



**Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,  
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO: ESTUDO CLÍNICO,  
DIAGNÓSTICO E EPIDEMIOLÓGICO EM UM CENTRO DE  
REFERÊNCIA DO RIO DE JANEIRO**

**Bianca Balzano De La Fuente Villar**

**Rio de Janeiro  
Janeiro de 2019**



**Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,  
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO: ESTUDO CLÍNICO,  
DIAGNÓSTICO E EPIDEMIOLÓGICO EM UM CENTRO DE  
REFERÊNCIA DO RIO DE JANEIRO**

**Bianca Balzano De La Fuente Villar**

**Rio de Janeiro  
Janeiro de 2019**



**Fundação Oswaldo Cruz  
Instituto Nacional de Saúde da Mulher,  
da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira**

**TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO: ESTUDO CLÍNICO,  
DIAGNÓSTICO E EPIDEMIOLÓGICO EM UM CENTRO DE  
REFERÊNCIA DO RIO DE JANEIRO**

**Bianca Balzano De La Fuente Villar**

Dissertação apresentada à Pós-graduação em Pesquisa Aplicada à Saúde da Criança e da Mulher, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador(a): Dr<sup>a</sup> Leticia da Cunha Guida

Co-orientador(a): Dr<sup>a</sup> Elizabeth de Souza Neves

**Rio de Janeiro  
Janeiro de 2019**

**FICHA CATALOGRÁFICA NA FONTE INSTITUTO DE  
COMUNICAÇÃO E INFORMAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA  
EM SAÚDE BIBLIOTECA DA SAÚDE DA MULHER E DA CRIANÇA**

CIP - Catalogação na Publicação

Villar, Bianca.

Toxoplasmose na Gestação: Estudo Clínico, Diagnóstico e Epidemiológico em um Centro de Referência do Rio de Janeiro / Bianca Villar. - Rio de Janeiro, 2019.

65 f.

Disserta o (Mestrado em Ciências) - Instituto Nacional de Saúde da Mulher, da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira, Rio de Janeiro - RJ, 2019.

Orientador: Letícia da Cunha Guida.

Co-orientador: Elizabeth de Souza Neves.

Bibliografia: f. 50-53

1. Toxoplasmose. 2. Assistência Pré-Natal. 3. Tratamento. 4. Rea o em Cadeia da Polimerase. 5. Toxoplasmose Congênita. I. Título.

Elaborada pelo Sistema de Gera o Automática de Ficha Catalográfica da Biblioteca da Saúde da Mulher e Criança/ICICT/IFF com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Letícia da Cunha Guida, pela oportunidade, confiança, disponibilidade e orientação segura em tantos momentos de hesitação.

À Dra. Elizabeth de Souza Neves, pelo exemplo como profissional, pelo carinho e apoio pleno.

Ao Dr. José Paulo Pereira Junior pelos ensinamentos e apoio ao longo do estudo.

Aos Drs. Leonardo Henrique Ferreira Gomes, Danielle Rocha e demais membros do laboratório de alta complexidade do IFF/Fiocruz pelo auxílio na realização dos exames de PCR.

Aos membros do Laboratório de Imunologia do IFF/Fiocruz pelo auxílio e prontidão na emissão dos resultados de diagnóstico sorológico.

Às queridas alunas de iniciação científica Virginia Claire Louro e Juliana Frazão Lessa pela dedicação e responsabilidade.

Ao Dr. Saint Clair dos Santos Gomes Junior pela paciência e disponibilidade na análise dos dados.

Aos colegas do curso, pelo estímulo e amizade.

Aos professores da Pós-Graduação, pelo empenho e generosidade no compartilhamento de seus conhecimentos.

À Secretaria Acadêmica, pela eficiência e atenção durante todo o curso.

À minha mãe, pelo força e amor incondicional.

A Diego Carneiro Zimmermann pelo apoio, paciência e companheirismo.

A Braz Masullo e Filomena Balzano pelo estímulo e exemplo.

À minha família e amigos pela torcida.

Aos pacientes e seus familiares, pelos ensinamentos de cada dia.

## LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

DNA- Ácido desoxirribonucleico

FAM- 6-carboxi-fluoresceína

IFF- Instituto Nacional de Saúde da Mulher da Criança e do Adolescente  
Fernandes Figueira

OMS- Organização Mundial de Saúde

PCR- Reação em cadeia da polimerase

PIBIC- Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica

qPCR- Reação em cadeia da polimerase em tempo real

RNAase P- Ribonuclease nuclear P

*T. gondii* - *Toxoplasma gondii*

TAMRA- 6-carboxi-tetrametil-rodamina

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Fluxograma diagnóstico da toxoplasmose em gestantes.....	19
Figura 2: Conjunto de iniciadores utilizados nas reações de PCR em tempo real .....	29
Figura 3: Fluxograma do desenho de estudo.....	31
Figura 4: Fluxograma das causas de exclusão e confirmação do diagnóstico de infecção aguda pelo toxoplasma nas gestantes avaliadas no centro de referência.	36
Figura 5: Gráfico de amplificação da amostra de DNA extraído do líquido amniótico gerado através do <i>Applied Biosystem 7500 Real-Time PCR Software</i> . Eixo x - ciclos; eixo y – valores de fluorescência normalizada ( $\Delta Rn$ ). A seta indica a curva de amplificação do controle, e a cabeça de seta indica as curvas referentes à triplicata da amostra .....	38



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Faixa etária, origem e trimestre de gestação do primeiro atendimento no serviço de referência em doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz de gestantes com infecção aguda por toxoplasmose, 2014-2017.....	32
Tabela 2: Trimestre de gestação para primeiro atendimento no serviço de doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz segundo a origem do sistema de saúde (público, privado) ou demanda espontânea, 2014-2017.....	34
Tabela 3: Prescrição do tratamento para toxoplasmose segundo a origem de atendimento (público, privado) entre as gestantes encaminhadas ao serviço de doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz, 2014-2017.....	36
Tabela 4: Descrição dos recém-nascidos com diagnóstico de toxoplasmose congênita.....	40

## RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, altamente prevalente no Brasil. A infecção em gestantes incorre no risco de acometimento fetal. O rastreamento sorológico durante o pré-natal é importante visto que o curso da doença é em sua maioria subclínico. O tratamento compreende o uso de espiramicina, e em caso de confirmação de infecção fetal, sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico. A reação em cadeia da polimerase (PCR) no líquido amniótico apresenta excelente sensibilidade e especificidade e permite estabelecer o diagnóstico fetal. Fatores sociais já foram relacionados à infecção congênita pois influenciam diretamente na qualidade da assistência pré-natal. Ainda não há um consenso nacional para a condução da toxoplasmose na gestação. O objetivo deste estudo é descrever os dados clínicos, laboratoriais e epidemiológicos de gestantes e seus recém-nascidos acompanhados em um centro de referência no Rio de Janeiro com diagnóstico de toxoplasmose. Este é um estudo descritivo de uma coorte de gestantes com toxoplasmose acompanhadas no período de maio de 2014 a dezembro de 2017. A amostra foi composta por 334 participantes. Foi realizada entrevista presencial, por telefone e revisão de prontuários, com coleta de dados sociodemográficos. Foram abordadas questões referentes ao conhecimento sobre a doença e suas formas de prevenção, além de dados clínicos e laboratoriais das gestantes e dos recém-nascidos. Observamos predomínio de uma população de baixa renda e pouca escolaridade, proveniente principalmente dos serviços públicos de saúde (178/53,29%) e encaminhadas ao centro de referência tardiamente, no segundo e terceiro trimestre de gestação (286/85,63%). O diagnóstico de toxoplasmose aguda não foi confirmado em 171 (51,20%) casos e o tratamento foi iniciado nos serviços de origem em apenas 183 (54,95%) gestantes, com prescrição incorreta em 45 (24,59%) destas. Foram realizadas 72 amniocenteses, com positividade da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) no líquido amniótico em dois (2,78%) casos. O diagnóstico de toxoplasmose congênita ao nascimento foi identificado em oito (5,44%) recém-nascidos. O diagnóstico e o tratamento tardios da toxoplasmose na gestação foram fatores preponderantes como oportunidades perdidas na prevenção da doença congênita.

**Palavras-Chave: Toxoplasmose, Assistência Pré-Natal, Tratamento, Reação em Cadeia da Polimerase, Toxoplasmose Congênita.**

## ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonotic disease that occurs all over the world and is highly prevalent in Brazil. During pregnancy, it may affect the fetus. Serological screening during prenatal care is important because the course of the disease is mostly asymptomatic. Treatment includes the use of spiramycin, and, should fetal infection be confirmed, sulfadiazine, pyrimethamine and folinic acid. Polymerase chain reaction (PCR) in amniotic fluid shows excellent sensitivity and specificity and enables fetal diagnosis. Social factors have been linked to congenital infection because they have a direct impact on the quality of prenatal care. There is no national consensus for toxoplasmosis treatment during pregnancy. The objective of this study is to describe the clinical, laboratory and epidemiological data of pregnant women and their newborns with a diagnosis of toxoplasmosis treated at a referral center in Rio de Janeiro. This is a descriptive study of a cohort of pregnant women with toxoplasmosis accompanied from May 2014 to December 2017. The sample was composed of 334 participants. Face-to-face interviews and by telephone were conducted, as well as the analysis of medical records to collect sociodemographic data. Questions regarding knowledge about the disease and its types of prevention, as well as clinical and laboratory data of pregnant women and newborns were addressed. We observed a predominance of low-income population with little schooling, mainly from public health services (178/53,29%) and referred to the treatment center late in the second and third trimester of pregnancy (286/85,63%). The diagnosis of acute toxoplasmosis was not confirmed in 171 (51.20%) cases and only 183 (54,95%) pregnant women started their treatment at the first clinic they went to, with an incorrect prescription in 45 (24,59%) of these cases. A total of 72 amniocenteses were performed, with two (2,78%) positive real-time polymerase chain reaction (qPCR) in the amniotic fluid. Congenital toxoplasmosis at birth was identified in eight (5,44%) newborns. Late diagnosis and treatment of toxoplasmosis during pregnancy resulted in several missed opportunities to prevent congenital disease.

**Keywords: Toxoplasmosis,, Prenatal Care, Treatment, Polymerase Chain Reaction, Congenital Toxoplasmosis.**

## SUMÁRIO

Introdução .....	12
Justificativa .....	14
Objetivos.....	16
Objetivo geral: .....	16
Objetivos específicos: .....	16
Referencial Teórico .....	17
Metodologia.....	25
Resultados.....	31
Discussão .....	42
Considerações Finais.....	48
Propostas a partir deste estudo .....	49
Referências Bibliográficas .....	50
Apêndice I .....	54
Apêndice II .....	56
Apêndice III .....	58
Apêndice IV.....	61
Anexo I .....	64

## Introdução

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*)(1). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2015 este agente foi classificado como o terceiro principal causador de doença transmitida por alimentos(2,3).

Os felinos são os hospedeiros definitivos que contaminam o meio ambiente pela eliminação de oocistos do protozoário nas fezes(4). O homem se infecta pelo consumo de água e alimentos contaminados como vegetais e carnes malcozidos e menos comumente por meio de transplante de órgãos sólidos, hemotransfusão e acidentes com materiais biológicos(5).

As manifestações clínicas da doença podem variar desde formas assintomáticas a casos graves que acometem principalmente os imunocomprometidos e fetos(4). Em caso de infecção durante o período gestacional, o diagnóstico precoce e a implementação do tratamento adequado, permitem reduzir danos futuros ao concepto(6).

A detecção de imunoglobulinas específicas anti *T. gondii* das classes IgG e IgM com auxílio do teste de avidéz de IgG representam atualmente as principais ferramentas diagnósticas disponíveis. No entanto estes testes apresentam limitações que podem gerar dúvidas na condução dos casos(7).

A detecção do DNA (ácido desoxirribonucleico) do toxoplasma pelo teste de reação em cadeia da polimerase (PCR) no líquido amniótico, contribui para a confirmação da infecção congênita e reduz algumas lacunas deixadas pelos testes sorológicos(8).

Os benefícios do tratamento durante a gestação já são amplamente reconhecidos. Utiliza-se a espiramicina para prevenir a transmissão materno-fetal e a associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico em caso de confirmada infecção no feto(9).

