
Toxoplasma gondii: TOXOPLASMOSE,
COM ÊNFASE NO DIAGNÓSTICO

Tatiane Luiza da Costa,¹ Marcos Gontijo da Silva,¹ Juliana Boaventura Avelar,¹ Waldemar Naves do Amaral,² Mariza Martins Avelino³ e Ana Maria de Castro¹

RESUMO

Toxoplasmose é uma doença causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. No Brasil, a variação de sua prevalência (10% – 80%) depende da área estudada. O ser humano pode adquirir a infecção por meio de ingestão de alimentos contaminados com cistos ou oocistos, transfusão sanguínea, transplante de órgãos e transmissão congênita. Nesta última forma, o parasito atravessa a barreira placentária e infecta o feto, podendo causar-lhe graves seqüelas. O diagnóstico sorológico da toxoplasmose é baseado na detecção de anticorpos anti-*T. gondii*. Embora a sorologia em mulheres grávidas seja eficaz em 89,5% dos casos, a confirmação da infecção no feto e/ou recém nascido é dificultada pela imaturidade imunológica. O advento das técnicas automatizadas possibilitou a demonstração da presença de anticorpos residuais, o que tem produzido resultados duvidosos e/ou inconclusivos, tornando necessário o uso de métodos parasitológicos, especialmente as técnicas de biologia molecular que permitem o acompanhamento das gestantes e a validação do tratamento. A prevenção da toxoplasmose congênita é de fundamental importância para um melhor controle da infecção, evitando-se, assim, as graves seqüelas que podem ocorrer em fetos e recém-nascidos. Esta atualização descreve o agente etiológico *T. gondii* da toxoplasmose, sua epidemiologia, manifestações clínicas, diagnóstico, prevenção e tratamento.

DESCRITORES: Toxoplasmose. *Toxoplasma gondii*. Epidemiologia. Diagnóstico. Tratamento.

1 Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás (UFG).

2 Departamento de Ginecologia da Faculdade de Medicina (FM) da UFG.

3 Departamento de Pediatria e Puericultura da FM, UFG.

Endereço para correspondência: Ana Maria de Castro, Laboratório de Biologia, Fisiologia e Imunologia de Protozoários de Interesse Humano do DMIPP, IPTSP-UFG, Rua 235 esq. 1ª. Av. s/n Setor Leste Universitário, CEP 74605-050, Goiânia, Goiás, Brasil. E-mail: amaria@iptsp.ufg.br

Recebido para publicação em: 6/2/2007. Revisto em: 6/11/2007. Aceito em: 14/7/2008.

HISTÓRICO, BIOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório descrito em dois importantes laboratórios: no Instituto Biológico de São Paulo, por Splendore (1908) em coelhos; no Instituto Pasteur de Tunis, por Nicolle & Manceux (1908) em roedores do norte da África, *Ctenodactylus gondii*, aos quais se deve o nome da espécie; o nome do gênero é derivado da palavra grega *toxon*, ou arco, em referência ao formato do parasito. O protozoário apresenta organelas citoplasmáticas características do Filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse coccídea, ordem Eucoccidiida, subordem Eimeriina e família Sarcocystidae (Pfefferkorn, 1990; Kawazoe, 2005).

T. gondii possui as seguintes formas evolutivas: **Taquizoíto:** forma arqueada, com aproximadamente 6µm de comprimento e 2µm de largura, encontrada durante a fase aguda da infecção, sendo também denominada forma proliferativa ou forma livre. Possui duas regiões distintas: a) uma extremidade anterior afilada onde está situado o complexo apical, formado por um conjunto de organelas específicas, responsável pela penetração ativa nas células nucleadas e pela formação de um vacúolo parasitóforo no citoplasma da célula parasitada, no qual se multiplicam rapidamente até a ruptura da célula e, em seguida, são disseminadas as formas livres por meio dos sistemas linfático e sanguíneo e infectam vários tecidos, incluindo o sistema nervoso central, olhos, musculatura esquelética, cardíaca e placenta; b) um núcleo com membrana dupla, uma externa e contínua e outra interna (Dobrowolski & Sibley, 1996). **Cisto:** contém os bradizoítos que são morfologicamente semelhantes aos taquizoítos, mas possuem uma replicação lenta. É a forma de resistência do *T. gondii* nos tecidos, encontrada durante a fase crônica da infecção (Frenkel, 1973). **Oocisto:** Por ser a forma de resistência, possui uma parede dupla bastante resistente às condições do meio ambiente. São produzidos nas células intestinais de felídeos não imunes e eliminados ainda imaturos junto com as fezes. Os oocistos maduros contêm dois esporocistos e oito esporozoítos que são as formas infectantes para os mamíferos e aves e também para o ser humano (Frenkel, 1973).

