



**UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

**Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em grávidas da região de Lisboa e Vale do Tejo e estudo dos factores de risco**

**Tânia Vanessa dos Santos Sevivas**

**DISSERTAÇÃO PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

**MAIO, 2011**



**UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA**

**Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em grávidas da região de Lisboa e Vale do Tejo e estudo dos factores de risco**

**Mestrando: Tânia Vanessa dos Santos Sevivas**  
**Orientador: Professora Doutora Olga Matos**

**Dissertação apresentada para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas, realizada sob a orientação científica da Professora Doutora Olga Matos**

**MAIO, 2011**

*Em memória do meu pai, uma força da natureza que me ensinou a procurar o meu  
caminho.*

*À minha mãe, amiga, confidente e por me fazer sentir amada.*

*Ao Hugo Seivas e Ana Morgado pelo seu apoio incondicional.*

*Ao meu sobrinho Tiago que é a alegria da minha vida.*

*Ao meu namorado pelo carinho e compreensão.*

*Aos meus amigos que têm sido um forte e importante apoio.*

## **Agradecimento**

À minha orientadora, Professora Doutora Olga Matos, pela oportunidade de ampliar os meus conhecimentos, pela compreensão e ajuda em todos os momentos da execução desta tese, por abdicar dos momentos de descanso pela ciência, pelo exemplo de profissionalismo, ética e competência, os meus profundos e sinceros agradecimentos

À Doutora Maria Luísa Lobo, Doutor Francisco Esteves e à Dr.<sup>a</sup> Vera Codices por todo o incentivo, pela paciência, pela disponibilidade e pelas orientações valiosas, que contribuíram, para a realização deste trabalho.

À Dr.<sup>a</sup> Estel Casal, na altura Directora do Serviço de Obstetrícia Hospital Garcia de Orta, ao Dr. Miguel Maya, à Dr.<sup>a</sup> Berta Lopes, à Dr.<sup>a</sup> Sílvia Coto, à Dr.<sup>a</sup> Maria Manuela Almeida, bem como a todas as enfermeiras da Consulta Materno-Fetal por estarem sempre disponíveis e pela confiança e esforço prestado na recolha dos questionário.

À Dr.<sup>a</sup> Maria da Piedade Arcanjo Ramos, à Dr.<sup>a</sup> Ana Maria Miranda Lemos e à técnica de Análises Clínicas e Saúde Pública Cristina Fonseca do Laboratório de imunologia do Serviço de Patologia Clínica do Hospital Garcia de Orta pela recolha de amostras de sangue, disponibilidade e zelo profissional que me permitiram realizar este trabalho.

Ao Dr. Bruno Silva pela sua disponibilidade e paciência no tratamento estatístico dos resultados deste trabalho.

Agradeço, especialmente, a todas as grávidas que se dispuseram a participar na pesquisa, permitindo a realização deste trabalho.

À Lisa Machado, prima e amiga, que me ouviu, ajudou e me incentivou ao longo da realização deste trabalho.

À Rita Monteiro, uma grande amiga, pelas contribuições oferecidas e que me estimulou e ajudou nos vários momentos de desânimo, demonstrando o verdadeiro valor de uma amizade.

Ao meu namorado, Vítor Ramos, pelo apoio e compreensão nos momentos mais difíceis.

A todos os que contribuíram directa ou indirectamente para a realização deste estudo.

## Resumo

### Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em grávidas, na região de Lisboa e Vale do Tejo e estudo dos factores de risco

Tânia Vanessa dos Santos Sevivas

A toxoplasmose é uma antroponose de distribuição mundial que afecta quase um terço da população humana, bem como os animais e é causada por um protozoário intracelular obrigatório, *Toxoplasma gondii*. A prevalência desta parasitose na população humana varia com os hábitos alimentares, nível sócio-económico e com o clima. A transmissão ao homem está associada à ingestão de oocistos infecciosos (esporulados) provenientes das fezes dos gatos, a partir da água, de alimentos e do solo contaminados, ingestão de quistos na carne crua ou mal cozida, via congénita ou transfusional e por transplante de órgãos e/ou de tecidos de dadores infectados com o parasita e, mais raramente, através do leite não pasteurizado. A transmissão materno-fetal do parasita só ocorre quando a infecção é adquirida pela primeira vez na gravidez, podendo provocar sequelas graves para o feto, nomeadamente, atraso mental e morte fetal.

O objectivo deste trabalho foi determinar a prevalência e os factores de risco associados à infecção por *T. gondii* em grávidas seguidas no Hospital Garcia de Orta. Este estudo teve a duração de 8 meses (Abril de 2010 a Janeiro de 2011) e foram contactadas 163 grávidas, das quais 140 (85,89 %) responderam ao questionário, tendo sido possível recolher soros de 155 (96,88%) grávidas. Os soros recolhidos foram testados para os anticorpos IgG anti-*T. gondii* pelo kit comercial Toxo-Screen Da e para os anticorpos IgM anti-*T. gondii* pelo kit comercial Toxo-ISAGA, ambos da bioMérieux®. Nas amostras seropositivas para o anticorpo IgM anti-*T. gondii* realizou-se a avidéz dos anticorpos IgG anti-*T. gondii* através do kit NovaLisa - *Toxoplasma gondii* IgG Avidity Test da Novatec™. Foi efectuada a análise descritiva dos dados, centrada essencialmente em frequências absolutas para cada variável. Para testar a associação entre as variáveis utilizou-se o teste Qui-Quadrado de Pearson ou o teste exacto de Fisher (IC 95%,  $p \leq 0,05$ ).

A prevalência da toxoplasmose nas grávidas, neste estudo, foi de 21,94% (34), dos quais 50% (17) correspondem a grávidas seropositivas só para os anticorpos IgG (imunidade) e os outros 50% (17) correspondem a grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM. Neste último grupo, realizou-se a avidéz e verificou-se que todas as grávidas eram portadoras de uma infecção antiga. Também, constatou-se que 78,06% das grávidas eram susceptíveis para a toxoplasmose, com risco de adquirirem a doença durante a gravidez. Na análise estatística entre os factores de risco e a infecção por *T. gondii* nas grávidas verificámos uma associação significativa ( $p < 0,05$ ) entre o número de partos, o conhecimento da toxoplasmose, o contacto com gatos de familiares/amigos e o consumo de carne proveniente da caça (pássaros, coelhos, javalis etc.). Estes factores parecem ser de grande importância na aquisição da infecção por *T. gondii* nas grávidas, deste estudo, dentre os vários factores investigados.

Este trabalho pode constituir um alerta para que os profissionais de saúde insistam na prevenção primária, fornecendo informação (escrita e oral) sobre como evitar a infecção por *T. gondii* durante a gravidez e efectuar uma vigilância serológica, apenas quando esta se torna necessária, ou seja, nas grávidas não imunes à toxoplasmose.

**Palavras-chave:** *Toxoplasma gondii*, Gravidez, Factores de risco para toxoplasmose

## Abstract

### **Prevalence of antibodies anti-*Toxoplasma gondii* in pregnant women from the Lisbon region and Vale do Tejo and study of risk factors associated**

Tânia Vanessa Santos Seivas

Toxoplasmosis is an anthrozoosis of worldwide distribution that affects almost one third of the human population, as well as animals, caused by an intracellular protozoan *Toxoplasma gondii*. The prevalence of this parasite in human population varies due to dietary habits, socio-economic status and the climate. The transmission to humans is associated with ingestion of infectious oocysts (sporulated) from cat feces, water, food, contaminated soil, and ingestion of cysts in raw or undercooked meat, through congenital via or blood transfusion and by organ and/or tissue transplantation from an infected donor and, more rarely, through unpasteurized milk. The maternal-fetal transmission of the parasite only occurs when the infection is acquired for the first time during pregnancy, capable of causing serious harm to the fetus, including mental retardation and fetal death.

The purpose of this study was to determine the prevalence and risk factors associated with infection by *T. gondii* in pregnant women followed at Hospital Garcia de Orta. This study had a duration of eight months (April 2010 to January 2011), where 163 pregnant women were contacted, of which 140 (85.89%) answered the questionnaire, enabling us to collect serum from 155 (96.88%) pregnant women. The collected serums were tested for the anti-*T. gondii* IgG antibodies by the Toxo-Screen Da commercial kit and for anti-*T. gondii* IgM antibodies the Toxo-ISAGA commercial kit was utilized, both from bioMérieux®. In seropositive samples for anti-*T. gondii* IgM antibodies an avidity test was held for anti-*T. gondii* IgG antibodies by the NovaLisa kit - *Toxoplasma gondii* IgG Avidity Test of Novatec™. Descriptive analysis was conducted for the gathered data, focusing primarily on absolute frequencies for each variable. To test the association between variables, the Pearson's chi-square test was used (IC 95%,  $p \leq 0.05$ ).

The prevalence of toxoplasmosis in pregnant women in this study was 21.94% (34), of which 50% (17) correspond to seropositive samples only for IgG antibodies (immunity) and the other 50% (17) correspond to seropositive samples for both IgG/IgM antibodies. In the last group, the avidity test was performed allowing us to discover that all pregnant women were carriers of a past infection. Also, this study allowed us to verify that 78,06% of all pregnant women were susceptible to toxoplasmosis with a certain risk of acquiring the disease during pregnancy. In the statistical analysis between risk factors and infection by *T. gondii* in pregnant women we found a significant association ( $p < 0.05$ ) between the number of births, knowledge of toxoplasmosis, contact with cats belonging to family/friends and the consumption of meat from hunting sources (birds, rabbits, boars, etc.). These risk factors seem to be of great importance in the acquisition of infection by *T. gondii* in pregnant women, from this study, among the various factors investigated.

This work may therefore constitute a warning for health professionals to insist on primary prevention by providing information (written and oral) about how to avoid

infection caused by *T. gondii* during pregnancy and carry out a serological surveillance only when it becomes necessary, i.e., in pregnant women not immune to toxoplasmosis.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, Pregnancy, Risk factors for toxoplasmosis

# Índice

<b>Agradecimento</b> .....	iv
<b>Resumo</b> .....	vi
<b>Abstract</b> .....	viii
<b>Índice</b> .....	x
<b>Índice de Figuras</b> .....	xiv
<b>Índice de Gráficos</b> .....	xv
<b>Índice de Quadros</b> .....	xviii
<b>Lista de abreviaturas</b> .....	xix
<b>1 - Introdução</b> .....	1
1.1 - A descoberta da toxoplasmose.....	1
1.2 - Taxonomia (Levine, 1980) .....	2
1.3 - Parasita.....	3
1.4 - Morfologia .....	3
1.4.1 - Taquizoíto .....	4
1.4.2 - Quistos com bradizoítos.....	5
1.4.3 - Oocistos.....	6
1.5 - Ciclo de vida de <i>T. gondii</i> .....	7
1.5.1- Fase assexuada .....	7
1.5.2 - Fase sexuada.....	8
1.6 - Sistema imune do hospedeiro .....	9
1.7 - Epidemiologia.....	11

1.7.1 - Transmissão, prevalência e factores de risco .....	12
1.7.2 - Sensibilidade e resistência das formas de <i>T. gondii</i> .....	15
1.8 - Toxoplasmose .....	16
1.8.1 - Toxoplasmose adquirida no imunocompetente.....	17
1.8.2 - Toxoplasmose no imunocomprometido.....	18
1.8.3 - Toxoplasmose congénita.....	20
1.9 - Diagnóstico Laboratorial da Toxoplasmose .....	20
1.9.1 - Diagnóstico indirecto .....	21
1.9.1.1 - Teste de Sabine-Feldman .....	22
1.9.1.2 - Aglutinação directa.....	23
1.9.1.3 - Imunofluorescência indirecta .....	23
1.9.1.4 - Avidéz da IgG.....	23
1.9.1.5 - Enzyme Linked immunosorbent Assay (ELISA).....	24
1.9.2 - Diagnóstico directo .....	24
1.9.2.1 - Isolamento do parasita.....	24
1.9.2.2 - Exame histopatológico .....	24
1.9.2.3 - Métodos moleculares.....	25
1.9.3 - Diagnóstico em idade fértil.....	25
1.9.4 - Diagnóstico de uma seroconversão materna.....	26
1.9.5 - Diagnóstico da toxoplasmose congénita.....	26
1.9.5.1 - Diagnóstico pré-natal.....	26
1.9.5.2 - Diagnóstico neo-natal.....	27
1.9.5.3 - Diagnóstico pós-natal .....	27

1.10 - Tratamento da toxoplasmose .....	27
1.11 - Políticas de prevenção e controlo .....	29
1.12 - Vacinação.....	36
1.13 - Objectivos do trabalho .....	36
<b>2 – Material e Métodos .....</b>	<b>37</b>
2.1 – Dados Epidemiológicos .....	37
2.1.1 - Inquérito .....	37
2.2 - Serologia .....	39
2.2.1 – Toxo-Screen DA.....	39
2.2.2 – Toxo-ISAGA .....	41
2.2.3 – Avidéz da IgG.....	44
2.3 – Tratamento estatístico .....	47
<b>3 – Resultados.....</b>	<b>49</b>
3.1 - Serologia .....	49
Detecção do anticorpo IgG anti- <i>T. gondii</i> .....	49
Detecção do anticorpo IgM anti- <i>T. gondii</i> .....	50
Determinação da Avidéz das IgG anti- <i>T. gondii</i> .....	51
3.2 – Caracterização da amostra.....	52
Variáveis sócio-demográficas .....	52
3.3 – Caracterização dos Factores de Risco.....	58
Conhecimento sobre a toxoplasmose .....	58
Saneamento básico .....	59
Animais de estimação.....	61

Presença de roedores nas imediações da habitação .....	65
Existência de uma horta na residência.....	67
Prática de actividades ligadas ao solo (jardinagem, agricultura, etc.).....	68
Alimentação.....	69
Criação de animais para consumo próprio ou comercialização .....	71
Consumo de carne proveniente da caça.....	72
Consumo de carne crua ou mal cozida .....	73
Consumo de leite ou lacticínios não pasteurizados .....	74
Higiene das frutas e/ou legumes antes de as consumir.....	75
Consumo de ovo cru ou mal cozido .....	77
<b>4 – Discussão e Conclusões .....</b>	<b>79</b>
<b>5 – Bibliografia .....</b>	<b>91</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>105</b>
Anexo I – Questionário .....	105
Anexo II – Consentimento informado.....	109
Anexo III – Consentimento da Comissão de Ética do Hospital Garcia de Orta .....	111

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - Charles Nicolle (1866-1936) (Fonte: <a href="http://www.toxo100.org/html">http://www.toxo100.org/html</a> acessido pela última vez a 31 de Março de 2011).....	1
<b>Figura 2</b> - <i>Ctenodactylus gundi</i> (Fonte: <a href="http://pt.wikipedia.org/wiki/Ctenodactylus_gundi">http://pt.wikipedia.org/wiki/Ctenodactylus_gundi</a> acessido pela última vez a 31 de Março de 2011) .....	1
<b>Figura 3</b> – Estrutura do taquizoíto (adaptado de Dubey <i>et al.</i> 1998 [16])......	5
<b>Figura 4</b> – Diagrama da endodiogenia (adaptado de Black <i>et al.</i> 2000 [18]). .....	5
<b>Figura 5</b> – Estrutura do bradizoíto (adaptado de Dubey <i>et al.</i> 1998 [16])......	6
<b>Figura 6</b> – Oocistos não esporulados (contraste de interferência diferencial (DIC)) (fonte: <a href="http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/imagelibrary/SToxoplasmosis/body_Toxoplasmosis_il6.htm">http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/imagelibrary/SToxoplasmosis/body_Toxoplasmosis_il6.htm</a> ) .....	7
<b>Figura 7</b> – Ciclo de vida de <i>T. gondii</i> (Fonte: <a href="http://www.higherground.utk.edu/2010/11/taking-on-toxoplasma/">http://www.higherground.utk.edu/2010/11/taking-on-toxoplasma/</a> ).....	9
<b>Figura 8</b> – Principais vias de transmissão de <i>T. gondii</i> aos vários hospedeiros .....	15
<b>Figura 9</b> - Distribuição geográfica das políticas de âmbito nacional sobre prevenção da toxoplasmose congénita (adaptado de Valériane <i>et al.</i> [96]).....	32
<b>Figura 10</b> - Distribuição geográfica das práticas locais em matéria de prevenção da toxoplasmose congénita (adaptado de Valériane <i>et al.</i> [96]).....	33

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1</b> – Percentagem de anticorpos IgG Positivo/Negativo .....	49
<b>Gráfico 2</b> - Percentagem de anticorpos IgM Positivo/Negativo .....	50
<b>Gráfico 3</b> - Percentagem de grávidas por Concelho .....	52
<b>Gráfico 4</b> – Percentagem de grávidas por Grupo etário.....	53
<b>Gráfico 5</b> – Percentagem de grávidas por Idade gestacional .....	54
<b>Gráfico 6</b> – Percentagem de grávidas por número de partos .....	54
<b>Gráfico 7</b> – Grupo etários <i>versus</i> Número de partos.....	55
<b>Gráfico 8</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Idade gestacional .....	57
<b>Gráfico 9</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Grupo etário.....	58
<b>Gráfico 10</b> – Percentagem de grávidas por conhecimento da toxoplasmose.....	59
<b>Gráfico 11</b> - Percentagem de grávidas com saneamento básico na habitação .....	60
<b>Gráfico 12</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Saneamento básico .....	61
<b>Gráfico 13</b> – Percentagem de grávidas com ou sem animais de estimação.....	61
<b>Gráfico 14</b> – Percentagem de grávidas que possuem cães, gatos ou outros animais de estimação .....	62
<b>Gráfico 15</b> - Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Animais de estimação .....	63
<b>Gráfico 16</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Qual o animal de estimação.....	64
<b>Gráfico 17</b> – Percentagem de grávidas que tinham contacto com gatos que não eram os seus.....	64
<b>Gráfico 18</b> – Percentagens de grávidas para a presença de roedores nas imediações da habitação .....	66

<b>Gráfico 19</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Presença de roedores nas imediações da habitação .....	66
<b>Gráfico 20</b> – Percentagem de grávidas com horta na residência .....	67
<b>Gráfico 21</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Existência de uma horta na residência	68
<b>Gráfico 22</b> – Percentagem de grávidas que realizam actividades ligadas ao solo (jardinagem, agricultura, etc.).....	68
<b>Gráfico 23</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Prática de actividades ligadas ao solo .	69
<b>Gráfico 24</b> - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir produtos provenientes da caça.....	70
<b>Gráfico 25</b> - Percentagem de grávidas que consomem carne crua .....	70
<b>Gráfico 26</b> - Percentagem de grávidas que têm criação de animais para consumo próprio ou comercialização .....	71
<b>Gráfico 27</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Criação de animais para consumo próprio ou comercialização.....	72
<b>Gráfico 28</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Consumo de carne crua ou mal cozida	74
<b>Gráfico 29</b> - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir leite ou lacticínios não pasteurizados.....	74
<b>Gráfico 30</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Consumo de leite ou lacticínios não pasteurizados.....	75
<b>Gráfico 31</b> - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir fruta e/ou legumes sem realizar a higiene .....	76
<b>Gráfico 32</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Consumo de fruta e/ou legumes sem lavar .....	76
<b>Gráfico 33</b> - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir ovo cru ou mal cozido .....	77

**Gráfico 34** – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Consumo de ovo cru ou mal cozido ....78

## Índice de Quadros

<b>Quadro 1</b> - Correspondência entre a diluição e o título em anticorpos (UI/mL).....	41
<b>Quadro 2</b> - Distribuição das 155 grávidas de acordo com o resultado da serologia anti- <i>T. gondii</i> . .....	51
<b>Quadro 3</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Número de partos .....	56
<b>Quadro 4</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Conhecimento da doença .....	59
<b>Quadro 5</b> - Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Contacto com gatos que não eram os seus .....	65
<b>Quadro 6</b> – Diagnóstico da toxoplasmose <i>versus</i> Consumo de carne proveniente da caça	73

## Lista de abreviaturas

**2-ME** – 2- mercaptoetanol

**°C** – Graus Célsius

**$\chi^2$**  – Qui-Quadrado

**Ac** – Anticorpo

**Ag** – Antigénio

**BABS** – Solução de Albumina Sérica Bovina, do inglês *Bovine Albumin Borate Solution*

**CDC** – Centers for Disease Control

**CE** – Comissão Europeia

**DAT** – Teste de Aglutinação Directa, do inglês *Direct Agglutination Test*

**DIC** – Contraste de Interferência Diferencial, do inglês *Differential Interference Contrast*

**DNA** – Ácido Desoxirribonucleico, do inglês *Deoxiribonucleic Acid*

**DT** – Dye test

**ELISA** – Ensaio Imunoenzimático, do inglês *Enzyme Linked immunosorbent Assay*

*Et al.* – E outros

**E.U.A** – Estados Unidos da América

**g** – grama

**GRA** – Antigénio de Grânulos Densos, do inglês *Dense Granule Antigen*

**IFI** – Imunofluorescência Indirecta, do inglês *Indirect Immunofluorescence*

**IFN- $\gamma$**  - Interferão gama, do inglês *Interferon gama*

**Ig** – Imunoglobulina

**IgA** – Imunoglobulina A

**IgG** – Imunoglobulina G

**IgM** – Imunoglobulina M

**IL-4** – Interleucina 4

**IL-10** – Interleucina 10

**IL-12** – Interleucina 12

**ISAGA** – Teste de aglutinação por imuno-absorção, do inglês *Immuno Sorbent Agglutination Assay*

**IU** – Unidades Internacionais, do inglês *International Units*

**kGy** – Quilogray

**μl** – microlitro

**μm** – micromilímetros

**mg** – miligrama

**ml** – mililitro

**N** – Número

**NK** – Exterminadoras Naturais, do inglês *Natural killer*

**nm** – nanómetro

**PCR** – Reacção em Cadeia da Polimerase, do inglês *Polimerase Chain Reaction*

**PBS** – Tampão de Fosfato Salino, do inglês *Phosphat Buffered Saline*

**ROP** – Proteínas de roptrias, do inglês *Rhoptry Protein*

**SAG** – Gene do Antígeno de Superfície, do inglês *Surface Antigens Gene*

**Tc** – Linfócitos T- cytotoxic

**T. gondii** – *Toxoplasma gondii*

**TGF-β** – Factor Transformador do Crescimento beta, do inglês *Transforming growth factor - beta*

**Th** – Linfócitos T-helper

**Th1** – Linfócitos T-helper 1

**Th2** – Linfócitos T-helper 2

**TMB** – Tetramethylbenzidine

**TNF- $\alpha$**  – Factor de necrose tumoral alfa, do inglês *Tumor Necrosis Factor - alpha*

**UV** – Ultra violeta

**VIH** – Vírus da Imunodeficiência Humana

# 1 - Introdução

## 1.1 - A descoberta da toxoplasmose

O protozoário *Toxoplasma gondii* foi descoberto por Nicolle (Figura 1) e Manceaux em 1908 no Instituto Pasteur de Tunísia, onde isolaram e observaram em células mononucleares do baço e fígado de um roedor da espécie *Ctenodactylus gundi* (Figura 2) um parasita intercelular, inicialmente foi denominado *Leishmania gondii* de acordo com dois critérios : “*Les éléments parasités sont toujours des mononucléaires; on ne rencontre jamais de protozoaires dans les globules rouges, dans les polynucléaires ni dans les cellules du foie e ... la présence fréquente de deux corps chromatiques: grand et petit karyosomes*”. Estes critérios eram utilizados, na altura, para caracterizar o parasita *Leishmania* spp. Nesse mesmo ano, no Brasil, o investigador Splendore isolou o mesmo parasita em vísceras de coelhos. Em 1909, Nicolle e Manceaux, após vários estudos experimentais e de uma extensa análise microscópica rectificaram a denominação para *Toxoplasma gondii* (do grego toxon = arco e plasma = forma) (1; 2).



Figura 1 - Charles Nicolle (1866-1936)  
(Fonte:<http://www.toxo100.org/html> acedido pela última vez a 31 de Março de 2011)



Figura 2 - *Ctenodactylus gundi* (Fonte:  
[http://pt.wikipedia.org/wiki/Ctenodactylus\\_gundi](http://pt.wikipedia.org/wiki/Ctenodactylus_gundi) acedido pela última vez a 31 de Março de 2011)

Em 1923 Janku, um oftalmologista de Praga, relatou o primeiro caso de coriorretinite (Inflamação da coróide e da retina) onde encontrou quistos do parasita na retina de uma criança mas só em 1928 é que Levaditi identificou esse parasita como sendo *T. gondii*. Seguidamente, em 1938, Wolf & Cowan relataram o primeiro caso de transmissão congénita de *T. gondii* (1; 3).

Durante mais de 60 décadas realizaram-se numerosas investigações que contribuíram para todo o conhecimento que hoje se tem em relação ao parasita *T.gondii*, nomeadamente, em 1948, quando o investigador Albert Sabin desenvolveu um teste serológico “dye test” que se mantém como o “gold standard” para o diagnóstico da toxoplasmose iniciando-se, assim, os primeiros estudos epidemiológicos. Além desta descoberta, em 1970, também se conseguiu determinar definitivamente o ciclo de vida de *T. gondii* quando Dubey, Millar e Frenkel descobriram a fase sexuada ao encontrarem oocistos no intestino delgado do gato (4; 5; 6).

Actualmente, a toxoplasmose é considerada a infecção parasitária mais comum no planeta, por estar presente em um terço da sua população. Esta patologia tornou-se um grande problema para a saúde em vários países e adquire especial importância na infecção congénita, quando adquirida durante a gravidez, assim como, na sua reactivação em imunocomprometidos (seropositivos para o vírus da imunodeficiência adquirida - VIH) e naqueles que estejam a fazer medicação imunossupressora (7; 8).

## **1.2 - Taxonomia (Levine, 1980)**

Reino - Protista

Subreino - Protozoa (Goldfuss,1918)

Filo - Apicomplexa (Levine,1970)

Classe - Sporozoea (Leuckart,1879)

Subclasse - Coccidia (Leuckart,1879)

Ordem - Eucoccidia (Léger e Duboscq, 1910)

Subordem - Eimeriina (Léger, 1911)

Família - Sarcocystidae (Porche, 1913)

Subfamília - Toxoplasmatinae (Biocca, 1957)

Gênero - *Toxoplasma* (Nicolle e Manceaux, 1909)

Espécie - *gondii* (Nicolle e Manceaux, 1909)

### **1.3 - Parasita**

*T. gondii* é um parasita intracelular obrigatório capaz de se replicar em qualquer célula nucleada, possui um ciclo evolutivo heteroxeno, tem ampla distribuição geográfica e pode ser encontrado numa grande variedade de hospedeiros vertebrados ou homeotérmicos (mamíferos e aves), nos mais diversos climas em diferentes continentes. O hospedeiro definitivo pertence ao grupo dos felídeos, sendo o gato da maior importância epidemiológica. O homem e outros animais (não felídeos) são os hospedeiros intermediários (9; 10).

### **1.4 - Morfologia**

*T. gondii* apresenta diversas alterações morfológicas, dependendo do habitat e do estágio evolutivo. Durante o seu ciclo de vida apresenta três formas evolutivas e infecciosas (11).

### 1.4.1 - Taquizoíto

A designação taquizoíto deriva do grego *tachos* = rápido e foi utilizada, pela primeira vez, por Frenkel quando observou formas com uma rápida divisão celular que podem invadir várias células, hepáticas, pulmonares, nervosas e musculares e podem ser encontrados em vários líquidos orgânicos e excreções do hospedeiro intermediário e do hospedeiro definitivo, sendo responsáveis pelas manifestações da infecção aguda (12; 13; 14).