Os fatores sociais também estão associados ao risco aumentado de desenvolver a forma congênita da toxoplasmose, uma vez que alguns deles interferem diretamente na qualidade do atendimento pré-natal(10). Este conhecimento permite nortear onde se deve atuar de forma mais efetiva para que as gestantes acometidas pela toxoplasmose sejam avaliadas e conduzidas da maneira mais adequada a fim de reduzir possíveis danos fetais.

Apesar da importância do seu diagnóstico e tratamento durante a gestação já estar bem estabelecida, ainda não há um consenso sobre como conduzir esses casos(2). A falta de conhecimento do verdadeiro ônus da toxoplasmose na gestação talvez seja determinante para que a doença congênita seja ainda uma infecção negligenciada(2). O estudo de uma coorte de gestantes atendidas num centro de referência em toxoplasmose pode ser útil para que sejam identificados os principais problemas na condução desses casos eventualmente contribuindo para que sejam futuramente traçadas políticas de prevenção da toxoplasmose congênita.

## Justificativa

O *T. gondii* se enquadra em um grupo de agentes etiológicos que passam pela barreira transplacentária, expondo o feto ao risco de adoecer(11). Em função da importante variação da prevalência da toxoplasmose em mulheres gestantes no Brasil (36 a 92%) (1), há grande probabilidade de aquisição da infecção entre as não imunes.

Os custos para o sistema de saúde com um feto infectado superam os gastos referentes à monitorização sorológica e o tratamento ainda empregado durante a gestação(12).

A utilização da PCR no líquido amniótico permite o diagnóstico de infecção fetal e reduz o uso desnecessário do esquema tríplice de tratamento. Além disso, auxilia na conduta terapêutica pós-natal dos bebês e diminui possíveis fatores de confundimento relacionados ao uso dos testes sorológicos(8).

O conhecimento de fatores sociais que interferem na qualidade do atendimento pré-natal, pode direcionar as políticas de saúde e assim reduzir o insucesso terapêutico e desfechos desfavoráveis(13).

Desde o primeiro contato durante a graduação como bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) em estudos voltados a gestantes com toxoplasmose aguda e posteriormente com a experiência adquirida nos atendimentos a essa população como médica-infectologista no município do Rio de Janeiro, as dificuldades na prevenção da transmissão vertical de doenças infecciosas em especial da toxoplasmose me surpreenderam. Realizar um estudo que permitisse identificar e destacar essas questões já observadas na prática clínica, poderia ser um instrumento que contribuísse de alguma forma para a elaboração de políticas de saúde e condutas em prol da redução dos casos de toxoplasmose congênita.

Apesar de haver alguns estudos similares em outras regiões do país(1,10), ainda não há um estudo que descreva a situação atual do atendimento prestado às gestantes com diagnóstico de toxoplasmose no Município do Rio de Janeiro, visto que a recomendação pela Secretaria Municipal de Saúde ainda sugere que não se faça de rotina o rastreamento da infecção durante o pré-natal(14). No presente trabalho foi utilizada a base de dados PubMed.

O alto risco de infecção materna no Brasil, a gravidade em caso de doença congênita e as dificuldades do atendimento pré-natal justificam a necessidade em realizar um projeto de pesquisa que busque descrever a atual situação da toxoplasmose congênita no Rio de Janeiro.



## Objetivos

### **Objetivo geral:**

a. Descrever as características clínicas, diagnósticas e epidemiológicas de gestantes com toxoplasmose atendidas em um centro de referência do município do Rio de Janeiro.

### **Objetivos específicos:**

b. Descrever as variáveis sociodemográficas e informações prévias desta população de gestantes sobre a doença.

c. Descrever as variáveis referentes ao diagnóstico e tratamento desta população de gestantes tanto nos serviços de saúde de origem, quanto no serviço de referência;

d. Descrever a positividade da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) no líquido amniótico de gestantes com diagnóstico de toxoplasmose.

e. Descrever os resultados de exames realizados nos recém-nascidos das mães que tiveram diagnóstico de toxoplasmose durante a gestação, sendo eles a ultrassonografia transfontanela, exame de fundo de olho e sorologia para toxoplasmose IgM e IgG.

## Referencial Teórico

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial causada pelo *T. gondii*, protozoário intracelular obrigatório, distribuído no meio ambiente em três formas evolutivas: oocistos, cistos teciduais e taquizoítas(5).

Os oocistos são eliminados nas fezes de felinos, seus hospedeiros definitivos, e representam sua forma de resistência, permanecendo no solo e coleções hídricas por até um a dois anos(5). São a forma associada à infecção humana na maioria dos casos da região Leste do Brasil(10). O homem, hospedeiro intermediário, pode ser infectado também pela ingestão de carnes malcozidas contendo cistos teciduais, pela passagem dos taquizoítas pela via transplacentária e menos comumente pelo transplante de órgãos sólidos, transfusão de hemoderivados e acidentes com materiais biológicos(3,5).

Diferenças genótípicas podem ser encontradas dependendo da região geográfica(15). Existem três linhagens clonais típicas reconhecidas do *T. gondii* (tipos 1, 2 e 3), além das cepas atípicas do protozoário(16). Na América do Sul, inclusive no Brasil, há grande diversidade de linhagens clonais do toxoplasma, com predomínio dos tipos 1, 3 e das cepas atípicas(17). Na Europa ocidental há predomínio da cepa do tipo 2 como causadora de doença humana, enquanto na América do Norte, as três cepas são observadas como causadoras de infecção(15). Na América do Norte e Sul, verificou-se que cepas atípicas e mais virulentas estão relacionadas a manifestações clínicas mais agressivas em imunocompetentes(16).

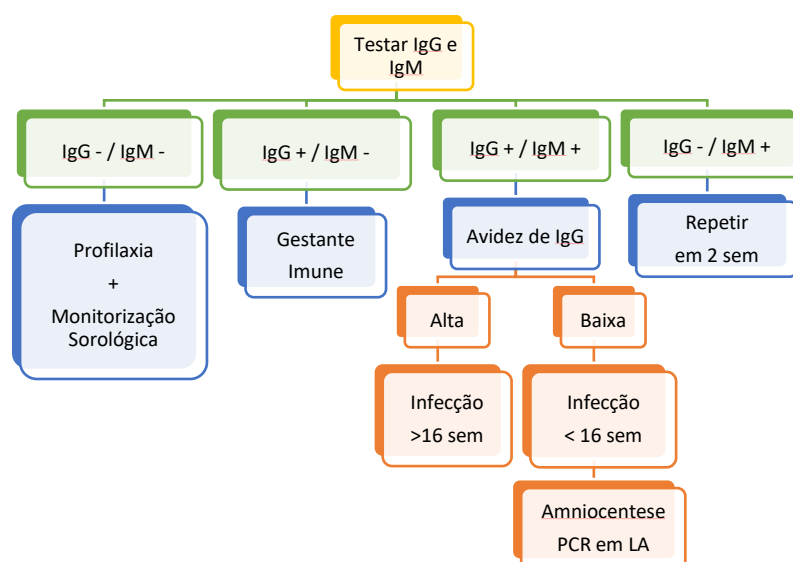
As manifestações clínicas da toxoplasmose podem variar desde formas assintomáticas a formas graves que acometem principalmente os fetos e indivíduos imunocomprometidos(6). Entre a população de gestantes, apenas 30%

apresentam sintomatologia na infecção primária, o que dificulta seu diagnóstico, e é nesse período que pode ocorrer a transmissão via transplacentária(2). Reinfecção é um evento raro e reativação da doença está associada principalmente a situações de imunodepressão(5).

Os testes sorológicos com detecção de imunoglobulinas específicas anti-*T. gondii* das classes IgG e IgM representam a ferramenta diagnóstica principal na determinação da infecção durante a gestação(9). A presença de anticorpos IgM, sugere infecção aguda, entretanto sua persistência por até mesmo anos na corrente sanguínea pode gerar dúvidas na condução dos casos(7). A presença de resultados falso-positivos devido à baixa especificidade de alguns testes comerciais, utilizados principalmente para rastreamento da infecção leva à necessidade de confirmação diagnóstica em laboratórios de referência(9). Os testes mais utilizados podem ser classificados em duas categorias distintas: os utilizados para rastreamento e os considerados confirmatórios(7). Os testes para rastreamento são de baixo custo, disponíveis comercialmente, de execução rápida ou limitados a uma pequena quantidade de soro, como os ensaios de imunoaglutinação, e os automatizados como os imunoenzimáticos (ELISA) e o de quimioluminescência(7). Já os testes confirmatórios são mais caros, alguns *in-house* e mais complexos eventualmente utilizando parasitos vivos e restritos a centros de referência, como o teste do corante (Sabin-Feldman), reação de imunofluorescência indireta (RIFI), Imunoblot e aglutinação diferencial (AC/HS)(7).

Outra ferramenta diagnóstica disponível para auxiliar na definição dos casos é o teste de avidéz por IgG, um marcador temporal que permite a distinção entre infecção passada ou adquirida mais recente(9). Esta técnica, baseia-se no

fato de que a afinidade dos anticorpos eleva-se progressivamente com o tempo devido ao aumento da complementaridade do sítio de ligação antígeno-anticorpo por um processo de seleção de células B mediado por antígeno(5). Esta ligação é estabelecida por pontes de hidrogênio e interações Van der Waals tornando o complexo antígeno-anticorpo resistente à ação de agentes desnaturantes como a uréia. Sua principal funcionalidade consiste nos casos de gestantes que apresentam sorologia IgM e IgG reagentes e avidéz forte nos primeiros meses de gestação (de preferência nas primeiras 16 semanas), na qual que permite inferir que se trata de uma infecção passada sem risco para o feto e, por consequência reduz o uso desnecessário do tratamento para toxoplasmose ou a realização de procedimentos invasivos como é o caso da amniocentese para análise da PCR no líquido amniótico(5). No entanto, baixa avidéz não significa necessariamente infecção recente, podendo haver persistência destes resultados por até um ano por retardo na maturação da IgG(18). Do mesmo modo, avidéz intermediária pode ser observada em até 40% dos pacientes com IgM negativa(18).



**Figura 1:** Fluxograma diagnóstico da toxoplasmose em gestantes.

Em algumas coortes de mulheres(19–21) com rastreamento sorológico para toxoplasmose durante a gestação e tratadas corretamente para infecção primária, a prevalência de transmissão materno-fetal é menor do que 5%(6). A infecção fetal ocorre mais facilmente no último trimestre da gestação, entretanto, seu acometimento no primeiro trimestre pode causar manifestações clínicas mais graves(6). A transmissão materno-fetal pode variar segundo a idade gestacional, sendo por volta de 15% com 13 semanas, 44% com 26 semanas e 71% com 37 semanas(6).

A tríade clássica da toxoplasmose congênita (tríade de Sabin) apresenta-se com a associação de retinocoroidite, hidrocefalia e calcificações cerebrais, podendo levar à morte fetal(5). A maioria dos casos de infecção congênita é assintomática ao nascimento, entretanto, 85% desses recém-nascidos desenvolvem lesão retiniana nos dois primeiros anos de vida e 55% alterações neurológicas(22).

A transmissão transplacentária de anticorpos da classe IgG da mãe para o feto pode ocorrer e com isso, espera-se que no recém-nascido haja a queda da IgG em torno de 50% no primeiro mês de vida e seu desaparecimento em torno de 6 a 12 meses(6). A persistência de IgG além de 12 meses de vida é padrão-ouro no diagnóstico da toxoplasmose congênita. Sendo assim, crianças que tiveram desaparecimento de IgG antes de completos 12 meses de vida, sem terem recebido tratamento para toxoplasmose congênita, já que as medicações podem influenciar sobre os títulos de IgG, tem a exclusão do seu diagnóstico(6). A positividade de IgM a partir do quinto dia de vida ou de IgA a partir do décimo dia de vida, associada à positividade de IgG, é diagnóstico de toxoplasmose congênita, pois IgM e IgA não atravessam a placenta e, portanto, são produzidas pela própria

criança(6). A positividade de IgM antes de 5 dias de vida e IgA antes de 10 dias de vida, pode representar resultados falsos-positivos por contaminação pelo sangue materno(6).