Linhagens de *T. gondii*

Diferentes cepas de *T. gondii* têm sido isoladas e são geralmente classificadas como virulentas ou avirulentas tomando-se por base sua patogenicidade e/ou antigenicidade para o modelo experimental. Após estudos da estrutura genética populacional do *T. gondii*, foi demonstrada a existência de três linhagens clonais predominantes, designadas como tipos I, II e III, que diferem quanto à virulência e à epidemiologia (Sibley & Boothroyd, 1992; Howe & Sibley, 1995). Cepas tipo I têm sido encontradas em pacientes com doenças congênitas; as cepas tipo II têm sido isoladas de pacientes imunocomprometidos com reativação da infecção crônica; as cepas do tipo III, em sua maioria, têm sido isoladas de

animais. Salvador-Guillouet et al. (2006) relataram um caso raro de pneumonia em jovem paciente imunocompetente, causada por uma cepa atípica de *T. gondii*. Segundo alguns autores, a definição desses três tipos de cepas pode promover uma poderosa combinação para o estudo dos genes que regulam a patogênese da toxoplasmose (Howe & Sibley, 1995; Ajzenberg et al., 2002). O uso de peptídeos específicos permite a genotipagem das cepas de *T. gondii* no soro dos pacientes. Esta classificação também é importante para a caracterização epidemiológica, pois permitirá a investigação da distribuição e da virulência de diferentes cepas de parasitos isoladas de populações animais e humanas (Kong et al., 2003).

Ciclo biológico

É do tipo heteroxeno, com uma fase coccidiana que ocorre nas células intestinais de felídeos domésticos (gatos jovens) ou selvagens não imunes e outra fase assexuada, que ocorre no hospedeiro intermediário – mamíferos, incluindo o ser humano, e aves – ou no hospedeiro definitivo. Variações de soroprevalência do *T. gondii* estão correlacionadas com hábitos higiênicos e alimentares de uma população. (Remington et al., 2001). A fase sexuada do ciclo inicia-se com a ingestão de cistos teciduais (contendo bradizoítos), oocistos maduros (contendo esporozoítos) ou taquizoítos livres na circulação pelos felídeos. Após varias etapas, há a produção de oocistos que são eliminados juntamente com as fezes. Um gato durante a infecção aguda pode excretar aproximadamente 100 milhões de oocistos por dia. Após um a cinco dias de exposição ao ar e temperatura ambiente, o oocisto esporula e produz dois esporocistos, contendo quatro esporozoítos cada, que são altamente infectantes e podem ficar no meio ambiente por vários anos, podendo ser ingeridos por outros animais, até mesmo pelo ser humano (Montoya & Liesenfeld, 2004).

Mecanismos de transmissão

A transmissão oral ocorre quando os oocistos ou cistos são ingeridos por hospedeiros intermediários. Os esporozoítos ou bradizoítos infectam o epitélio intestinal produzindo formas assexuadas (taquizoítos) que penetram em células nucleadas, desenvolvem pseudocistos e se multiplicam rapidamente por endodigenia, ocorrendo, assim, uma infecção aguda, que dissemina o parasito por todo o organismo do hospedeiro vertebrado. Após alguns dias da infecção sistêmica pelos taquizoítos, ocorre o desenvolvimento de outro estágio do ciclo, a formação de cistos teciduais contendo bradizoítos. Estes cistos podem se desenvolver em qualquer órgão visceral, incluindo pulmões, fígado e baço, mas a maior prevalência tem sido verificada em tecidos neurais e musculares, como cérebro, olhos e musculatura esquelética estriada ou cardíaca, nos quais permanecem por toda a vida do indivíduo. Estes cistos teciduais também são importantes fontes de infecção tanto para os animais carnívoros como para o homem, quando ingeridos