O taquizoíto de *T. gondii* é móvel, polarizado e apresenta uma forma arqueada com cerca de 6 a 8 µm de comprimento e 2 a 4 µm de largura, possui uma extremidade anterior afilada e a extremidade posterior arredondada (Figura 3). Na extremidade anterior do taquizoíto localiza-se o complexo apical que possui alguns organitos, característicos dos seres eucariotas, como o núcleo esférico, uma mitocôndria única e ramificada, retículo endoplasmático, numerosos ribossomas e diversas inclusões além dos organitos característicos do filo, como conóide, róptrias, grânulos densos e micronemas que são importantes na invasão celular (15; 16). Estas estruturas reproduzem-se por endodiogenia múltipla (forma particular de multiplicação assexuada, em que as células-filhas se formam no interior da célula-mãe, esta no final da multiplicação é destruída, libertando as células-filhas) (Figura 4) (17) dentro de vacúolos parasitóforos, no citoplasma das células nucleadas do hospedeiro e requerem um habitat intracelular para se multiplicar e sobreviver, uma vez que são destruídas pelo suco gástrico, são sensíveis à temperatura e são muito susceptíveis à terapêutica e à acção dos anticorpos anti-*T. gondii*. Proteínas de grânulos densos são libertadas durante e após a formação do vacúolo parasitóforo, modificando o ambiente do vacúolo para a sobrevivência e replicação intracelular do parasita. Quando a célula está repleta de taquizoítos rebenta, libertando os taquizoítos formados, os quais vão invadir novas células. A multiplicação dos taquizoítos diminui à medida que aumenta a imunidade contra o parasita, dando origem aos bradizoítos (18; 19).

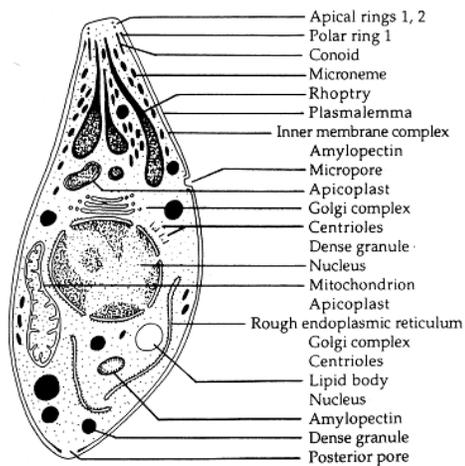


Figura 3 – Estrutura do taquizoíta (adaptado de Dubey *et al.* 1998 [16]).

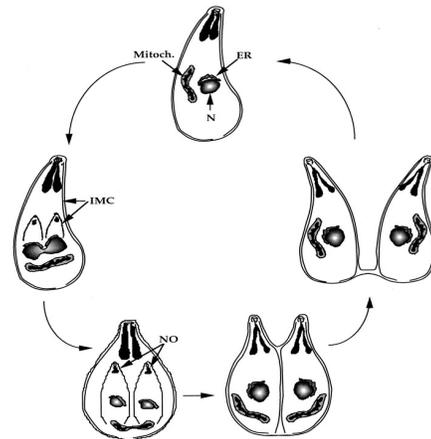


Figura 4 – Diagrama da endodiogenia (adaptado de Black *et al.* 2000 [18]).

#### 1.4.2 - Quistos com bradizoítos

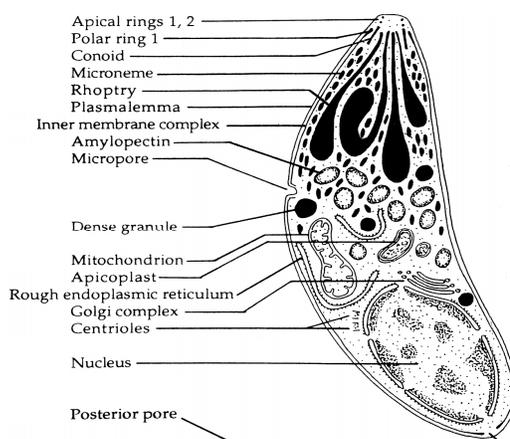
Estas formas são resultantes da resposta imune do hospedeiro contra o taquizoíta. A denominação bradizoítos provém do grego *bradys* = lento, caracterizando assim a proliferação lenta no interior dos quistos (4).

Os bradizoítos (Figura 5) são muito parecidos morfológicamente com os taquizoítos distinguindo-se pela localização do núcleo mais posterior, por possuírem dimensões mais exíguas; por usufruir de um maior número de micronemas e de grânulos citoplasmáticos contendo glicogénio (12).

Existem outros aspectos para além dos estruturais que permitem distinguir os bradizoítos dos taquizoítos como por exemplo, serem mais resistentes às enzimas proteolíticas podendo permanecer viáveis nos tecidos por vários anos. Esta forma pode ser encontrada em vários tecidos (cardíaco, esquelético e muscular), normalmente durante a fase crónica (20).

O quisto é considerado o estado de vida latente do parasita, não se multiplica, mas o seu aumento está relacionado com a multiplicação, por endodiogenia, dos bradizoítos no

seu interior e é a forma de resistência e persistência do parasita quando se encontra nos tecidos do hospedeiro. A parede do quisto pode ser destruída pelos sucos gástricos mas são mais resistentes à temperatura ambiente do que os taquizoítos. Tem um aspecto arredondado ou adapta a forma das células que parasita, desenvolve-se progressivamente no citoplasma da célula hospedeira e contém centenas de bradizoítos. Existem dois factores que são muito importantes para a continuidade do parasita: a localização intracelular do quisto e a integridade da célula hospedeira **(15)**.

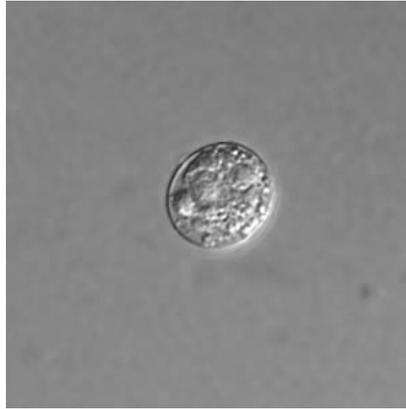


**Figura 5 – Estrutura do bradizoíto (adaptado de Dubey *et al.* 1998 [16]).**

### **1.4.3 - Oocistos**

Os oocistos são esféricos e medem cerca de 11  $\mu\text{m}$  de largura por 12.5  $\mu\text{m}$  de comprimento. Estas formas resultam da reprodução sexuada de *T. gondii*, nas células intestinais do hospedeiro definitivo dando origem a um oocisto imaturo, não esporulado (Figura 6) e não infeccioso sendo o único estado diploide do ciclo parasitário **(21)**.

Quando os oocistos são libertados para o exterior junto com as fezes dos felídeos e em condições ambientais adequadas (humidade, oxigénio e temperatura de 20 a 25°C), sofre esporogonia tornando-se maturo e infeccioso. No final o oocisto contém dois esporocistos com quatro esporozoítos haploides cada **(12)**.



**Figura 6 – Oocistos não esporulados (contraste de interferência diferencial (DIC))**  
(fonte:[http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/imagelibrary/SToxoplasmosis/body\\_Toxoplasmosis\\_il6.htm](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/imagelibrary/SToxoplasmosis/body_Toxoplasmosis_il6.htm))

### **1.5 - Ciclo de vida de *T. gondii***

*T. gondii* possui um ciclo evolutivo heteroxeno, que inclui duas fases divergentes: a fase assexuada ou ciclo exoentérico que se desenvolve, indiferentemente, nos hospedeiros intermediários e nos hospedeiros definitivos e a fase sexuada ou ciclo entérico que ocorre no epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos (Figura 7) (21).

*T. gondii* desenvolveu capacidades que permitem sobreviver sem destruir os seus hospedeiros, conservando a espécie. Pensa-se que o sucesso da sobrevivência do parasita deve-se às adaptações morfológicas e funcionais que o tornam apto para invadir, resistir e replicar-se em todos os tipos de células.

#### **1.5.1- Fase assexuada**

O hospedeiro intermediário é infectado através da ingestão de oocistos/taquizoítos/quistos de acordo com a sua alimentação. No trato intestinal os esporozoítos e/ou bradizoítos que foram libertados após ruptura da membrana dos oocistos ou quistos, respectivamente, evoluem rapidamente para taquizoítos. Os taquizoítos atravessam o

epitélio intestinal e invadem várias células do organismo, ficando isolado na célula através dos vacúolos parasitóforos onde proliferam **(22; 23)**. Quando o vacúolo parasitóforo, repleto de taquizoítos, preenche a célula hospedeira, esta rompe-se, libertando os taquizoíto. Esta fase da doença é designada por fase aguda. Os taquizoítos libertados são transportados pelo sangue circulante, linfa ou leucócitos e vão invadir outras células. Estas formas podem ser influenciadas pela resposta imune do hospedeiro e pela virulência da estirpe infectante diminuindo o ritmo de reprodução e levando à formação de quistos com bradizoítos nos tecidos. Com o desenvolvimento dos quistos nos tecidos a doença evolui para a fase de cronicidade. Os quistos podem permanecer viáveis durante toda a vida do hospedeiro, mas em determinadas alturas é possível ocorrer uma reactivação, ou seja, os quistos são destruídos libertando novamente os bradizoítos. Estes, por sua vez, voltam a transformar-se em taquizoítos que invadem as células dos hospedeiros **(18; 24; 25)**.

### **1.5.2 - Fase sexuada**

A fase sexuada ocorre no intestino delgado do hospedeiro definitivo. Após a infecção do felídeo, por ingestão de quistos ou oocistos infecciosos, sucede-se a multiplicação e a diferenciação de algumas formas do parasita (esporozoítos ou bradizoítos) que corresponde ao ciclo esquizogónico. As durações desta fase do ciclo de vida, o número de merozoítos e de ciclos de esquizogonias estão dependentes da estirpe do parasita **(24; 25)**.

Os merozoítos sofrem diferenciação dando origem aos macrogametócito ou gâmetas femininos (ovais, imóveis e volumosos) e aos microgametócitos ou gâmetas masculinos. Estes últimos, por sua vez, dividem-se formando microgâmetas flagelados e móveis.

No interior dos enterócitos, os macrogâmetas e microgâmetas vão realizar a fecundação originando um zigoto que evolui para oocisto. Este oocisto, como já foi referido anteriormente, vai ser eliminado imaturo para o ambiente através das fezes do felídeo e no exterior sofre esporulação tornando-se maduro e infeccioso **(26)**.

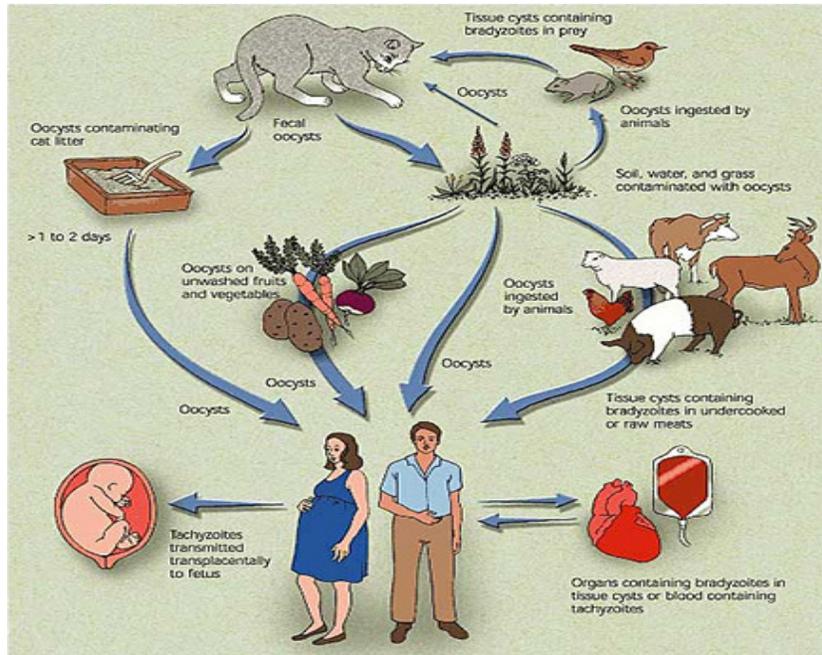


Figura 7 – Ciclo de vida de *T. gondii* (Fonte: <http://www.higherground.utk.edu/2010/11/taking-on-toxoplasma/>).

## 1.6 - Sistema imune do hospedeiro

No ambiente existem muitos microrganismos que apresentam formas e características diferentes, por isso é necessário ter uma grande diversidade de respostas imunes para controlar as infecções.

O objectivo principal do sistema imune é eliminar os patógenos e reduzir o prejuízo que eles podem causar nos hospedeiros.

Como *T. gondii* é um parasita intracelular a protecção do hospedeiro é assegurada pela imunidade celular, pertencendo à imunidade humoral um papel secundário (27).

A imunidade humoral colabora no controlo da infecção e na destruição do parasita. A actividade das imunoglobulinas (Ig) é dirigida, particularmente, ao taquizoíto. As Imunoglobulinas aderem à membrana de *T. gondii* e impedem a sua adesão aos receptores da célula hospedeira (27). O parasita ao penetrar na mucosa do intestino de um hospedeiro imunocompetente vai estimular a produção de anticorpos IgA, os quais são moduladores e

indicadores da infecção. Como o parasita tem mecanismos de evasão ao hospedeiro (28), pode ultrapassar a barreira do intestino indo activar a produção de outros anticorpos como IgM e IgG (27). No ponto 1.9.1 serão caracterizados, pormenorizadamente, cada um destes anticorpos.

Na imunidade celular, os linfócitos T são os mediadores e possuem um receptor específico que permite realizar uma variedade de actividades, ajudam na produção de anticorpos e no desenvolvimento dos linfócitos B; juntamente com as células fagocitárias ajudam na eliminação do patogéneo capturado e reconhecem, e destroem células infectadas por vírus (29).

Os linfócitos T são divididos em vários grupos, nomeadamente, linfócito T helper – CD4+ (Th), linfócitos citotóxicos – CD8+ (Tc), de memória, reguladores e supressores. Os linfócitos Th podem ser classificados em Th1 ou Th2, de acordo como perfil das citocinas produzidas (29).

Na fase inicial da infecção, a resposta imune inata possui um papel relevante na resistência a *T. gondii*. O parasita, nesta primeira fase, activa algumas células como neutrófilos, células *natural killer* (NK), macrófagos e células dendríticas. A activação destas células desencadeia a resposta dos linfócitos Th1 iniciando a libertação das citocinas, interleucina 12 (IL-12), interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e factor de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). A combinação das citocinas libertadas pelos linfócitos Th1 e alguns mecanismos imunológicos protegem o hospedeiro da rápida multiplicação dos taquizoítos e subsequentes modificações patológicas (30; 31).

A citocina IL-12 é muito importante no progresso da resposta imune adquirida, é uma citocina pro-inflamatória e é produzida por macrófagos activados e células dendríticas. Ela aumenta as funções citotóxicas dos linfócitos Tc, aumenta a produção do IFN- $\gamma$  e dirige a especialização das células Th para se transformarem em células Th1. Por outro lado o IFN- $\gamma$  inibe a actividade das células Th2 e tem um papel importante na resistência à infecção aguda por *T. gondii*, activando os macrófagos e controlando assim o crescimento intracelular (32; 33; 34).

A actividade desenvolvida através das citocinas pró-inflamatórias pode ser tóxica para o hospedeiro, assim sendo *T. gondii* estimula mecanismos que vão modular a resposta imunológica diminuindo assim os riscos para o hospedeiro. Esta modulação é realizada pela produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-4, IL-10, TGF- $\beta$ ) e óxido nítrico, os quais limitam a proliferação dos linfócitos e diminuem a multiplicação dos taquizoítos. Estes mecanismos da resposta imunitária do hospedeiro apesar de terem um papel protector permitem que a infecção aguda evolua para a infecção crónica. A encefalite toxoplasmática pode aparecer, uma vez que as citocinas anti-inflamatórias atenuam o papel protector do IFN- $\gamma$  (34; 35).

### 1.7 - Epidemiologia

A toxoplasmose é uma antroponose, comum nos seres humanos, causada pelo protozoário *T. gondii*. Como referido anteriormente, a toxoplasmose possui uma distribuição universal e com uma prevalência na população humana variável de acordo com os hábitos alimentares, nível sócio-económico e com o clima. Nos últimos anos tem-se verificado uma diminuição da prevalência do parasita na população humana relacionada com as mudanças dos hábitos das populações.

O grande problema em aferir a prevalência da toxoplasmose, actualmente, está relacionado com a falta de estudos epidemiológicos mais alargados. De acordo com o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) estima-se que nos Estados Unidos da América (E.U.A.) 22,5% da população com 12 anos de idade tenham sido infectados por *T. gondii* e está comprovado, que em vários outros locais do mundo, esta prevalência pode subir até 95%. A infecção aumenta nas áreas do mundo que detêm climas quentes, húmidos e altitudes mais baixas (36).

### 1.7.1 - Transmissão, prevalência e factores de risco

A toxoplasmose humana é uma doença de origem alimentar. A via de infecção é oral, mesmo quando não está directamente relacionada com a alimentação, existem poucas excepções como por exemplo a toxoplasmose congénita e casos muito raros de transplantes de órgão (37).

No ambiente existe um grande número de factores que estão directamente relacionados com o risco de transmissão do parasita, com o modo de contaminação e com a variação da frequência da infecção, como por exemplo: padrões culturais da população, hábitos alimentares, faixa etária e procedência urbana e rural.

Alguns investigadores têm realizado vários estudos com o objectivo de analisar os variados factores de risco relacionados com a infecção por *T. gondii* para que possam ser tomadas medidas de prevenção que combatam o parasita.

Heukelbach *et al.*, realizaram um estudo, em 2007, no sul do Brasil onde relacionaram a prevalência de anticorpos IgG anti-*T. gondii* com vários factores de risco (nível demográfico, características sócio-económicas e comportamentais, a presença ou a posse de animais, hábitos alimentares, contacto solo e fontes de água potável). Este estudo envolveu 231 grávidas das quais 69,7% foram positivas para IgG e apenas 2% positivas para IgM. Os investigadores através da análise bivariada dos factores de risco demonstraram que nenhum deles estava associado a seropositividade para IgG. Mas utilizando o modelo de regressão logística evidenciaram que a única variável relacionada com a presença dos anticorpos IgG foi o consumo regular de gelados caseiros (compostos por água da torneira, com sabor artificial e açúcar). Dos únicos cinco casos com IgM positiva só quatro consumiram periodicamente os gelados. No entanto, este trabalho contém várias limitações, como verificaram, uma a baixa prevalência de IgM nas grávidas, o marcador da infecção utilizado foi a presença de IgG (38).

Ishaku *et al.*, publicaram, em 2009, um estudo onde procuraram determinar a seroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii*, bem como os factores de risco, em grávidas que iniciaram as consultas pré-natais em dois centros de saúde de Zaria, Nigéria. Das 374

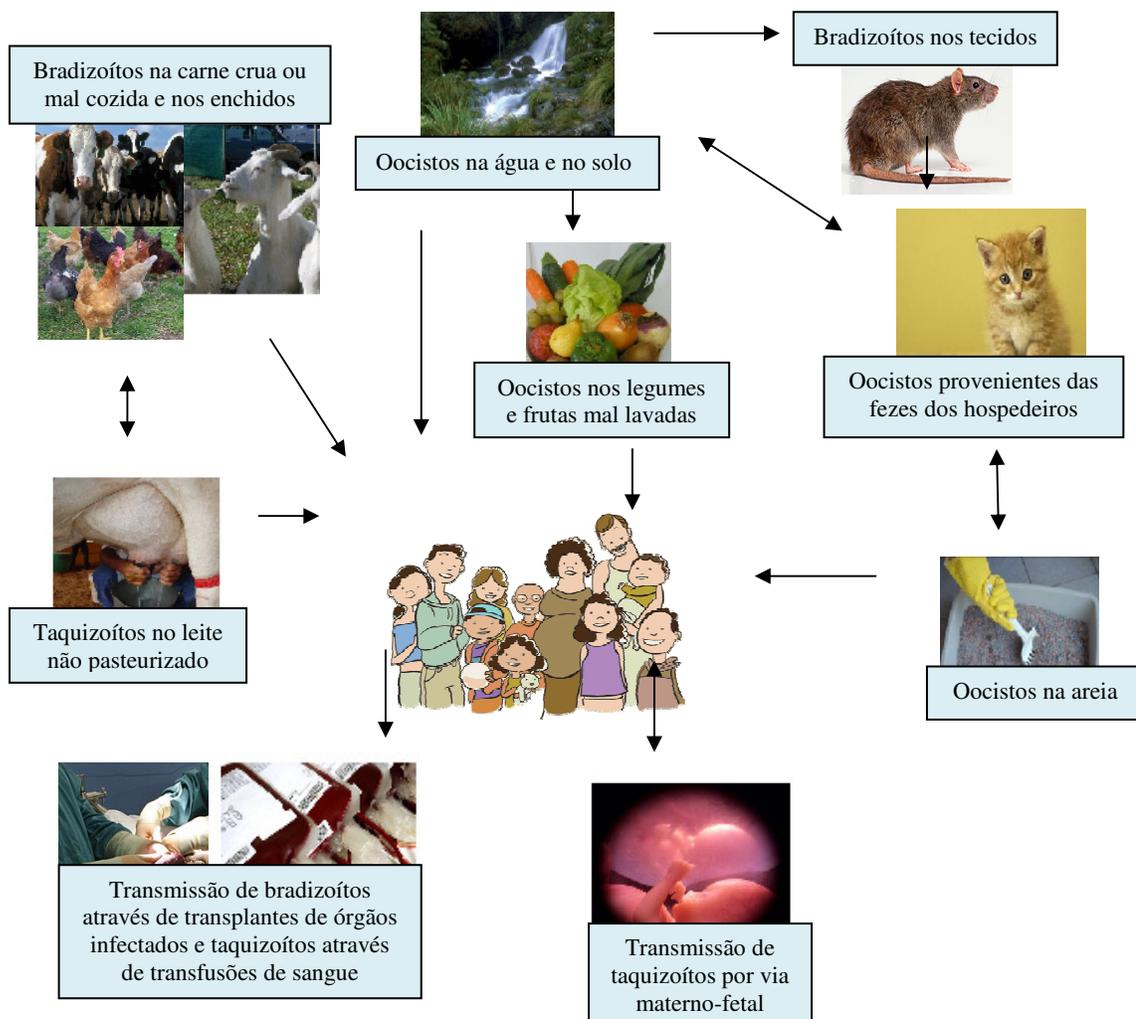
grávidas seguidas, 109 (29,1%) foram positivas para IgG e 3 (0,8%) foram positivas para a IgM. Aganga *et al.* realizaram um estudo duas décadas antes em gestantes na mesma região, tendo observado uma prevalência de 39,5% e 0,4% de casos de infecção crónica e aguda, respectivamente. Se compararmos os estudos podemos verificar que houve uma diminuição da infecção crónica por *T. gondii*. Ishaku *et al.* verificaram que o risco de exposição á infecção por *T. gondii* pode aumentar com a idade e diminuir com a melhoria do nível de ensino, para além de observarem uma elevada prevalência de infecção em grávidas com o costume de degustar carne durante a cozedura (39%) e que ingeriram água de poços sem tratamento prévio (39).

Al-Harhi *et al.*, em 2006, realizaram um dos primeiros estudos na Arábia Saudita onde determinaram a prevalência da infecção por *T. gondii* em grávidas e os factores ambientais e comportamentais que podem influenciar a taxa da infecção. O estudo foi realizado a 197 grávidas atendidas na maternidade do Hospital de Meca, das quais 29,4% foram positivas para IgG, enquanto 5,6% foram positivas para IgM. Somente 2% foram positivas para ambos os anticorpos (IgG e IgM). Relativamente aos factores de risco, verificaram que existe uma relação directa entre o nível de educação e a prevalência da IgG. Neste estudo, cerca de 27,8% das grávidas com instrução possuíam IgG anti-*T. gondii* em comparação com 42,8% das que não possuíam instrução. Em contrapartida, os níveis de IgM aumentavam em grávidas com elevado grau de ensino, com 5,7%, comparado com 4,7% das grávidas sem nenhum grau de ensino. Neste trabalho, não se verificou mais nenhuma associação significativa entre a prevalência dos anticorpos IgG e IgM e outros factores de risco. Um factor muito interessante, retirado deste estudo, foi o facto de que apenas 10% das grávidas terem conhecimento sobre a doença toxoplasmose, bem como não terem sido capazes de identificar os factores de risco mais importantes (40).

Existem três factores, para além dos mencionados anteriormente, que estão correlacionados com o risco que as gestantes têm em adquirir toxoplasmose: a frequência de possíveis contactos com fontes de transmissão, o número de mulheres susceptíveis na idade fértil e a incidência da infecção na população em geral (41).

O aumento da disseminação do parasita *T. gondii* pode estar associado à sua capacidade de apresentar vários mecanismos de transmissão (Figura 8), tais como:

- Transmissão oro-digestiva – é a mais frequente, uma vez que ocorre pela ingestão de oocistos maduros presentes, nomeadamente, em vegetais, legumes crus e na água contaminados ou como consequência de uma higiene deficiente (via fecal-oral) e a ingestão de quistos viáveis existentes na carne crua ou mal cozida **(12; 42)**.
- Transmissão por contacto directo – Esta forma de transmissão ocorre por inoculação do parasita e é muito frequente em pessoas que trabalham em talhos e actividades afins, através de transfusões de sangue, transplante de órgãos ou tecidos e através da manipulação em laboratório de estripes de *T. gondii* **(12; 43; 44)**.
- Transmissão materno-fetal (transmissão congénita) – esta transmissão resulta da passagem de taquizoítos do parasita da mãe para o feto por contacto directo, através da placenta. Esta forma de transmissão só é possível quando a primo-infecção materna é contemporânea com a gestação. O risco de transmissão vertical é directamente proporcional com a idade gestacional **(45)**.



**Figura 8 – Principais vias de transmissão de *T. gondii* aos vários hospedeiros**

### 1.7.2 - Sensibilidade e resistência das formas de *T. gondii*

Este ponto é muito importante, já que está relacionado com os cuidados a ter para prevenir a transmissão dos hospedeiros.

Cada forma parasitária de *T. gondii*, como anteriormente foi referido, possui resistência e sensibilidade diferentes entre elas.

- Os taquizoítos são as formas mais sensíveis de *T. gondii*. São eliminados pela água corrente, mas podem perdurar por vários dias nos fluidos biológicos, como o leite, a 4°C, mas são destruídos após a pasteurização, bem como pela digestão através da pepsina (16; 43).
- Os quistos são eliminados quando expostos a temperaturas de 60°C e a congelação a -20°C, mas isto depende da espessura da carne. Também são destruídos pela exposição a 0.5 kGy de irradiação gama e podem permanecer infectantes após várias semanas a 4°C, e a sua infecciosidade é conservada por 2 horas em meios ácidos (46; 47).
- Os bradizoítos resistem até 3 horas à acção da pepsina ácida e a soluções de tripsina, o que lhes possibilita invadir e multiplicar-se nas células do epitélio intestinal dos hospedeiros (48).