O diagnóstico de toxoplasmose congênita pode ser considerado segundo diretrizes da ACADEMIA AMERICANA DE PEDIATRIA (2017) pelos seguintes critérios: (i) PCR positiva no líquido amniótico com ou sem alterações ultrassonográficas intrauterinas sugestivas de toxoplasmose congênita e evidência sorológica de infecção aguda pelo *T. gondii* durante a gestação; (ii) nos casos assintomáticos ao nascimento, com sorologia IgM e IgG reagentes com mais de cinco dias de vida, mas exames clínico, radiológico e laboratorial sem anormalidades; (iii) recém-nascidos sintomáticos ao nascimento, com sorologia IgM e IgG reagentes e com alguma alteração ao exame clínico, radiológico ou laboratorial sugestiva de toxoplasmose congênita(6)

Estima-se que a soroprevalência da doença entre gestantes brasileiras varia de 36 a 92%, dependendo da região do país que esteja sendo avaliada(1). O primeiro caso de toxoplasmose congênita confirmado no Brasil foi descrito em 1943 por Guimarães *et al*(23), e apesar de ser conhecida desde então, ainda não há um consenso nacional que aborde o seu manejo clínico durante a gestação(2).

No restante do mundo, também não há um consenso em relação ao rastreamento e tratamento durante o pré-natal(2). Até mesmo os dois maiores centros de pesquisa sobre a doença, França e Estados Unidos, têm condutas que divergem por peculiaridades epidemiológicas de cada país(24). Por exemplo, na França gestantes soronegativas realizam exames sorológicos mensalmente para detecção precoce da infecção, já nos Estados Unidos, as gestantes não são

rastreadas de rotina e, apenas em caso de alterações sugestivas da doença em exame de imagem, é que se avalia a toxoplasmose como hipótese diagnóstica(24).

A base do tratamento da toxoplasmose na gestação é a espiramicina, principalmente quando implementada no primeiro trimestre, pois essa droga concentra-se na placenta e impede a passagem do parasito para o feto(9). Já o tratamento da infecção fetal estabelecida consiste na associação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico(25). No caso da terapia tripla, é sabido que eventos adversos, até mesmo de maior gravidade, são associados ao seu uso(26).

O tratamento da toxoplasmose na gestação é motivo de discussão devido à escassez de ensaios clínicos que comprovem sua eficácia. No entanto, existem mais de trinta estudos observacionais que sugerem que o tratamento durante a gestação reduz transmissão e o desenvolvimento de sequelas graves(21).

Recentemente, foi publicado o primeiro ensaio clínico que avaliou a eficácia do tratamento na gestante infectada e observou-se que o uso do esquema tríplice durante a gestação reduziu principalmente sequelas neurológicas nos fetos(25).

A confirmação da infecção congênita, é feita por meio da detecção do DNA do toxoplasma pelo teste de PCR no líquido amniótico(27). Recomenda-se que a coleta do líquido amniótico durante o exame de amniocentese ocorra a partir da 18ª semana de gestação(8). Em caso de positividade da PCR deve-se substituir o tratamento com espiramicina pela sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico, permitindo assim, que o feto acometido seja efetivamente tratado(9). A PCR no líquido amniótico confere especificidade de até 100% e além de contribuir na condução dos casos pouco esclarecidos pelos exames sorológicos, ainda permite

estabelecer o diagnóstico fetal e reduzir o uso desnecessário do esquema tríplice(8).

A técnica pela qPCR tem sido utilizada no diagnóstico da toxoplasmose devido à sua elevada sensibilidade e especificidade, além de rapidez, reprodutibilidade e menor risco de contaminação cruzada(27). A principal vantagem dessa técnica é a determinação quantitativa do produto conforme o seu aparecimento (tempo real), permitindo acompanhar o progresso da infecção(8).

Em áreas de elevada prevalência, gestantes não imunes devem realizar o monitoramento sorológico pelo menos a cada trimestre(19). Além disso, o aconselhamento quanto às formas de prevenção da doença é fundamental para reduzir o risco de contaminação(19). No Brasil a triagem para toxoplasmose é sugerida na gestação, mas não é obrigatória, apresentando variações regionais dos protocolos clínicos(28). Por exemplo, no município do Rio de Janeiro existe o guia de referência à atenção ao pré-natal de gestantes de baixo risco (2016) que não recomenda, de rotina, a investigação de infecção pelo toxoplasma durante a gestação, uma vez que, segundo este protocolo, o rastreamento seria controverso e as evidências da efetividade do seu uso fracas(14).

Fatores sociais também podem aumentar o risco de desenvolver a forma congênita da toxoplasmose, pois alguns deles são determinantes na qualidade do atendimento pré-natal(13). O início tardio do pré-natal, a idade materna jovem e o desconhecimento sobre a doença, são apenas alguns fatores que reforçam as dificuldades encontradas na condução desses casos(13). A baixa adequação da assistência pré-natal no Brasil com importantes desigualdades já foram identificadas na pesquisa nascer no Brasil por Lansky *et al*, 2014(29).



Apesar das evidências sugerirem benefícios com o diagnóstico e tratamento precoces, a toxoplasmose na gestação segue sendo uma doença negligenciada em grande parte do mundo e talvez a principal justificativa para tal seria o desconhecimento do seu verdadeiro ônus(2).

A falta na literatura de algumas respostas sobre a doença dificulta a constituição dos protocolos clínicos e terapêuticos, tendo por consequência conduções controversas dos casos, retardo diagnóstico e persistência da infecção congênita(2).

## Metodologia

### 1. Desenho de estudo

Trata-se de um estudo descritivo de coorte de pacientes. Foram incluídas gestantes atendidas no ambulatório de doenças infecto-parasitárias do Instituto Nacional de Saúde da Mulher da Criança e do Adolescente Fernandes Figueira (IFF/Fiocruz) com diagnóstico de toxoplasmose. Foram excluídas gestantes com co-infecção pelo vírus HIV e que fazem uso de algum tipo de terapia imunossupressora.

### 2. Aspecto ético

Este é um subprojeto inserido em um projeto maior já em vigência na instituição denominado “Diagnóstico pré-natal da toxoplasmose através da utilização de técnicas moleculares”, tendo sido aprovado como um adendo ao Comitê de Ética em Pesquisa do IFF/Fiocruz (CAAE: 148327.13.7.0000.5269 / Número do Parecer: 2.482.189).

As gestantes participantes deste estudo foram orientadas quanto à utilização dos dados coletados durante as consultas médicas, por contato telefônico e dados em prontuário e concederam autorização para utilização destes dados por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IFF/Fiocruz (APÊNDICE I). As gestantes menores de idade (idade inferior a 18 anos), tiveram sua autorização cedida por meio da assinatura de Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (TALE) como orientado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do IFF/Fiocruz (APÊNDICE II).

### **3. Processamento e análise de dados**

Os dados foram coletados em protocolo estruturado previamente testado e inseridos em banco de dados para análise por meio do programa EPI-INFO versão 7.2. Foi realizada análise estatística descritiva exploratória dos dados. O cálculo amostral inicial (N=230) considerou a prevalência média da toxoplasmose em gestantes (70%) e o percentual de gestantes atendidas em uma unidade de referência no primeiro trimestre (15,2%), com nível de significância de 95% e poder de 80%(1). Ao resultado do cálculo amostral foi adicionado uma perda de 10%. O quantitativo final de gestantes (334) estudadas ultrapassou o cálculo amostral em função da oportunidade no aumento do tempo de estudo.

### **4. Coleta de dados**

Os dados foram coletados durante as consultas médicas realizadas no ambulatório de doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz no período de maio de 2014 a dezembro de 2017. Foram preenchidos dois tipos de formulários para composição deste projeto: (1) formulário com dados sociodemográficos, questões referentes a informações prévias obtidas pelas gestantes sobre a doença e suas formas de prevenção (APÊNDICE III), e (2) formulário contendo os dados clínicos e laboratoriais obtidos em prontuário (APÊNDICE IV). Vale comentar que o formulário referente ao APÊNDICE III, foi aplicado somente a partir de agosto de 2015, quando foi integrada à equipe uma estagiária de serviço social.

Os dados referentes aos recém-nascidos foram obtidos por meio de contato telefônico em até sessenta dias após data provável do parto, e por meio da análise de prontuário daqueles que nasceram no IFF/Fiocruz. Foram coletados os seguintes dados de nascimento: ultrassonografia transfontanela, exame de fundo

de olho, peso e idade gestacional e sorologia para toxoplasmose IgM e IgG do sangue periférico a partir do quinto dia de vida. O diagnóstico de toxoplasmose congênita foi confirmado nos bebês que obedeciam aos critérios estipulados pela ACADEMIA AMERICANA DE PEDIATRIA (2017) já descritos anteriormente (6).

## **5. Análise laboratorial**

O diagnóstico sorológico de toxoplasmose aguda foi estabelecido por meio de teste imunoenzimático e/ou ensaio imunofluorométrico (positividade de IgG e IgM específicas) e, em alguns casos, pelo teste de avides de IgG, ambos realizados no Laboratório de Imunologia do IFF/Fiocruz. A amniocentese foi oferecida às gestantes com confirmação de infecção aguda pelo toxoplasma (presença de IgM e IgG reagentes e em alguns casos presença de baixa avides de IgG), e que não apresentavam idade gestacional avançada (superior a 30 semanas) ou situações como a gestação gemelar que acarretem risco aumentado do procedimento

As amostras de líquido amniótico foram encaminhadas ao Laboratório de Alta Complexidade do IFF/Fiocruz, onde foi realizado o diagnóstico molecular da toxoplasmose por meio do teste de PCR em tempo real pelo sistema *TaqMan* como descrito abaixo.

### **5.1. PCR em tempo real pelo sistema *TaqMan*® *Real-Time PCR***

A confirmação da infecção congênita foi realizada através da qPCR com o sistema *Taqman* das amostras de DNA extraído do líquido amniótico das pacientes. Nestas reações de PCR foram utilizados iniciadores específicos para amplificar a sequência do *T. gondii* de 529 pares de bases.

A primeira etapa consistiu na extração de DNA, realizada utilizando o kit de extração QIAamp DNA mini Kit (QIAGEN Inc, Valencia, US).

As amostras de DNA extraídas do líquido amniótico das pacientes foram em seguida utilizadas em reações de PCR em tempo real, utilizando o sistema *TaqMan® Real-Time PCR*.

Neste trabalho, foi escolhido como alvo o fragmento de 529 pb, presente em 200 a 300 cópias no genoma do *T. gondii*. Foram utilizados os iniciadores 318R e 270F, e uma sonda cuja sequência está apresentada na FIGURA 1, e para os quais foi descrito por Robert-Gangneux *et al* (2010) uma sensibilidade de 71 % e uma especificidade de 97 % (30) e posteriormente em uma meta-análise realizada por Azevedo *et al.* (2016) uma sensibilidade de 87% e especificidade de 99% (8).

Para as reações de PCR em tempo real, primeiramente foi preparado o *Mix primer probe*, uma mistura de água (95,75 µl), dos iniciadores 270F e 318R (FIGURA 2), específicos para o fragmento de 529pb (1,5 µl de cada iniciador), e 1,25 µl da sonda marcada com os corantes fluorescentes FAM (6-carboxyfluoresceína, repórter) e TAMRA (carboxitetrametilrodamina, *quencher*). Nesta mistura a concentração dos iniciadores e da sonda foi de 1,5 µM e 1,25 µM, respectivamente.

Primers e sonda utilizados para PCR em tempo real
<p style="text-align: center;">Primers</p> <p style="text-align: center;">270F 5'- AGAGACACCGGAATGCGATCT -3'</p> <p style="text-align: center;">318R 5'- TTCGTCCAAGCCTCCGACT – 3'</p> <p style="text-align: center;">Sonda</p> <p style="text-align: center;">FAM 5' – TCGTGGTGATGGCGGAGAGAATTGA – 3' TAMRA</p>

**Figura 2:** Conjunto de iniciadores utilizados nas reações de PCR em tempo real.

Foi utilizado como controle interno RNase P, um gene *housekeeping* que é constitutivamente expresso em humanos. Para tanto, é utilizada a mistura 20x RNaseP (Ribonuclease nuclear P) *Primer Probe* da *Applied Biosystems*, contendo iniciadores específicos para o gene da RNase P, e uma sonda específica marcada com o corante fluorescente VIC<sup>TM</sup> (repórter) e TAMRA (carboxitetrametilrodamina, *quencher*). Foram utilizados 2 µl do DNA extraído do líquido amniótico das pacientes, aos quais se adicionava 1 µl de *Mix primer probe*, 0,5 µl do *mix RNase P* e 3,5 µl de *TaqMan® Real-Time PCR Master Mix*. Com a adição da RNase P o volume final passou a ser de 7 µl.