junto com carne crua ou mal cozida (Dubey et. al., 2004; Montoya & Liesenfeld, 2004). Este mecanismo é o responsável por vários surtos descritos na literatura como o que recentemente ocorreu em Anápolis-Goiás (SVS, 2006). O *T. gondii* adaptou suas diferentes fases do ciclo biológico e pode infectar hospedeiros com diferentes comportamentos alimentares: os herbívoros podem se infectar pelo ciclo oral-ooquistos e os carnívoros, pelo ciclo oral-tecidual (Wong & Remington, 1993; Dubey et al., 2004).

O ser humano ainda pode adquirir a infecção de forma congênita ou transplacentária, por transfusão sanguínea, transplante de órgãos e transmissão acidental por auto-inoculação em laboratório (Montoya & Liesenfeld, 2004).

As vias de infecção para o feto são: **transplacentária** – quando a gestante adquire a toxoplasmose durante a gestação e, se apresentar a fase aguda da doença, poderá transmitir *T. gondii* ao feto, tendo provavelmente os taquizoítos como formas responsáveis (Kawazoe, 2005); **rompimento de cistos no endométrio** – apesar de a gestante apresentar a doença na fase crônica, alguns cistos localizados no endométrio podem romper-se (distensão mecânica ou ação lítica das vilosidades coriônicas da placenta), liberando os bradizoítos que penetram no feto (Kawazoe, 2005); **taquizoítos livres no líquido amniótico** – neste caso podem atingir o feto (Kawazoe, 2005). A infecção materna nos primeiros meses da gestação pode resultar em morte fetal ou aborto espontâneo (Montoya & Liesenfeld, 2004).

Soroprevalência

Avaliações epidemiológicas mostram que a infecção se encontra disseminada no mundo, com incidência variável nas diferentes regiões do planeta. Na Europa, a prevalência está acima de 54% (Jenum et al., 1998; Evengard et al., 2001). Nos Estados Unidos, a prevalência é de 15,8% em grupos entre 12 e 49 anos (Jones et al., 2003; McQuillan et al., 2004). A infecção toxoplásmica ocorre em todo o mundo e entre 70% e 100% dos adultos são considerados infectados (Frenkel, 2002). No Brasil, a prevalência de anticorpos IgG na população geral é variável: 54% no Centro-Oeste, 75% na Região Norte (Frenkel, 2002), 77,1% no Rio de Janeiro (Meirelles Filho, 1985), 69,4% em Pernambuco (Nóbrega et al., 1999), 74,5% no Rio Grande do Sul (Spalding et al., 2003), 64,9% na Bahia (Nascimento et al., 2002) e 67% no Paraná (Rieche et al., 2000). Em Goiânia, a taxa de prevalência da infecção tem se mantido estável nos últimos 23 anos; Philocreon (1976) descreveu positividade sorológica de 63,5% entre gestantes e Avelino (2000) encontrou 65,8% entre mulheres em idade procriativa.

Patogenia

Na toxoplasmose, o tamanho do inóculo (Liesenfeld, 1999), a virulência da cepa (Su et al., 2002), o gênero (Roberts et al., 1995) e o estado imunológico

do hospedeiro são fatores que afetam o curso da infecção em modelos humanos e animais (Dobrowolski & Sibley, 1996; Barragan & Sibley, 2002).

DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE

Diagnóstico Clínico

Na toxoplasmose adquirida, a manifestação clínica mais comum na criança e/ou adulto imunocompetente é um quadro semelhante à mononucleose infecciosa, com adenopatias, principalmente cervicais, freqüentemente acompanhadas de febre baixa, desânimo e anorexia. Esse quadro é de evolução benigna na maioria dos casos, com resolução espontânea no final de duas a quatro semanas, podendo persistir por alguns meses, mas os gânglios regridem até o final do segundo ou terceiro mês (Frenkel, 2002).