Sendo assim, deve-se dar muita atenção à confecção dos alimentos, como por exemplo a carne de qualquer animal deve ser cozida a 66°C antes de ser consumida e mantida a -20°C no congelador, bem como deve ser evitada a degustação de carne mal cozida ou crua apenas marinada com tempero (46).

## 1.8 - Toxoplasmose

A forma clínica, a gravidade e o significado da toxoplasmose dependem do estado imunológico dos hospedeiros, da agressividade das estirpes e do estágio evolutivo do parasita. Um hospedeiro pode falecer devido à toxoplasmose, mas em condições normais rapidamente recupera e adquire imunidade.

### 1.8.1 - Toxoplasmose adquirida no imunocompetente

A toxoplasmose adquirida afecta o adulto imunocompetente bem como as crianças com mais de um ano de idade. A evolução clínica desta forma de toxoplasmose no imunocompetente é, habitualmente, benigna e a infecção é assintomática (na maioria das vezes) e resulta da ingestão de quistos de carne contaminada crua ou mal cozida, ingestão/inalação de oocistos na água ou produtos hortícolas e de transfusões de sangue contaminado ou inoculação acidental no laboratório (49).

As manifestações clínicas e a severidade da infecção estão relacionadas com a interacção entre *T. gondii* e o hospedeiro, com o tamanho do parasita, a rota da infecção, com a competência da resposta imune (celular/humoral) do hospedeiro e a idade do hospedeiro (49; 50).

Os sintomas desta forma de toxoplasmose, normalmente, são tão inespecíficos, como por exemplo mal-estar, astenia, mialgias, erupção cutânea, linfadenopatia, que se assemelham aos de uma gripe. Entretanto, o parasita permanece no hospedeiro, no estado inactivo podendo ser reactivado se o hospedeiro se tornar imunossuprimido (51).

Após a incubação do parasita no hospedeiro a infecção desenvolve-se segundo três fases:

- Fase aguda – Após a reprodução de *T. gondii* nas células do hospedeiro, o parasita, propaga-se por via sistémica e linfática no organismo assegurando a disseminação do parasita no hospedeiro. *T. gondii*, na fase aguda, é capaz de atravessar a barreira hemato-encefálica, a hemato-retiniana e a placentária (12; 52).
- Fase sub-aguda – Quando o sistema imune do hospedeiro detecta o parasita, provoca a formação de anticorpos específicos que fazem com que a multiplicação do parasita cesse (resposta humoral). O único problema é a localização de algumas formas parasitárias (olho, tecido nervoso e músculos), uma vez que estes locais são pobres em anticorpos provocando algumas lesões necróticas nesses locais (12; 52).

- Fase crónica – Nesta fase o parasita está enquistado, nos tecidos acima referidos, sem se observar nenhuma reacção inflamatória tecidual. Os quistos formados têm uma longevidade igual à dos tecidos onde se encontram. Quando, por qualquer motivo, os quistos sofrem uma ruptura dá-se libertação de bradizoítos levando a uma reinfeção localizada ou generalizada (12; 52).

A toxoplasmose sintomática mais frequente é a ganglionar e caracteriza-se pelo aparecimento de adenopatias. Os gânglios são móveis, sem carácter inflamatório, indolores e localizam-se geralmente na zona cervical. Os sintomas normalmente persistem vários meses mas diminuem espontaneamente e sem necessidade de tratamento (53).

Também existem formas muito graves de toxoplasmose adquirida mas são muito raras e, normalmente, são consequência de inoculação directa de grandes quantidades de taquizoítos ou aparecem em imunocomprometidos.

### **1.8.2 - Toxoplasmose no imunocomprometido**

A toxoplasmose no imunocomprometido pode tornar-se grave ou até mesmo mortal devido a um défice no sistema imunitário do doente.

Neste tipo de toxoplasmose devemos tomar muita atenção, relativamente a duas situações diferentes:

- Imunodepressão associada à cirurgia de transplante – É muito importante neste tipo de toxoplasmose saber, antecipadamente, a imunidade do dador e do receptor relativamente a *T. gondii*. Num transplante, quando o receptor não-imune recebe um transplante de um dador imune fica exposto ao risco de uma toxoplasmose grave, devido a ausência de imunidade específica e a imunodepressão induzida pela terapêutica, levando a reactivação de quistos presentes no órgão transplantado. Outra situação muito grave, ocorre quando o receptor é portador de uma toxoplasmose crónica, e é transplantado

ficando exposto à reactivação dos seus próprios quistos por supressão terapêutica debilitando o seu sistema imune e provocando manifestações muito graves (54; 55).

- Imunodepressão em doentes infectados por VIH – nos doentes com o síndrome de imunodeficiência adquirida (Sida), a toxoplasmose resulta, na maioria dos casos, da reactivação (os bradizoítos podem converter-se novamente em taquizoítos) de uma toxoplasmose latente, adquirida anteriormente (56). As manifestações clínicas mais frequentes são cefaleias, febre e sinais neurológicos. A toxoplasmose em seropositivos para VIH pode manifestar-se em diferentes locais, como por exemplo no sistema nervoso central (SNC), pulmão, coração, olho (55). A mais frequente é a toxoplasmose pulmonar caracterizada por uma pneumonia e pode ser seguida por uma insuficiência respiratória (57). O diagnóstico serológico é difícil de interpretar devido ao desequilíbrio imunológico, uma vez que a correlação entre os títulos de anticorpos específicos IgG e as manifestações clínicas não se verifica. Relativamente aos anticorpos IgM não são detectados nestes doentes (58).

A toxoplasmose ocular, inicialmente, foi considerada como sendo uma consequência da toxoplasmose congénita, mas nos anos 70 e 80 do século passado, vários investigadores começaram a contradizer os conceitos que inicialmente foram propostos, afirmando que a toxoplasmose ocular pode acontecer durante a infecção aguda, durante a toxoplasmose congénita e ainda em imunocomprometidos. A evolução desta forma de toxoplasmose depende da resposta imune do hospedeiro, de factores ambientais e da virulência do parasita. A toxoplasmose pode regredir espontaneamente após 2-3 meses sem se realizar qualquer tipo de terapia (59; 60).

### **1.8.3 - Toxoplasmose congénita**

O risco de infecção fetal, durante a gestação, pode variar com a idade gestacional, com a virulência do parasita, com o título de anticorpos anti-*T. gondii* no momento da passagem dos taquizoítos pela placenta e com o estado imunológico da criança. Estudos revelaram que mulheres que manifestavam seropositividade antes da gravidez, normalmente não infectam os fetos (61; 62).

A toxoplasmose congénita, como já se referiu anteriormente, resulta da passagem de taquizoítos da mãe para o filho através da placenta e ocorre quando a gestante manifesta uma infecção activa durante a gravidez.

A placenta é considerada a barreira de defesa para o feto, não permitindo a entrada do parasita. No entanto, com a progressão da gravidez a placenta sofre modificações estruturais que prejudicam a sua permeabilidade.

O risco de transmissão da toxoplasmose congénita aumenta com o decorrer da gravidez, ou seja, no 1º trimestre a transmissão varia entre 10-25% e no 3º trimestre 60-90%. No entanto, a toxoplasmose congénita é mais grave quando ocorre no 1º trimestre de gravidez, podendo ocorrer graves sequelas neurológicas, aborto espontâneo ou a morte *in útero*. Em contrapartida, no 3º trimestre as consequências são menos graves para o feto (63).

## **1.9 - Diagnóstico Laboratorial da Toxoplasmose**

A validação de um diagnóstico para a pesquisa de *T. gondii* não pode ser efectuada só com base nos dados clínicos, estes têm que ser confirmados, sempre, com os dados laboratoriais, isto porque a toxoplasmose é uma infecção benigna e assintomática.

Para o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose existem várias técnicas, mas cada uma possui características diferentes. A metodologia utilizada para diagnosticar a

toxoplasmose diversifica de acordo com alguns parâmetros, como por exemplo o material disponível, com a especificidade e sensibilidade de cada técnica.

O diagnóstico da toxoplasmose, normalmente só é realizado em pessoas consideradas de risco. Existem quatro grupos que são considerados de risco: os fetos e recém-nascidos que foram infectados durante a gestação; gestantes que adquiriram a infecção durante a gravidez; imunocomprometidos e pessoas com coriorretinite. No entanto, o mais importante na medicina é saber se a grávida adquire a infecção durante a gestação (64).

O diagnóstico da infecção por *T. gondii* pode ser determinado por testes serológicos (diagnóstico indirecto), pelo isolamento do parasita, pela amplificação de sequências específicas do ácido desoxirribonucleico (DNA) ou através de estudos histológicos do parasita (diagnóstico directo) (12).

### 1.9.1 - Diagnóstico indirecto

Anteriormente já foi referido que existem três classes de anticorpos contra *T. gondii* que vão fornecer informação sobre a infecção.

Os anticorpos IgM normalmente surgem antes dos anticorpos IgG mas os seus valores aumentam nos dois primeiros meses e decrescem progressivamente até desaparecerem. Os anticorpos IgM podem ser muito úteis para determinar se a infecção provocada por *T. gondii* é recente, mas tem que se ter em atenção os níveis de IgM, uma vez que existem doentes em que os níveis destes anticorpos permanecem positivos durante muito tempo. Existem outras situações em que não existe resposta de anticorpos IgM, como é o caso dos imunocomprometidos. A IgM é o marcador da fase aguda, no entanto os ensaios disponíveis têm algumas desvantagens como por exemplo: elevada sensibilidade, detecção de IgM residuais e falsos positivos devido a interações com o factor reumatóide ou anticorpos anti-nucleares (65; 66).

Os anticorpos IgG surgem dentro de uma a duas semanas após a infecção por *T. gondii* e alcançam o seu pico entre a quarta e a oitava semanas. Estes anticorpos começam a

decrecer de forma variável e geralmente perduram com valores baixos durante toda a vida (65; 67). A presença dos anticorpos IgG confere imunidade ao hospedeiro e é a única imunoglobulina que atravessa a placenta. Assim, esta imunoglobulina pode estar aumentada nos recém-nascidos sem significar, necessariamente, infecção congénita. Como os recém-nascidos só iniciam a produção de anticorpos IgG, a partir do 3º ou 4º mês de vida, todos os anticorpos IgG quantificados antes desse tempo podem tratar-se, exclusivamente, de anticorpos passivamente transmitidos da mãe para o feto.

Os anticorpos IgA apresentam o mesmo padrão dos anticorpos IgM, funcionam como um modulador e indicador de infecção. A detecção do anticorpo IgA anti-*T. gondii* é um critério de um diagnóstico suplementar, uma vez que o hospedeiro não possui estes anticorpos naturais.

A detecção de anticorpos IgM e IgA no feto são indicadores de toxoplasmose congénita, uma vez que estes anticorpos não atravessam a placenta e a sua presença indica que foi o feto a produzi-los (65).

Existem muitas técnicas laboratoriais que podem ser utilizadas no diagnóstico indirecto para detectar e quantificar anticorpos específicos contra *T. gondii*.

#### **1.9.1.1 - Teste de Sabine-Feldman**

O teste de Sabine-Feldman (*Dye-test - DT*) foi o primeiro teste que conseguiu detectar anticorpos anti-*T. gondii* em amostras biológicas de indivíduos e diferenciar a infecção aguda da infecção latente. O DT é considerado como uma técnica de referência devido à sua sensibilidade e especificidade em detectar anticorpos IgG e IgM específicos. É uma técnica serológica onde há neutralização do parasita vivo na presença de anticorpos e complemento. O único inconveniente é a utilização de agentes vivos e o título não se correlacionar com a gravidade da doença (68).

### **1.9.1.2 - Aglutinação directa**

O teste de aglutinação directa (DAT) foi desenvolvido por Fulton (1965) e baseia-se na pesquisa de IgG através da utilização de taquizoítos inactivados por formalina. Esta técnica não possui uma elevada sensibilidade e especificidade, devido há ligação aos anticorpos IgM (69).

Em 1980, Desmonts e Remington melhoraram a DAT aumentando a sua especificidade ao utilizarem 2-mercaptoetanol, este composto vai permitir destruir os anticorpos IgM específicos e não-específicos, possibilitando assim a detecção só dos anticorpos IgG anti-*T. gondii* (70).

### **1.9.1.3 - Imunofluorescência indirecta**

No teste de imunofluorescência indirecta (IFI) a sensibilidade e a especificidade podem variar dependendo das condições de trabalho. O princípio desta técnica é a aplicação de anticorpo ou antigénio que são ligados a um fluorocromo que quando excitado por radiações UV, emite luz no espectro visível e permite detectar anticorpos da classe IgG ou IgM. Esta técnica não deve ser utilizada como um método quantitativo (70).

### **1.9.1.4 - Avidez da IgG**

Devido a dificuldade em isolar o parasita o diagnóstico é baseado na serologia, nomeadamente na detecção de dois anticorpos (IgG e IgM).

A determinação precoce da toxoplasmose congénita é muito importante por isso existem técnicas complementares que ajudam ao diagnóstico como a avidéz da IgG (71).

A avidéz das IgG exprime a força da interacção do anticorpo IgG específico com o antigénio de *T. gondii*. No decorrer da resposta imunológica, os títulos da avidéz aumentam gradualmente durante semanas ou meses. Quando a avidéz é elevada considera-se que a infecção foi adquirida há mais de 3 a 7 meses (dependendo do teste que utilizam), se a avidéz for baixa considera-se uma infecção recente. Esta análise é muito relevante nas primeiras semanas de gestação (72; 73).

### **1.9.1.5 - Enzyme Linked immunosorbent Assay (ELISA)**

O teste serológico ELISA é utilizado para a detecção de anticorpos específicos no soro de indivíduos com infecção por *T. gondii*. Esta técnica pode pesquisar anticorpos IgM que traduzem uma infecção precoce e são importantes no diagnóstico da toxoplasmose congénita, anticorpos IgG que, independente dos seus níveis, não ajudam a datar as infecções e anticorpos IgA que traduzem uma infecção recente (74).

De acordo com a Direcção Regional da Saúde “*Os testes deverão ser realizados sempre no mesmo laboratório e com métodos standardizados*” (75).

### **1.9.2 - Diagnóstico directo**

O diagnóstico directo baseia-se na identificação do parasita ou das suas formas evolutivas (taquizoítos, bradizoítos e oocistos). No entanto apesar de, nos últimos anos, as técnicas do diagnóstico directo já terem evoluído, estas ainda devem ser sempre complementadas pelas técnicas do diagnóstico indirecto (testes serológicos).

#### **1.9.2.1 - Isolamento do parasita**

O isolamento de *T. gondii* de sangue ou de outros fluidos corporais demonstra que a infecção é aguda. Os ensaios de isolamento do parasita podem ser realizados por inoculação de murganhos ou de culturas de células de praticamente todos os tecidos humanos ou fluidos corporais. A sensibilidade deste método de diagnóstico está dependente da escolha da técnica de inoculação, ao ser necessária a presença de parasitas vivos, mas este método é muito preciso para a tipagem das estirpes (76; 77).

#### **1.9.2.2 - Exame histopatológico**

Nos testes histopatológicos existem técnicas que permitem observar a presença das formas evolutivas de *T. gondii* em vários tecidos através de coloração, como por exemplo

hematoxilina-eosina. A presença de taquizoítos em cortes ou fluidos corporais estabelece um bom diagnóstico para a infecção aguda (78).

### **1.9.2.3 - Métodos moleculares**

A técnica de *Polimerase Chain Reaction* (PCR) trouxe um enorme incremento para o diagnóstico/pesquisa de *T. gondii*. Como todas as técnicas, existem contrapartidas para a sua implementação na rotina de um laboratório, já que possui custos elevados e é uma técnica ainda muito complexa e demorada.

A PCR possui uma elevada sensibilidade e especificidade e é muito útil para identificar/detectar o parasita da infecção aguda, no tratamento de certos doentes, como por exemplo, serve para detectar se o parasita atravessou a placenta através do líquido amniótico (79) e em imunocomprometidos, uma vez que estes podem, devido ao seu estado de imunodepressão, não sintetizar anticorpos (68).

Além destas aplicações, a PCR permite estudar qual a estirpe de *T. gondii* responsável pela infecção e estudar amostras ambientais (água) que possam estar contaminadas e vir a ser uma fonte de infecção para o homem (80).

### **1.9.3 - Diagnóstico em idade fértil**

O diagnóstico da toxoplasmose numa mulher em idade fértil é baseado em métodos serológicos. Estes testes possibilitam reconhecer uma mulher em risco de adquirir a infecção (quando não apresenta títulos de anticorpos IgM e IgG no soro). Assim uma mulher em idade fértil, seronegativa para *T. gondii*, que queira engravidar, tem que ser vigiada e tem que ter atenção às medidas higio-dietéticas para evitar que ocorra uma seroconversão durante a gravidez.

A imunidade da toxoplasmose, geralmente, é expressa pela presença de títulos de anticorpos IgG e ausência de anticorpos IgM. A imunidade pode ser confirmada após a

realização de uma nova colheita, no prazo de três a quatro semanas após a primeira colheita, onde deve observar-se estabilidade de anticorpos IgG.

#### **1.9.4 - Diagnóstico de uma seroconversão materna**

A seroconversão é descrita pelo aparecimento e aumento gradual de anticorpos específicos IgA, IgM e IgG. Durante a gestação de uma mulher imunocompetente, o aparecimento de anticorpos específicos remetem-nos para a presença de uma toxoplasmose recente (81).

Suspeita-se de uma seroconversão quando surge o aumento dos anticorpos IgM associados à presença de IgA específicas. Um aumento dos anticorpos IgG na presença de anticorpos IgM e IgA em duas amostras colhidas em alturas diferentes indica progresso da infecção (82).

#### **1.9.5 - Diagnóstico da toxoplasmose congénita**

O diagnóstico da toxoplasmose congénita, em certos casos pode ser muito ambíguo, já que as manifestações clínicas podem, na maioria das vezes, ser confundidas com as causadas por outros agentes etiológicos, como o vírus da Rubéola e o Citomegalovírus (81).

O diagnóstico de uma toxoplasmose congénita pode ser executado em três fases diferentes:

##### **1.9.5.1 - Diagnóstico pré-natal**

O diagnóstico pré-natal consiste na detecção de anticorpos anti-*T. gondii* das classes IgM e IgG através da colheita de produtos fetais, como o líquido amniótico (amniocentese) recolhido preferencialmente após a 18ª semana de gestação ou sangue do cordão umbilical (cordocentese) recolhido a partir da 20ª semana de gestação. Ambos os procedimentos são invasivos (74; 82).

O diagnóstico da toxoplasmose congénita pré-natal tem que ser sempre acompanhado pelos dados da ecografia (83).

#### **1.9.5.2 - Diagnóstico neo-natal**

O diagnóstico neo-natal deve ser acompanhado por exames neurológicos, da retina, por uma ecografia e testes biológicos. Nos testes biológicos, quando existe a presença de anticorpos IgM e IgA nas variadas amostras (sangue, sangue do cordão umbilical, líquido amniótico), deve-se realizar uma confirmação no 10º dia após o nascimento, para excluir possíveis resultados falso-positivos (84; 85).

#### **1.9.5.3 - Diagnóstico pós-natal**

Num diagnóstico pós-natal, quando não se observam sinais clínicos nem biológicos, tem que se realizar uma vigilância até se verificar o desaparecimento dos anticorpos IgG específicos. Esta pesquisa deve durar no mínimo 6 meses para se observar a síntese de anticorpos específicos na criança (86). A toxoplasmose congénita é comprovada quando a criança sintetiza anticorpos IgM no período de vigilância. Assim podemos dizer que o desenvolvimento do perfil imunológico no diagnóstico pós-natal é um critério de exclusão ou confirmação da toxoplasmose congénita (84).

A combinação do diagnóstico pré-natal e neo-natal detecta a maioria das crianças infectadas com o parasita durante a gestação (84).

### **1.10 - Tratamento da toxoplasmose**

O estudo da toxoplasmose na grávida tem como principal objectivo impedir e tratar a infecção fetal. Já se executaram muitas investigações onde foi comprovada a eficácia do tratamento precoce da toxoplasmose, onde foi possível observar diminuição do risco de infecção fetal, bem como das suas sequelas (87).

Para um tratamento eficaz da toxoplasmose congénita, devia existir um fármaco que para além de ser parasiticida, contra todos os estádios parasitários do parasita, devia apresentar biodisponibilidade em todo o organismo e conseguir atravessar a placenta sem provocar toxicidade fetal ou efeito teratogénico. Porém, ainda não existe nenhum fármaco capaz de cumprir todos os critérios anteriormente referidos (72).

O tratamento da toxoplasmose em grávidas tem como objectivo impedir e tratar a infecção do recém-nascido. O tratamento só é indicado quando se observa uma primoinfecção ou uma seroconversão durante a gravidez, permitindo a diminuição da incidência e da gravidade da infecção fetal (88).

Quando se diagnostica ou se suspeita de uma seroconversão na grávida deve-se iniciar a terapêutica com espiramicina até confirmar se há ou não uma infecção fetal. A espiramicina tem como finalidade limitar a multiplicação do parasita impedindo assim a passagem do parasita para a circulação fetal e/ou diminuir os danos no feto. Este tratamento é considerado inócuo para a grávida e para o feto, e deve ser iniciado precocemente para que a sua acção seja mais eficaz. Quando a placenta é contaminada com o parasita, esta mantém-se infectada até o fim da gestação, tornando-se assim obrigatório a realização da terapêutica até o final da gravidez, mesmo que não se confirme a infecção fetal. Quando há a confirmação de uma infecção fetal altera-se a terapêutica para sulfadiazina (4g/dia) associada com a pirimetamina (25mg/dia) e ácido fólico (5 a 10mg de 3/3 dias), uma vez que a espiramicina não atravessa a placenta (72).

A pirimetamina e a sulfadiazina, como possuem uma acção teratogénica, não devem ser administradas a grávidas no 1º trimestre de gestação, e devem ser suspensas às 34 semanas para que o seu efeito não interaja com o recém-nascido (87).

A associação pirimetamina-sulfadiazina actua apenas contra os taquizoítos, não tendo qualquer efeito nos quistos. Ambos os medicamentos possuem vários efeitos secundários, a pirimetamina pode desencadear anemia megaloblástica ou pancitopenia e a sulfadiazina pode provocar falência renal aguda ou hematúria. Para além destes efeitos secundários a pirimetamina é um depressor medular e antagonista da síntese de folatos,

sendo fundamental complementar a terapêutica com ácido folínico diminuindo assim a toxicidade do tratamento (67; 89).

O tratamento pós-natal realiza-se quando a infecção fetal é confirmada e consiste na administração de pirimetamina, sulfadiazina e ácido folínico ao recém-nascido com a duração de 12 meses. Como consequência da toxicidade dos fármacos deve-se monitorizar semanalmente o hemograma (90; 91).

Costa *et al.*, em 2009, realizaram um estudo para investigar se com a terapêutica com azitromicina conseguiam inibir a transmissão vertical da toxoplasmose em *Calomys callosus* (roedor). A azitromicina é um antimicrobiano, da família dos macrólidos com muitas vantagens, rápida absorção nas células e uma ampla distribuição no organismo e apresenta menos efeitos secundários. Relativamente ao mecanismo de acção baseia-se na inibição da síntese das proteínas em dois estágios de *T. gondii* (taquizoítos e bradizoítos), no entanto pode apresentar uma eficácia limitada, uma vez que exige uma concentração muito elevada. Os investigadores concluíram que ao tratar o roedor com a azitromicina, a infecção ficou restrita nos tecidos da placenta sem evidências do parasita no feto. Com estes resultados demonstraram que a azitromicina é considerada um bom agente profilático contra a transmissão de *T. gondii* ao feto (92).

### **1.11 - Políticas de prevenção e controlo**

A gravidade da toxoplasmose no homem levou à tomada de medidas essenciais de prevenção da patologia.

A prevenção da toxoplasmose, em doentes imunocomprometidos, está amplamente divulgada. Quando ocorre uma reactivação do parasita a prevenção baseia-se na quimioprofilaxia com cotrimoxazol, sendo um tratamento muito eficaz.

Nas gestantes, os cuidados higiênicos e alimentares, bem como a vigilância serológica são as principais as medidas de prevenção contra a toxoplasmose, uma vez que, ainda não existe nenhum fármaco que seja 100% eficaz.

Na prevenção da toxoplasmose congênita podem ser considerados três tipos de abordagem:

### **Prevenção primária**

A prevenção primária deve ser realizada antes da concepção para impedir a ocorrência de toxoplasmose congênita e baseia-se, essencialmente, na educação para a saúde que tem como objectivo evitar a seroconversão durante a gestação. A educação para a saúde abrange a promoção do conhecimento sobre medidas de prevenção para evitar a infecção por *T. gondii*. Algumas dessas medidas a ter em atenção são: lavar as mãos ao manipular carne crua, lavar bem as frutas e legumes evitar o consumo de carne mal cozida e evitar o contacto com gatos. No entanto a prevenção primária não é capaz de eliminar na totalidade o risco de infecção por *T. gondii* nas gestantes, considerando-se assim que a melhor abordagem é a combinação da prevenção primária com a prevenção secundária (93).

### **Prevenção secundária**

A prevenção secundária ocorre principalmente no período de gestação e baseia-se na tentativa de evitar a transmissão transplacentária de *T. gondii*, através da identificação da gestante de risco com os testes serológicos (IgG e IgM), da vigilância da seroconversão e da administração da terapêutica específica, para diminuir o risco de infecção do feto (87; 93).

### **Prevenção terciária**

A prevenção terciária reúne todos esforços em realizar um diagnóstico laboratorial e clínico precoce da toxoplasmose congénita no feto ou no recém-nascido, de modo que seja possível a instituição precoce do tratamento evitando complicações e melhorando as possibilidades de sobrevivência da criança, assim como a sua qualidade de vida. As técnicas de diagnóstico pré-natal para a determinação da toxoplasmose abrangem a ecografia, amniocentese (pesquisa de *T. gondii* por PCR), e cordocentese (estudo serológico) (93; 94).

Relativamente às políticas de prevenção para a toxoplasmose congénita, são poucos os países que possuem programas de prevenção previstos na legislação. A toxoplasmose, a nível europeu, não faz parte das zoonoses de declaração obrigatória. Os estados membros apoiam as medidas de rastreio e realizam advertências dirigidas à população. Na directiva europeia 2003/99/CE a toxoplasmose é classificada como uma zoonose a vigiar em função da epidemiologia de cada região (95).

Na Europa, as estratégias de saúde para a prevenção da toxoplasmose congénita diferem entre os países europeus, sem qualquer unanimidade sobre a sua indicação. Existem países europeus obrigados a realizar testes pré-natais mensais (França e Itália), outros realizam testes trimestrais em grávidas susceptíveis a toxoplasmose (Bélgica, Áustria). A Dinamarca e a Polónia realizam uma triagem neo-natal e, finalmente, existem países que não realizam qualquer triagem às grávidas (Reino Unido, Noruega, Finlândia) (94).