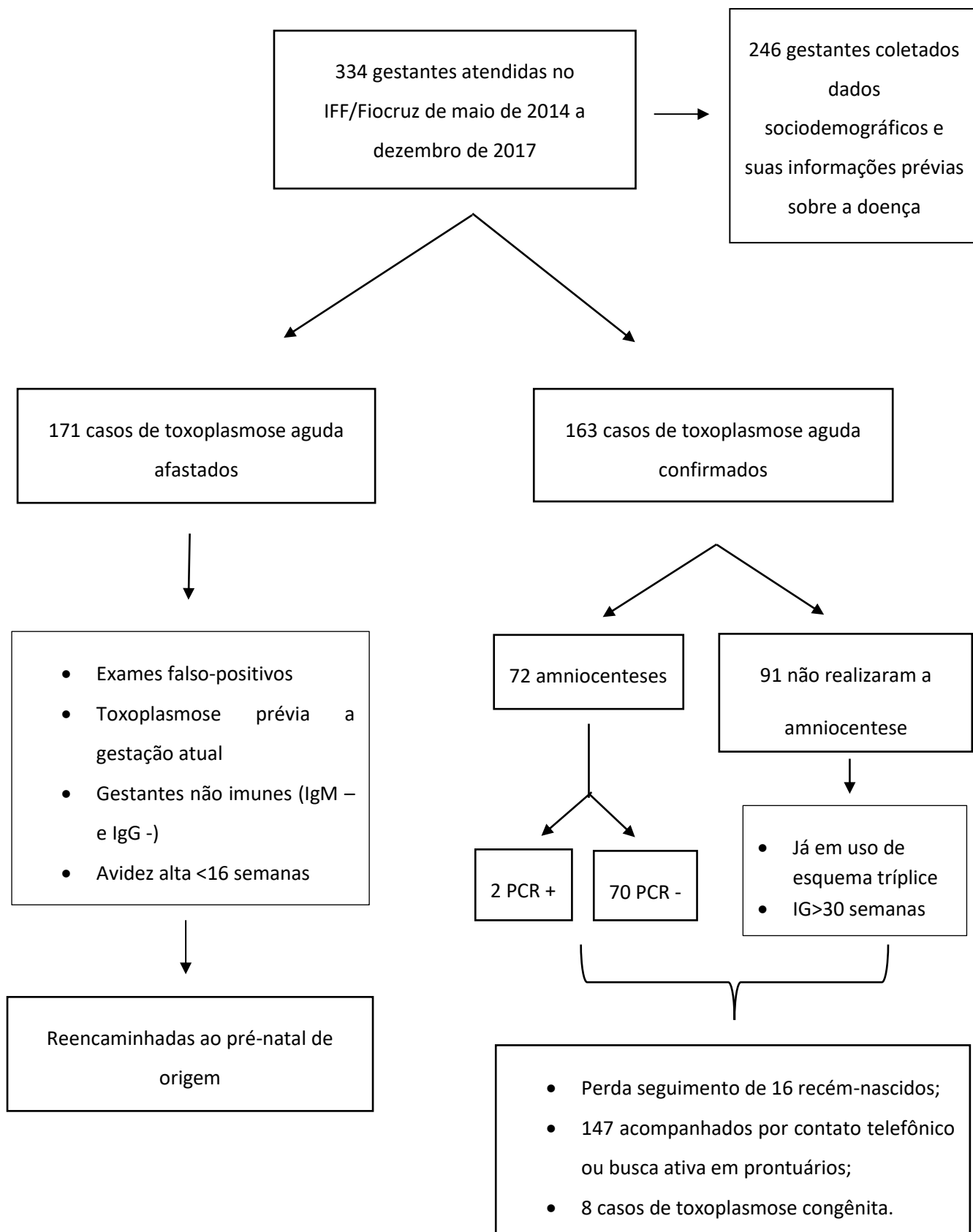
Em cada experimento, eram incluídos um controle positivo (DNA do parasito) e um controle negativo, sem qualquer amostra de DNA. Todas as reações, com DNA de pacientes, controles positivos ou negativos, foram feitas em triplicata.

Em seguida as reações foram incubadas no equipamento *Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR* por cerca de 90 minutos, tempo necessário para a realização de um primeiro estágio, em que as amostras eram incubadas a 50°C por 2 minutos, e em seguida por 10 minutos a 95°C, e do segundo estágio, que

consistia em 40 repetições do seguinte ciclo: 15 segundos a 95°C e 1 minuto a 60°C. Ao final da corrida, realizou-se a análise dos dados através do *Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR Software*.

Em caso de detecção da presença do DNA do toxoplasma no líquido amniótico (qPCR positiva), o tratamento com espiramicina foi substituído por sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico, permitindo assim, o tratamento efetivo do feto(5). No caso de resultado negativo, a espiramicina foi mantida até o término da gestação e recém-nato rastreado ao nascimento para doença congênita(5). No caso de alterações no feto descritas em exame de ultrassonografia sugestivas de doença congênita, mesmo com resultado da qPCR negativa, o recém-nato também foi rastreado para possível infecção congênita.

## Resultados



**Figura 3:** Fluxograma do desenho de estudo.



Foram incluídas 334 gestantes atendidas no ambulatório de doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz no período de maio de 2014 a dezembro de 2017 (TABELA 1). A média de idade das pacientes foi de 27 anos com mínimo de 12 anos e máximo de 46 anos. Cabe ressaltar que 40 gestantes eram menores de 18 anos (11,98%).

A maioria foi encaminhada de unidades públicas de saúde, representando 178 (53,29%) dos atendimentos. As gestantes provenientes dos serviços privados de saúde foram 133 (39,82%) e 23 (6,89%) procuraram atendimento por demanda espontânea.

**Tabela 1:** Faixa etária, origem e trimestre de gestação do primeiro atendimento no serviço de referência em doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz de gestantes com infecção aguda por toxoplasmose, 2014-2017.

Variáveis	N	%
<b>Faixa etária (anos)</b>		
<18	40	11,98
18-24	88	26,35
25-30	100	29,94
31-35	64	19,16
>35	42	12,57
Total	334	100
<b>Origem</b>		
Público	178	53,29
Privado	133	39,82
Demanda espontânea	23	6,89
Total	334	100
<b>Trimestre de gestação</b>		
1º Trimestre	48	14,37
2º Trimestre	172	51,50
3º Trimestre	114	34,13
Total	334	100

Dessas 334 gestantes, 246 (73,65%) responderam ao questionário sociodemográfico que também contemplava questões relacionadas ao

conhecimento sobre a doença e suas formas de prevenção. Nenhuma gestante recusou-se a responder a esse questionário (APÊNDICE III). A perda de 88 (26,34%) participantes justificou-se pelo início posterior da aplicação do mesmo com a colaboração de uma estagiária de serviço social.

Com relação aos dados sociodemográficos, 186 (75,61%) gestantes informaram ter renda familiar de até três salários mínimos e 96 (39,03%) coabitavam com três ou mais indivíduos. A minoria se autodeclarou negra (41/16,67%) ou referiu ter 16 anos ou mais de estudo (51/20,73%) e 87 (35,37%) relataram ter seguro saúde.

Mais da metade dessa população de gestantes residia fora do município do Rio de Janeiro (138/56,10%) e utilizou o transporte público como principal meio de locomoção para atendimento no centro de referência (157/63,82%).

A gravidez não foi planejada em 149 (60,57%) casos e em 22 (8,94%) o pai biológico não estava ciente sobre o tratamento ao qual a gestante estava sendo submetida para prevenir possível infecção congênita. Em 52 (21,14%) casos as gestantes não coabitavam com o pai biológico e em cinco (2,03%) o seu paradeiro era desconhecido.

Em relação às possíveis formas de contaminação, 75 (30,49%) mulheres consumiam água de bica ou poço, 108 (43,90%) carnes malcozidas, 198 (80,49%) frutas sem descascar, 130 (52,85%) saladas que não eram preparadas pelas mesmas, 97 (39,43%) tinham contato com gatos e entre as 31 (12,60%) que referiram práticas de jardinagem, apenas uma (3,23%) fazia uso de luvas.

Quando questionadas sobre seus conhecimentos em relação à toxoplasmose, 171 (69,51%) refeririam não saber da existência da doença antes

de seu diagnóstico. Apenas 82 (33,33%) gestantes obtiveram informações sobre a doença por seus médicos assistentes. Dezesesseis (6,50%) mulheres não tinham qualquer informação prévia e 103 (41,87%) a obtiveram por meio de outras fontes principalmente as mídias digitais. Quarenta e cinco (18,29%) gestantes não responderam a esta pergunta. Antes da consulta no centro de referência, 205 (83,33%) participantes referiram nunca terem sido informadas sobre a existência do exame de amniocentese.

A análise dos dados obtidos durante as consultas médicas de todas as 334 pacientes atendidas pelo centro de referência (TABELA 2) mostrou que a maioria chegou para o primeiro atendimento no IFF/Fiocruz no segundo e terceiro trimestres de gestação (286/85,63%). Entre as gestantes que foram atendidas ainda no primeiro trimestre, 27 (56,25%) foram encaminhadas por serviços privados, 13 (27,08%) por serviço público e oito (16,67%) foram por demanda espontânea. Apesar de se observar atraso no encaminhamento para atendimento pelo centro de referência, 162 (48,50%) participantes realizaram sorologia para toxoplasmose ainda no primeiro trimestre na origem.

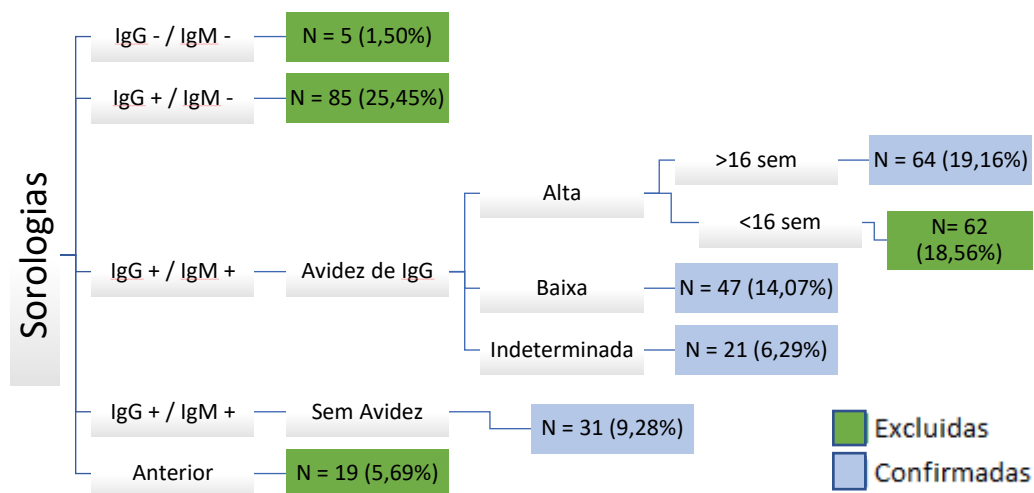
**Tabela 2:** Trimestre de gestação para primeiro atendimento no serviço de doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz segundo a origem do sistema de saúde (público, privado) ou demanda espontânea, 2014-2017.

Trimestre de Gestação	Origem			Total n (%)
	Público n (%)	Privado n (%)	Demanda espontânea n (%)	
1º Trimestre	13 (7,30)	27 (20,30)	8 (34,78)	48 (14,37)
2º Trimestre	92 (51,69)	70 (52,63)	10 (43,48)	172 (51,50)
3º Trimestre	73 (41,01)	36 (27,07)	5 (21,74)	114 (34,13)
Total	178 (53,29)	133 (39,82)	23 (6,89)	334 (100,00)

Na população total estudada, 166 (49,70%) eram primíparas e 168 (50,30%) já haviam tido pelo menos uma gestação previamente. Foram 36 (10,78%) gestantes com relato de sintomatologia sugestiva de infecção primária, sendo referido principalmente a ocorrência de febre, cefaleia, linfonodomegalias, astenia, mialgia e dor de garganta.