Os sintomas da toxoplasmose aguda em gestantes podem ser transitórios, inespecíficos e subclínicos. A possibilidade de transmissão fetal é remota quando a toxoplasmose é adquirida antes da concepção. Cerca de 50% dos recém-nascidos de mães que soroconverteram durante a gravidez são infectados e só 10% apresentam manifestações clínicas precoces (Hinrichsen et al., 2005). A infecção que se manifesta no período neonatal é caracterizada pela clássica tétrede de Sabin, composta por alterações do volume craniano (hidrocefalia ou microcefalia), coriorretinite (geralmente bilateral, macular ou perimacular, simétrica), calcificações intracranianas e retardamento mental (Kawazoe, 2005).

O diagnóstico de toxoplasmose congênita é, por vezes, impreciso, pois as manifestações clínicas podem ser confundidas com as causadas por outros agentes como Citomegalovírus, Herpes simples, Rubéola, HIV, Epstein Barr, *Treponema pallidum*, *Listeria monocytogenes*, *Borrelia burgdorferi* e *Trypanosoma cruzi* (Camargo, 2001). Outras doenças também podem apresentar sinais clínicos semelhantes à toxoplasmose como a eritroblastose fetal e determinadas doenças degenerativas (Sáfadi, 2000). A toxoplasmose congênita pode permanecer latente por vários anos e, não excepcionalmente, durante a puberdade (talvez por influência hormonal) ou mais adiante, reativar. Os distúrbios oculares e neurológicos são exemplos comuns observados neste tipo de reativação clínica (Amato & Marchi, 2002).

Em imunodeprimidos, essas manifestações clínicas são encontradas com freqüência, provavelmente pela reativação, nos diferentes órgãos, das formas latentes dos cistos contendo bradizoítos. Tal processo revela ser o *T. gondii* um agente de caráter oportunista. É importante salientar que, com a expansão da SIDA (Síndrome de Imunodeficiência Adquirida), ficou claro que a toxoplasmose em pacientes infectados pelo HIV tem como órgão de agressão primária o sistema nervoso central (Amato et al., 1995).

Diagnóstico Laboratorial

A resposta imune de um hospedeiro à toxoplasmose pode ser natural ou adquirida. Duas semanas após a infecção, anticorpos anti *T. gondii* das classes IgG, IgM, IgA e IgE podem ser detectados no soro. A produção de anticorpos IgA parece proteger o hospedeiro de uma reinfecção (Mineo et al., 1993).

A passagem da IgG específica pela placenta dificulta o diagnóstico da infecção congênita, pois sua presença no sangue do lactente pode refletir a imunoglobulina materna que foi transferida pela via transplacentária durante a gestação como forma de proteção, ou se referir à produzida pelos mecanismos de defesa imune da criança (Camargo, 2001). A dificuldade na interpretação dos valores de IgG continua durante o acompanhamento da criança porque os anticorpos de origem materna podem persistir no sangue do lactente por até um ano. A sua persistência em títulos significativos com o passar dos meses indica síntese pela criança, porque os níveis oriundos da mãe são decrescentes com o tempo. Após um ano, sua presença no sangue significa que o sistema imune da criança foi estimulado pelo *T. gondii*, portanto houve infecção (Boyer et al., 1998). Outro problema encontrado no diagnóstico sorológico da toxoplasmose é a presença de anticorpos IgM residuais, que não indicam, necessariamente, uma infecção aguda (Petersen, 2007).

