 (9,14)	8.158 (9,62)	285 (7,44)
Sudeste	6.677 (7,32)	6.659 (7,85)	278 (7,26)
Ignorado - GO	30 (0,03)	124 (0,15)	2 (0,05)
Total	91.231 (100,0)	84.791 (100,0)	3.828 (100,0)

Tabela 2: Informações demográficas, laboratoriais e clínicas dos recém-nascidos com amostras positivas na triagem neonatal (TRIFMA ou ELISA) para toxoplasmose congênita.

TRIAGEM NEONATAL						CONFIRMATÓRIO (Sorologia - IFI)								Interpretação dos resultados sorológicos	Manifestações Clínicas
Município	Idade (Dias)	Peso ao Nascer	Sexo	IgM (Papel Filtro)		Recém Nascido				Mãe					
				TRIFMA	ELISA	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG		
JOVIANIA	20	3000	Masculino	1394	Positivo	1024	4096	-	-	128	2048	-	-	Infectado	Assintomático
APARECIDA DE GOIANIA	8	3150	Masculino	1089	Positivo	256	2048	-	-	64	2048	-	-	Infectado	Coriorretinite
AGUAS LINDAS DE GOIAS	22	3630	Feminino	1032	Positivo	64	8192	-	-	64	8192	-	-	Infectado	Estrabismo, retardo psicomotor, hepatomegalia
ITABERAI	4	2640	Masculino	245,8	Positivo	0	4096	0	2048	16	4096	16	2048	Infectado	Estrabismo, coriorretinite
LUZIANIA	10	2470	Feminino	88,1	*	0	0	-	-	0	0	-	-	Não infectado	
COCALZINHO	5	3320	Masculino	69,9	Positivo	0	2048	0	1024	0	8192	-	-	Não infectado	
AGUAS LINDAS DE GOIAS	19	3200	Masculino	54,6	Negativo	0	128	0	64	0	256	-	-	Não infectado	
BELA VISTA	7	2950	Feminino	41,3	Negativo	0	256	0	512	128	2048	64	8192	Infectado	Assintomático
MARA ROSA	5	3400	Masculino	37,4	Negativo	0	256	0	128	0	512	-	-	Não infectado	
IPAMERI	7	3200	Masculino	36,2	Negativo	0	2048	0	1024	0	2048	-	-	Não infectado	
DAMIANOPOLIS	33	2550	Feminino	28	Negativo	0	64	0	0	0	512	-	-	Não infectado	
GOIANIA	26	2980	Masculino	24,2	Negativo	0	0	-	-	0	0	-	-	Não infectado	
CIDADE OCIDENTAL	28	3960	Masculino	19,2	Negativo	0	1024	0	512	0	8192	-	-	Não infectado	
APARECIDA DE GOIÂNIA	11	3350	Masculino	17,5	Negativo	0	0	-	-	0	0	-	-	Não infectado	
FORMOSA	11	2450	Feminino	12,1	Negativo	0	256	-	-	0	1024	-	-	Não infectado	
VALPARAISO DE GOIAS	5	4240	Masculino	8,9	Limítrofe	0	512	0	256	0	1024	-	-	Não infectado	
ARAGUAPAZ	3	4050	Masculino	0,3	Positivo	0	1024	0	512	0	4096	-	-	Não infectado	

* Material Insuficiente. As concentrações do TRIFMA são expressas em UI/mL. ELISA é expresso em DO. IFI é expressa em títulos; quando necessário, as amostras de soro, primeiro e último título, foram repetidas em intervalos de 4 a 5 semanas

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

No presente estudo, evidenciou-se uma alta prevalência (1,3/1.000 nascidos vivos) de toxoplasmose congênita no Estado. A triagem neonatal para toxoplasmose em papel filtro, mostrou-se viável, operacionalmente simples e fácil de ser implantada no Serviço de Referência em Triagem Neonatal para doenças genéticas, em Goiás. Porém, são necessários outros estudos para avaliar o custo/benefício da triagem neonatal para toxoplasmose congênita, no nosso meio.