O rastreamento sorológico realizado no pré-natal dos serviços de origem apresentou os seguintes resultados: 280 (83,83%) IgM reagentes, 29 (8,68%) IgM não reagentes, 22 (6,59%) IgM indeterminada e três (0,90%) não realizaram o exame; 275 (82,34%) gestantes eram IgG reagentes, 25 (7,49%) IgG não reagentes, duas (0,60%) IgG indeterminada e 32 (9,58%) não realizaram este exame. Em relação ao teste de avidéz de IgG, 218 (65,27%) pacientes não realizaram este exame na origem. Entre as 116 (34,73%) gestantes que fizeram teste de avidéz, 63 (18,86%) tinham alta avidéz, 33 (9,88%) baixa avidéz e 20 (5,99%) avidéz indeterminada. Em relação ao atendimento em unidade especializada, 93 (27,84%) gestantes foram atendidas pela primeira vez com menos de 16 semanas.

O diagnóstico de toxoplasmose na gestação não foi confirmado em 171 (51,20%) casos. Entre as causas de exclusão diagnóstica foram encontradas, IgM não reagente com IgG reagente; IgM reagente e IgG reagente com alta avidéz de IgG antes de 16 semanas de gestação e IgM falso-positivo.



**Figura 4:** Fluxograma das causas de exclusão e confirmação do diagnóstico de infecção aguda pelo toxoplasma nas gestantes avaliadas no centro de referência.

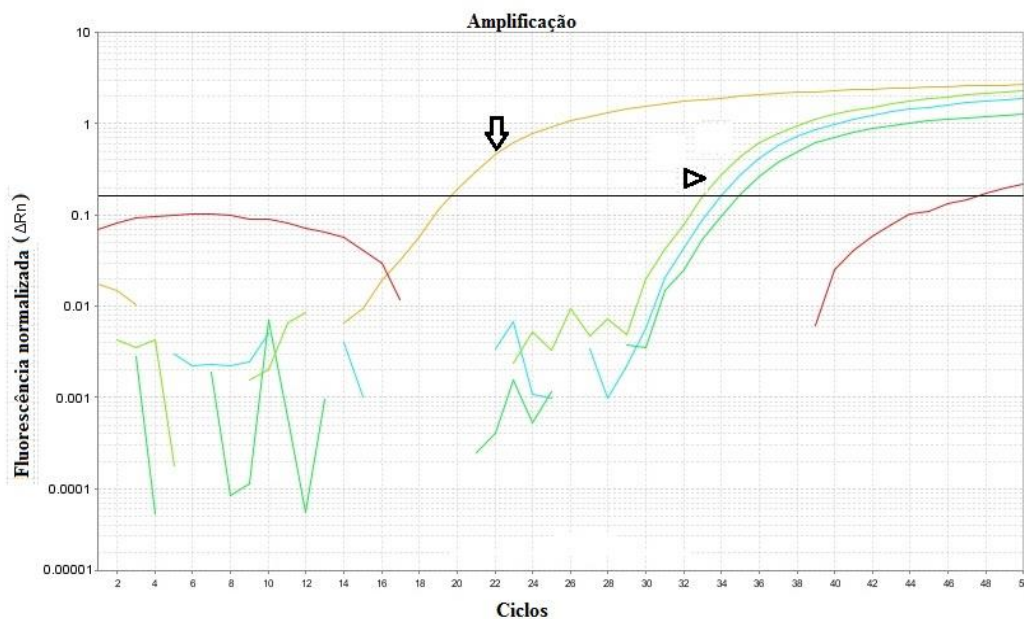
Em 183 (54,95%) gestantes o tratamento foi iniciado ainda no serviço de origem; no entanto foi prescrito de forma incorreta em 45 (24,59%) casos (TABELA 3).

**Tabela 3:** Prescrição do tratamento para toxoplasmose segundo a origem de atendimento (público, privado) entre as gestantes encaminhadas ao serviço de doenças infecto-parasitárias do IFF/Fiocruz, 2014-2017.

Origem	Tratamento		
	Tratou n (%)	Não tratou n (%)	Total n (%)
Público	104 (58,76)	73 (41,24)	177 (100,00)
Privado	66 (49,62)	67 (50,38)	133 (100,00)

Entre as 163 gestantes com diagnóstico confirmado, 72 (21,56%) realizaram o exame de amniocentese sendo que em apenas duas (2,78%) foi detectada a presença de DNA do *T. gondii* no líquido amniótico pelo método da qPCR (ilustrado resultado na FIGURA 3). Em uma delas não havia história de

sintomas sugestivos de toxoplasmose aguda e em ambas as ultrassonografias morfológicas realizadas antes do procedimento, não apresentavam alterações sugestivas de infecção congênita. A única paciente cujo feto apresentava alterações ultrassonográficas (ventriculomegalia, áreas hiperecogênicas difusas em parênquima cerebral, derrame pericárdico e área hiperecogênica em globo ocular), o resultado da PCR foi negativo, no entanto ela já vinha em uso do esquema tríplice 12 dias antes da amniocentese. Neste caso o tratamento para toxoplasmose foi iniciado apenas com 30 semanas de gestação. O diagnóstico de toxoplasmose congênita foi confirmado no recém-nascido que apresentava lesões oculares e neurológicas. Quatro participantes apresentaram gestação gemelar e para estas o exame de amniocentese não foi oferecido, devido ao risco acrescido ao procedimento. O relativo baixo número de amniocentese realizadas (72) não se justifica pela recusa das gestantes em se submeter ao procedimento. Apenas uma paciente declinou a amniocentese quando oferecida. O principal motivo para que a amniocentese não tenha sido realizada em um maior número de casos foi a idade gestacional avançada em que as pacientes foram atendidas no centro de referência (principalmente no terceiro trimestre).



**Figura 5.** Gráfico de amplificação da amostra de DNA extraído do líquido amniótico gerado através do *Applied Biosystem 7500 Real-Time PCR Software*. Eixo x - ciclos; eixo y – valores de fluorescência normalizada ( $\Delta Rn$ ). A seta indica a curva de amplificação do controle, e a cabeça de seta indica as curvas referentes à triplicata da amostra.

As informações dos recém-nascidos por contato telefônico ou busca ativa dos dados em prontuário dos nascidos na maternidade do IFF/Fiocruz foram obtidas em 147 (90,18%) das 163 gestações com diagnóstico de toxoplasmose confirmado.

Perda de seguimento ocorreu em 16 casos, principalmente pela dificuldade em realizar contato telefônico com gestantes cujos filhos não nasceram na maternidade do IFF/Fiocruz.

A idade gestacional média de nascimento foi de 39 semanas, com mínima de 33 semanas e máxima de 42 semanas, sendo que 11 (7,48%) nasceram com menos de 35 semanas. O peso médio de nascimento foi de 3,280 kg, com mínimo de 1,485 kg e máximo de 4,055 kg.

A ultrassonografia transfontanela estava alterada em três (2,04%) do total dos recém-nascidos e o exame de fundo de olho estava alterado em três (2,04%). A sorologia para toxoplasmose no sangue periférico apresentou IgM reagente em seis casos (4,08%) e IgG reagente em 93 (63,27%). A ultrassonografia transfontanela não foi realizada em 10 (6,80%) recém-nascidos, assim como o fundo de olho não foi realizado em nove (6,12%), e a sorologia para toxoplasmose ao nascimento, no caso da IgM não foi feita em 19 (12,93%) e a IgG em 23 (15,65%).

Dentre os 147 recém-nascidos cujas informações ao nascimento conseguimos obter, oito (5,44%) foram diagnosticados com toxoplasmose congênita (TABELA 4). Em cinco deles, o tratamento das mães foi iniciado apenas no terceiro trimestre de gestação e três no segundo trimestre. Cabe ressaltar, que quatro desses casos foram de soroconversão no terceiro trimestre. Em um dos recém-nascidos com diagnóstico de infecção congênita por apresentar alterações oculares e neurológicas, a sorologia para toxoplasmose IgM e IgG não foi realizada devido a problemas operacionais.



**Tabela 4:** Descrição dos recém-nascidos com diagnóstico de toxoplasmose congênita.

	<b>PCR no LA</b>	<b>US Morfológico no IFF</b>	<b>IG (semanas) e peso (kg) ao nascido</b>	<b>Sorologia para Toxoplasmose</b>	<b>Fundo de Olho</b>	<b>US Transfontanela</b>	<b>Tomografia de crânio</b>
<b>RN 11</b> Gestante assintomática Início do tratamento: 21 semanas Atendida IFF: 24 semanas	+	Normal	38 / 2,930	IgM + / IgG +	Normal	Normal	NR
<b>RN 35</b> Gestante sintomática Início do tratamento: 31 semanas Atendida IFF 32 semanas Soroconversão	NR	Normal	39 / 2,510	IgM + / IgG +	Lesões cicatriciais	Normal	Calcificações cerebrais
<b>RN 43</b> Gestante assintomática Início do tratamento: 27 semanas Atendida IFF: 29 semanas	NR	NR	39 / 3,600	IgM + / IgG +	Normal	Normal	NR
<b>RN 74</b> Gestante assintomática Início do tratamento: 36 semanas Atendida IFF: 37 semanas Soroconversão	NR	NR	37 / 3,035	IgM - / IgG +	Normal	Calcificações cerebrais	NR

	PCR no LA	US Morfológico no IFF	IG (semanas) e peso (kg) ao nascer	Sorologia para Toxoplasmose	Fundo de Olho	US Transfontanela	Tomografia de crânio
<b>RN 85</b> Gestante assintomática Início do tratamento: 31 semanas Atendida IFF: 33 semanas	NR	NR	40 / 3,045	IgM + / IgG +	Normal	Normal	NR
<b>RN 138</b> Gestante sintomática Início do tratamento: 27 semanas Atendida IFF: 28 semanas	+	Normal	38 / 2,510	IgM + / IgG +	Normal	Normal	Calcificações cerebrais
<b>RN 185</b> Gestante sintomática Início do tratamento: 33 semanas Atendida IFF: 33 semanas Soroconversão	NR	Normal	39 / 2,052	NR	Lesão em atividade	Hemorragia intraventricular bilateral	Calcificações cerebrais
<b>RN 234</b> Gestante sintomática Início do tratamento: 30 semanas Atendida IFF: 33 semanas Soroconversão	-	Ventriculomegalia, áreas hiperecogênicas difusas em todo parênquima cerebral, derrame pericárdico, área hipocogênica em globo ocular	34 / 1,870	IgM + / IgG +	Lesão em atividade	Calcificações cerebrais, vasculite mineralizante	Calcificações cerebrais e hidrocefalia

\* IG= Idade gestacional/ LA= Líquido amniótico/ NR= Não realizado/ RN= Recém-nascido/ US= Ultrassonografia.

## Discussão

A toxoplasmose congênita ainda é uma doença negligenciada tanto no Brasil quanto no resto do mundo (2,13). Apesar do alto risco de contaminação por toxoplasmose durante a gestação devido à sua alta prevalência no Brasil, alguns estudos ainda encontram problemas na condução e manejo dos casos, desde a ausência de diretrizes quanto ao rastreamento sorológico durante a gestação, até a condução do seu tratamento(2,13,31).

O atraso no encaminhamento para atendimento no centro de referência, a falta de informações sobre a doença fornecidas às pacientes, assim como a não prescrição do tratamento pelas unidades de origem, indicam dificuldades existentes no atendimento pré-natal prestado a essas gestantes, como já reportado (13). O rastreamento sorológico para toxoplasmose ainda no primeiro trimestre de gestação ocorreu em apenas 162 (48,50%) dos casos, porém percebe-se retardo tanto na chegada da gestante para atendimento no centro de referência (ocorrendo principalmente no segundo e terceiro trimestres de gestação), quanto no início do tratamento prescrito pela origem (principalmente no segundo trimestre de gestação), indicando oportunidades perdidas. Bueno *et al*, em 2010, já havia descrito cenário similar, o que sugere a persistência de problemas no atendimento pré-natal oferecido a essas gestantes(13). Este fato é ilustrado pelos oito casos de toxoplasmose congênita descritos neste estudo, cujas mães têm em comum o encaminhamento ao centro de referência e início do tratamento tardios.