DIAGNÓSTICO PARASITOLÓGICO

Inoculação em camundongo

A inoculação em camundongo utiliza o sangue do paciente, de preferência a camada leucocitária, ou sedimento do centrifugado de líquido cefalorraquiano, líquido amniótico, lavado brônquico-alveolar, suspensões de triturados de biópsia ou de placenta, que são inoculados via intraperitoneal em camundongos isogênicos (Remington et al., 1994). A positividade é indicada pela soroconversão do animal e confirmada pelo achado de taquizoítos no líquido peritoneal ou, mais freqüentemente, de cistos no cérebro e outros órgãos, evidenciados em cortes histológicos, corados pela Hematoxilina-Eosina/HE, e/ou Imuno-histoquímica/IH (Rosa et al., 2001). Em cortes histológicos corados pela HE, pode ser difícil a identificação do *T. gondii*, pois o parasito não possui características tintoriais próprias que permitam distingui-lo nitidamente das células adjacentes, podendo ser confundido com núcleos ou fragmentos nucleares que se coram de forma semelhante (Tsunematsu et al., 1964).

Nem sempre é possível confirmar o parasito na primeira inoculação, assim sendo, nos casos duvidosos, devem ser realizados novos inóculos. Por meio de “passagens cegas”, material biológico (principalmente o cérebro ou outros) é triturado e inoculado em novos camundongos (Camargo, 2001). Dentre os animais utilizados para o teste, destacam-se hamsters, cobaias, camundongos e coelhos.

Uma vez isolada, a cepa de *T. gondii* pode ser mantida para fins experimentais mediante a reinoculação em camundongos (Calvão, 2002). Entretanto, a criopreservação *in vitro* tem sido um método prático, pois, além de evitar a perda da cepa, possibilita racionalizar a utilização de animais. Os taquizoítos podem ser mantidos, sem perdas da viabilidade e virulência, entre -20°C e -60°C por oito semanas, e -70°C por 200 dias e em nitrogênio líquido -196°C por tempo indeterminado (Calvão, 2002).

Isolamento em cultura de células

Para o isolamento em cultura de células, os materiais suspeitos são semeados em culturas de células, como fibroblasto humano ou várias outras linhagens celulares. O desenvolvimento de *T. gondii* no interior das células pode ser evidenciado com facilidade por imunofluorescência no tecido em prazos curtos de até uma semana. Porém, essa técnica é menos sensível do que a inoculação no camundongo (Derouin et al. 1987).

Imunohistoquímica

O parasito ou seus antígenos podem ser evidenciados em cortes de tecidos por imunohistoquímica, utilizando-se anticorpos específicos e coloração imunofluorescente ou imunoenzimática. Métodos de diagnóstico imunohistoquímico são específicos e resultam do desenvolvimento do método da peroxidase-antiperoxidase (PAP) (Sternberger et al., 1970). A técnica vem sendo usada no diagnóstico de diversos agentes infecciosos, particularmente do *T. gondii* (Davidson et al., 1993; Falangola & Petitto, 1993; Brezin et al., 1994; Viotti et al., 1995; Conley et al., 2001). Modificações introduzidas por Dubey & Lin (1994) utilizaram a técnica imunoenzimática da avidina-biotina para a detecção de cistos do *T. gondii* no cérebro de raposa.

Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

O ensaio da PCR é uma técnica utilizada em testes clínicos para detecção de alterações genéticas ou infecções por diferentes agentes etiológicos (Ellis, 1998). Estudos sobre o genoma do *T. gondii* tornaram possível a utilização da PCR para a detecção do parasito (Bastien, 2002). Amostras de sangue testadas para se investigar parasitemia por ensaios de PCR, amplificando-se segmentos dos genes B1 e P30 de *T. gondii*, mostraram o potencial da técnica para o diagnóstico não invasivo da toxoplasmose disseminada (Spalding et al., 2003). O gene B1, que se encontra repetido em 35 cópias no genoma do parasito e pode ser detectado em fluidos corporais e tecidos, foi isolado e descrito por Boothroyd et al. (1988), demonstrando ter uma natureza repetitiva no genoma. Burg et al. (1989) demonstraram a elevada

sensibilidade da PCR na detecção de apenas um parasito presente no lisado celular usando o gene B1 como alvo de amplificação. Wong & Remington (1993) demonstraram que a sensibilidade e a especificidade da PCR para amplificar os genes B1 de parasitos presentes no líquido amniótico foram de 100%, em contraste com a inoculação de sangue fetal ou líquido amniótico em camundongos e culturas. Já Garcia et al. (2006) encontraram 64,6% de positividade pela inoculação em cobaias e apenas 16,6% pela PCR.