O programa de triagem neonatal para doenças genéticas já está bem estabelecido no Estado de Goiás, com ampla cobertura de municípios e inclusão de aproximadamente 85.000 recém-nascidos por ano. Estima-se que a inclusão de teste para detecção de anticorpos anti-*T. gondii*, na rotina de programa de triagem neonatal, em Goiás, possibilitaria detectar aproximadamente 399 casos suspeitos de toxoplasmose congênita a cada ano. Para efeito de estimativa, mantida a mesma proporção de falso-positivos encontrados no presente estudo, aproximadamente 111 casos de toxoplasmose congênita seriam diagnosticados em Goiás anualmente. Desta forma, torna-se necessário estabelecer protocolo para investigação dos casos suspeitos e protocolo de investigação, tratamento e acompanhamento dos casos confirmados de toxoplasmose congênita.

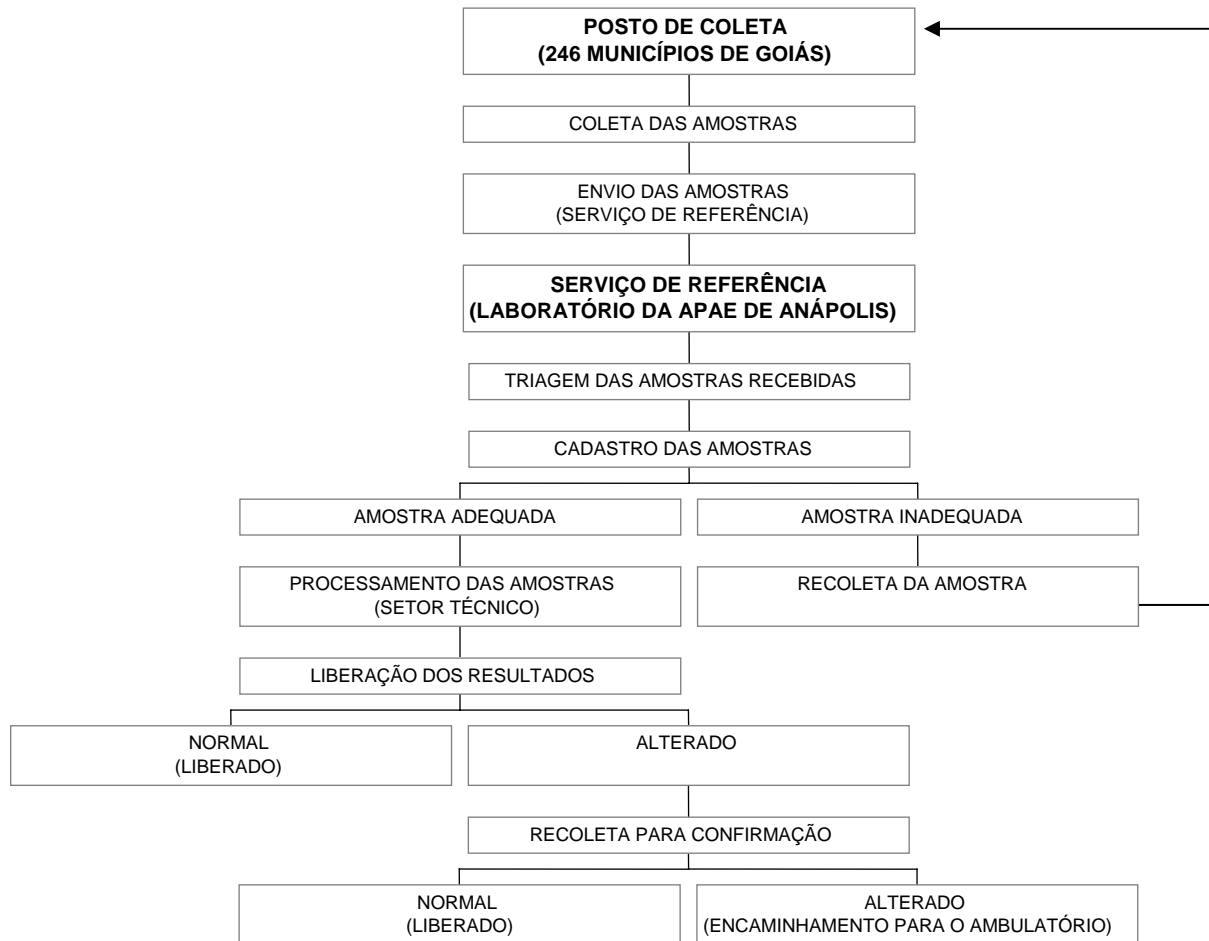
O presente estudo utilizou como método de triagem a pesquisa de anticorpos IgM específicos contra o *T. gondii*, em papel filtro, por TRIFMA e ELISA, com alto coeficiente de correlação entre os valores obtidos por essas duas metodologias. A pesquisa associada dos anticorpos IgA específicos para o *T. gondii* tem sido utilizada, em alguns programas de triagem neonatal, como estratégia para