Não foi observado predomínio de alguma fonte de infecção específica. No entanto, sabe-se que no leste do Brasil o papel do oocisto torna-se mais

evidente com íntima relação com o status socioeconômico, sendo a água um importante veículo de disseminação do *T. gondii* (22,32). Em inquérito soropidemiológico realizado em Campos dos Goytacazes entre 1.436 indivíduos, Bahia-Oliveira *et al* encontraram soropositividade para toxoplasmose em 84% dos indivíduos pertencentes a estratos socioeconômicos mais baixos comparados com 62% e 23% dos estratos médio e superior (10).

Embora tenha sido observado predomínio de uma população de baixa renda, com pouca escolaridade e sem seguro de saúde, vale salientar que não foram encontradas diferenças significativas no atendimento prestado tanto no serviço público quanto no privado, pois em ambos ocorreu retardo no encaminhamento ao centro de referência e na prescrição do tratamento, informação que segue compatível com o que já foi relatado por outros autores(13).

Idade, nível educacional, número de gestações e história prévia de aborto foram fatores associados com o conhecimento sobre toxoplasmose entre 405 gestantes de oito unidades de saúde em Niterói(33). A idade materna jovem, principalmente adolescentes, presente nesta coorte, já foi associada a risco maior de desfechos perinatais desfavoráveis, pois iniciam mais tardiamente o pré-natal e comparecem com menos frequência às consultas médicas(34). O predomínio de uma população de multíparas, leva ao questionamento sobre a oportunidade perdida de orientar corretamente essas pacientes sobre a doença em gestações anteriores, objetivando reduzir a ocorrência da infecção(13).

Encontramos que 171 (69,51%) das gestantes referiram não ter conhecimento sobre a doença antes de seu diagnóstico, assim como informaram

que o seu conhecimento atual fora obtido por meio de mídias digitais e, não, por informação prestada por profissionais do seu pré-natal de origem. Além disso, 205 (83,33%) das participantes não sabiam do que se tratava o exame de amniocentese. Resultados semelhantes foram obtidos em estudo realizado em Minas Gerais entre 2.136 gestantes quando 93% não tinha conhecimento sobre toxoplasmose(35). Este achado provavelmente pode refletir tanto a baixa qualidade da informação dada às gestantes, quanto a deficiência no conhecimento dos profissionais de saúde em relação à toxoplasmose na gestação(35–38).

Sintomatologia sugestiva de toxoplasmose aguda, foi observada em 36 (10,78%) casos, compatível com o descrito na literatura(39,40). Este fato reforça a importância do rastreamento sorológico pré-natal para toxoplasmose. Entretanto, no município do Rio de Janeiro, o rastreio sorológico de rotina não é recomendado e perdem-se oportunidades tanto de diagnóstico quanto de prevenção(14).

O emprego dos testes sorológicos para rastreamento da toxoplasmose na gestação apresenta limitações inerentes ao kit utilizado, tais como baixa especificidade acarretando em mais resultados falso-positivos e presença de IgM residual, que implicam em dificuldades na sua interpretação(41,42). É importante reforçar o fato de que em 171 (51,20%) casos o diagnóstico de toxoplasmose aguda tenha sido afastado. Nestes casos observamos resultados inconsistentes nos exames realizados na origem, quando comparados aos do serviço de referência, ou interpretação inadequada dos resultados. Este fato pode ser exemplificado pelo encaminhamento ao centro de referência de 8,68% de gestantes com IgM

negativo, o que já foi observado em estudo anterior(13). No entanto, em casos de dúvida quanto à interpretação dos resultados e à conduta, a necessidade de encaminhamento e avaliação em centros de referência já foi sugerida por outros autores(2,5,7). O encaminhamento desses casos, como já exemplificado, reforça o despreparo dos profissionais responsáveis pelo atendimento das gestantes no pré-natal(36).

O teste de avidéz é uma ferramenta útil como marcador temporal da infecção quando corretamente aplicado, ou seja, antes de 16 semanas(7,40). O teste de avidéz de IgG foi realizado na origem em apenas 116 (34,73%) dos casos. Soma-se a isso o fato de que a maioria das pacientes chegou tardiamente ao centro de referência, pois apenas 93 gestantes foram atendidas antes de 16 semanas de gestação. Embora seja uma boa ferramenta, com a perda do tempo hábil para a sua plena utilidade como marcador temporal, o teste de avidéz contribuiu pouco para o diagnóstico na maioria dos casos neste estudo.

Em boa parte das gestantes (150/45,05%) o tratamento não foi iniciado no serviço de origem, sendo prescrito em dose inadequada em 45 (24,59%) dos casos. Esta dificuldade vinculada ao tratamento já foi anteriormente observado por Bueno *et al* no Rio de Janeiro, onde o tratamento foi iniciado na origem apenas em 16% dos casos e prescrito na dose incorreta em 5%(13). O déficit de conhecimentos e práticas de toxoplasmose de profissionais que atendem em pré-natal já foi observado por Jones *et al* nos Estados Unidos(43) e por Silva *et al* no Brasil(36).

O estudo do líquido amniótico para toxoplasmose é descrito desde 1988, inicialmente visando o isolamento do parasito por inoculação em camundongos(20). Hoje em dia a análise do líquido amniótico pela qPCR é uma excelente ferramenta que permite estabelecer o diagnóstico de infecção fetal a partir da 18ª semana de gestação(8,27). Sua alta especificidade contribui para o início precoce do tratamento do feto e, por consequência, também diminui o uso desnecessário do esquema tríplice, que já foi associado a eventos adversos até mesmo ameaçadores à vida(26). Considerando a positividade da PCR em apenas dois casos, o esquema tríplice foi evitado nos 70 casos com PCR negativa.

O *primer* (inicializador) utilizado para o diagnóstico molecular foi o de 529pb que apresenta sensibilidade para detecção do DNA do *T. gondii* superior quando comparado aos *primers* anteriormente usados(8,27,44).

Em um caso, cuja PCR foi negativa, o feto apresentava ultrassonografia morfológica alterada e o diagnóstico pós-natal de toxoplasmose congênita foi confirmado. No entanto, a gestante já vinha em uso de sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico 12 dias antes da coleta do líquido amniótico, podendo ter ocorrido interferência da concentração amniótica da medicação(25).

O diagnóstico de toxoplasmose na gestação não impactou na idade gestacional e no peso ao nascimento. Oito recém-nascidos contemplaram os critérios de definição de caso de toxoplasmose congênita estabelecidos pelas diretrizes da ACADEMIA AMERICANA DE PEDIATRIA (2017) e, portanto, foram diagnosticados como portadores de toxoplasmose congênita (6). Desses oito, em três foi realizada a amniocentese, já discutido acima. Nos outros casos a

amniocentese não foi realizada, pois estas gestantes tiveram seu primeiro atendimento tardio no centro de referência, a maioria com mais de 30 semanas, e o tratamento foi iniciado apenas a partir dessa idade gestacional. Sabe-se que a transmissão transplacentária se dá de forma mais efetiva no terceiro trimestre da gestação e o início do tratamento tardio pode não ser efetivo(5,6,45).

É importante ressaltar algumas limitações deste estudo, principalmente em relação às dificuldades para contactar as mulheres que não tiveram seus bebês na maternidade do IFF/Fiocruz, tendo que fornecer as informações por via telefônica incorrendo tanto em viés de memória, quanto em informações baseadas apenas em seus relatos não sendo possível a confirmação por parte dos pesquisadores.

Outra limitação do estudo foi a obtenção de informações a partir de dados secundários (relatos em prontuário) assim como algumas dificuldades operacionais, como a não realização de eventuais exames como descrito na TABELA 4.



## Considerações Finais

O encaminhamento tardio para atendimento no centro de referência, o manejo inadequado pelos serviços de origem referente ao diagnóstico e tratamento dessas gestantes com toxoplasmose, somados às dificuldades socioeconômicas enfrentadas por essas pacientes, corroboram para que casos de toxoplasmose congênita ainda ocorram em nosso meio. A falta de um protocolo clínico para melhor orientar os profissionais de saúde permite que condutas controversas ainda sejam tomadas.

O desconhecimento sobre a doença e suas formas de prevenção associados à baixa qualidade da informação fornecida a essas pacientes pelos serviços que prestam atendimento pré-natal, promove falhas na precaução da doença.

O predomínio na infecção aguda de casos assintomáticos, reforça a necessidade do rastreamento sorológico durante o pré-natal. No entanto, em alguns casos é necessária a confirmação diagnóstica em centros de referência.

A PCR no líquido amniótico é uma excelente ferramenta diagnóstica. Nesta coorte seu uso permitiu o diagnóstico precoce da toxoplasmose congênita e, a redução do uso de drogas associadas a eventos adversos. Entretanto o encaminhamento tardio das pacientes foi fator preponderante para o baixo número de amniocenteses realizadas.

O diagnóstico e o tratamento tardios da toxoplasmose na gestação foram fatores preponderantes no número de oportunidades perdidas na prevenção da doença congênita, impactando na saúde do neonato.

## Propostas a partir deste estudo

- Avaliar a possibilidade de redigir um protocolo nacional de atendimento às gestantes com toxoplasmose aguda na gestação.
- Propor que seja oferecido no atendimento de rotina ao pré-natal o rastreamento para toxoplasmose ocorra pelo menos a cada trimestre.
- Disponibilizar capacitação dos profissionais de saúde envolvidos com assistência ao pré-natal sobre rastreamento, prevenção e tratamento dos casos de toxoplasmose na gestação.
- Nos serviços que dispõem da análise pela PCR no líquido amniótico, sugerir uso exclusivo de espiramicina até a data da coleta do líquido amniótico, para assim evitar influência das medicações sobre o resultado do teste.
- Organizar o atendimento ao recém-nascido de mães com diagnóstico de toxoplasmose na gestação, permitindo assim, garantir seu acompanhamento futuro.

## Referências Bibliográficas

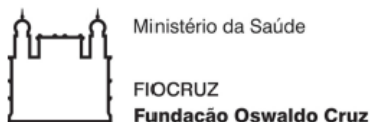
1. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. *Parasitology*. 2012;139(11):1375–424.
2. Wallon M, Peyron F. Congenital Toxoplasmosis: A Plea for a Neglected Disease. *Pathogens*. 2018;7(1):1-9.
3. Tenter AM. *Toxoplasma gondii* in animals used for human consumption. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2009;104(2):364–9.
4. Dubey JP. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. *Veterinary Parasitology*. 2004;126(1):57–72.
5. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *The Lancet*. 2004;363(9425):1965–76.
6. Maldonado YA, Read JS, Committee on infectious diseases. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Congenital Toxoplasmosis in the United States. *Pediatrics*. 2017;139(2):e1-e51.
7. Villard O, Cimon B, L'Ollivier C, Fricker-Hidalgo H, Godineau N, Houze S, et al. Serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection: Recommendations from the French National Reference Center for Toxoplasmosis. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2016;84(1):22–33.
8. de Oliveira Azevedo CT, do Brasil PEAA, Guida L, Lopes Moreira ME. Performance of Polymerase Chain Reaction Analysis of the Amniotic Fluid of Pregnant Women for Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS ONE*. 2016;11(4):1-26.
9. Goldstein EJC, Montoya JG, Remington JS. Management of *Toxoplasma gondii* Infection during Pregnancy. *Clin Infect Dis*. 2008;47(4):554–66.
10. Bahia-Oliveira LMG, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CCF, Oréface F, Addiss DG. Highly Endemic, Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. *Emerg Infect Dis*. janeiro de 2003;9(1):55–62.
11. Feldman DM, Keller R, Borgida AF. Toxoplasmosis, Parvovirus, and Cytomegalovirus in Pregnancy. *Clin Lab Med*. junho de 2016;36(2):407–19.
12. Stillwaggon E, Carrier CS, Sautter M, McLeod R. Maternal serologic screening to prevent congenital toxoplasmosis: a decision-analytic economic model. *PLoS Negl Trop Dis*. 2011;5(9):1-17.