A técnica de PCR revolucionou o diagnóstico pré-natal da toxoplasmose congênita, uma vez que limita o uso de métodos invasivos no feto (Remington et al., 2004).

Outro alvo também amplamente usado é o gene P30, que se encontra representado como cópia única codificando para o principal antígeno de superfície do protozoário. Protocolos que empregam PCR convencional (qualitativa) para a detecção de genes em cópia única, como o gene P30, parecem menos sensíveis (Buchinder et al., 2003). Estudos demonstram a capacidade da PCR de amplificar fragmentos específicos de DNA a partir de fluidos corporais diferentes, tais como sangue, líquido amniótico, liquor, humor aquoso, fluido de lavado bronco-alveolar e até urina (Khalifa et al., 1994). Por outro lado, a PCR só será positiva em casos de parasitemia; assim, em casos de toxoplasmose cerebral ou pulmonar, a PCR será útil apenas quando houver disseminação ou passagem do parasito para o sangue, tal como ocorre na etapa aguda dessa parasitose (Khalifa et al., 1994).

Numerosos ensaios têm sido desenvolvidos, mas nenhum foi suficientemente otimizado e validado com um número grande de indivíduos. Segundo Bastien (2002), o diagnóstico por PCR para a toxoplasmose está longe de ser padronizado e ainda não se tem um consenso que defina as condições do método. Vários fatores afetam a sensibilidade e a especificidade da PCR como: seqüência-alvo no DNA do parasito, pares de iniciadores de amplificação utilizados, condições de armazenamento das amostras e dos reagentes e o uso de drogas anti-*T. gondii*. Vários casos de resultados positivos de PCR em pacientes assintomáticos são referidos e se desconhece o valor preditivo positivo do teste (Kompalic-Cristo, 2004). A PCR em tempo real e outros alvos genéticos do parasito ainda são muito utilizados, mas os testes sorológicos que determinam anticorpos específicos atualmente são os métodos de primeira escolha para o diagnóstico de uma infecção recente ou passada (Sensini, 2006).

Diagnóstico sorológico

A sorologia continua a ser a principal abordagem para estabelecer um diagnóstico de toxoplasmose. Ela baseia-se na pesquisa de anticorpos de diferentes classes de imunoglobulinas (IgG, IgM, IgA e IgE) anti-*T. gondii* (Camargo, 2001). Além disso, a presença dos anticorpos antitoxoplasma no curso da infecção permite a análise de perfis sorológicos, seja de infecção recente, em fase aguda,

ou de infecção antiga, em fase de latência ou crônica (Contreras et al., 2000). Em indivíduos imunocompetentes, os testes sorológicos com pesquisa de IgG e IgM são suficientes para o diagnóstico, por serem sensíveis, específicos e de fácil execução (Camargo, 2001).

Imunofluorescência Indireta (IFI)

A reação de Imunofluorescência Indireta (IFI) é considerada de boa especificidade e sensibilidade. Tem sido empregada para amplificar o sinal de fluorescência e aumentar a sensibilidade. Essa reação tem a vantagem de utilizar parasitos preservados, fixados em lâminas de microscopia, o que é muito prático e seguro para a rotina laboratorial. Além do mais, este teste permite a identificação dos anticorpos segundo as classes de imunoglobulinas. Pode, no entanto, apresentar resultados falso-positivos de anticorpos IgM pela interferência de fatores reumatóides eventualmente presentes no soro. Os testes para anticorpos IgM podem também revelar resultados falso-negativos em virtude da competição entre os anticorpos IgG e IgM, que impede que estes se fixem aos antígenos parasitários (Camargo et al., 1972). Em cerca de 75% dos casos de recém-nascidos com toxoplasmose congênita podem ocorrer resultados falso-negativos, em consequência de elevados títulos maternos de anticorpos da classe IgG.