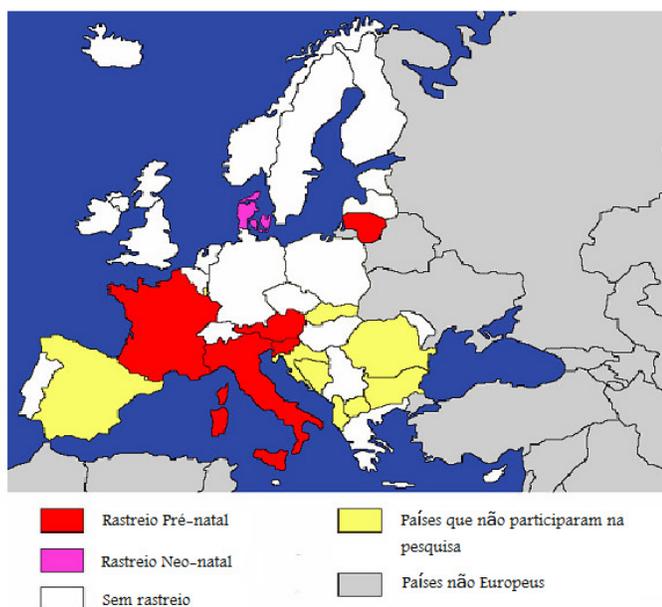
Um grupo denominado EUROTOXO realiza vários projectos no âmbito da vigilância epidemiológica da toxoplasmose congénita implementados nos vários países europeus, bem como, define as implicações e as decisões políticas sobre a melhor forma de prevenir a toxoplasmose congénita e as suas consequências. Este grupo é constituído pelo Institute of Child Health (Reino Unido), o Staten Serum Institute (Dinamarca) e o Instituto de Saúde Pública, Epidemiologia e Desenvolvimento (França).

A investigadora Leroy *et al.*, (EUROTOXO) realizaram um estudo que decorreu entre 19 de Janeiro de 2005 e 25 de Setembro do mesmo ano. Neste estudo foram abordados 36 países europeus, dos quais, apenas 27 responderam ao questionário (96).

De acordo com as recomendações desenvolvidas na Europa para prevenir a toxoplasmose esquematizou-se três tipos de abordagens diferentes:

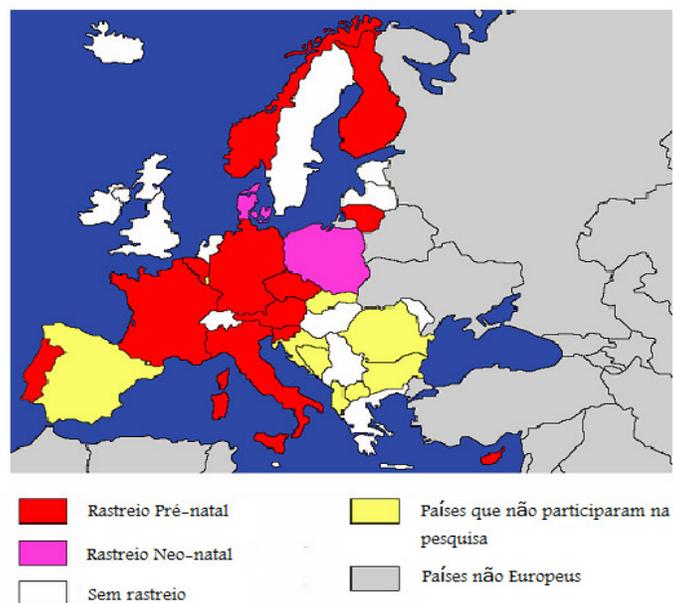
- Rastreio pré-natal;
- Rastreio Neo-natal;
- Sem política de rastreio oficial, mas com programas de prevenção primária.

Na figura 9 podemos observar a distribuição geográfica das políticas nacionais para a prevenção da toxoplasmose congénita, aconselhadas nos vários países europeus (96).



**Figura 9 - Distribuição geográfica das políticas de âmbito nacional sobre prevenção da toxoplasmose congénita (adaptado de Valériane *et al.* [96])**

Relativamente à distribuição das práticas locais, em matéria de prevenção da toxoplasmose congénita, podemos observar na figura 10 uma pequena alteração nos países que realizam rastreios sem haver uma legislação que os obrigue.



**Figura 10 - Distribuição geográfica das práticas locais em matéria de prevenção da toxoplasmose congénita (adaptado de Valériane *et al.* [96])**

Dos 27 países que responderam, apenas cinco países (Áustria, França, Itália, Lituânia e Eslovénia) recomendam a realização da triagem pré-natal utilizando testes mensais ou trimestrais.

- **França**

Desde 1978 que na França existe um programa nacional para seleccionar as grávidas com a presença de anticorpos anti-toxoplasmose e, desde 1985, que o programa foi ampliado para detectar e tratar a infecção da toxoplasmose na gravidez. Só em 2007 é que o Instituto Nacional Francês de Vigilância em Saúde e o Centro Nacional de Referência para a toxoplasmose criaram um sistema de vigilância da toxoplasmose congénita, cujo objectivo é recolher informações sobre casos de toxoplasmose congénita diagnosticada

durante a gravidez ou diagnosticada em recém-nascidos e crianças menores de um ano em que a mãe apresentou seroconversão durante a gravidez **(96; 97; 98)**. A toxoplasmose congénita é de notificação obrigatória e os casos são definidos como:

- Detecção de anticorpos IgM ou IgA específicos;
- Predomínio de títulos de anticorpos IgG específicos após a idade de um mês até um ano de idade;
- Detecção do parasita em tecidos ou fluidos corporais através da reacção de PCR, cultura de células, inoculação em murganhos ou imunocitoquímica.

#### • **Itália**

Em Itália, na década de 90 do século passado, existiu uma enorme pressão, por parte da Europa, em desenvolver uma estratégia para combater a toxoplasmose congénita, o que levou a Sociedade Italiana de Medicina Perinatal, em 1994, a recomendar a realização de uma triagem pré-natal com testes trimestrais em grávidas seronegativas e o tratamento com esperimicina em grávidas seropositivas para IgM específicas. No entanto, em 1995, o Sistema Nacional de Saúde consentiu o acesso gratuito da realização dos testes a grávidas com IgM negativas e, em 1998, o cronograma do rastreio foi alterado para mensal. O caso de toxoplasmose congénita define-se pela persistência do anticorpo específico IgG até 1 ano de idade **(96; 99)**.

#### • **Dinamarca**

Na Dinamarca a detecção da toxoplasmose faz-se a partir da pesquisa de anticorpos IgM específicos através do teste Guthrie (teste do Pézinho). Esta estratégia foi implementada porque a população Dinamarquesa possuía uma baixa prevalência da toxoplasmose, para além desta política está associada a um programa de prevenção primária **(96)**. Este programa foi interrompido em 2007 **(100; 101)**.

Em 2005, apenas três países europeus (Inglaterra e País de Gales, Holanda e Escócia) não recomendam (oficialmente) um programa para a toxoplasmose congénita (95).

Assim sendo, permaneceram dezoito países, que decidiram recomendar um programa de prevenção primária, sem advertências específicas sobre o procedimento de triagem para a detecção da toxoplasmose durante a gravidez ou em recém-nascidos. Estes programas baseiam-se na educação das gestantes através de folhetos escritos ou informações fornecidas pelo médico nas consultas pré-natais sobre os factores de risco. A justificação destes países para não recomendar a triagem varia com o retorno do custo-benefício, ausência do tratamento adequado e baixa incidência da toxoplasmose (96).

- **Portugal**

De acordo com o estudo a cima referido, Portugal encontra-se numa situação controversa, uma vez que, não existe nenhuma legislação que obrigue à realização da triagem pré-natal, mas a Direcção Geral de Saúde, desde 2000, propôs um programa de triagem pré-natal para a toxoplasmose. Segundo o programa, todas as mulheres em idade reprodutiva devem ser testadas para anticorpos IgG e IgM específicos para a toxoplasmose, antes da concepção ou no início do primeiro trimestre da gravidez. Se a grávida for seronegativa deve ser realizada a análise a cada três meses. Para além do estudo serológico é muito importante a prevenção primária (72; 75).

Em Portugal, a Direcção Geral de Saúde declara que o conhecimento prévio do estado imunitário antes da concepção, é importante, porque ajuda a informar a mulher acerca de todos os cuidados (prevenção primária) a ter durante a gravidez, facilitando posteriormente um bom diagnóstico. Neste país, é permitida a interrupção da gestação na presença da infecção materna (75).

### 1.12 - Vacinação

No mercado existe uma vacina viva atenuada para ovelhas que permite uma redução da mortalidade neo-natal desta espécie. No entanto estão a ser realizados estudos para a produção de uma vacina eficaz em humanos, gatos e suínos **(88)**.

Num estudo realizado por Dziadek *et al.*, em 2011, verificou-se que uma mistura de antígenos recombinantes pode ser uma ferramenta muito promissora na imunoprofilaxia da toxoplasmose. Neste trabalho, estes autores demonstraram que para uma vacina ser eficaz deve ser constituída por mais de dois antígenos do parasita e que a composição apropriada de proteínas pode ser igualmente eficaz em murganhos. Neste estudo foram também confirmados achados prévios de que as proteínas ROP2 e ROP4, combinadas com a proteína principal de superfície do taquizoítio (SAG1) ou a proteína dos grânulos densos (GRA4) pode fornecer protecção contra a formação de quistos cerebrais. Estes dados são elementos relevantes para a realização de uma vacina contra a toxoplasmose nos humanos **(102)**.

### 1.13 - Objectivos do trabalho

O objectivo geral deste trabalho é determinar a prevalência e os factores associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em grávidas do Hospital Garcia de Orta, sendo este grupo considerado de risco.

Os objectivos específicos são:

- Determinar e quantificar imunoglobulinas - IgM e IgG.
- Estudar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* em grávidas.
- Relacionar os factores de risco (socioeconómicos e comportamentais) da toxoplasmose com a distribuição da prevalência dos anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* nas grávidas.

## **2 – Material e Métodos**

Este estudo foi realizado para tentar expor os vários factores de risco a que as grávidas podem estar sujeitas, bem como para determinar a seroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* nas grávidas observadas na consulta de Obstetrícia, no Hospital Garcia da Orta.

### **2.1 – Dados Epidemiológicos**

O Hospital Garcia de Orta está localizado na região de Lisboa e Vale do Tejo, no distrito de Setúbal, concelho Almada. Este hospital abrange grávidas de vários concelhos, mas com maior destaque os concelhos de Almada, Seixal e Sesimbra. O concelho de Almada tem 165 991 habitantes e está subdividido em 11 freguesias, o concelho do Seixal possui 178 332 habitante e possui seis freguesias e por fim o concelho de Sesimbra, tem um menor número de habitantes, 54 525, e é composto por três freguesias (**101**). No entanto, o Hospital Garcia de Orta pode atender outros utentes vindos de outros concelhos quando encaminhados pelos médicos de família ou noutros casos pontuais.

No período de Abril de 2010 a Janeiro de 2011 foram contactadas 163 grávidas que se dirigiram ao Serviço de Obstetrícia do Hospital, a quem foi explicado o estudo, entregue um inquérito e foi pedida autorização para a recolha de sangue. Destas 163 grávidas apenas 140 responderam ao inquérito e obtivemos 155 amostras de sangue.

#### **2.1.1 - Inquérito**

Foi entregue às grávidas (voluntárias) um questionário (Anexo I) auto-aplicado, anónimo, de preenchimento facultativo constituído por 15 questões fechadas e um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo II) para poder utilizar toda a informação fornecida através de um inquérito, bem como o soro recolhido.

### **Autorização da Comissão de Ética**

O projecto foi submetido à aprovação da Comissão de Ética do Hospital Garcia de Orta (Anexo III).

### **Âmbito de realização**

O Director do Serviço de Obstetrícia do Hospital Garcia de Orta foi contactado pessoalmente, tendo-lhe sido apresentado os objectivos do trabalho, o inquérito a aplicar às grávidas e o parecer positivo da Comissão de Ética do próprio Hospital. Posteriormente, foram realizadas várias reuniões para abordar diferentes aspectos, tais como critérios de inclusão, momento adequado para a distribuição do inquérito à grávida, período de distribuição/recolha dos inquéritos/soro, bem como todas as dúvidas apresentadas pelo Director do Serviço.

### **Definição das variáveis**

Este questionário é dividido em duas partes para permitir recolher informação diferenciada. A primeira parte é constituída por perguntas de respostas fechadas/abertas, direccionadas a população alvo de modo a recolher dados sócio-demográficos: idade, localidade, idade gestacional e o número de gestações. A segunda parte é constituída por perguntas de resposta fechada, tendo como objectivo avaliar os factores de risco para a transmissão da toxoplasmose através de questões importantes: Conhecimento da doença; presença de animais hospedeiros do parasita (gatos); consumo de alimentos potencialmente contaminados (vegetais sem uma lavagem adequada, carne crua ou mal cozida, etc.); hábitos de jardinagem entre outros factores.

## 2.2 - Serologia

Para completar o estudo, profissionais especializados do Hospital Garcia de Orta realizaram as colheitas de sangue, através de punção venosa a cada grávida, para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* IgG e IgM. Após a colheita, as amostras foram tratadas de modo a obter o soro e foram armazenadas a -20°C até serem processadas. As amostras foram transportadas até o laboratório da Unidade de Protozoários Oportunistas/VIH e Outras Protozooses, do Instituto de Higiene e Medicina Tropical devidamente acondicionadas para, posteriormente, serem analisadas.

### 2.2.1 – Toxo-Screen DA

Para a pesquisa dos anticorpos IgG anti-*T. gondii* utilizou-se o kit comercial Toxo-Screen Da da bioMérieux® .

#### Princípio do teste

O teste Toxo-screen DA detecta anticorpos IgG através da aglutinação directa, com antígeno sensibilizado. O tampão 2- mercaptoetanol (2-ME) é um tampão que permite eliminar aglutinações não específicas, pela desnaturação das IgM. De acordo com o fabricante, este teste foi comparado com o teste “gold standard” (dye test). O teste Toxo-screen Da obteve uma sensibilidade de 96,22% (intervalo de confiança de 95% [94,55%-97,39%]) e uma especificidade de 98,80% (intervalo de confiança de 95% [96,36%-99,60%]).

#### Preparação dos reagentes/amostras

Para a realização deste teste é necessária a reconstituição de alguns reagentes:

- Antígeno Toxoplasmático (1/5): 1ml de Antígeno toxoplasmático + 4ml de BABS

- 2-mercaptoetanol (2-ME): 175 microlitros ( $\mu\text{L}$ ) de 2-ME + 12.5 ml de PBS
- Controlo positivo: reconstituído com 1ml de água destilada estéril
- Controlo negativo: reconstituído com 1ml de água destilada estéril

Após a reconstituição de todos os reagentes, todos os soros e controlos (positivo e negativo) são diluídos 1/20.

- Soro/Controlos: 10 $\mu\text{L}$  de soro positivo + 190  $\mu\text{L}$  de PBS

### Procedimento

1. Pipetar 25  $\mu\text{L}$  de 2-ME em 2 poços
2. Adicionar 25  $\mu\text{L}$  dos controlos (positivo/negativo) nos poços previstos
3. Para cada amostra marcar 5 poços na placa
4. Distribuir em 25  $\mu\text{L}$  de 2-ME no primeiro poço e 50  $\mu\text{L}$  de 2-ME dos restantes 4 poços
5. Pipetar 25  $\mu\text{L}$  de amostra nos poços 1 e 2.
6. Efectuar passagens de 25  $\mu\text{L}$  nos poços 3, 4 e 5, desprezando os últimos 25  $\mu\text{L}$ .
7. Pipetar 50  $\mu\text{L}$  de antigénio toxoplasmático em todos os poços que contenham as amostras/controlos
8. Homogeneizar a placa manualmente
9. Cobrir todos os poços com folha autocolante e incubar em câmara húmida a 37°C durante a noite ao abrigo de desidratação e de vibrações.

### Leitura e interpretação

A leitura dos resultados foi feita em contra luz. Considera-se reacção positiva, quando se observa nas cúpulas uma aglutinação sob a forma de véu, revestindo aproximadamente metade do fundo da cúpula. A reacção negativa observa-se quando há ausência de aglutinação, aparecendo apenas uma sedimentação dos toxoplasmas em botão ou anel, no fundo da cúpula. O limiar da detecção de anticorpos IgG anti-*T gondii* do teste é de 4 unidades internacionais por mililitro (IU/mL), adquirindo o título de anticorpos pelo inverso da maior diluição que dá uma reacção positiva (Quadro 1).

**Quadro 1- Correspondência entre a diluição e o título em anticorpos (UI/mL)**

<b>Diluição</b>	1/40	1/60	1/180	1/540	1/1620
<b>Título (UI/mL)</b>	4	6	18	54	162

Em cada série de testes, deve utilizar, sempre, um controlo positivo e um controlo negativo. Para validar o ensaio, tem que se observar os controlos para verificar se estão em conformidade com as instruções do fabricante, os soros positivos têm que ser positivos na diluição 1/40 e o soro negativo tem que se encontrar sistematicamente negativo em todas as diluições, caso contrário a série não é validada.

### **2.2.2 – Toxo-ISAGA**

Para pesquisar os anticorpos IgM anti-*T. gondii* utilizou-se o kit comercial Toxo-ISAGA da bioMérieux® .

### Princípio do teste

O teste Toxo-ISAGA detecta IgM através da reacção de aglutinação por imunoabsorção, sendo muito importante para ajudar a avaliação do estado imunitário dos suspeitos de uma infecção por *T. gondii*. Os anticorpos IgM da amostra fixam-se nos anticorpos monoclonais anti-IgM humanos presentes nos poços da placa, sendo assim as IgM específicas da toxoplasmose são reveladas pela fixação de toxoplasmas. O teste Toxo-ISAGA foi comparado com o teste de Remington, onde obteve uma especificidade de 96,9% (intervalo de confiança de 95% [92,7%-98,7%]).

### Preparação dos reagentes/amostras

Para realizar este teste devemos ter em consideração a preparação e reconstituição dos reagentes.

- Antígeno toxoplasmático (1/20): 200µl de antígeno toxoplasmático + 3800 ml de BABS.

É fundamental para a realização deste teste efectuar a diluição de todos os soros e controlo positivo.

- Controlo positivo (1/10): 30µl do soro positivo + 270µl de PBS.
- Amostras (1/100): 10µl de amostra + 990µl de PBS.
- O controlo negativo utilizado é, unicamente, PBS.

### Procedimento

Controlo Positivo 100µl	Controlo Positivo 150µl	Controlo Positivo 200µl	Controlo Negativo 100µl	Controlo Negativo 150µl	Controlo Negativo 200µl	Amostra 100µl	Amostra 150µl
Amostra 200µl							

1. Colocar 100µl de cada composto (controlos e os soros) em três poços
2. Cobrir os poços com folha autocolante e incubar 2h a 37°C na câmara húmida
3. Decantar o conteúdo dos poços por inversão
4. Lavar cada poço com PBS tween (duas vezes durante 5 minutos ou uma vez durante 10 minutos), retirar
5. Lavar com PBS (duas vezes durante 5 minutos ou uma vez durante 10 minutos), retirar
6. Colocar antigénio, já reconstituído, em todos os poços, como é observado na imagem anterior (100µl, 150µl e 200µl)
7. Cobrir todos os poços com folha autocolante e incubar em câmara húmida a 37°C durante a noite

### Leitura e interpretação

A leitura dos resultados foi feita em contra luz. Cada soro é analisado com uma quantidade crescente de antigénios toxoplásmicos. A reacção negativa caracteriza-se por uma sedimentação dos toxoplasmas. Uma reacção positiva caracteriza-se pela fixação dos toxoplasmas que é feita em forma de véu. O índice ISAGA de um soro corresponde à soma de valores atribuídos para os três volumes de antigénios utilizados (100µl e 150µl do despiste e 200µl do teste de confirmação).

### Leitura

	0
	1+
	2+
	3+
	4+

### Resultados

	100µl	150µl	200µl	Índice ISAGA
Soro nº1	4+	2+	2+	8
Soro nº2	4+	4+	3+	11

### Índice ISAGA

- 0 à 5 : Reacção Negativa
- 6 a 8 : Reacção Equivoca
- 9 a 12 : Reacção Positiva

Em cada série de testes, realiza-se, sempre, um controlo positivo e um controlo negativo. Para validar o ensaio, tem que se observar os controlos para verificar se estão em conformidade com as instruções do fabricante. Os soros positivos têm que ser positivos na diluição 1/40 e o soro negativo tem que se encontrar, sistematicamente, negativo em todas as diluições, caso contrário a série não é validada.

### 2.2.3 – Avidéz da IgG

Para a pesquisa da Avidéz das IgG anti-*T. gondii* utilizou-se o kit comercial NovaLisa - *Toxoplasma gondii* IgG Avidity Test da Novatec™.

### Princípio do teste

O teste *T. gondii* IgG Avidity detecta a força de ligação do anticorpo IgG com o antígeno correspondente. Esta determinação é muito importante, uma vez que permite diferenciar se a infecção causada por *T. gondii* é recente ou antiga. É um teste quantitativo baseado na técnica de ELISA. Esta técnica baseia-se na fixação dos anticorpos IgG aos antígenos presentes nos poços da placa, que no final do procedimento nos vai permitir visualizar através da absorbância a força de ligação Ac-Ag.

### Preparação dos reagentes/amostras

Todos os reagentes, com excepção da solução de lavagem, já estão prontos a utilizar.

- Solução de lavagem (1/20): 20 ml de solução de lavagem + 380 ml de água destilada.

As amostras (soros) são diluídas 1+100 com o diluente de amostras IgG. (10µl de amostra com 1 ml de diluente de amostras IgG). Caso exista uma elevada concentração de IgG e não seja possível efectuar a leitura realiza-se uma segunda diluição 1+1 da primeira diluição (100µl da primeira diluição + 100µl de diluente da amostras IgG).

### Procedimento

Pipetar em duplicado as amostra e o controlo

1. Os dois primeiros poços são usados para o branco (A1/A2)
2. Dispensar 100µl de controlo nos poços (B1/B2)
3. Dispensar 100µl de amostra diluída nos poços (C1/C2), etc. (depois de colocar as amostras, cobrir todos os poços com uma folha autocolante)
4. Incubar durante 1 hora ± 5 minutos a 37°C

5. Realizar três lavagens com 300µl com solução de lavagem durante  $\geq 5$  segundos
6. Dispensar 100µl do reagente de avidina nos poços B1, C1, D1 etc.  
Dispensar 100µl de solução de lavagem diluída nos poços B2, C2, D2 etc.
7. Incubar 5 minutos à temperatura ambiente (20°C a 25°C)
8. Realizar três lavagens com 300µl com solução de lavagem durante  $\geq 5$  segundos
9. Dispensar 100µl do conjugado anti-IgG toxoplasma em todos os poços, com exceção nos poços do branco (A1/A2)
10. Incubar durante 30 minutos à temperatura ambiente (20°C a 25°C) num local escuro
11. Realizar três lavagens com 300µl com solução de lavagem durante  $\geq 5$  segundos.
12. Dispensar 100µl do substrato TMB em todos os poços
13. Incubar 15 minutos à temperatura ambiente (20°C a 25°C) num local escuro
14. Dispensar 100µl de solução STOP em todos os poços e na mesma ordem que foi colocado o substrato TMB
15. Realizar a leitura da absorbância das amostras a 450 nm no espaço de tempo de 30 minutos depois de adicionada a solução STOP

#### Leitura e interpretação

A leitura dos resultados foi feita através de um leitor de ELISA – Infinite® 200 NanoQuant, que mede a absorbância do branco/controlo/amostras a 450nm.

Este teste, como já foi referido anteriormente, detecta se a infecção provocada por *T. gondii* é recente ou antiga. Para isso, temos que realizar um cálculo:

$$\frac{\text{Absorbância (Amostra/controlo) reagente de avides}}{(\%) \text{ Absorbância (Amostra/controlo) Solução de lavagem (1/19)}} \times 100 = \text{Avides}$$

Em cada série de testes, realiza-se, sempre, um Branco e um Controlo. Para que o ensaio seja validado, tem que se ter em conta dois pontos importantes: A absorbância do Branco tem que ser inferior a 0.100 e o Controlo (%) tem que se situar entre [35 – 115] %.

Caso o leitor não detecte a absorbância da amostra, tem que se efectuar uma diluição dessa amostra.

Assim sendo, quando a Avides (%) de uma amostra é  $> 40$  estamos perante uma infecção antiga, se a avides (%) de uma amostra for  $\leq 40$  neste caso, é considerada uma infecção recente/aguda.

### **2.3 – Tratamento estatístico**

Neste estudo foi realizado um questionário e efectuada uma colheita de sangue às mulheres grávidas.

Dos questionários foi recolhida a seguinte informação:

- Caracterização sócio-demográfica das grávidas
- Comportamento durante a gravidez.

Das amostras de soro foi recolhida a seguinte informação:

- Valores dos anticorpos anti-*T. gondii* (IgG e IgM)
- Valores da Avides das IgG anti-*T. gondii*.

Para a análise estatística foi utilizado o software estatístico SPSS 19<sup>®</sup>. A análise descritiva dos dados, foi feita, essencialmente, em frequências absolutas e relativas.

Para testar a associação entre variáveis utilizou-se:

- Teste do Qui-quadrado de Pearson
- Teste exacto de Fisher.

No entanto, o teste Qui-quadrado tem limitações, nomeadamente, deverá ser substituído pela teste exacto de Fisher quando os valores esperados nas células da tabela são inferiores a 5. Para ambos os testes estatísticos foi estabelecido o nível de confiança de 95% e o valor de  $p \leq 0,05$ .

### 3 – Resultados

Para este estudo, a amostra é constituída por 163 grávidas com idades compreendidas entre os 15 e os 44 anos, que se deslocaram ao Hospital Garcia de Orta, entre Abril de 2010 e Janeiro de 2011, para realizarem análises de rotina da gravidez. Das 163 grávidas, que inicialmente entraram no estudo, apenas 140 (85,89 %) responderam ao inquérito e foi possível recolher soros de 155 (96,88%) grávidas.

#### 3.1 - Serologia

##### Detecção do anticorpo IgG anti-*T. gondii*

Das 155 grávidas a quem foi colhido soro, 34 (21,94%) eram seropositivas para os anticorpos IgG anti-*T. gondii*. Os resultados foram obtidos pela realização da técnica de MAT, a partir do *Kit* comercial Toxo-Screen DA da bioMérieux® SA (Gráfico 1).

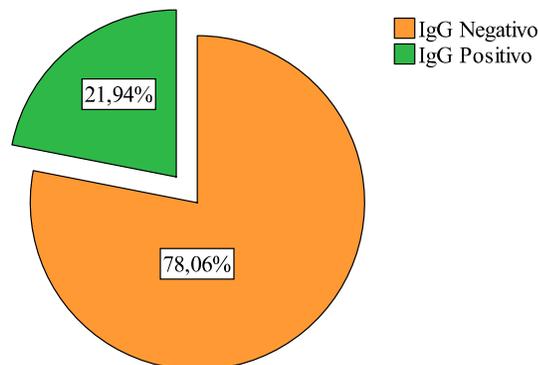
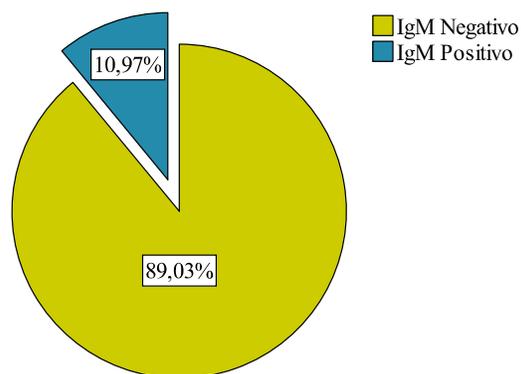


Gráfico 1 – Percentagem de anticorpos IgG Positivo/Negativo

### Detecção do anticorpo IgM anti-*T. gondii*

Das 155 grávidas a quem foi colhido soro, 17 (10,97%) eram seropositivas para os anticorpos IgM anti-*T. gondii*. Os resultados foram adquiridos pela realização da técnica de “immunosorbent agglutination” a partir kit comercial Toxo-ISAGA da bioMérieux® SA (Gráfico 2).