13. Bueno WF, Ferreira RG, DA Silva LB, Klein CH, Amendoeira MRR, Neves ES. Difficulties observed in a reference center in the diagnosis and management of pregnant women with toxoplasmosis. *Sci Med*. 2010;20(1):40–44.
14. Secretaria Municipal de Saúde. Atenção ao Pré-Natal. Rotinas para Gestantes de Baixo Risco. Coleção Guia de Referência Rápida. 1ª Edição. Rio de Janeiro. 2016. [último acesso em 23 de dezembro de 2018]. Disponível em: [http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/6552790/4176323/GuiaPrenatal\\_reunido.pdf](http://www.rio.rj.gov.br/dlstatic/10112/6552790/4176323/GuiaPrenatal_reunido.pdf)
15. Hosseini SA, Amouei A, Sharif M, Sarvi S, Galal L, Javidnia J, Pagheh AS, Gholami S, Mizani A, Daryani A. Human toxoplasmosis: a systematic review for genetic diversity of *Toxoplasma gondii* in clinical samples. 2018;147:1-9.
16. Halonen SK, Weiss LM. Toxoplasmosis. *Handb Clin Neurol*. 2013;114:125–45.
17. Rajendran C, Su C, Dubey JP. Molecular genotyping of *Toxoplasma gondii* from Central and South America revealed high diversity within and between populations. *Infect Genet Evol*. 2012;12(2):359–68.
18. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2004;42(3):941–5.
19. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, et al. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. *Clin Infect Dis*. 2013;56(9):1223–31.
20. Daffos F, Forestier F, Capella-Pavlovsky M, Thulliez P, Aufrant C, Valenti D, et al. Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis. *N Engl J Med*. 1988;318(5):271–5.
21. Montoya JG. Systematic screening and treatment of toxoplasmosis during pregnancy: is the glass half full or half empty? *Am J Obstet Gynecol*. 2018;219(4):315–9.
22. Jones JL, Dubey JP. Waterborne toxoplasmosis-recent developments. *Exp Parasitol*. 2010;124(1):10–25.
23. Guimarães FN. Toxoplasmose humana: meningoencefalomielite toxoplasmica: ocorrência em adulto e recém-nascido. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1943;38(3):257–320.
24. Peyron F, McLeod R, Ajzenberg D, Contopoulos-Ioannidis D, Kieffer F, Mandelbrot L, et al. Congenital Toxoplasmosis in France and the United States: One Parasite, Two Diverging Approaches. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017;11(2):1-6.
25. Mandelbrot L, Kieffer F, Sitta R, Laurichesse-Delmas H, Winer N, Mesnard L, et al. Prenatal therapy with pyrimethamine + sulfadiazine vs spiramycin to reduce

- placental transmission of toxoplasmosis: a multicenter, randomized trial. *Am J Obstet Gynecol.* 2018;219(4):386.e1-386.e9.
26. Guaraldo L, Villar BB de la F, Durão NMG, Louro VC, Quintana M de SB, Curi ALL, et al. Ocular toxoplasmosis: adverse reactions to treatment in a Brazilian cohort. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2018;112(4):188–92.
  27. Wallon M, Franck J, Thulliez P, Huissoud C, Peyron F, Garcia-Meric P, et al. Accuracy of real-time polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid. *Obstet Gynecol.* abril de 2010;115(4):727–33.
  28. Ministério da Saúde. Cadernos de Atenção Básica, nº32. Atenção ao Pré-Natal de Baixo Risco. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília-DF. 2012. [último acesso em 22 de dezembro de 2018]. Disponível em: [http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cadernos\\_atencao\\_basica\\_32\\_prenatal.pdf](http://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/cadernos_atencao_basica_32_prenatal.pdf)
  29. Lansky S, Friche AA de L, Silva AAM da, Campos D, Bittencourt SD de A, Carvalho ML de, et al. Pesquisa Nascido no Brasil: perfil da mortalidade neonatal e avaliação da assistência à gestante e ao recém-nascido. *Cadernos de Saúde Pública.* 2014;30:S192–207.
  30. Robert-Gangneux F, Dupretz P, Yvenou C, Quinio D, Poulain P, Guiguen C, et al. Clinical relevance of placenta examination for the diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J.* 2010;29(1):33–8.
  31. Carellos EVM, Caiaffa WT, Andrade GMQ, Abreu MNS, Januário JN, UFMG Congenital Toxoplasmosis Brazilian Group (UFMG-CTBG). Congenital toxoplasmosis in the state of Minas Gerais, Brazil: a neglected infectious disease? *Epidemiol Infect.* 2014;142(3):644–55.
  32. de Moura L, Bahia-Oliveira LMG, Wada MY, Jones JL, Tuboi SH, Carmo EH, et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerging Infect Dis.* 2006;12(2):326–9.
  33. Moura FL de, Goulart PRM, Moura APP de, Souza TS de, Fonseca ABM, Amendoeira MRR. Factors associated to toxoplasmosis-related knowledge among pregnant women attending public health services in the municipality of Niterói, Rio de Janeiro, Brazil, 2013-2015. *Epidemiol Serv Saude.* setembro de 2016;25(3):655–61.
  34. Santos GHN, Martins M da G, Sousa M da S, Batalha S de JC. Impact of maternal age on perinatal outcomes and mode of delivery. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia.* 2009;31(7):326–34.
  35. Fonseca AL, Silva RA, Fux B, Madureira AP, Sousa FF, Margonari C. Epidemiologic aspects of toxoplasmosis and evaluation of its seroprevalence in pregnant women. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2012;45(3):357–64.

36. da Silva LB, de Oliveira R de VC, da Silva MP, Bueno WF, Amendoeira MRR, de Neves ES. Knowledge of toxoplasmosis among doctors and nurses who provide prenatal care in an endemic region. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2011;2011:1-6.
37. Kravetz JD, Federman DG. Prevention of toxoplasmosis in pregnancy: knowledge of risk factors. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2005;13(3):161–65.
38. Davis SM, Anderson BL, Schulkin J, Jones K, Vanden Eng J, Jones JL. Survey of obstetrician-gynecologists in the United States about toxoplasmosis: 2012 update. *Arch Gynecol Obstet*. 2015;291(3):545–55.
39. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham C, Gilbert R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. *Lancet*. 29 de 1999;353(9167):1829–33.
40. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. *Clin Perinatol*. 2005;32(3):705–26.
41. Sensini A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. *Clin Microbiol Infect*. 2006;12(6):504–12.
42. Dhakal R, Gajurel K, Pomares C, Talucod J, Press CJ, Montoya JG. Significance of a Positive *Toxoplasma* Immunoglobulin M Test Result in the United States. *J Clin Microbiol*. 2015;53(11):3601–5.
43. Jones JL, Dietz VJ, Power M, Lopez A, Wilson M, Navin TR, et al. Survey of Obstetrician-Gynecologists in the United States About Toxoplasmosis. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2001;9(1):23–31.
44. Camilo LM, Pereira-Chioccola VL, Gava R, Meira-Strejevitch C da S, Vidal JE, Brandão de Mattos CC, et al. Molecular diagnosis of symptomatic toxoplasmosis: a 9-year retrospective and prospective study in a referral laboratory in São Paulo, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2017;21(6):638–47.
45. Gilbert R. Treatment for congenital toxoplasmosis: finding out what works. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2009;104(2):305–11.

## Apêndice I



### **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

#### **PROJETO DE PESQUISA – DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL DA TOXOPLASMOSE ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE TÉCNICAS MOLECULARES**

Você está sendo convidado a participar da pesquisa descrita a seguir. Seu consentimento deve ser obtido de forma livre por sua decisão e em nenhum momento o pesquisador deverá influenciar de qualquer maneira para consegui-lo.

#### **Explicação do Estudo:**

A toxoplasmose congênita pode ser adquirida através da ingestão de alimentos contaminados principalmente água, carnes cruas ou mal passadas e vegetais não higienizados. No caso das gestantes, quando infectadas com toxoplasmose, ela pode ser transmitida para o bebê. No entanto, há tratamento e o feto pode ser poupado de complicações da doença.

Você está sendo convidada para participar do presente estudo pois está grávida e teve suspeita ou certeza de estar com toxoplasmose. O nosso estudo compõe-se primeiramente de um breve questionário, que permitirá identificar os grupos de risco para a doença, segundo suas características sociais e hábitos. Além disso, pretendemos conhecer os principais problemas no atendimento de gestantes com toxoplasmose. No questionário são feitas algumas perguntas simples, tais como: onde você faz o seu pré-natal, sua composição familiar, grau de instrução, condição social, tipo de transporte que utiliza, hábitos alimentares e contato com animais.

Em seguida, caso confirmada a infecção, daremos seguimento ao seu acompanhamento e tratamento até o final da sua gestação e posteriormente ao nascimento do bebê, por meio de contatos telefônicos ao longo de um ano.

No caso de confirmação de infecção, será oferecido durante o seu acompanhamento um exame chamado Amniocentese. O resultado deste exame nos permitirá ter o diagnóstico de certeza em caso de infecção fetal. Este exame baseia-se na coleta de uma pequena amostra de líquido amniótico (o líquido que fica ao redor do feto), e pesquisa da presença de DNA do toxoplasma. Assim poderemos confirmar a presença de infecção no bebê e iniciar imediatamente o tratamento. Se você tiver indicação para fazer a Amniocentese, o exame será explicado e detalhado em um outro documento que será apresentado a você se for o caso.

Os dados registrados em prontuário, assim como os resultados de todos os seus exames e dos questionários aplicados e as informações obtidas por meio de contato telefônico sobre a evolução dos bebês, vão compor este estudo e para isso estamos pedindo sua autorização voluntária. A qualquer momento do estudo, você poderá tirar o seu consentimento, sem prejuízo para você ou seu bebê. As informações são confidenciais e não serão identificadas. Em qualquer etapa do estudo você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento das dúvidas.

Não há despesas pessoais para o participante em qualquer fase do estudo e também não há compensação financeira relacionada com sua participação. Você será indenizado por qualquer dano decorrente da pesquisa.

Eu, \_\_\_\_\_, acredito ter sido suficiente esclarecida a respeito das informações e concordo voluntariamente em participar desse estudo.

Data \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Assinatura do paciente: \_\_\_\_\_

Assinatura da testemunha: \_\_\_\_\_

Responsável pelo estudo

Responsável pelo estudo

\_\_\_\_\_  
Dra Letícia Guida

Tel: (21) 2554-1919

Email: leticia@iff.fiocruz.br

\_\_\_\_\_  
Dra Elizabeth de Souza Neves

Tel: (21) 2554-1911

Email: elizabeth.neves@ini.fiocruz.br

Av. Rui Barbosa, 716 – Flamengo - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 22250-020

Tel.: (0xx21) 2554-1700 – Fax.: (0xx21) 2553-8094

<http://www.iff.fiocruz.br>



## Apêndice II



### Termo de Assentimento Informado

#### PROJETO DE PESQUISA – DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL DA TOXOPLASMOSE ATRAVÉS DA UTILIZAÇÃO DE TÉCNICAS MOLECULARES

**Assentimento informado para** \_\_\_\_\_

Você, que tem toxoplasmose, está sendo convidada a participar de uma pesquisa sobre toxoplasmose na gestação.

Estamos convidando você e as todas gestantes entre 12 e 17 anos que têm toxoplasmose para participar desta pesquisa. Discutimos esta pesquisa com seus pais ou responsáveis e eles sabem que também estamos conversando com você para ver se você concorda em participar da pesquisa. Seus pais ou responsáveis também irão assinar um documento como este.

Você pode discutir qualquer coisa deste documento com seus pais, amigos ou qualquer um com quem você se sinta à vontade para conversar. Pode haver algumas palavras que você não entenda ou coisas que você queira que eu explique mais detalhadamente porque você ficou interessada ou preocupada. Por favor, peça a qualquer momento e eu explicarei.

Durante a pesquisa, você deverá fazer entrevista, consultas, exames, procedimentos e tratamento.

Não falaremos para outras pessoas que você está nesta pesquisa e também não daremos nenhuma informação sobre você para qualquer um que não trabalhe na pesquisa. Os resultados dos seus exames estarão no seu prontuário.

As informações sobre você serão coletadas na pesquisa e ninguém, exceto os investigadores, poderá ter acesso a elas.

Quando terminarmos a pesquisa, nós sentaremos com você e seus pais e falaremos sobre o que aprendemos com a pesquisa e como ela pode ajudar você. Eu também lhe darei um papel com os resultados por escrito. Depois, iremos falar com mais cientistas e outros profissionais sobre a pesquisa. Faremos isto escrevendo e compartilhando relatórios e indo para as reuniões com pessoas que estão interessadas no trabalho que fazemos.

Este documento será emitido em duas vias, uma para o pesquisador e outra para você.

Eu entendi que a pesquisa é sobre toxoplasmose na gestação e concordo em participar.

Eu entendi que farei (procedimentos/exame/entrevista/consulta/tratamento).