aumentar a sensibilidade desse método. Cabe ressaltar a necessidade de mais estudos para avaliar benefícios e custos da pesquisa associada de anticorpos IgA e IgM na triagem neonatal para toxoplasmose.

O Programa de Proteção à Gestante do Estado de Goiás, realiza triagem pré-natal, para dez doenças infecciosas, incluindo a toxoplasmose, desde 2003. No presente estudo, através da triagem neonatal, identificou-se casos de toxoplasmose congênita em filhos de mães submetidas a exames de triagem pré-natal rotineira. Considerando que o Estado de Goiás é uma região de alta prevalência para toxoplasmose, esses resultados reforçam a necessidade de adequação de protocolos para acompanhamento de gestantes de risco (soro-negativas) e de seus conceptos. A vinculação sistemática dos resultados da triagem pré-natal e da triagem neonatal para toxoplasmose representaria uma importante ferramenta para a vigilância da toxoplasmose congênita. A triagem pré-natal e a triagem neonatal combinadas permitiriam estimar a magnitude do problema e identificar as melhores estratégias para reduzir a transmissão e as seqüelas da toxoplasmose congênita. Entretanto, outros estudos são necessários para avaliar o custo-efetividade de triagens seqüenciais (pré-natal e neonatal) em Goiás.

ANEXOS

Fluxograma da coleta e processamento das amostras



Cartão de coleta do Teste do Pezinho

LOTE: W011 VALIDADE: 01/2008 S&S 903 	NÃO DESTAQUE Responsável Coleta: Nome: _____ Amassar em ambiente seco e erigido	LABORATÓRIO DA APAE DE ANÁPOLIS Serviço de Referência de Triagem Neonatal em Goiás "TESTE DO PEZINHO"	NÚMERO DA DECLARAÇÃO DE NASCIDO VIVO <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	LABORATÓRIO DA APAE DE ANÁPOLIS Serviço de Referência de Triagem Neonatal em Goiás "TESTE DO PEZINHO"																	
		NOME COMPLETO DO RECÉM-NASCIDO: _____ NOME DA MÃE DO RECÉM-NASCIDO: _____ ENDEREÇO/TELEFONE DO RECÉM-NASCIDO: _____ NOME / TELEFONE E NÚMERO DO POSTO / MUNICÍPIO: _____		NOME / NÚMERO DO POSTO COLETA: _____ TELEFONE: _____ NOME DO RECÉM-NASCIDO: _____ DATA NASC: _____ DATA COLETA: _____ PREVISÃO RESULTADO: _____																	
		DATA COLETA: _____ HORA COLETA: _____ DATA NASCIMENTO: _____ HORA NASCIMENTO: _____		SEXO: <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M PESO AO NASCER: _____ COR: <input type="checkbox"/> br <input type="checkbox"/> pr <input type="checkbox"/> pd <input type="checkbox"/> am PREMATURO: <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N ANTIBIÓTICOS: <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N																	