**Gráfico 2 - Percentagem de anticorpos IgM Positivo/Negativo**

Das 155 grávidas cujos soros foram analisados, 17 (10,97%) foram seropositivas para os anticorpos IgG anti-*T. gondii*, apresentando imunidade para a toxoplasmose; 121 (78,06%) são susceptíveis à infecção, ou seja, são seronegativas para os anticorpos IgG e IgM anti-*T. gondii*; 17 (10,97%) são seropositivas, simultaneamente, para os anticorpos IgG e para os anticorpos IgM anti-*T. gondii*, o que indica um possível quadro de infecção aguda (Quadro 2).

**Quadro 2 - Distribuição das 155 grávidas de acordo com o resultado da serologia anti-*T. gondii*.**

		<b>IgM</b>		
		Negativo	Positivo	Total
		N (%)	N (%)	N (%)
<b>IgG</b>	Negativo	121 (78,06%)	0 (0%)	121 (78,06%)
	Positivo	17 (10,97%)	17 (10,97%)	34 (21,94%)
	Total	138 (89,03%)	17 (10,97%)	155 (100%)

p<0,001 (teste de Fisher)

#### **Determinação da Avidéz das IgG anti-*T. gondii***

A determinação da avidéz foi realizada em 17 grávidas com seropositividade para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*. Verificou-se que as IgG existentes nos soros de todas estas grávidas (100%) apresentavam alta avidéz, (avidéz >40%) para os antígenos específicos, ou seja, estas grávidas eram portadoras de uma infecção antiga.

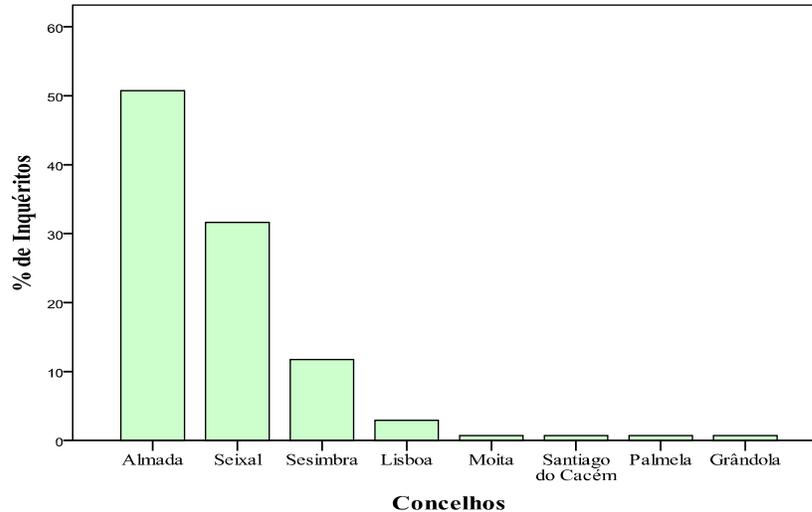
As grávidas foram consideradas seropositivas para *T. gondii*, quando apresentaram valores positivos de IgG acompanhados, ou não, de IgM positiva. Quando as grávidas apresentaram resultados negativos para anticorpos IgG e IgM anti-*T. gondii* eram consideradas seronegativas (susceptíveis à infecção) para a toxoplasmose.

### 3.2 – Caracterização da amostra

#### Variáveis sócio-demográficas

Considerámos como localidade, o local de residência de cada grávida que estava a ser seguida no Serviço de Obstetrícia do Hospital Garcia da Orta. Assim validámos os dados referidos no Gráfico 3, em percentagens, por Concelhos.

Das 140 grávidas que responderam ao questionário, apenas 4 (2,9%) não responderam a este parâmetro. Verificámos que os três Concelhos com um maior número de grávidas são os Concelhos de Almada (50,7%), Seixal (31,6%) e Sesimbra (11,8%). Com estes valores podemos observar que apesar do Concelho do Seixal possuir mais habitantes, o Concelho de Almada, no período do estudo, apresentou uma maior percentagem de grávidas.



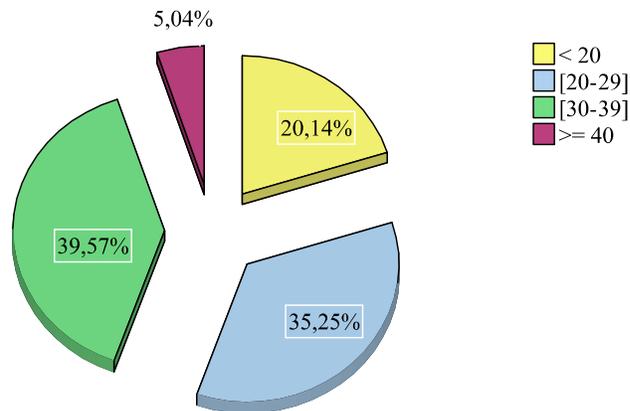
**Gráfico 3 - Percentagem de grávidas por Concelho**

Relativamente à idade, foram estabelecidos 4 grupos etários:

- <20 – Grávidas com idade inferior a 20 anos

- [20-29] – Grávidas com idades compreendidas entre os 20 e os 29 anos
- [30-39] – Grávidas com idades compreendidas entre os 30 e os 39 anos
- $\geq 40$  – Grávidas com idade superior ou igual a 40 anos

Das 140 grávidas que responderam ao questionário, apenas 1 (0,7%) não respondeu a este parâmetro. A distribuição dos grupos etários mostra que 55 (39,57%) grávidas têm entre 30 a 39 anos e 49 (35,25%) têm entre 20 a 29 anos. Com menos de 20 anos encontravam-se 28 (20,14%) grávidas (Gráfico 4).



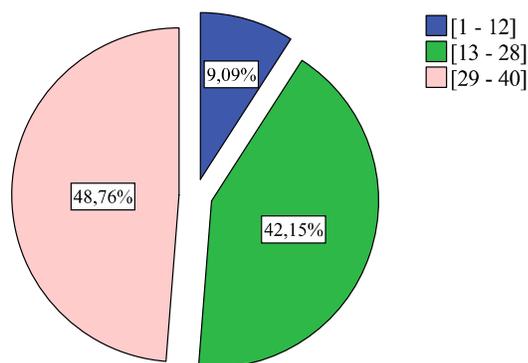
**Gráfico 4 – Percentagem de grávidas por Grupo etário**

Em relação à idade gestacional, também foram estabelecidos 3 grupos, relativamente, aos três trimestres da gravidez:

- [1-12] – Grávidas que se encontram entre a 1ª e a 12ª semana de gestação
- [13-28] – Grávidas que se encontram entre a 13ª e a 28ª semana de gestação
- [29-40] – Grávidas que se encontram entre a 29ª e a 40ª semana de gestação

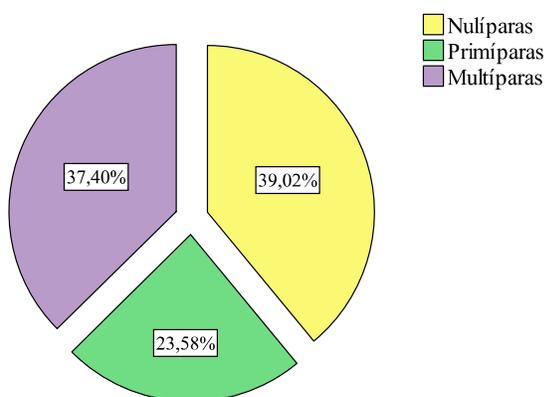
Das 140 grávidas que responderam ao questionário, 19 (13,6%) não responderam ao parâmetro sobre a idade gestacional.

Das 121 grávidas que responderam ao parâmetro da idade gestacional, verificou-se que 59 (48,76%) grávidas se encontravam no último trimestre da gravidez, 51 (42,15%) no segundo trimestre da gravidez e apenas 11 (9,09%) estavam no primeiro trimestre da gravidez (Gráfico 5).



**Gráfico 5 – Percentagem de grávidas por Idade gestacional**

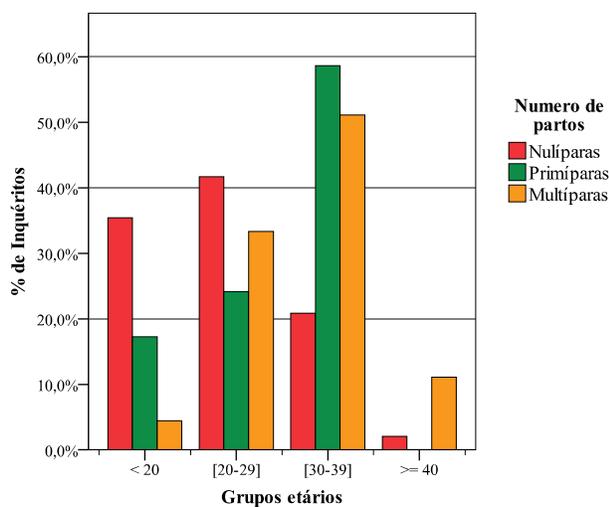
Relativamente ao número de gravidezes, das 140 grávidas que responderam ao questionário, 17 (12,1%) não indicaram o número de gestações anteriores. Das 123 grávidas que responderam à questão, 48 (39,02%) eram nulíparas, 29 (23,58%) eram primíparas e 46 (37,40%) eram múltíparas (Gráfico 6).



**Gráfico 6 – Percentagem de grávidas por número de partos**

Quando comparámos os grupos etários por Concelhos, observámos que o Concelho de Almada tinha 29 (42%) de grávidas no grupo etário [20-29] enquanto os Concelhos do Seixal e Sesimbra possuíam 21 (48,8%) e 11 (68,8%), respectivamente, no grupo etário [30-39].

No gráfico 7, comparámos os grupos etários com o número de partos e observámos uma correlação entre os grupos etários e as grávidas primíparas e múltiparas. Assim verificámos que a relação entre o número de partos (primíparas e múltiparas) e os grupos etários são directamente proporcionais, ou seja quanto mais alto é o grupo etário maior é a percentagem de grávidas primíparas e múltiparas, com excepção das grávidas múltiparas no grupo com mais de 40 anos, no qual se observa um decréscimo na percentagem do número de grávidas.



**Gráfico 7 – Grupo etários versus Número de partos**

No quadro, 3 observámos que das 25 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, 4 (16%) eram nulíparas, 4 (16%) eram primíparas e 17 (68%) eram múltiparas. Em relação às 90 grávidas seronegativas (susceptíveis à toxoplasmose) verificámos que 39 (43,3%) eram nulíparas, 23 (25,6%) eram primíparas e 28 (31,1%) eram

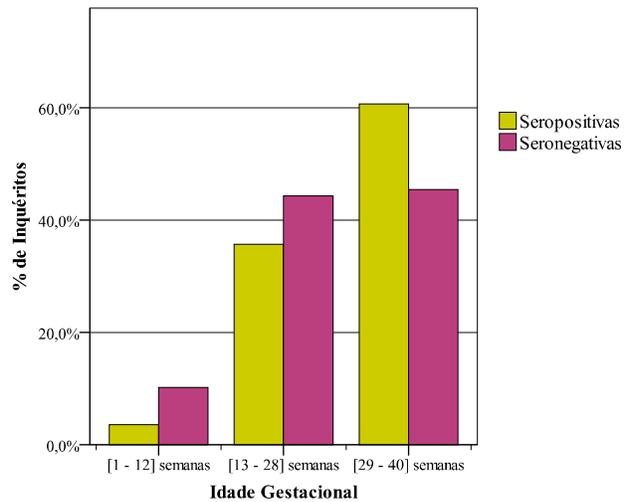
múltiparas. Após a análise estatística, verificamos que existem uma correlação entre o número de partos e a seropositividade para *T. gondii*. Assim, observamos que as grávidas múltiparas têm maior probabilidade de serem seropositivas para *T. gondii* do que as primíparas ou as nulíparas ( $p=0,003$ ; teste Qui-quadrado [ $\chi^2$ ]).

**Quadro 3 – Diagnóstico da toxoplasmose versus Número de partos**

Diagnóstico	Número de partos			Total
	Nulíparas	Primíparas	Múltiparas	
	N (%)	N (%)	N (%)	
Seropositivas	4 (16%)	4 (16%)	17 (68%)	25 (100%)
Seronegativas	39 (43,3%)	23 (25,6%)	28 (31,1%)	90 (100%)
Total	43 (37,4%)	27 (23,5%)	45 (39,1%)	115 (100%) *

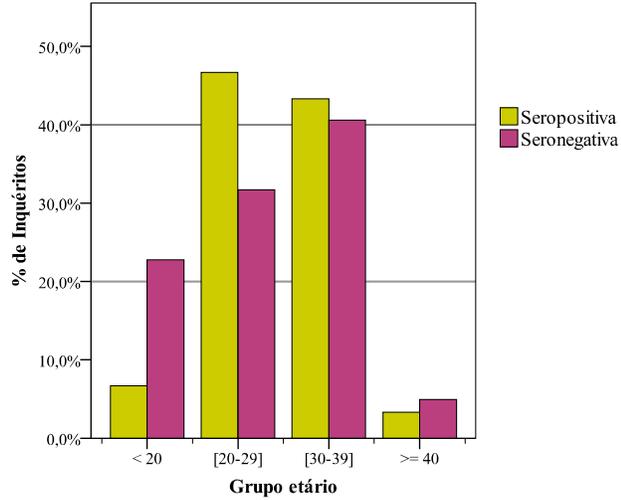
\* Do total das 123 grávidas que responderam a esta questão, apenas obtivemos 115 soros para estudo;  $p=0,003$  (teste  $\chi^2$ )

No gráfico 8 verificamos das 28 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T gondii*, 17 (60,7%) encontravam-se no terceiro trimestre de gestação. No entanto, das 88 grávidas seronegativas para os anticorpos anti-*T. gondii*, a maioria encontravam-se centradas no segundo (39 [44,3%]) e terceiro (40 [45,5%]) trimestres da gestação. A relação entre a idade gestacional e as grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* não foi significativa ( $p=0,291$ , testes  $\chi^2$ ).



**Gráfico 8 – Diagnóstico da toxoplasmose versus Idade gestacional**

No gráfico 9 verificámos que a maioria das 30 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* centram-se em dois grupos etários, com 14 (46,7%) grávidas no grupo etário [20-29] e 13 (43,3%) grávidas no grupo etário [30-39], no entanto observámos que 2 (6,7%) grávidas têm idade inferior a 20 anos e 1 (3,3%) possui mais de 40 anos. Em relação às 101 grávidas seronegativas, observou-se que 23 (22,8%) têm idade inferior a 20 anos, 32 (31,7%) encontram-se no grupo etário [20-29], 41 (40,6%) encontram-se no grupo etário [30-39] e 5 (5%) possuem mais de 40 anos. Quando analisámos estatisticamente estas variáveis, não verificámos diferenças significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e os diferentes grupos etários ( $p=0,187$ ; teste  $\chi^2$ ).

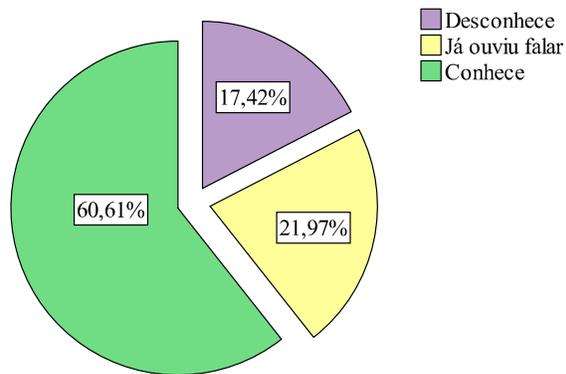


**Gráfico 9 – Diagnóstico da toxoplasmose versus Grupo etário**

### 3.3 – Caracterização dos Factores de Risco

#### Conhecimento sobre a toxoplasmose

Das 140 grávidas que responderam ao questionário, 8 (5,7%) não responderam à questão sobre o conhecimento da toxoplasmose. Das 132 (94,3%) grávidas que responderam, verificámos que 80 (60,6%) afirmaram conhecer a infecção causada por *T. gondii*, enquanto 29 (22%) já ouviram falar desta patologia, mas desconhecem as suas causas e transmissão e por fim 23 (17,4%) desconhecem esta patologia (Gráfico 10).



**Gráfico 10 – Percentagem de grávidas por conhecimento da toxoplasmose**

Quando analisámos o quadro 4 observámos que as 12 (48%) grávidas que conhecem a toxoplasmose e as 11 (44%) grávidas que já ouviram falar da doença, apresentaram anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*. Após a análise estatística, verificámos que existem diferenças significativas entre estas variáveis. Assim observámos que a percentagem de grávidas seropositivas para os anticorpos anti-*T. gondii* que já ouviu falar da toxoplasmose (11 [44%]) é superior à percentagem de grávidas seronegativas que afirmam ter o mesmo conhecimento em relação à toxoplasmose (17 [17,2%]) ( $p=0,013$ ; teste  $\chi^2$ ).

**Quadro 4 – Diagnóstico da toxoplasmose versus Conhecimento da doença**

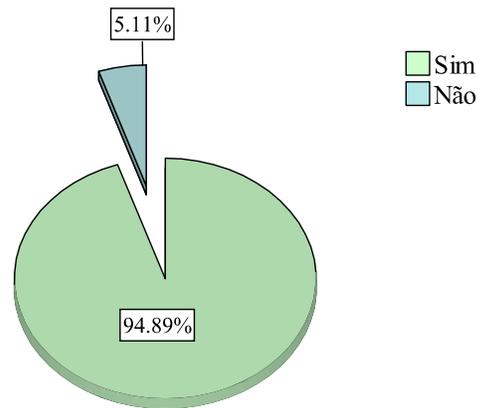
Diagnóstico	Conhecimento da toxoplasmose			Total
	Desconhece	Já ouviu falar	Conhece	
	N (%)	N (%)	N (%)	
Seropositivas	2(8%)	11 (44%)	12 (48%)	25 (100%)
Seronegativas	20 (20,2%)	17 (17,2%)	62 (62,6%)	99 (100%)
Total	22 (17,7%)	28 (22,6%)	74 (59,7%)	124 (100%) *

\* Do total das 132 grávidas que responderam a esta questão, apenas obtivemos 129 soros para estudo;  $p=0,013$  (teste  $\chi^2$ )

### Saneamento básico

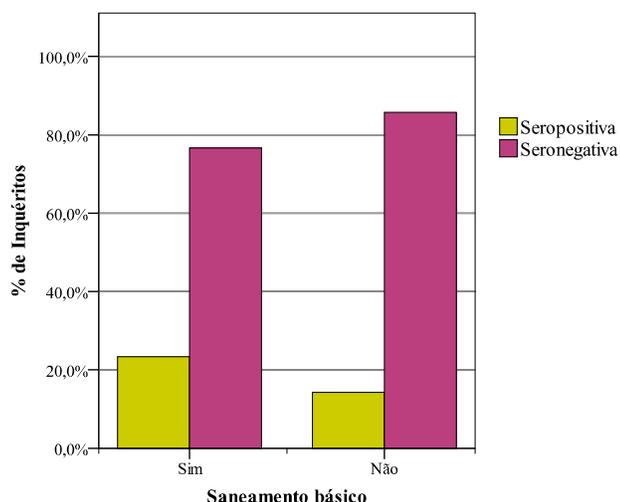
Quanto à pergunta sobre o saneamento básico na habitação, das 140 grávidas que responderam ao questionário, apenas 3 (2,14%) não responderam a este parâmetro.

Das 137 grávidas que responderam à questão, 130 (94,89%) possuíam saneamento básico na residência e 7 (5,11%) afirmaram não ter saneamento básico na residência (Gráfico 11).



**Gráfico 11 - Percentagem de grávidas com saneamento básico na habitação**

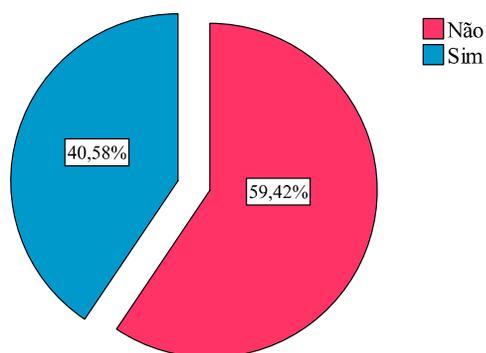
Observando o gráfico 12, verificou-se que das 7 grávidas que afirmaram não possuir saneamento básico, 1 (14,3%) apresentou seropositividade para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, enquanto que 6 (85,7%) eram seronegativas. Através da análise estatística não se encontraram diferenças significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e a presença do saneamento básico na residência ( $p=0,577$ ; teste  $\chi^2$ ).



**Gráfico 12 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Saneamento básico**

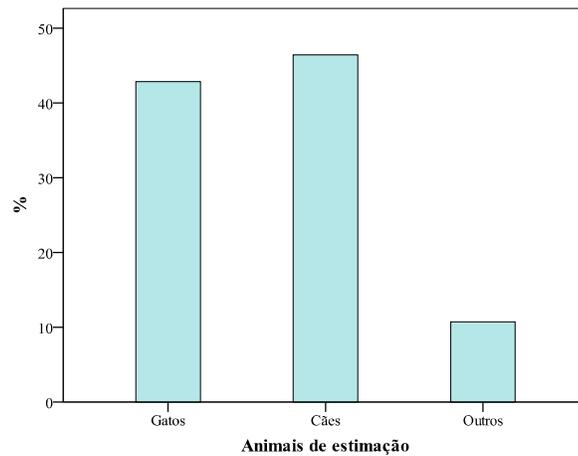
### **Animais de estimação**

Num universo de 140 grávidas, apenas 2 (1,4%) não responderam à questão “*Tem animais de estimação actualmente em casa?*”. Assim das 138 grávidas que responderam, 56 (40,58%) afirmaram ter animais de estimação, enquanto 82 (59,42%) responderam não ter qualquer animal de estimação na habitação (Gráfico 13).



**Gráfico 13 – Percentagem de grávidas com ou sem animais de estimação**

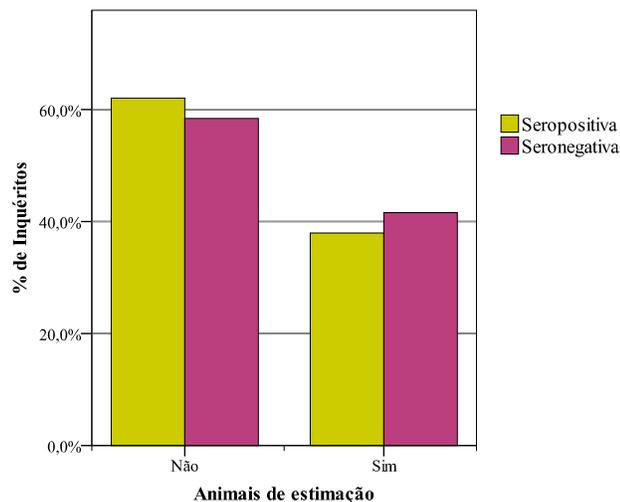
Das 56 grávidas que responderam ter animais de estimação, 24 (42,9%) afirmaram ter gatos, 26 (46,4%) afirmaram ter cães, enquanto que, apenas 6 (10,7%) afirmaram possuir outro tipo de animais de estimação (Gráfico 14).



**Gráfico 14 – Percentagem de grávidas que possuem cães, gatos ou outros animais de estimação**

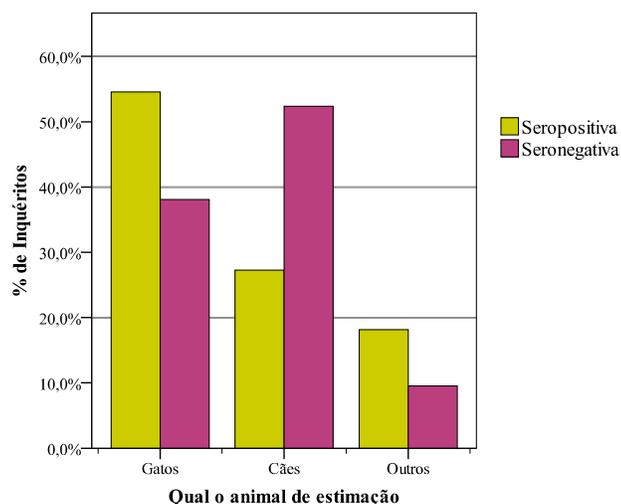
Todas as grávidas com gatos em casa (24) afirmaram que os alimentavam com ração, e 17 (70,8%) afirmaram que os gatos faziam as necessidades dentro da residência.

No gráfico 15 verificámos que das 101 grávidas seronegativas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, 42 (41,6%) afirmaram ter animais de estimação. Em relação às 29 grávidas com seropositividade para *T. gondii*, observámos que 11 (37,9%) afirmaram possuir animais de estimação. Através da análise estatística não foram encontradas diferenças significativas entre a seropositividade para IgG/IgM anti-*T. gondii* e a posse de animais de estimação ( $p=0,724$ , teste  $\chi^2$ ).



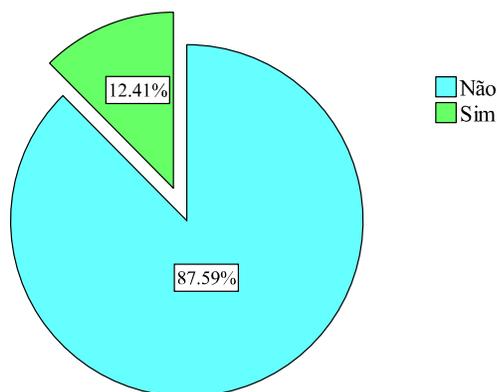
**Gráfico 15 - Diagnóstico da toxoplasmose versus Animais de estimação**

Observando o gráfico 16, verificamos que das 42 grávidas seronegativas para os anticorpos anti-*T. gondii*, 16 (38,1%) confirmaram possuir gatos; 22 (52,4%) tinham cães e 4 (9,5%) tinham outro tipo de animal de estimação. Em relação às 11 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, 6 (54,5%) possuem gatos; 3 (27,3%) possuem cães e 2 (18,2%) possuem outro tipo de animal de estimação. Estes resultados mostram uma diminuição da prevalência dos anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* de acordo com o tipo de animal de estimação, em que as grávidas que afirmaram possuir gatos, na residência, têm uma maior seroprevalência por *T. gondii*. Não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e o tipo de animal de estimação que existia na habitação ( $p=0,3$ ; teste de Fisher).



**Gráfico 16 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Qual o animal de estimação**

Das 140 grávidas questionadas se tinham contacto com gatos de familiares/amigos, apenas 3 (2,1%) não responderam à questão. No entanto, das 137 grávidas que responderam à questão anterior, apenas 17 (12,41%) afirmaram ter contacto com gatos que não fossem os seus (Gráfico 17).



**Gráfico 17 – Percentagem de grávidas que tinham contacto com gatos que não eram os seus**

No quadro 5, observou-se que das 29 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, apenas 7 (24,1%) afirmaram ter contacto com gatos de familiares/amigos. Em relação às 100 grávidas seronegativas, apenas 7 (7%) tinham contacto com gatos de familiares/amigos. Através da análise estatística, verificámos que havia uma associação significativa entre estas variáveis. Através destes resultados observámos que a percentagem de grávidas seropositivas para os anticorpos anti-*T. gondii* que têm contacto com gatos de familiares/amigos é superior à percentagem de grávidas seronegativas que afirmaram ter contacto com gatos que não eram os seus ( $p=0,009$ ; teste  $\chi^2$ ).