Assinatura da adolescente:\_\_\_\_\_

Assinatura dos pais/responsáveis:\_\_\_\_\_

Assinatura do Pesquisador:\_\_\_\_\_

Dia/mês/ano:\_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Av. Rui Barbosa, 716 – Flamengo - Rio de Janeiro - RJ - CEP: 22250-020

Tel.: (0xx21) 2554-1700 – Fax.: (0xx21) 2553-8094

<http://www.iff.fiocruz.br>

## Apêndice III



### FORMULÁRIO 1

PROJETO DE PESQUISA – TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO: ESTUDO CLÍNICO, DIAGNÓSTICO E EPIDEMIOLÓGICO EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA DO RIO DE JANEIRO

#### Identificação

Nome \_\_\_\_\_ Prontuário: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Data do primeiro atendimento: \_\_\_\_\_

Origem: ( ) rede pública ( ) rede privada ( ) demanda espontânea

Profissão (ocupação): \_\_\_\_\_ Tel: \_\_\_\_\_

#### Gestação

Gesta: \_\_\_\_\_ Abortos: \_\_\_\_\_

Idade gestacional no primeiro atendimento: \_\_\_\_\_

Sintomas: ( ) sim ( ) não

Idade gestacional do início do pré-natal: \_\_\_\_\_ ( ) Desconhece

Toxo IgM na origem: ( ) pos ( ) neg ( ) ind ( ) NR

Toxo IgG na origem: ( ) pos ( ) neg ( ) ind ( ) NR

Toxo avidéz na origem: ( ) alta ( ) baixa ( ) ind ( ) NR

Idade gestacional na sorologia de origem: \_\_\_\_\_ ( ) Desconhece

Tratou na origem: ( ) sim ( ) não

Idade gestacional no início do tratamento na origem: \_\_\_\_\_

Droga: ( ) espiramicina ( ) sulfadiazina + pirimetamina + ácido folínico ( ) outros

Dose correta: ( ) sim ( ) não

#### Dados sócio demográficos

Reside: ( ) município do RJ ( ) Grande Rio ( ) estado do RJ ( ) outro estado

Reside com quantas pessoas: \_\_\_\_\_

Quantas pessoas tem renda na casa: \_\_\_\_\_

Renda familiar: ( ) menos de R\$1.000.00 ( ) R\$1.000.000 - R\$3.000.00

( ) R\$3.000.00 - R\$5.000.00 ( ) + 5.000.00 ( ) Desconhece

Grau de escolaridade: ( ) analfabeto/alfabetizado Anos de estudo: \_\_\_\_\_

Raça/etnia: ( ) branca ( ) parda ( ) negra ( ) indígena ( ) amarela

Convênio com plano de saúde: ( ) sim ( ) não

Onde fez o exame: \_\_\_\_\_

Data sorologia da origem: \_\_\_\_\_

Data da entrega do resultado do exame: \_\_\_\_\_

Conhecimento sobre a infecção antes do diagnóstico: ( ) sim ( ) não

Conhecimento atual: ( ) Origem ( ) Internet ( ) Outros ( ) Nenhum

Foi orientada sobre a amniocentese na origem: ( ) sim ( ) não

Estado conjugal: ( ) mora junto ( ) mora em casas separadas ( ) paradeiro desconhecido

Meios de transporte para IFF: ( ) condução própria ( ) condução pública

A gravidez foi planejada: ( ) sim ( ) não

O pai biológico está acompanhando o tratamento: ( ) sim ( ) não

Tabagismo: ( ) sim ( ) não

Etilismo: ( ) sim ( ) não

Uso de outras drogas: ( ) sim ( ) não

Doença Crônica: ( ) sim Qual \_\_\_\_\_ ( ) não

### **Fatores de risco**

Bebe água: ( ) bica ( ) filtrada ( ) poço ( ) mineral

Come carne mal passada: ( ) sim ( ) não

Come frutas sem lavar: ( ) sim ( ) não

Come fruta sem descascar? ( ) sim ( ) não

Come salada na rua: ( ) sim ( ) não

Tem contato com gatos: ( ) sim Quantos gatos: \_\_\_\_\_ ( ) não

Limpa caixa de areia do gato: ( ) sim ( ) não

Usa luva para limpar a caixa de areia: ( ) sim ( ) não

O gato sai de casa: ( ) sim ( ) não

Lava os utensílios de cozinha: ( ) água quente ( ) água fria

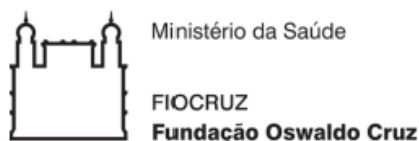
Pratica jardinagem: ( ) sim sem luvas ( ) sim com luvas ( ) não

### **Conduta**

Amniocentese no IFF: ( ) sim ( ) não

Triagem: ( ) Absorvido ( ) Alta ( ) Reencaminha para origem

## Apêndice IV



### FORMULÁRIO 2

PROJETO DE PESQUISA – TOXOPLASMOSE NA GESTAÇÃO: ESTUDO CLÍNICO, DIAGNÓSTICO E EPIDEMIOLÓGICO EM UM CENTRO DE REFERÊNCIA DO RIO DE JANEIRO

Data primeiro atendimento –

Nome –

Data de Nascimento –

Origem - ( ) rede pública ( ) rede privada ( ) demanda espontânea

GPA –

DUM -

DPP –

Idade gestacional (semanas) no primeiro atendimento –

Sintomas sugestivos de toxoplasmose - ( ) Sim ( ) Não

IgM toxo anterior a esta gestação ( ) positivo ( ) negativo ( ) indeterminado ( ) Não realizado

IgG toxo anterior a esta gestação ( ) positivo ( ) negativo ( ) indeterminado ( ) Não realizado

Avidez anterior a esta gestação ( ) alta ( ) baixa ( ) ind ( ) Não realizada

IgM na origem ( ) positivo ( ) negativo ( ) indeterminado ( ) Não realizado

IgG na origem ( ) positivo ( ) negativo ( ) indeterminado ( ) Não realizado

Avidez na origem ( ) alta ( ) baixa ( ) ind ( ) Não realizada

Idade gestacional sorologia na origem –

Laboratório sorologia da origem - ( ) Lab Privado Município RJ ( ) Lab Privado Estado RJ ( ) Rede Pública

USom obstétrico origem – ( ) normal ( ) alterado ( ) Não realizado –

Descrever alteração -

Idade gestacional ultra som obstétrico origem -

USom morfológico origem - ( ) normal ( ) compatível com toxo ( ) outras alterações ( )  
Não realizadoR

USom morfológico origem compatível com toxo – descrever:

USom morfológico origem outras alterações – descrever:

Idade gestacional USom morfológico origem -

Tratou na origem ( ) sim ( ) não –

Idade gestacional início tratamento na origem –

Esquema com sulfadiazina pirimetamina e ácido fólico – ( ) dose correta ( ) dose incorreta ( ) não se aplica

Esquema com espiramicina - ( ) dose correta ( ) dose incorreta ( ) não se aplica

Esquema com clindamicina - ( ) dose correta ( ) dose incorreta ( ) não se aplica

IgM toxo IFF - ( ) positivo ( ) negativo ( ) indeterminado ( ) Não realizado

IgG Toxo IFF - ( ) positivo ( ) negativo ( ) indeterminado ( ) Não realizado

Avidez toxo IFF - ( ) alta ( ) baixa ( ) ind ( ) Não realizada

Idade gestacional sorologia IFF –

Tratou na primeira consulta IFF - ( ) Sulfa,Pirim, Ác Fol ( ) Espira ( ) Clinda ( ) Não tratou

Evento adverso - ( ) sim ( ) não

Conduta face ao evento adverso - ( ) manutenção ( ) troca ( ) suspensão esquema

Triagem: ( ) Absorvido ( ) Alta ( ) Re encaminhada para origem

Amniocentese IFF – ( ) Sim ( ) Não

Idade gestacional Amniocentese IFF –

USom morfológico IFF ( ) normal ( ) compatível com toxo ( ) outras alterações ( ) Não realizado

USom morfológico IFF compatível com toxo – descrever

USom morfológico origem outras alterações - descrever

PCR LA – ( ) Convencional ( ) Quantitativa ( ) Não realizada

PCR Convencional – ( ) Positiva ( ) Negativa ( ) Não realizada

PCR Quantitativa – ( ) Negativa ( ) 1 ( ) 2 ( ) 3 ( ) Não realizada

Conduta pós amniocentese – ( ) manutenção ( ) troca ( ) suspensão do esquema

Evolução – ( ) Nascido vivo ( ) Natimorto ( ) Aborto ( ) Perda de seguimento

Data óbito ou aborto –

Idade gestacional óbito RN ou aborto –

Necrópsia – ( ) Sim ( ) Não

Data do nascimento –

Idade gestacional parto –

Parto - ( ) vaginal ( ) cesáreo

Apgar – 1' ( ) 5' ( )

Fundo de olho – ( ) Normal ( ) Compatível toxo ( ) Não realizado

USG Transfontanela - ( ) Normal ( ) Compatível toxo ( ) Não realizado

Avaliação pediátrica recém-nascido – ( ) Normal ( ) Sugestivo de toxoplasmose

Descrever (alteração) –

IgG toxo RN – ( ) Positivo ( ) Negativo

IgM Toxo RN - ( ) Positivo ( ) Negativo

Avaliação 6 meses – ( ) Normal ( ) Sugestivo de toxoplasmose

IgG toxo 6 meses – ( ) Positivo ( ) Negativo

IgM Toxo 6 meses – ( ) Positivo ( ) Negativo

Avaliação pediatra 1 ano – ( ) Normal ( ) Sugestivo de toxoplasmose



## Anexo I

INSTITUTO FERNANDES  
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/  
MS



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** Diagnóstico Pré-natal da Toxoplasmose através de Técnicas Moleculares

**Pesquisador:** Leticia da Cunha Guida

**Área Temática:**

**Versão:** 5

**CAAE:** 14832713.7.0000.5269

**Instituição Proponente:** Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

**Patrocinador Principal:** Instituto Fernandes Figueira - IFF/ FIOCRUZ - RJ/ MS

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.482.189

**Apresentação do Projeto:**

Emenda

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo da emenda:

- 1) Incluir no formulário de informações básicas do projeto o nome da aluna de mestrado Bianca Balzano na equipe de pesquisa.
- 2) Incluir no formulário de informações básicas do projeto o uso das informações obtidas no prontuário do sujeito da pesquisa.
- 3) Apresentar o TCLE modificado que conste o consentimento do uso dos dados de prontuário.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

Não são objetos da emenda.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

A pesquisadora realizou os acertos solicitados pelo CEP.

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

O TCLE foi modificado e incluído a informação do uso de dados do prontuário.

**Recomendações:**

Encaminhar relatórios periodicamente.

**Endereço:** RUI BARBOSA, 716

**Bairro:** FLAMENGO

**CEP:** 22.250-020

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2554-1730

**Fax:** (21)2552-8491

**E-mail:** cepiff@iff.fiocruz.br

**INSTITUTO FERNANDES  
FIGUEIRA - IFF/ FIOCRUZ - RJ/  
MS**



Continuação do Parecer: 2.482.189

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Sem pendências

**Considerações Finais a critério do CEP:**

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1045334_E2.pdf	29/01/2018 15:07:37		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEmodificado.docx	29/01/2018 14:40:15	Leticia da Cunha Guida	Aceito
Outros	Formulario_dados_prontuario.docx	08/12/2017 15:13:30	Leticia da Cunha Guida	Aceito
Outros	formulario_socio_demografico.docx	08/12/2017 15:11:13	Leticia da Cunha Guida	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto final 050813-2.doc	08/08/2013 14:23:04		Aceito
Outros	parecertoxovicepesquisa.pdf	29/04/2013 15:16:46		Aceito
Folha de Rosto	cep.pdf	18/04/2013 01:07:32		Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

RIO DE JANEIRO, 01 de Fevereiro de 2018

**Assinado por:**

**Ana Maria Aranha Magalhães Costa  
(Coordenador)**

**Endereço:** RUI BARBOSA, 716

**Bairro:** FLAMENGO

**CEP:** 22.250-020

**UF:** RJ

**Município:** RIO DE JANEIRO

**Telefone:** (21)2554-1730

**Fax:** (21)2552-8491

**E-mail:** cepiff@iff.fiocruz.br