		TRANSFUSÃO: <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N GEMELAR: <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> N ALIMENTAÇÃO: _____ DATA: _____ Lm Outras: _____		EXAMES A SEREM REALIZADOS - MARCAR COM "X" <table border="1"> <tr> <td>PKU</td> <td>TSH</td> <td>Hb</td> <td>Casa</td> <td>BIO</td> <td>IRT</td> <td>T4</td> <td>GAL</td> <td>CITOMEG</td> </tr> <tr> <td>17 OHP</td> <td>TGOX IgM</td> <td>HIV</td> <td>G6PD</td> <td>Sífilis IgM</td> <td>Chagas IgG</td> <td>Rubéola IgM</td> <td>MCAD</td> <td>Perfil Tandem</td> </tr> </table>		PKU	TSH	Hb	Casa	BIO	IRT	T4	GAL	CITOMEG	17 OHP	TGOX IgM	HIV	G6PD	Sífilis IgM	Chagas IgG	Rubéola IgM
PKU	TSH	Hb	Casa	BIO	IRT	T4	GAL	CITOMEG													
17 OHP	TGOX IgM	HIV	G6PD	Sífilis IgM	Chagas IgG	Rubéola IgM	MCAD	Perfil Tandem													

Retorne ao Posto de Coleta com este protocolo para receber o seu resultado.
 Para informações adicionais,
 Tels.: (62) 3098-2525.
"TESTE DO PEZINHO, DIREITO DE TODO RECÉM NASCIDO"

<h3>INFORMATIVO AOS PAIS</h3> <p>O teste do pezinho é um exame que pode detectar precocemente algumas doenças que levam a deficiência mental e/ou problemas à saúde da criança.</p> <p>A detecção e tratamento precoce destas doenças podem evitar estes problemas.</p> <p>É muito importante que a família retorne ao posto para buscar o resultado do exame.</p> <p>E-mail: apae@apaeaps.org.br - laboratorio@apaeaps.org.br</p>		
<h3>INSTRUÇÕES PARA COLETA.</h3> <ol style="list-style-type: none"> 1. Faça assepsia do calcanhar com álcool 70%. 2. Puncione o calcanhar com lanceta; 3. Permita a formação de uma grande gota; 4. Encoste a gota de sangue no centro do círculo do papel de filtro e observe a parte reversa do papel para ter certeza que foi embebida; 5. Deixe secar à temperatura ambiente durante 2 horas; 6. Após secar guardá-lo na geladeira ao abrigo de luz, e protegido contra a umidade em saco plástico; 7. Envie a amostra dentro de 24 horas usando envelope endereçado para o seguinte endereço: LABORATÓRIO DA APAE DE ANÁPOLIS - Av. Sen. José Laurence Dias, 1390 - Centro - Caixa Postal 227 - CEP 95.020-010 - Anápolis - Goiás - Brasil Fone/Fax: (62) 3098-2525 - Site: www.apae.org.br - e-mail: laboratorio@apaeaps.org.br <p>Observação: (uso exclusivo do SRTN)</p>		

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: Rastreamento laboratorial para toxoplasmose congênita em recém-nascidos do Estado de Goiás

Você e seu filho (a) estão sendo convidados (as) para participarem, como voluntários, na pesquisa intitulada Rastreamento laboratorial para toxoplasmose congênita em recém-nascidos do Estado de Goiás. Após ser esclarecidos (as) sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e outra é do pesquisador. Se aceitar participar e decidir retirar seu consentimento, não será prejudicado em seu tratamento. Em caso de dúvida sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com a pesquisadora responsável Taís Pires Terra Araújo no telefone (62) 3098 – 2525.