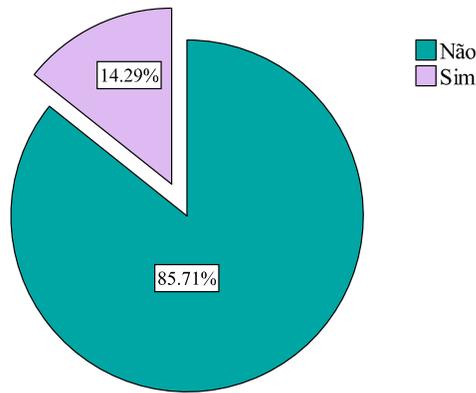
**Quadro 5 - Diagnóstico da toxoplasmose versus Contacto com gatos que não eram os seus**

Diagnóstico	Tem contacto com gatos que não sejam os seus?		
	Não	Sim	Total
	N (%)	N (%)	N (%)
Seropositiva	22 (75,9%)	7 (24,1%)	29 (100%)
Seronegativa	93 (93%)	7 (7%)	100 (100%)
Total	115 (89,1%)	14 (10,9%)	129 (100%)*

\* Do total das 137 grávidas que responderam a esta questão, apenas obtivemos 129 soros para estudo;  $p=0,009$ ; (teste  $\chi^2$ )

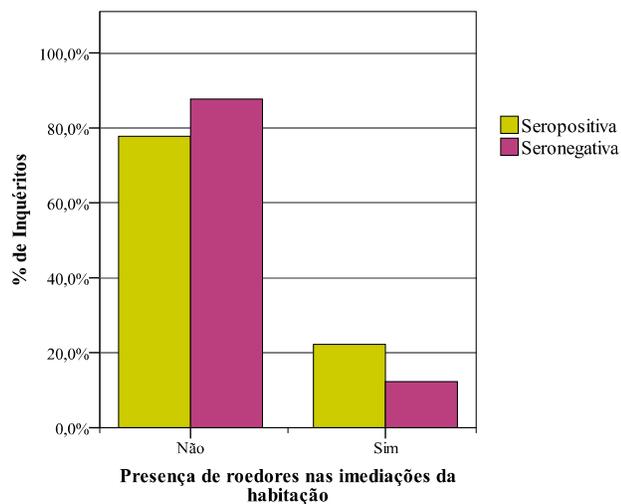
### **Presença de roedores nas imediações da habitação**

No seguimento do questionário, quisemos saber se as grávidas sabiam da existência de roedores nas proximidades da habitação e obtivemos resposta de 133 grávidas, das quais 114 (85,7%) responderam não saberem da existência de roedores (Gráfico 18).



**Gráfico 18 – Percentagens de grávidas para a presença de roedores nas imediações da habitação**

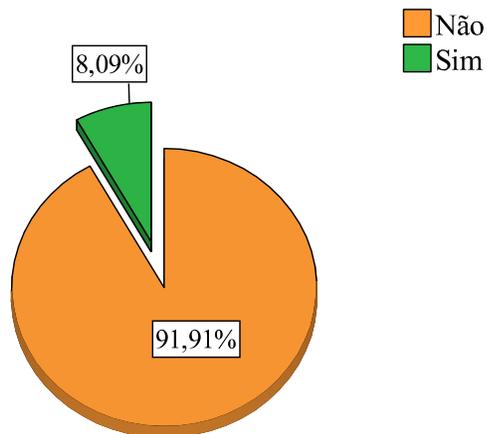
No gráfico 19 verificámos que das 27 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T gondii*, apenas 6 (22,2%) afirmaram saber da existência de roedores nas imediações das suas habitações. Estatisticamente não foram encontradas diferenças significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e a presença de roedores nas imediações das suas habitações ( $p=0,191$ ; teste  $\chi^2$ ). No entanto, apesar de não ser observado nenhuma relação entre as duas variáveis, pudemos observar que o número de grávidas seropositivas para os anticorpos anti-*T. gondii* que afirmaram não ter saneamento básico nas suas residências é superior do que nas grávidas seronegativas.



**Gráfico 19 – Diagnóstico da toxoplasmose versus Presença de roedores nas imediações da habitação**

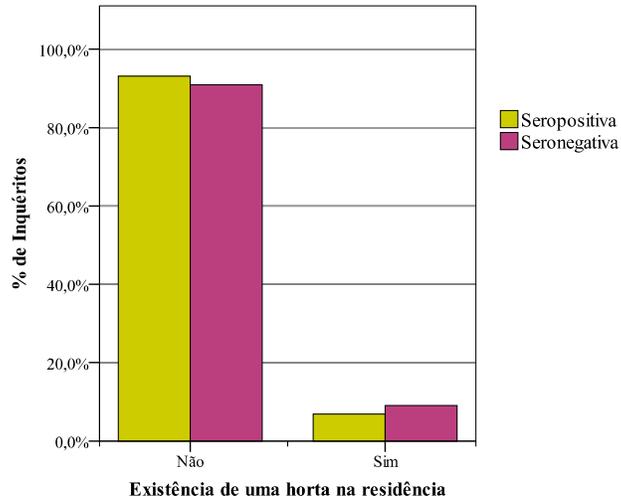
### Existência de uma horta na residência

Das 140 grávidas que responderam ao questionário, 136 (97,1%) responderam à questão “*Possuem uma horta na residência*”. De acordo com o que pudemos observar no gráfico 20, verificamos que 125 (91,91%) grávidas não possuem horta na residência. No entanto das 11 (8,09%) respostas afirmativas, 4 (36,4%) afirmaram que a horta é cercada não permitindo a entrada de animais.



**Gráfico 20 – Percentagem de grávidas com horta na residência**

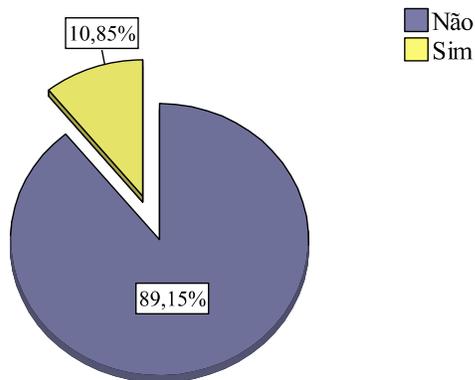
No gráfico 21 podemos verificar que das 99 grávidas seronegativas para *T. gondii*, 90 (90,9%) não possuem uma horta na residência, enquanto que das 29 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T gondii*, apenas 2 (6,9%) afirmaram ter uma horta na residência. Através da análise estatística não foram encontradas diferenças significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e a presença de uma horta na residência ( $p=0,711$ ; teste  $\chi^2$ ).



**Gráfico 21 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Existência de uma horta na residência**

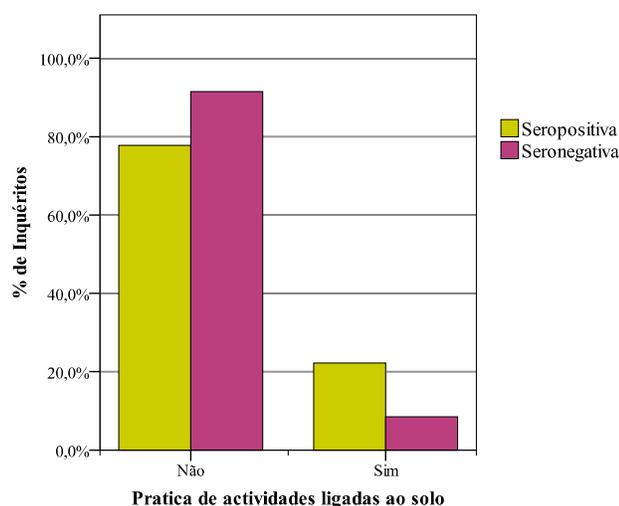
**Prática de actividades ligadas ao solo (jardinagem, agricultura, etc.)**

Das 140 grávidas que responderam ao questionário, 129 (92,14%) responderam a esta questão. O gráfico 22 apresenta a percentagem de grávidas que realizam actividades ligadas ao solo e podemos verificar que apenas 14 (10,85%) responderam que sim.



**Gráfico 22 – Percentagem de grávidas que realizam actividades ligadas ao solo (jardinagem, agricultura, etc.)**

Quando analisámos o gráfico 23, verificámos que, apenas 8 (8,5%) grávidas seronegativas para *T. gondii* e 6 (22,2%) seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, praticavam actividades ligadas ao solo. Na análise estatística não foram encontradas diferenças significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e prática de actividades ligadas ao solo ( $p=0,050$ , teste  $\chi^2$ ). Apesar de não se observar uma relação estatística entre estas duas variáveis, observámos que existe uma maior prevalência no número de grávidas seropositivas para os anticorpos anti-*T. gondii* que realizam actividades ligadas ao solo em relação às grávidas seronegativas.



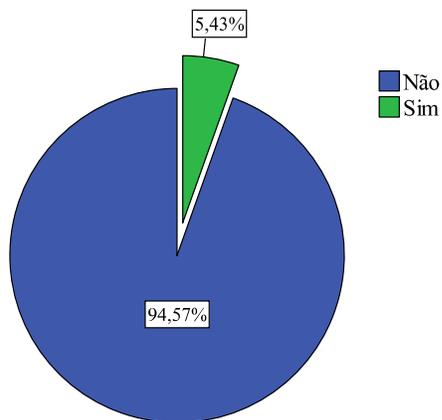
**Gráfico 23 – Diagnóstico da toxoplasmose versus Prática de actividades ligadas ao solo**

### **Alimentação**

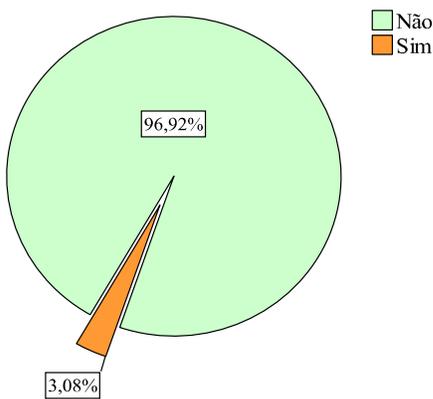
No questionário, foram colocadas várias questões sobre a alimentação, como possível fonte de transmissão de *T. gondii*.

Das 140 grávidas que responderam ao questionário, 129 (92,1%) responderam às questões “*consume produtos provenientes da caça*”; “*criação de animais para consumo próprio ou comercialização*” e 130 (92,9%) responderam à questão “*consome carne crua ou mal cozida*”.

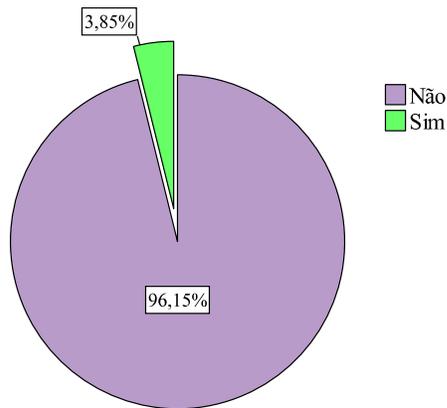
Através dos gráficos 24, 25 e 26 podemos verificar que aproximadamente 90% das grávidas não realizavam uma alimentação de risco para a transmissão da toxoplasmose. Designadamente, 122 (94,6%) grávidas não têm o hábito de consumir produtos provenientes da caça; 126 (96,9%) não consomem carne crua ou mal cozida e por fim 125 (96,2%) não têm criação de animais para consumo próprio ou comercialização.



**Gráfico 24 - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir produtos provenientes da caça**



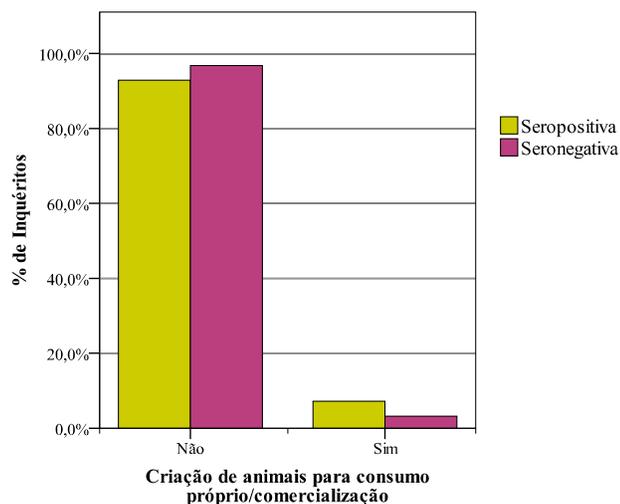
**Gráfico 25 - Percentagem de grávidas que consomem carne crua**



**Gráfico 26 - Percentagem de grávidas que têm criação de animais para consumo próprio ou comercialização**

### **Criação de animais para consumo próprio ou comercialização**

No gráfico 27 podemos constatar que das 94 grávidas seronegativas para *T. gondii*, apenas 3 (3,2%) possuíam animais para consumo próprio ou comercialização. No entanto, quando nos referimos às 28 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, apenas 2 (7,1%) referiram ter este costume. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e a criação de animais para consumo próprio ou comercialização ( $p=0,323$ ; teste Fisher).



**Gráfico 27 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Criação de animais para consumo próprio ou comercialização**

### **Consumo de carne proveniente da caça**

No quadro 6 observámos que das 27 grávidas com seropositividade para IgG/IgM, 5 (18,5%) consumiam carne proveniente da caça. Em relação às 94 grávidas seronegativas, 92 (97,9%) afirmaram não consumir carne proveniente da caça. Quando aplicámos a análise estatística, verificámos que há diferenças significativas entre estas variáveis. Assim observámos que a percentagem de grávidas que consumiam carne proveniente da caça e que apresentaram seropositividade para *T. gondii* (5 [18,5%]) é superior à percentagem de grávidas seronegativas que consumiam carne de caça (2 [2,1%]) ( $p=0,001$ ; teste  $\chi^2$ ).

### Quadro 6 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Consumo de carne proveniente da caça

\* Do total das 129 grávidas que responderam a esta questão, apenas obtivemos 121 soros para estudo; p=0,001 (teste  $\chi^2$ )

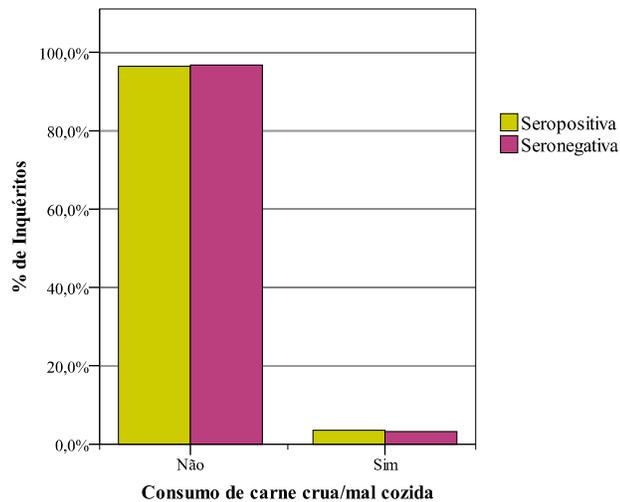
Diagnóstico	Consumo de carne proveniente da caça		
	Não	Sim	Total
	N (%)	N (%)	N (%)
Seropositiva	22 (81,5%)	5 (18,5%)	27 (100%)
Seronegativa	92 (97,9%)	2 (2,1%)	94 (100%)
Total	114 (94,2%)	7 (5,8%)	121 (100%) *

\* Do total das 129 grávidas que responderam a esta questão, apenas obtivemos 121 soros para estudo; p=0,001 (teste  $\chi^2$ )

### Consumo de carne crua ou mal cozida

Quanto a esta variável, das quatro grávidas que afirmaram consumir carne crua ou mal cozida, todas afirmaram consumir carne de gado mal cozida, mas com pouca frequência.

Em relação ao diagnóstico da toxoplasmose, verificámos que das 94 grávidas seronegativas para *T. gondii*, 91 (96,8%) afirmaram não consumir carne crua ou mal cozida. Quando observámos as 28 grávidas que apresentaram anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*, apenas 1 (3,6%) afirmou consumir carne este tipo de alimento (Gráfico 28). Não se verificou diferenças estatisticamente significativas entre as duas variáveis (p=1; teste de Fisher).

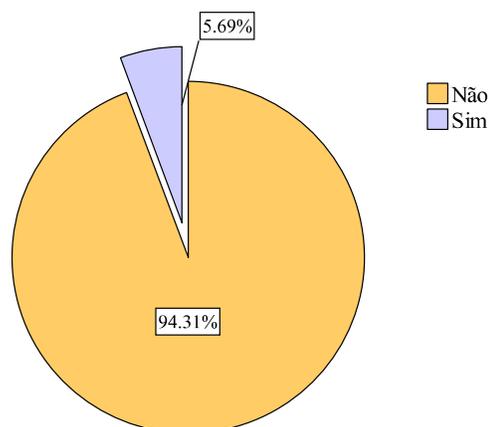


**Gráfico 28 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Consumo de carne crua ou mal cozida**

### **Consumo de leite ou laticínios não pasteurizados**

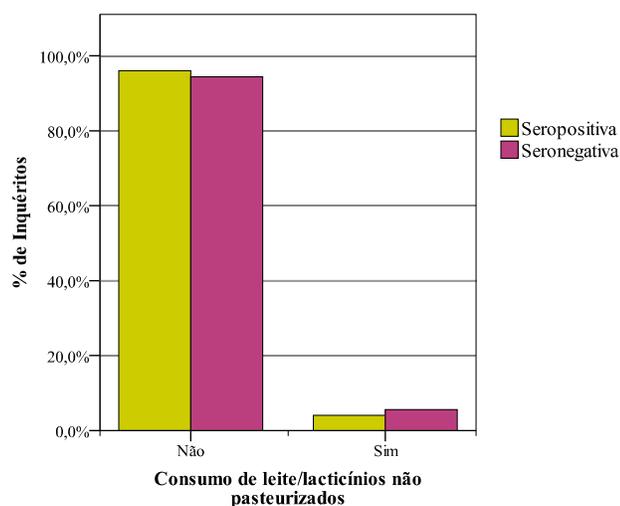
Das 140 grávidas que responderam ao questionário, 17 (12,14%) não responderam a este parâmetro.

No gráfico 29 verificámos que das 123 grávidas que responderam à questão “*consome leite ou laticínios não pasteurizados*”, apenas 7 (5,69%) afirmaram consumir este tipo de alimento.



**Gráfico 29 - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir leite ou laticínios não pasteurizados**

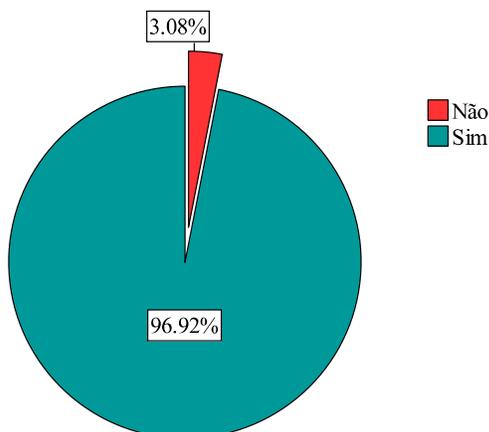
No gráfico 30 podemos observar que das 25 grávidas que apresentaram seropositividade para IgG/IgM anti-*T. gondii*, apenas 1 (4%) afirmou consumir leite ou laticínios não pasteurizados e das 90 grávidas seronegativas para *T. gondii*, 85 (94,4%) afirmaram não ter este tipo de consumo. Através da análise estatística, pode concluir-se que não houve diferenças significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e o consumo de leite ou laticínios não pasteurizados ( $p=1$ ; teste de Fisher).



**Gráfico 30 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Consumo de leite ou laticínios não pasteurizados**

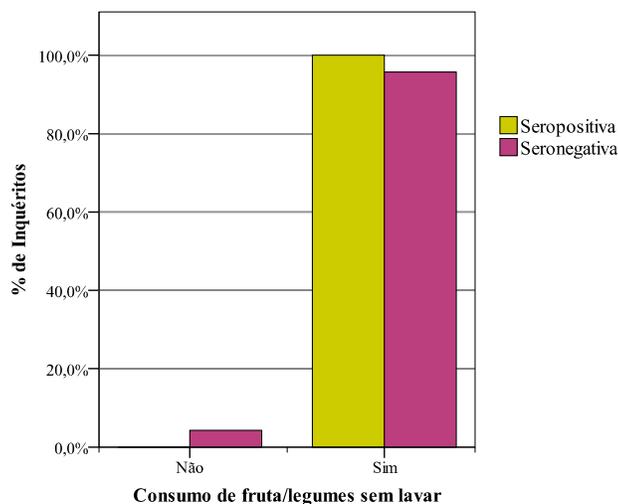
### **Higiene das frutas e/ou legumes antes de as consumir**

Quando as 140 grávidas foram questionadas sobre o consumo de frutas e/ou legumes sem serem lavados, só 130 responderam à questão. Destas 130 grávidas, apenas 4 (3,08%) disseram não realizar a higiene da fruta e/ou legumes antes de as consumir (Gráfico 31).



**Gráfico 31 - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir fruta e/ou legumes sem realizar a higiene**

Observando o gráfico 32 verificámos que todas (28) as grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* afirmaram realizar a higiene da fruta e/ou legumes antes de a consumir. Em relação às 94 grávidas seronegativas para *T. gondii* apenas 4 (4,3%) afirmaram não ter este hábito. Estatisticamente não se observaram diferenças significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e o hábito de consumir fruta e/ou legumes sem realizar a higiene ( $p=0,573$ ; teste de Fisher).

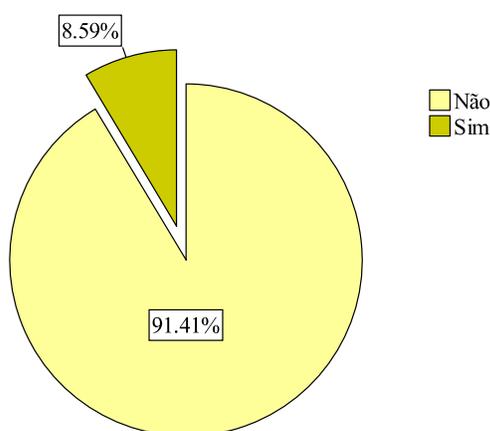


**Gráfico 32 – Diagnóstico da toxoplasmose versus Consumo de fruta e/ou legumes sem lavar**

### Consumo de ovo cru ou mal cozido

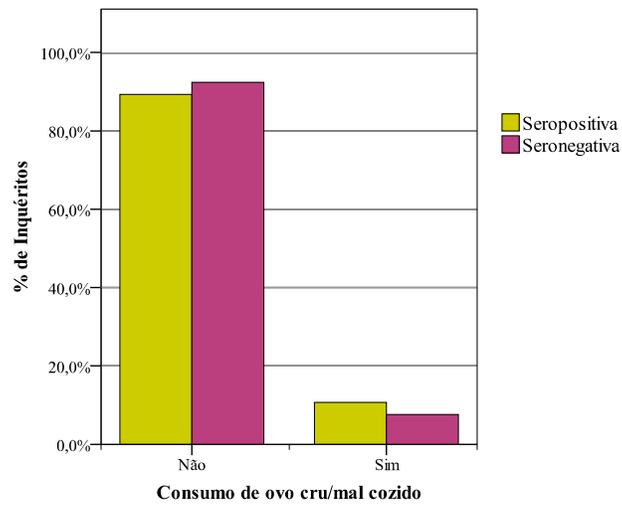
Quando as 140 grávidas foram questionadas sobre o consumo de ovo cru ou mal cozido durante a gestação, 128 (91,4%) responderam à questão.

No gráfico 33 verificámos que das 128 grávidas que responderam à questão, 117 (91,41%) responderam que não consumiam ovo cru ou mal cozido.



**Gráfico 33 - Percentagem de grávidas que têm o hábito de consumir ovo cru ou mal cozido**

No Gráfico 34 verificámos que das 92 grávidas seronegativas para *T. gondii*, 85 (92,4%) afirmaram não consumir ovos crus ou mal cozidos. Em relação às 28 grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T gondii*, apenas 3 (10,7%) afirmaram realizar uma alimentação de risco ao consumirem ovos crus ou mal cozidos. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o diagnóstico da toxoplasmose e o hábito de consumir ovo cru ou mal cozido ( $p=0,603$ ;  $\chi^2$ ).



**Gráfico 34 – Diagnóstico da toxoplasmose *versus* Consumo de ovo cru ou mal cozido**

## 4 – Discussão e Conclusões

Os hábitos de vida, bem como o conhecimento dos factores de risco que favorecem a transmissão de *T. gondii* são importantes para o planeamento e implementação de programas educativos com a finalidade de reduzir a incidência da toxoplasmose durante a gravidez.

A incidência e a prevalência da toxoplasmose variam muito de um país para outro, inclusivamente dentro do próprio país. Sabe-se que existem vários factores que podem interferir, como a idade, o clima de cada região, os hábitos alimentares e higiénicos e outros costumes que possam proporcionar um maior contacto com *T. gondii*. Contudo, é importante determinar a prevalência da toxoplasmose em grávidas, por serem um grupo de risco, para a implementação de medidas profilácticas nas seronegativas, o diagnóstico precoce da infecção aguda e a administração de terapêutica adequada, com a finalidade de reduzir os danos fetais em grávidas com seroconversão. É imprescindível que cada país, ou cada região, tenha a sua própria informação epidemiológica, para que possam ser tomadas as medidas correctas com o objectivo de prevenir a toxoplasmose (37).

Entre as 155 grávidas cujas amostras serológicas foram estudadas, 121 (78,06%) encontravam-se susceptíveis para a toxoplasmose e com risco de adquirirem a doença durante a gravidez, enquanto 17 (10,97%) eram seropositivas para o anticorpo IgG anti-*T. gondii*, possuindo imunidade contra a toxoplasmose e 17 (10,97%) eram seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*. Neste último caso, realizou-se o teste da avidéz dos anticorpos IgG anti-*T. gondii* que nos vai permitir diferenciar as fases da infecção da toxoplasmose em fase recente (baixa avidéz) da fase antiga (alta avidéz). Assim, todos os soros que foram submetidos a esta técnica, apresentaram IgGs de alta avidéz, (avidéz>40%), ou seja, estas grávidas eram portadoras de uma infecção antiga.

Os resultados, do presente estudo, evidenciaram que a prevalência dos anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* é de 21,94%. No nosso país não dispomos de estudos recentes e suficientemente amplos que nos permitam conhecer a situação actual da infecção por *T. gondii* em grávidas. Porém, Francisco Antunes, em 1984, realizou um estudo que abrangeu 686 grávidas da região de Lisboa, no qual foi observado uma prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* de 64,3% (17). Em 2003, Maria Helena Ângelo, realizou um estudo, em Portugal, na população em geral, onde verificou que a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* era de 35% no sul e de 70% no Norte (104). Em relação a outros países, a seropositividade para *T. gondii* encontrada no nosso estudo foi semelhante à observada entre as grávidas de Espanha (28,6% em Barcelona), Noruega (10,9%, em Oslo), Suécia (14% em Estocolmo e 26% em Skane), Turquia (30,1% em Aydin) e Grécia (29,4% em Heraklion). Entretanto, foi inferior à seroprevalência observada em países como o Brasil (54,8% em Pelotas e 74,7% em Recife), França (43,8%), República Democrática de São Tomé e Príncipe (75,2% na Ilha de São Tomé) e Irão (44,8% na Ilam Province) (37; 61; 105- 112).

No presente estudo verificámos uma diminuição da prevalência serológica de *T. gondii* nas grávidas, da região de Lisboa, nas últimas décadas (1984 [64,3%] e actualmente, 2011 [21,94%]) (17; 104).

A infecção por *T. gondii* é adquirida pela ingestão de uma das formas vivas deste protozoário que pode contaminar a carne, solo, vegetais, leite ou água. Muitos estudos têm procurado identificar os vários factores de risco ligados à infecção por *T. gondii* nas grávidas baseando-se nos hábitos, comportamentos e procedimentos que proporcionam essa transmissão. Os factores de risco pesquisados, no presente estudo, foram a idade, a idade gestacional, o número de partos, o conhecimento da toxoplasmose, o saneamento básico, a presença de gatos no domicílio, o contacto com gatos de familiares/amigos, a presença de roedores nas imediações da residência, a existência de uma horta na residência, a prática de actividades ligadas ao solo (jardinagem agricultura, etc.), o consumo de carne proveniente da caça (pássaros, coelhos, javalis etc.), o consumo de carne crua ou mal cozida, a criação

de animais para consumo próprio ou comercialização, o consumo de leite ou laticínios não pasteurizados, a higiene das frutas e/ou verduras antes de as consumir e o consumo de ovo cru ou mal cozido.

No presente estudo, não observámos associações estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ) entre a seropositividade das grávidas e alguns factores de risco para a transmissão de *T. gondii*, tais como: idade, idade gestacional, saneamento básico, presença de gatos no domicílio, presença de roedores nas imediações da residência, existência de uma horta na residência, a prática de actividades ligadas ao solo (jardinagem agricultura, etc.), consumo de carne crua ou mal cozida, criação de animais para consumo próprio ou comercialização, consumo de leite ou laticínios não pasteurizados, higiene das frutas e/ou verduras antes de as consumir e o consumo de ovo cru ou mal cozido.

Apesar de, no presente estudo, a idade das grávidas não estar associada com a seropositividade para *T. gondii*, acredita-se que a idade da população e a prevalência de anticorpos específicos para *T. gondii* é directamente proporcional, ou seja, quanto mais alta é a faixa etária maior é a percentagem de indivíduos infectados. Isto pode ser explicado pelo maior tempo de exposição às fontes de infecção (37, 113). Existem trabalhos de outros autores que apresentam resultados semelhantes aos obtidos no presente estudo, como por exemplo, Fuente *et al.* (1997), na Argentina, também verificaram que não existe diferenças estatisticamente significativas entre as grávidas das diversas faixas etárias (58,8% de seropositividade em grávidas com menos 20 anos, 56,9% no grupo etário dos 20 aos 29 anos e 64,2% no grupo etário dos 30 aos 39 anos) (113). No entanto, no estudo realizado por Francisco Antunes, em Lisboa (1984), verificou-se que a prevalência de *T. gondii* aumentava nos grupos etários mais altos (56,1% nas grávidas com idade inferior a 20 anos, 62% no grupo etário [20-24], 64,8% no grupo etário [25-29], 69,8% no grupo etário [30-34] e 70,3% nas grávidas com mais de 35 anos) (17). Noutro estudo efectuado em São Tomé e Príncipe, Hung *et al.* (2007), também encontraram diferenças estatisticamente significativas entre a seroprevalência de *T. gondii* e a faixa etária das grávidas (70,4% no grupo etário [15-25], 78,1% no grupo etário [25-35] e 84,7% no grupo com mais de 35

anos) **(111)**. No presente estudo verificámos que a maior percentagem (46,7%) de grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* encontrava-se no grupo etário [20-29], seguido do grupo etário [30-39] com 43,3%. As percentagens obtidas nestes dois grupos etários são muito semelhantes. Assim, para podermos chegar a uma conclusão deveríamos aprofundar mais variáveis, como por exemplo, o seguimento médico e a quantidade de análises que as grávidas dos dois grupos realizaram.

A transmissão materno-fetal e a gravidade da infecção causada por *T. gondii* pode variar com a idade gestacional (o risco de transmissão é de cerca de 15% no primeiro trimestre, 25% no segundo trimestre e 60% no terceiro trimestre), enquanto que a gravidade da doença para o feto diminui **(114)**. No presente estudo, apesar de não haver associação significativa, verificou-se um aumento no número de grávidas seropositivas ao longo da gestação (3,6% no primeiro trimestre, 35,7% no segundo trimestre e 60,7% no terceiro trimestre). Assim, podemos concluir, que existe um maior número de grávidas expostas à transmissão de *T. gondii* para o feto à medida que a idade gestacional aumenta. Este resultado pode ser comparado ao obtido por Al-Harhi *et al.* (2006), num estudo realizado a 197 grávidas de Makkah, Arábia, em que não verificaram diferenças significativas mas observaram um crescimento da seropositividade ao longo da gravidez **(40)**.

O presente trabalho, como já foi referido, foi realizado na região de Lisboa. Esta região é uma zona urbana onde o saneamento básico abrange a maioria da população. O saneamento básico inclui: o abastecimento de água potável, a recolha e tratamento de lixo a limpeza urbana e o controlo de pragas, visando a saúde da população.

Através dos resultados, do presente estudo, verificou-se que apenas 5,1% das grávidas não possuem saneamento básico, os números roedores nas imediações da habitação é baixo (14,29%), situação que normalmente acontece quando o saneamento básico é deficiente. Não obtivemos associações significativas entre a seropositividade para *T. gondii* e estes factores de risco. Os resultados do presente estudo são similares aos encontrados por Guzmán *et al.* (2009), na Bolívia. Estes autores analisaram a seroprevalência da toxoplasmose em grávidas com a presença de roedores nas imediações da habitação e verificaram que não existia associação entre elas ( $p=0,59$ ) **(115)**.

No presente estudo, verificámos que apenas 8,09% das grávidas possuíam uma horta na residência, 10,85% das grávidas praticavam actividades ligadas ao solo (jardinagem, agricultura, etc.) e 3,85% das grávidas criavam animais para consumo próprio ou comercialização. Não obtivemos associações significativas entre a seropositividade para *T. gondii* e estes factores de risco. Os resultados do presente estudo são similares aos encontrados por Ramsewak *et al.* (2008), em Trindade e Tobago, onde verificaram que 9,5% das grávidas praticavam jardinagem e 2,2% trabalhavam numa quinta mas não obtiveram uma associação estatisticamente significativa ( $p \geq 0,05$ ) com a toxoplasmose (116). Os nossos resultados podem ter sido influenciados pela proveniência das grávidas estudadas, pois a maioria residia numa zona urbana. Se este estudo abrangesse grávidas de zonas rurais estes resultados poderiam ser diferentes, uma vez que as condições sanitárias são mais precárias e o sustento das famílias baseia-se na agricultura e na criação de animais para consumo próprio ou comercialização. No entanto, Liu *et al.*, na China, verificou que a seroprevalência dos anticorpos anti-*T. gondii* nas grávidas, através de uma análise multivariada, varia com a localização (urbana = 93 [7,5%]; rural = 142 [12,7%]) ( $p=0,006$ ) (117).

Os estudos epidemiológicos não são constantes quanto à associação entre a infecção por *T. gondii* e o contacto com gatos, apesar de se saber que a presença de animais de estimação no domicílio é um factor muito importante para a transmissão de *T. gondii*. Muitos autores afirmam que a possibilidade de transmissão de *T. gondii* através do acto de tocar nos gatos é mínima ou quase inexistente. O risco de transmissão poderá existir somente quando ocorre o contacto directo com as fezes dos gatos que estejam a eliminar os oocistos (117; 118). No presente estudo, observámos que 42,9% das grávidas possuem gatos, no entanto não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas com a presença de anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*. A seroprevalência de anticorpos IgG/IgM em grávidas com gatos, obtida no presente estudo, é inferior à verificada por Alvarado *et al.* (2006), no México, que é de 83,4% (119). No entanto, Ertug *et al.* (2005), na Turquia, observaram uma seroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* menor que a observada no presente estudo (2,3%) (37). Relativamente à presença de gatos na habitação e à seroprevalência de *T. gondii* não foi observada associação significativa. Os resultados

obtidos, no presente estudo, coincidem com os resultados apresentados por Torres (2007), na Colômbia e Jones *et al.* (2001), nos EUA, nos quais essa associação também não foi estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ) (**118; 120**). No entanto, num estudo realizado no Brasil por Avelino *et al.* (2003), observaram que a presença de gatos na habitação aumenta o risco de seroconversão ( $p=0,02$ ) (**121**). Os resultados obtidos, no presente estudo, podem ser explicados pela alimentação dos gatos, através de rações (menor ingestão de toxoplasmas), o acesso ao exterior dos gatos, que vivem em apartamentos, pode ser restringido (menos caça) e o ambiente pode estar menos contaminado com o parasita. No entanto, também podemos concluir que a maioria das grávidas, com animais de estimação, cumpre as medidas de prevenção necessárias para evitar a transmissão de *T. gondii*.

Outro factor de risco, o mais citado na literatura e muito importante na infecção da toxoplasmose, é o consumo de carne crua ou mal cozida. Neste estudo verificámos que 3,08% das grávidas consumiam carne crua ou mal cozida. De acordo com Jumaian (2005), na Jordânia, 22,86% das grávidas estudadas afirmaram consumir carne crua ou mal cozida, enquanto Al-Harhi *et al.* (2006), na Arábia, verificaram que a percentagem de grávidas que têm este hábito é de 15,74% (**40; 122**). No presente estudo não foi encontrada associação significativa entre este factor de risco e a seropositividade para *T. gondii*. Podemos apontar que um dos motivos para que esta associação não aconteça é a frequente ingestão, nesta população, de carne congelada ou, simplesmente, bem cozida. O congelamento a temperaturas de  $-20^{\circ}\text{C}$  e a cozedura dos alimentos a mais de  $63^{\circ}\text{C}$  pode destruir os quistos presentes na carne infectada para consumo. De acordo com o estudo realizado em Natal (Brasil), por Barbosa *et al.* (2009), verificou-se que não houve associação significativa entre a seroprevalência para *T. gondii* e o consumo de carne crua ou mal cozida ( $p=0,07$ ) (**123**). No entanto, existem estudos que contrapõem os dados obtidos, no presente trabalho, como por exemplo, em 2005, na Jordânia, Jumaian verificou que a prevalência da infecção por *T. gondii* foi significativamente mais alta entre as grávidas que comiam carne mal cozida ( $p< 0,001$ ) (**122**).

Também, o consumo de leite ou lacticínios não pasteurizado pode representar um risco de infecção por *T. gondii*. No presente estudo, verificou-se uma baixa percentagem

(5,69%) das grávidas afirmaram ter o hábito de consumir leite ou laticínios não pasteurizado. A ausência de associação entre a seropositividade para *T. gondii* e o consumo de leite ou laticínios não pasteurizado verificada neste estudo é similar ao estudo realizado por Ertug *et al.* (2005), em 423 grávidas da Turquia ( $p=0,958$ ) (37). No entanto, Cook *et al.* (2000), verificaram que 14,29% das grávidas de Lausanne têm este hábito, enquanto que em outros países da Europa a percentagem é  $<5\%$  e constataram que o consumo de leite não pasteurizado está associado à infecção por *T. gondii* ( $p<0,001$ ) em alguns países da Europa (124). A baixa prevalência observada, no presente estudo, pode estar relacionado com o local de residência, uma vez que a maioria das grávidas reside numa zona urbana onde têm acesso a leite pasteurizado e onde há um controlo em relação a este tipo de alimento.

O consumo de fruta e/ou legumes sem serem lavados, antes de serem ingeridos, é outro meio de transmissão de *T. gondii*, uma vez que, as frutas e/ou legumes podem estar em contacto com o solo ou com água contaminados com oocistos de *T. gondii*. O solo pode representar uma importante fonte de contaminação por *T. gondii*, uma vez que os oocistos deste protozoário podem sobreviver, nas condições adequadas, até 24 meses no ambiente (83). A água, também é considerada um veículo para a divulgação de toxoplasmose humana e veterinária, devido à contaminação de oocistos. Vários surtos de toxoplasmose em todo o mundo têm sido relacionados com a água potável contaminada (125). No presente estudo, apenas 3,08% das grávidas afirmaram ingerir fruta e/ou legumes sem serem lavados, antes de serem ingeridos. Também, neste estudo, a seroprevalência de *T. gondii* não varia significativamente com este factor. No entanto, os resultados obtidos noutros estudos, são diferentes. Assim, verificámos que Kapperud *et al.* (1996), na Noruega, realizaram um estudo em grávidas onde observaram uma associação significativa entre o consumo de fruta e/ou legumes sem serem lavados, antes de serem ingeridos, com a seroprevalência por *T. gondii* ( $p=0,02$ ) (126). Os resultados obtidos, no presente estudo, podem-nos indicar que as grávidas realizam as precauções recomendadas na preparação dos alimentos.

Em relação ao “*consumo de ovo cru ou mal cozido*”, ainda existe controvérsia sobre este factor de risco na transmissão de *T. gondii*, uma vez que há autores que afirmam haver transmissão e outros autores que contradizem esta teoria. No presente estudo verificou-se que 8,59% das grávidas afirmaram consumir ovo cru ou mal cozido. No entanto, não se observou associação significativa com a seroprevalência para *T. gondii*. Na literatura, este factor é pouco referenciado, por exemplo, Pinto (1998), em São Paulo, verificou que 27,4% das grávidas, que estudou, afirmaram consumir ovo cru ou mal cozido, no entanto não foi observada uma associação significativa entre o consumo ovo cru ou mal cozido com a seroprevalência por *T. gondii* (61). Num estudo realizado em Goiânia, por Avelino *et al.* (2003), os autores verificaram que existia uma associação significativa entre o consumo de ovo cru ou mal cozido e a seroprevalência de *T. gondii* (121). Sugerimos que mais estudos sobre este possível factor de risco sejam efectuados para que possamos ter uma melhor noção da sua importância na transmissão de *T. gondii* às grávidas.

Os outros factores de risco, número de partos, conhecimento da toxoplasmose, contacto com gatos de familiares/amigos e consumo de carne proveniente da caça (pássaros, coelhos, javalis etc.) que foram analisados, no presente estudo, apresentaram associações significativas ( $p < 0,05$ ) com a seroprevalência de anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* nas grávidas.

Assim, encontramos uma associação estatisticamente significativa entre o número de partos e as grávidas seropositivas para os anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*. Também observámos que o número de grávidas múltiplas que apresentavam seropositividade para *T. gondii* é superior ao das grávidas múltiplas com seronegatividade para *T. gondii* ( $p = 0,003$ ). Era de esperar que as grávidas múltiplas já tivessem um maior conhecimento das medidas de prevenção da toxoplasmose. Num estudo realizado por Ramsewak *et al.* (2008), na região de Trindade e Tobago, verificou-se que existia um aumento da prevalência dos anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* nas grávidas que possuíam mais de três filhos do que nas outras ( $p = 0,021$ ) (116). Por outro lado, Porto *et al.* (2008), realizaram um estudo, que incluiu 503 grávidas do Recife, Brasil, onde verificaram que o número de

partos não influenciou estatisticamente os seus resultados ( $p=0,49$ ) (109). Os resultados, do presente estudo, podem ser justificados pelo nível socioeconómico, baixa escolaridade ou até crenças religiosas. Assim, para aprofundarmos a nossa pesquisa sobre este factor de risco (número de partos) deveríamos acrescentar ao questionário o nível socioeconómico, a escolaridade e a profissão das grávidas.

O conhecimento da toxoplasmose por parte das grávidas é um factor importante, mas pouco citado na literatura. No presente estudo, constatou-se que 17,42% das grávidas referem desconhecer a toxoplasmose. Este valor não é comparável aos resultados obtidos noutros estudos. Numa pesquisa realizada no Brasil, Barbosa *et al.* (2009), realizaram um estudo que incluiu 190 grávidas da região de Natal onde evidenciaram que 74,8% desconheciam a toxoplasmose (123). Também, nos E.U.A, Jones *et al.*, (2003), verificaram que 52% das grávidas estudadas não possuíam nenhum conhecimento em relação à doença (120). Os resultados observados, no presente estudo, mostrou que o conhecimento da toxoplasmose é muito importante na seroprevalência de *T. gondii* nas grávidas, uma vez que se observou uma relação estatisticamente significativa ( $p=0,013$ ) entre estas variáveis. Assim observámos que o número de grávidas que já ouviu falar da toxoplasmose e que apresentam seropositividade para *T. gondii* é superior ao número de grávidas seronegativas que afirmaram já ter ouvido falar da doença. No entanto quando observámos as respostas obtidas no questionário verificámos que a questão “*Conhece a toxoplasmose*” bem como as opções de resposta “*desconhece, já ouviu falar e conhece*” podem levar a uma má interpretação por parte das grávidas. Porém, observámos que a percentagem de grávidas seropositivas para *T. gondii* que afirmaram conhecer a doença é elevada (48%), isto é, as grávidas que conhecem a doença “deviam” ter uma menor prevalência de anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* em comparação com as que afirmaram desconhecer a toxoplasmose. Num estudo realizado na Jordânia, por Jumaian (2005) verificou-se que as grávidas que desconheciam o modo de transmissão de *T. gondii* tinham uma maior prevalência de anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii* do que as grávidas que conheciam a doença ( $p=0,012$ ) (122). Na Bélgica, Foulon *et al.* (1994) verificaram que a prevenção primária reduz a taxa de seroconversão durante a gravidez em 63% ( $p=0,013$ ) (127). No entanto, no Brasil, Barbosa *et al.*, em 2009, não obtiveram qualquer associação entre este

factor e a seroprevalência para *T. gondii* ( $p=0,05$ ) (**123**). Embora se verifique alguma discrepância entre os resultados obtidos nos diferentes estudos, pensamos que este factor “*Conhecimento da toxoplasmose*” é muito importante para a prevenção primária, evitando a transmissão desta doença às grávidas. Os resultados obtidos, no presente estudo, podemos indicar que a prevenção primária não está a ser bem explícita nem a ter o efeito desejado para prevenir a transmissão de *T. gondii*.

Como foi referido, anteriormente, o contacto com os gatos é um factor de risco contraditório na transmissão de *T. gondii* na população. Neste estudo pudemos observar que as grávidas que possuíam gatos, como animais de estimação, não tiveram maior seroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* do que as grávidas que não tinham gatos de estimação. Em relação ao factor de risco “*contacto com gatos de familiares/amigos*” observou-se uma relação estatisticamente significativa entre este factor e a prevalência de anticorpos IgG/IgM anti-*T. gondii*. Este resultado parece-nos controverso. Assim, para alcançar resultados mais concretos, em relação a este factor de risco, teríamos que elaborar mais questões “*Qual o tempo de contacto com os gatos; contacto directo/indirecto com as fezes dos gatos; permanência dos gatos em residências ou no exterior*” para nos ajudar a perceber qual o motivo desta associação.

No presente estudo, a prevalência de grávidas que consomem carne proveniente de caça não é muito elevada (5,43%). A carne de animais da caça ou selvagens, incluindo coelhos, javalis, veados ou aves, são algumas potenciais fontes de transmissão de *T. gondii* para os seres humanos, uma vez que a sua alimentação baseia-se em arbustos/animais/insectos da natureza, potencialmente contaminados, e possuem um maior contacto com o solo contaminado. Outro motivo pode ser devido ao consumo deste tipo de animais crus ou mal cozidos. Em França, Baril *et al.* (1999), observaram que apenas 8,8% das grávidas afirmaram consumir carne proveniente da caça e Cook *et al.* (2000), evidenciaram que 16% e 13%, das grávidas de Oslo e Lausanne, respectivamente, tiveram este tipo de alimentação (**124; 128**). Este foi o último factor de risco onde foi observado uma associação estatisticamente significativa com a seroprevalência de *T. gondii*. Noutros estudos os resultados são díspares. Assim, na Turquia, Ertg *et al.* (2005), não verificaram

relação entre este tipo consumo com a seropositividade para *T. gondii* ( $p=0,08$ ) (37). Pelo contrário, Cook *et al.* (2000) obtiveram uma relação estatisticamente significativa, entre o consumo de carne de caça e a seropositividade para *T. gondii* quando estudaram 252 grávidas de 6 países europeus ( $p=0,003$ ) (124).

Em conclusão, observámos que, das 155 grávidas estudadas apenas 21,94% foram expostas a *T. gondii* (seropositivas) conferindo-lhes imunidade e que 78,6% estavam susceptíveis (seronegativas) de ocorrer uma seroconversão, logo com um maior risco de ocorrência de toxoplasmose congénita. Quando comparámos os resultados obtidos, no presente estudo, com estudos realizados anteriormente, em Portugal, na região de Lisboa, observamos que a seroprevalência por *T. gondii* tem vindo a diminuir.

A maior prevalência de anticorpos anti-*T. gondii*, no presente estudo, centrou-se nos grupos etários [20-29] e [30-39], 46% e 43,3%, respectivamente e nas grávidas múltiplas (68%), tendo-se observado, também, um aumento da seroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* ao longo das 40 semanas de gestação.

De todos os factores de risco estudados neste trabalho, o número de filhos, o conhecimento da toxoplasmose, o contacto de gatos de familiares/amigos e o consumo de carne proveniente da caça, foram os que se associaram significativamente à prevalência de *T. gondii* nas grávidas.

No entanto, temos que ter em atenção as tendências culturais e religiosas da população estudada, uma vez que estes factores podem levar ao aumento ou diminuição da prevalência de *T. gondii* devidos aos seus hábitos de alimentação e costumes. Como tal, estes resultados não podem ser extrapolados ao resto da população portuguesa.

Após o término deste estudo, torna-se evidente a necessidade de insistir na prevenção primária para a infecção por *T. gondii*, através da orientação verbal ou por escrito às grávidas durante o período pré-natal, quanto às medidas preventivas sobre as reais fontes de infecção, com conseqüente redução dos riscos de transmissão congênita.

## 5 – Bibliografia

1. MORRISSETTEA, N. S.; AJIOKA, J. W. - The early years of *Toxoplasma* research: What's past is prologue. **International Journal for Parasitology**. Australia. 39:8 (2009) 865-869.
2. AJIOKA, J. W.; SOLDATI, D. - **Toxoplasma: Molecular and Cellular Biolog** [Em linha]. Norfolk: Horizon bioscience, 2007. [Consult. 15 Fevereiro 2010] Disponível em:<URL:http://books.google.pt/books?id=7hCG9G6LXwUC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>.
3. JOYNSON, D. H.; WREGHITT, T. G. - **Toxoplasmosis, A comprehensive clinical guid** [Em linha]. Inglaterra: Cambridge University Press, 2001. [Consult. 15 Fevereiro 2010]. Disponível em WWW:<URL:http://books.google.pt/books?id=1OnA\_syYnTkC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false >.ISBN: 0521443288.
4. DUBEY, J. P. - The History of *Toxoplasma gondii* - The First 100 Years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**. 55:6 (2008) 467-475.
5. COZON, G. J. [et al.] - Flow cytometric application of the Sabin and Feldman dye test in the diagnosis of toxoplasmosis. **Journal of Microbiological Methods**. 38:1-2 (1999) 131-136.
6. REITER-OWONA, I. [et al.]. - The past and present role of the Sabin-Feldman dye test in the serodiagnosis of toxoplasmosis. **Bulletin of the World Health Organization**. 77:11 (1999) 929-35.
7. NISSAPATORN, V. [et al.] - Toxoplasmosis in HIV/AIDS Patients: A Current Situation. **Japanese Journal of Infectious Diseases**. Alemanha. 57 (2004) 160-165.
8. WEISSA, L. M.; DUBEY, J. P. - Toxoplasmosis: a history of clinical observations. **International Journal for Parasitology**. U.S.A. 39:8 (2009) 895-901.

9. GARCIA, J. L. [et al.] - Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da Toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapitã (Paraná), Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**. Brasil. 6:3 (1999) 157-163.
10. ELMORE, S. A. [et al.] - *Toxoplasma gondii*: epidemiology, feline clinical aspects, and prevention. **Trends in Parasitology**. 26:4 (2010) 190.
11. DUBEY, J. P. - Comparative infectivity of oocysts and bradyzoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. **Veterinary Parasitology**. 140:1-2 (2006) 69-75.
12. FERREIRA, W. F.; SOUSA, J. C. - **Microbiologia**. Porto: Lidel - Edições Técnicas, Lda., 2002. 3 vol.
13. SOUZA, W. [et al.] - Organização estrutural do taquizoítio de *Toxoplasma gondii*. **Scientia Medica**. Porto Alegre. 20:1 (2010) 131-143.
14. CRAWFORD, J. [et al.] - Structural Characterization of the Bradyzoite Surface Antigen (BSR4) from *Toxoplasma gondii*, a Unique Addition to the Surface Antigen Glycoprotein 1-related Superfamily. **The Journal of Biological Chemistry**. 284:14 (2009) 9192-9198.
15. WEISS, L. M.; Kim, K. - *Toxoplasma gondii*. **The Model apicomplexan: perspectives and methods**. [Em linha]. 1<sup>st</sup> Ed. Great Britain: Elsevier Ltd., 2007. [Consult. 23 Março 2010]. Disponível em WWW:<URL: [http://books.google.pt/books?id=yTUkJEphM\\_IC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false](http://books.google.pt/books?id=yTUkJEphM_IC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false)>.
16. DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. - Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cysts. **Clinical Microbiology Reviews**. U.S.A. 11:2 (1998) 267-299.
17. ANTUNES, F. - Toxoplasmose: Estudo da epidemiologia e da infecção congénita na região de Lisboa. Lisboa: Faculdade de Medicina de Lisboa. 1985. Dissertação de Doutoramento.

18. BLACK, M. W.; BOOTHROYD, J. C. - Lytic Cycle of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology and Molecular Biology reviews**. U.S.A. 64:3 (2000) 607-623.
19. JOINER, A. K.; DUBREMETZ, J. F. - *Toxoplasma gondii*: a Protozoan for the Nineties. **Infection and Immunity**. 61:4 (1993) 1169-1172.
20. DUBEY, J. P. - Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**. 28:7 (1998) 1019-1024.
21. BOGITSH, B. J.; CARTER, C. E.; OELTMANN, T. N. - **Human Parasitology**. [Em linha]. 3<sup>rd</sup> ed. Inglaterra: Academic Press, 2005. [Consult. 27 Março 2010]. Disponível em WWW:<URL:<http://books.google.pt/books?id=gOTjnL7tWxsC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>>.
22. FERGUSON, D. J. - *Toxoplasma gondii*: 1908-2008, homage to Nicolle, Manceaux and Splendore. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro. 104:2 (2009) 133-148.
23. CARRUTHERS, B. V. - Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. **Acta Tropica**. 81:2 (2002) 111-122.
24. TENTER, A. M.; HECKEROTH, A. R.; WEISS, L. M. - *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**. 30:12-13 (2000) 1217-1258.
25. FRATAMICO, P. M.; SMITH, J. L.; BROGDEN, K. A. - Sequelae and Long-Term Consequences of Infectious Diseases.[Em linha]. Washington: ASM Press, 2009. [Consult. 1 Abril 2010]. Disponível em WWW:<URL:<http://books.google.pt/books?id=BQC5ITuWf8C&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>>.
26. DUBEY, J. P. - History of the discovery of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**. 39 (2009) 877-882.