Pesquisadora: Taís Pires Terra Araújo. Assinatura: _____

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Pesquisa: Rastreamento laboratorial para toxoplasmose congênita em recém-nascidos do
Estado de Goiás

Eu _____, RG _____,
CPF _____, responsável pelo (a) menor _____
permito a admissão no Estudo de Prevalência Laboratorial para Toxoplasmose Congênita que está sendo realizado pela Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Anápolis e pela Universidade Federal de Goiás. Fui devidamente informada e esclarecida pela pesquisadora sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi me garantido que posso retirar meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade ou interrupção de meu acompanhamento/tratamento.

O estudo realizará a triagem laboratorial através da coleta rotineira do teste do pezinho para exame de toxoplasmose congênita nos recém-nascidos atendidos no Serviço de Referência em Triagem Neonatal do Estado de Goiás. O exame confirmatório será realizado nos recém-nascidos com suspeita laboratorial e suas respectivas mães.

Um profissional envolvido no trabalho me informou que esse estudo deverá esclarecer algumas questões sobre a doença, tais como:

(1) a quantidade de recém-nascidos que adquirem essa infecção. Sabe-se que nem toda criança infectada pelo *Toxoplasma* apresenta manifestações clínicas como as alterações oculares, neurológicas e cardíacas. Por isso é importante fazer exame de sangue para verificar quais crianças estão infectadas e encaminhá-las ao devido tratamento.

(2) se foi diagnosticado doença/infecção aguda pelo *T. gondii* na mãe durante a gestante e se houve tratamento.

Autorizo a equipe a fazer algumas perguntas sobre as condições em que vivo e sobre alguns hábitos e comportamentos. Permito que seja coletado sangue da minha veia e da veia do meu filho (a), usando agulha e tubo de coleta (material descartável), perfurando a pele até alcançar a veia do braço, a fim de colher 5 a 10 ml. Este procedimento pode causar um leve desconforto, como dor no local da punção, e, raramente, pode levar ao aparecimento de uma mancha roxa ao redor da picada, causada pelo extravasamento de pequena quantidade de sangue (hematoma). Em caso de necessidade permito a coleta de nova amostra.

Estou ciente que o resultado dos exames será entregue através de carta, ou pessoalmente no serviço de saúde. Esses resultados não serão passados para outras

pessoas e o meu nome ou do meu filho também não serão revelados. Caso o exame indique suspeita de toxoplasmose congênita no recém-nascido ele será encaminhado ao Ambulatorio Multidisciplinar Especializado da APAE de Anápolis, com data e hora marcada para o devido atendimento. Caso seja necessário atendimento mais especializado será feito novo encaminhamento para o Hospital das Clinicas da UFG.

Permito que o Laboratório da APAE de Anápolis conserve, sob sua guarda, qualquer material coletado para exame laboratorial. Autorizo ainda a utilizar as informações clínicas e laboratoriais de minha pessoa ou filho em reuniões, congresso e publicações científicas sem que nosso nome apareça.

Finalmente, estou ciente que caso eu deseje mais esclarecimentos ou caso eu tenha qualquer dúvida sobre a pesquisa, a equipe que trabalha com triagem neonatal me responderá a qualquer dúvida pelo telefone (62) 3098 2525 com Taís Pires Terra Araújo. Caso eu não queira participar ou se quiser desistir em qualquer momento, isso não vai implicar em nenhum prejuízo de qualquer natureza para minha pessoa ou de meus familiares.

Eu concordo em participar deste estudo, assinando esse termo em duas vias, ficando uma cópia comigo.

Local, data.

Nome e assinatura do paciente (e responsável pelo menor de 18 anos):

Testemunha:

Nome: _____ Assinatura: _____

Nome: _____ Assinatura: _____

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)