27. FILISETTI, D.; CANDOLFI, E. - Immune response to *Toxoplasma gondii*. **Ann Ist Super Sanità**. 40:1 (2004) 71-80.
28. MAUBON, D. [et al.] - What are the respective host and parasite contributions to toxoplasmosis? **Trends in Parasitology**. 24:7 (2008) 299-303.
29. MILLER C. M. D. [et al.] - Immunological Interactions between 2 Common Pathogens, Th1-Inducing Protozoan *Toxoplasma gondii* and the Th2-Inducing Helminth *Fasciola hepatica*. **PLoS ONE**. [Em linha]. 4:5 (2009) e5692, [Consult. 12 de Março de 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0005692>>.
30. KÖRNER, K. [et al.] - The role of TNF in parasitic diseases: Still more questions than answers. **International Journal for Parasitology**. Australia. 40:8 (2010) 879-888.
31. POLLARD, A. M.; KNOLL, L. J.; MORDUE, D. G. - The role of specific *Toxoplasma gondii* molecules in manipulation of innate immunity. **Trends in Parasitology**. 25:11 (2009) 491 - 494.
32. COMBE, C. L. [et al.] - NK Cells Help To Induce CD8-T-Cell Immunity against *Toxoplasma gondii* in the Absence of CD4-T-Cells. **Infection and Immunity**. U.S.A. 73:8 (2005) 4913–4921.
33. SACKS, D.; SHER, A. - Evasion of innate immunity by parasitic protozoa. **Nature Immunology**. 3 (2002) 1041-1047.
34. MUN, H. S. [et al.] - TLR2 as an essential molecule for protective immunity against *Toxoplasma gondii* infection. **International Immunology**. 15:9 (2003) 1081-1087.
35. WALLACE, G. R.; STANFORD, M. R. - Immunity and *Toxoplasma* retinochoroiditis. **Clinical and Experimental Immunology**. Inglaterra. 153:3 (2008) 309–315.
36. Centers for Disease Control and Prevention. [Em linha]. [Consult. 12 Dezembro 2010]. Disponível em WWW:<URL:<http://www.cdc.gov/parasites/toxoplasmosis/epi.html>>.
37. ERTUG, S. [et al.] - Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey. **BMC Public Health** [Em linha]. 5:66

- (2005) 1-6. [Consult. 3 Maio 2010]. Disponível em WWW:<URL:<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2458-5-66.pdf>>.
38. HEUKELBACH, J. [et al.] - Waterborne Toxoplasmosis, Northeastern Brazil. **Emerging Infectious Diseases**. U.S.A 13:2 (2007) 287-289.
39. ISHAKU, B. S. [et al.] - Seroprevalence and Risk Factors for *Toxoplasma gondii* Infection among Antenatal Women in Zaria, Nigeria. **Journal of Medicine and Medical Sciences**. 4:2 (2009) 483-488.
40. AL-HARTHI, S. A.; JAMJOOM, M. B.; GHAZI, H. O. - Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* Among Pregnant Women in Makkah, Saudi Arabia. **Umm Al-Qura University Journal of Science Medicine Engineering**. 18:2 (2006) 217 -227.
41. MOZZATTO, L.; PROCIANOY, R. S. - Incidence of congenital toxoplasmosis in southern brazil: a prospective study. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. Brasil 45: (2003) 147-151.
42. KIM, K.; WEISSB, L. M. - Toxoplasma: the next 100 years. **Microbes and Infection**. 10:9 (2008) 978-984.
43. HILL, D.; DUBEY, J. P. - *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. **Clinical Microbiology and Infection**. 8:10 (2002) 634-640.
44. GALISTEU, K. J. [et al.] - Prevalência e fatores de risco associados à toxoplasmose em grávidas e suas crianças no Noroeste Paulista, Brasil. **Revista Panamericana de Infectología**. 9:4 (2007). 24-29.
45. MARTÍN-HERNÁNDEZ, I.; GARCÍA-IZQUIERDO, S. M. - Toxoplasmosis en el hombre. **Bioquímica**. Mexico. 28:3 (2003) 19-27.
46. BRAVO, T. C. - Toxoplasmosis: Parasitosis reemergente del nuevo milenio. **Revista Mexicana de Patología Clínica**. Mexico. 52:3 (2005) 151-162.
47. LINDSAY, D. S.; BLAGBURN, B. L.; DUBEY, J. P. - Survival of nonsporulated *Toxoplasma gondii* oocysts under refrigerator conditions. **Veterinary Parasitology**. 103 (2002) 309-313.

48. LINDSAY, D. S.; WEISS, L. M. - Opportunistic infections: Toxoplasma, Sarcocystis and Microsporidia. [Em linha]. Vol. 9. Boston: **Kluwer Academic Publishers**, 2004. [Consult. 28 Maio 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://books.google.pt/books?id=Oowc56HZifIC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>>.
49. MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. - Toxoplasmosis. **The Lancet**. 363 (2004) 1965–76.
50. BLADER, I. J.; SAEIJ, J. P. - Communication between *Toxoplasma gondii* and its host: impact on parasite growth, development, immune evasion, and virulence. **Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica**. 117:5-6 (2009) 458–476.
51. SILVA, L. A. [et al.] - Toxoplasmose do sistema nervoso central em paciente sem evidência de imunossupressão: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Brasil. 35:5 (2001) 487-490.
52. SANTOS, J. – Estudo da vigilância serológica da toxoplasmose nas utentes de Análises Clínicas Dra. Isabel Vicente (LIV). Porto: Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. 2009. Dissertação de Mestrado.
53. COSTA, T. L. [et al.] - Diagnóstico Clínico e Laboratorial da Toxoplasmose. **NewsLab**. 85 (2007) 88 - 104.
54. DEROUIN, F.; PELLOUX, H. - Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. **Clinical Microbiology and Infection**. 14:12 (2008) 1089–1101.
55. CONTINI, C. - Clinical and Diagnostic Management of Toxoplasmosis in the Immunocompromised Patient. **Parassitologia**. 50:1-2 (2008) 45-50.
56. SHIMELIS, T. [et al.] - Sero-prevalence of latent *Toxoplasma gondii* infection among HIV-infected and HIV-uninfected people in Addis Ababa, Ethiopia: A comparative cross-sectional study. **BioMed Central Research Notes** [Em linha]. 2 (2009) 1-5. [Consult.6 Julho 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1756-0500-2-213.pdf>>.

57. ELHENCE, P. [et al.] - Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in North Indian blood donors: Implications for transfusion transmissible toxoplasmosis. **Transfusion and Apheresis Science**. 43:1 (2010) 37–40.
58. AZEVEDO, K. M. [et al] - Congenital toxoplasmosis transmitted by human immunodeficiency-virus infected women. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**. Brasil. 14:2 (2010) 186-189.
59. HOLLAND, G. N. - LX Edward Jackson memorial lecture: Ocular toxoplasmosis: A global reassessment. Part I: Epidemiology and course of disease. **American journal of ophthalmology**. 136:6 (2003) 973-988.
60. NASSAJI, M.; DARAIE, G.; GHORBANI, R. - Clinical feature and treatment outcome of active ocular toxoplasmosis in immunocompetent patients. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 3:7 (2010) 571-573 .
61. CADEMARTORI, B. G.; FARIAS, N. A.; BROD, C. S. - Soroprevalência e fatores de risco à infecção por *Toxoplasma gondii* em gestantes de Pelotas, sul do Brasil. **Revista Panamericana de Infectología**. 10:4 (2008) 30 - 35.
62. LIU, Q. [et al.] - *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in China. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 103:2 (2009) 162-166.
63. JONES, J.; LOPEZ, A.; WILSON, M. - Congenital Toxoplasmosis. **American Family Physician**. 67:10 (2003) 2131-2138.
64. REMINGTON, J. S., THULLIEZ, P., MONTOYA, J. G. - Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis. **Journal of Clinical Microbiology**. U.S.A. 42:3 (2004) 941–945.
65. ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. – **Imunologia**. 5º Ed. Brasil: Manole LTDA., 1995.

66. CANTOS, G. A. [et al.] - Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. **Revista da Associação Médica Brasileira**. Brasil. 46:4 (2000) 335-341.
67. MARTINS, C. - Toxoplasmose na gravidez. **Revista Portuguesa de Clínica Geral**. Portugal. 18 (2002) 333-340.
68. KOMPALIC-CRISTO, A., BRITTO, C.; FERNANDES, O. - Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Brasil. 41:4 (2005) 229-235.
69. SAMUEL, W. M.; PYBUS, M. J.; KOCAN, A. A. - **Parasitic Diseases of Wild Mammals** [Em linha]. United States of America : Iowa State University Press, 2001. [Consult. 23 Julho 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://books.google.pt/books?id=mzOaXzmAytAC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>>.
70. COICO, R.; SUNSHINE, G. - **Immunology: A Short Course** [Em linha]. 6º Ed. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2009. [Consult. 2 Setembro 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://books.google.pt/books?id=LxcjPIALiIC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>>.
71. CANDOLFI, E. [et al.] - IgG avidity assay firms up the diagnosis of acute toxoplasmosis on the first serum sample in immunocompetent pregnant women. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**. 58:1 (2007) 83-88.
72. HORTA, A. [eta al.] - Protocolos de diagnóstico e Terapêutica em Infecçciologia Perinatal. **Secção de Neonatologia da Sociedade Portuguesa de Pediatria**. Porto: Angelini Farmacêutica, 2007. ISBN: 978-972-99417-1-9. p. 37-49.
73. LACHAUD, L. [et al.] - Value of 2 IgG avidity commercial tests used alone or in association to date toxoplasmosis contamination. **Microbiology and Infectious Disease**. 64:3 (2009) 267-274.

74. FIGUEIRÓ-FILHO, E. A. [et al.] - Toxoplasmose aguda: revisão de métodos diagnósticos baseada em evidências e proposta de protocolo de seguimento durante a gestação. **Femina**. 35:11 (2007) 723-729.
75. **Direcção-Geral da Saúde. Saúde reprodutiva: Doenças infecciosas e gravidez.** Lisboa [2000]. Portugal. – ISSN 0871-2786
76. MONTOYA, J. G. - Laboratory Diagnosis of *Toxoplasma gondii* Infection and toxoplasmosis. **The Journal of Infection Diseases**. 185: 1 (2002) 73-82.
77. BASTIEN, P. - Diagnosis Molecular diagnosis of toxoplasmosis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 96:1 (2002) 205-215.
78. EAPEN, M.; MATHEW, C. F.; ARAVINDAN, K. P. - Evidence based criteria for the histopathological diagnosis of toxoplasmic lymphadenopathy. **Journal of Clinical Pathology**. 58:11 (2005) 1143–1146.
79. KASPER, D. C. [et al.] - Quantitative real-time polymerase chain reaction for the accurate detection of *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid. **Diagnostic Microbiology & Infectious Disease**. 63:1 (2009) 10-15.
80. JONES, J. L.; DUBEY, J. P. - Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. **Experimental Parasitology**. 124 (2010) 10-25.
81. KAYE, A. - Toxoplasmosis: Diagnosis, Treatment, and Prevention in Congenitally Exposed Infants. **Journal of Pediatric Health Care** . [Em linha]. Junho (2010). [Consult. 9 Setembro 2010]. Disponível em WWW:<URL: [http://www.jpedhc.org/article/S0891-5245\(10\)00095-7/pdf](http://www.jpedhc.org/article/S0891-5245(10)00095-7/pdf)>.
82. MERONI, V.; GENCO, F. - Toxoplasmosis in pregnancy: evaluation of diagnostic methos. **Parassitologia**. 50:1-2 (2008) 51-55.
83. KRAVETZ, J. D., FEDERMAN, D. G. - Toxoplasmosis in pregnancy. **The American Journal of Medicine**. U.S.A. 118 (2005) 212-216.
84. BESSIÈRES, M. H. [et al.] - Neonatal screening for congenital toxoplasmosis in a cohort of 165 women infected during pregnancy and influence of in utero treatment on

- the results of a neonatal test. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. 94:1 (2001) 37-45.
85. PETERSEN, E. - Toxoplasmosis. **Seminars in Fetal e Neonatal Medicine**. 12:3 (2007) 214-223.
86. PINON, J. M. [et al.] - Strategy for Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis: Evaluation of Methods Comparing Mothers and Newborns and Standard Methods for Postnatal Detection of Immunoglobulin G, M, and A Antibodies. **Journal of Clinical Microbiology**. 39:6 (2001) 2267–2271
87. RORMANA, E. [et al.] - Congenital toxoplasmosis—prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. **Reproductive Toxicology**. 21:4 (2006) 458-472.
88. ELSHEIKHA, H. M. - Congenital toxoplasmosis: priorities for further health promotion action. **Public Health**. 122:4 (2008) 335-353.
89. BERRÉBI, A. [et al.] Long-term outcome of children with congenital toxoplasmosis. **American Journal of Obstetrics**. U.S.A. 203:6 (2010) 552-556.
90. BROW, E. D. [et al.] - A systematic review of neonatal toxoplasmosis exposure and sensorineural hearing loss. **International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology**. 73:5 (2009) 707-711 .
91. MCLEOD, R. [et al.] - Outcome of treatment for congenital toxoplasmosis, 1981-2004: the National Collaborative Chicago-Based, Congenital Toxoplasmosis Study. **Clinical Infectious Diseases**. 42:10 (2006) 1395-1397.
92. COSTA, I. N. [et al.] - Azithromycin Inhibits Vertical Transmission of *Toxoplasma gondii* in *Calomys callosus* (Rodentia: Cricetidae). **Placenta**. 30:10 (2009) 884-890.
93. BUFFOLANO, W. - Congenital Toxoplasmosis: The stat of the Art. **Parassitologia**. 50:1-2 (2008) 37-43.
94. THIÉBAUT, R. [et al.] - Biases in observational studies of the effect of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. 124:1 (2006) 3-9.

95. DIRECTIVA 2003/99/CE. “D.R. Jornal Oficial da União Europeia” (12.12.2003) L 325/31
96. LEROY, V. [et al.] - National public health policies and routines programs to prevent congenital Toxoplasmosis, Europe, 2005: Panel 3: prevention and screening issues. France: Bordeaux, 2005.19p.
97. VILLENNA I. [et al.] - Toxosurv network and National Reference Centre for Toxoplasmosis. Congenital toxoplasmosis in France in 2007: first results from a national surveillance system. **Eurosurveillance**. [Em linha]. 15:25 (2010) 1-6. [Consult. 5 Dezembro 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V15N25/art19600.pdf>>.
98. CORNU C. [et al] - Factors affecting the adherence to an antenatal screening programme: an experience with toxoplasmosis screening in France. **Eurosurveillance**. [Em linha]. 14:9 (2009) 1-5. [Consult. 5 Dezembro 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V14N09/art19137.pdf>>.
99. STAGNI, L. [et al.] - Prenatal screening for congenital toxoplasmosis in Campania: preliminary report on activities and results. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. 104:2 (2009) 374-377.
100. BÉNARD A. [et al.] - Survey of European programmes for the epidemiological surveillance of congenital toxoplasmosis. **Eurosurveillance**. [Em linha]. 13:15 (2008) 1-7. [Consult. 5 Dezembro 2010]. Disponível em WWW:<URL: <http://www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V13N15/art18834.pdf>>.
101. RÖSER, D. [et al.] - Congenital toxoplasmosis—a report on the Danish neonatal screening programme 1999–2007. **Journal of Inherited Metabolic Disease**. 33 (2010) 241–247.
102. DZIADEKA, B. [et al.] - Evaluation of three recombinant multi-antigenic vaccines composed of surface and secretory antigens of *Toxoplasma gondii* in murine models of experimental toxoplasmosis. **Vaccine**. 29 (2011) 821–830.

103. **Instituto Nacional de Estatística** – [Consult. 4 Abril 2011]. Disponível em WWW:<URL:http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\_unid\_territorial &menuBOUI=13707095&contexto=ut&selTab=tab3>.
104. BATET, C. M. [et al.] - Toxoplasmosis y embarazo. Estudio multicéntrico realizado en 16.362 gestantes de Barcelona. **Med Clin (Barc)**. 123:1 (2004)12-16
105. JENUM, P. A. [et al.] - Incidence of *Toxoplasma gondii* Infection in 35,940 Pregnant Women in Norway and Pregnancy Outcome for Infected Women. **Journal of Clinical Microbiology**. 36:10 (1998) 2900–2906
106. PETERSSON, K [eta al.] - Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* among pregnant women in Sweden. **Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica**. 79 (2000) 824-829.
107. ANTONIOU, M. [et al.] - Incidence of toxoplasmosis in 5532 pregnant women in Crete, Greece: management of 185 cases at risk. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. 117 (2004) 138–143
108. PORTO, A.M.F. [et al.] - Perfil Sorológico para Toxoplasmose em Gestantes. **Rev Assoc Med Bras**. 54:3 (2008) 242-248
109. **La toxoplasmose en France chez la femme enceinte en 2003: Séroprévalence et facteurs associés**. Institut de veille sanitaire, [2007] - .ISSN: 1956-6956
110. HUNG, C. [et al.] - Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in the Democratic Republic of Sao Tome and Principe. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 101 (2007) 134-139
111. ABDI, J. [et al.] - Seroprevalence of Toxoplasmosis in Pregnant Women in Ilam Province, Iran. **Iranian J Parasitol**. 3:2 (2008) 34-37
112. LEÃO, P. R. D., FILHO, J. M., MEDEIROS, S. F. - Toxoplasmose: Soroprevalência em Puérperas Atendidas pelo Sistema Único de Saúde. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**. 26:8 (2004) 627-632

113. SZÉNÁSI, Z. [et al.] - Prevention of Congenital Toxoplasmosis in Szeged, Hungary. **International Journal of Epidemiology**. 26:2 (1997) 428-435
114. GUZMÁN, A. - [et al.] - Seroprevalencia de Toxoplasmosis y factores asociados a su transmisión en gestantes. Centro de investigación educación y servicios de salud, Santa Cruz de la Sierra. **Rev. de Enfermedades Infecciosas y Tropicales**. 1:1 (2009) 44-48
115. RAMSEWAK, S. [et al.] - Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* infection among pregnant women in Trinidad and Tobago. **Rev. Panam. Salud. Publica**. 23:3 (2008) 164-170
116. LIU, Q. [et al.] - *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in China. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 103 (2009) 162-166
117. TORRES, J. J. - Prevalencia de Infeccion por *Toxoplasma gondii* en mujeres embarazadas, en Valledupar, Cesar año 2007. Santamarta: Universidad del Magdalena en convenio con la Universidad Nacional de Colombia. 2007. Dissertação de mestrado
118. ALVARADO-ESQUIVEL, C. [et al.] - Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in a public hospital in northern Mexico. **BMC Infectious Diseases**. 6:113 (2006) 1-7
119. JONES, J. L. [et al.] - Toxoplasmosis-related knowledge and practices among pregnant women in the United States. **Infect Dis Obstet Gynecol**. 11 (2003)139-145
120. JUMAIAN, N. F. - Seroprevalence and risk factors for Toxoplasma infection in pregnant women in Jordan. **Eastern Mediterranean Health Journal**. 11:2 (2005) 45-51
121. BARBOSA, I. R., HOLANDA, C.M.C.X., ANDRADE-NETO, V. F. - Toxoplasmosis screening and risk factors amongst pregnant females in Natal, northeastern Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. 103 (2009) 377-382

122. COOK, A. J. C. [et al.] - Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. **British Medical Journal**. 321(2000) 142-7
123. AVELINO, M. M. [et al.] – Pregnancy as a risk factor for acute toxoplasmosis seroconversion. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**. 108 (2003) 19-24
124. FOULON, W., NAESSENS, A., DERDE, M. P. - Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. **Am. J. Perinatol.** Resumo de NCBI. 11:1 (1994) 57-62.
125. BARIL, B. [et al.] - Risk Factors for Toxoplasma Infection in Pregnancy: A Case-Control Study in France. **Scandinavian University Press**. 31(1999) 305-309

## Anexos

### Anexo I – Questionário

<b>Data</b> ___/___/___	Código de Barras
<b>Número interno:</b> _____	

### Dados Pessoais

Laboratório: _____	
Número do Processo: _____	
Idade: _____	Idade Gestacional: _____
Quantas vezes já engravidou?	
(0) Uma	
(1) Duas	
(2) Mais	

### Factores de risco

1. Conhecimento da doença?
(0) Desconhece _____
(1) Já ouviu falar mas não sabe nada a respeito _____
(2) Sabe alguma coisa sobre a doença _____

2. Na residência, possui saneamento básico? (Água tratada, coleta de lixo, sistema de esgoto)

(0) Sim \_\_\_\_\_

(1) Não \_\_\_\_\_

Se não. Qual? (0) Água \_\_\_ (1) Esgoto \_\_\_ (2) Lixo \_\_\_\_\_

3. Tem animais de estimação actualmente em casa?

(0) Não \_\_\_\_\_

(1) Sim \_\_\_\_\_

Se Sim, Qual? (0) Gatos \_\_\_\_\_ (1) Cães \_\_\_\_\_ (2) Outros \_\_\_\_\_

Qual é o número destes animais no domicílio? \_\_\_\_\_

Se Sim, estes têm acesso ao interior de sua residência: (0) Não \_\_\_\_\_ (1) Sim \_\_\_\_\_

Tem contacto actualmente, com frequência, com animais, que não os seus, em casa de parentes ou outras residências? \_\_\_\_\_ Quais? \_\_\_\_\_

4. Tem contacto com outros gatos que não sejam os seus?

(0) Não \_\_\_\_\_

(1) Sim \_\_\_\_\_

Com que frequência? Muito frequente \_\_\_\_\_ (1) pouco frequente \_\_\_\_\_ (2) raramente \_\_\_\_\_

5. Caso tenha Gatos de estimação, onde é que eles defecam?

(0) Dentro da casa \_\_\_\_\_

(1) Aos arredores da casa \_\_\_\_\_

(2) Distante da casa \_\_\_\_\_

6. Qual é o principal alimento destes gatos no domicílio?

(0) Ração\_\_\_

(1) Restos de comida\_\_\_

(2) Não sabem\_\_\_\_\_

(3) Outros\_\_\_\_\_

7. Sabe da existência de roedores no seu domicílio ou nas proximidades?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

8. Tem horta na sua residência?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

Se Sim Esta é cercada, evitando a entrada de animais domésticos? (0) Não \_\_\_ (1) Sim \_\_\_

9. Realiza actividades ligadas ao solo (jardinagem, agricultura, etc.)?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

10. Tem animais de criação para consumo próprio/comercializa?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

Quais? (0) Gado \_\_\_(1) Porcos\_\_\_(2) Aves\_\_\_(3)Outros\_\_\_\_\_

11. Tem hábitos de consumir carne proveniente de animais abatidos em caça como pássaros, coelhos, javalis etc.

(0) Não\_\_\_

(1) Sim \_\_\_

11. Consome carne crua ou mal cozida?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

Se sim. De que animal?

(0) Gado\_\_\_

(1) Porco\_\_\_

(2) Ave\_\_\_

(3) Outros\_\_\_\_\_

Se sim, com que frequência? Muito frequente\_\_\_ (1) pouco frequente\_\_\_ (2)  
raramente\_\_\_

12. Consome leite ou laticínios não pasteurizados?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

Se sim, com que frequência? Muito frequente\_\_\_ (1) pouco frequente\_\_\_ (2)  
raramente\_\_\_

13. Lava frutas e verduras sempre antes de consumi-las?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

Se sim, com que frequência? Muito frequente\_\_\_ (1) pouco frequente\_\_\_ (2)  
raramente\_\_\_

14. Consome ovo cru ou mal cozido?

(0) Não \_\_\_

(1) Sim \_\_\_

Se sim, com que frequência? Muito frequente\_\_\_ (1) pouco frequente\_\_\_ (2)  
raramente\_\_\_

## Anexo II – Consentimento informado

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_, abaixo assinado, autorizo o Instituto Higiene e Medicina Tropical, por intermédio da aluna Tânia Vanessa dos Santos Seivas devidamente assistida pela sua orientadora Professora Doutora Olga Maria Guerreiro de Matos, a desenvolver a pesquisa abaixo descrita:

1. **Título do Experimento:** “**Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em grávidas, na região de Almada e estudo dos factores de risco**”
2. **Objectivo:** Determinar a prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* em grávidas da região de Almada;
3. **Descrição de procedimentos:** Colheita de sangue da grávida (punção venosa – 5 a 10 ml) e resposta a um questionário.
4. **Desconfortos e riscos esperados:** Apresenta um risco mínimo por se tratar de procedimento de rotina em hospitais/Postos de colheitas. Fui devidamente informada dos riscos acima descritos.
5. **Benefícios esperados:** Determinação se a participante teve contacto prévio com *Toxoplasma gondii*.
6. **Informações:** Os participantes têm a garantia que receberão respostas a qualquer pergunta e esclarecimento de qualquer dúvida quanto aos assuntos relacionados à pesquisa. Também o pesquisador supracitado assume o compromisso de proporcionar informações actualizadas obtidas durante a realização do estudo.
7. **Retirada do consentimento:** O voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, não acarretando nenhum dano ao voluntário.
8. **Confiabilidade:** Os voluntários terão direito à privacidade. A identidade (nomes e sobrenomes) do participante não será divulgada. Porém os voluntários assinarão o termo de consentimento para que os resultados obtidos possam ser apresentados em congressos e publicações.

9. **Quanto à indemnização:** Não há danos previsíveis decorrentes da pesquisa.

**ATENÇÃO:** A participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, contacte a Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Olga Matos (IHMT - 213652638).

Almada, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

---

ASSINATURA DA VOLUNTÁRIA

## Anexo III – Consentimento da Comissão de Ética do Hospital Garcia de Orta



nossa ref. Sec. Comissões Técnicas  
our ref. 7901

vossa ref.  
your ref.

data  
date 2010-07-23

Exma Senhora  
Profª. Drª. Olga Maria Guerreiro de Matos  
Instituto de Higiene e Medicina Tropical  
Rua da Junqueira, nº 96  
1349-008 LISBOA

assunto  
subject Projecto de Investigação "Prevalência de anticorpos anti-toxoplasma GONDII em grávidas, na região de Almada e estudos dos factores de risco"

Pelo presente, remetemos cópia do despacho homologatório, referente ao projecto citado em epígrafe.

Com os melhores cumprimentos.

A Comissão Ética

(Luis Antunes)

Enviar à  
C-Ética P/ parecer  
Leonor Carvalho  
9-12-09

Leonor Carvalho  
Directora Clínica

## COMISSÃO DE ÉTICA

### TRABALHO DE INVESTIGAÇÃO Nº 33/2009

**DATA DE ENTRADA: 09.12.08**

**ENTIDADE: PROF<sup>a</sup>. DR<sup>a</sup>. OLGA MATOS  
INSTITUTO DE HIGIENE E MEDICINA TROPICAL**

**DENOMINAÇÃO DO TRABALHO: "PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS  
ANTI-TOXOPLASMA GONDII EM  
GRÁVIDAS, NA REGIÃO DE  
ALMADA E ESTUDO DOS FAC-  
TORES DE RISCO"**

**SERVIÇO DE: PATOLOGIA CLINICA**

**PRESIDENTE DA COMISSÃO DE ÉTICA: DR. ORLANDO CORDEIRO**

**VOGAL MÉDICO QUE ESTUDOU O TRABALHO DE INVESTIGAÇÃO:** Dr. Ana Franca

**EM ESTUDO**

**HOMOLOGADO PELO CONSELHO DE ADMINISTRAÇÃO EM:** 22/07/10

  
**Dra. Ana Franca**  
Directora Clínica