Ensaio Imunoenzimático (ELISA)

A introdução do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) trouxe um grande avanço para o diagnóstico da doença. Camargo et al. (1977) descreveram a técnica para anticorpos IgG e IgM, observando, porém, a possibilidade de resultados falso-positivos para IgM em pacientes portadores do fator reumatóide. Desmots et al. (1981) desenvolveram uma técnica para detecção de IgM, denominada de ELISA duplo sanduíche (DS - ELISA IgM) ou teste de captura de IgM. Por seu intermédio foi possível detectar a presença de IgM específica para *T. gondii* em 92% dos indivíduos com toxoplasmose recentemente adquirida, e que eram negativos na reação de Imunofluorescência para IgM.

ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay)

ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) é um teste automatizado no sistema VIDAS da empresa Bio-Mérieux, usado para a detecção de anticorpos da classe IgG e IgM anti-*T. gondii*. O princípio da reação associa o método imunoenzimático com uma detecção final em fluorescência. Os anticorpos da classe IgM são pesquisados por imunocaptura. As imunoglobulinas IgM anti-*T. gondii* são detectadas especificamente graças a um imuno-complexo marcado com fosfatase alcalina. Este método, quando comparado com o método ISAGA, apresentou

sensibilidade de 93,5%, especificidade de 99,3% e concordância de 98,9% (Manual de Instruções de Uso VIDAS Bio-Mérieux, 1998).

MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay)

A técnica MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) é usada para a determinação quantitativa de anticorpos da classe IgG e IgM anti-*T. gondii* no soro ou plasma humano. A reação é realizada no analisador de imuno-ensaio, com acesso randômico e contínuo, AXSYM da empresa Abbott. As amostras usadas para pesquisa dos anticorpos da classe IgM são tratadas com tampão de neutralização do Fator Reumatóide (FR) para remover os anticorpos de interferência (se presentes) do complexo antígeno-anticorpo, evitando-se, assim, resultados falsamente positivos. No final da reação, o complexo imune ligado ao conjugado marcado com a fosfatase alcalina reage com o substrato. A quantidade de fluorescência é proporcional à concentração de anticorpos da amostra analisada (Manual de Instruções de Uso AxSYM-Abbott, 2000).

ELISA IgG para avidéz

Este método avalia a avidéz de ligação ao antígeno dos anticorpos IgG contra o *T. gondii*, separando os anticorpos de baixa avidéz, produzidos numa fase inicial da infecção, dos anticorpos de elevada avidéz, indicativos de infecção crônica (Joynson et al., 1990; Camargo et al., 1991). Petersen et al. (2005) compararam a maturação da avidéz de IgG em mulheres grávidas com infecção aguda pelo *T. gondii* sob tratamento e mulheres não grávidas com infecção aguda sem tratamento e encontraram significativa e rápida maturação de IgG durante os primeiros quatro meses após a infecção do grupo de mulheres não grávidas e não tratadas. É evidente a necessidade de aprimoramento deste teste diagnóstico, que poderá obter maior êxito com uso de antígenos recombinantes (Petersen et al., 2005).

Western blot

A reação de Western blot tem mostrado que o soro materno e o da criança reconhecem diferentes antígenos do *T. gondii* quando a criança está infectada (Chumptazi et al., 1995). Hofflin & Remington (1985) já tinham reconhecido antígenos diferentes para anticorpos das classes IgG e IgM da mãe que por via congênita infectou o filho. Anticorpos das classes IgM e IgA podem ser identificados contra a principal proteína de superfície do *T. gondii*, a proteína P30, pela técnica de Western blot. Comparando-se a técnica de Western blot com a imunocaptura ELISA, demonstra-se que a primeira tem vantagens sobre a segunda especialmente no diagnóstico da toxoplasmose cerebral dos pacientes com AIDS (Gross et al., 1992). No paciente com HIV e encefalite, o uso dessa reação mostra diversidade antigênica entre diferentes cepas do *T. gondii*.

PREVENÇÃO E TRATAMENTO

A prevenção da toxoplasmose congênita pode ser dividida em três categorias: primária, secundária e terciária.

A prevenção primária caracteriza-se, basicamente, por programas de educação e saúde pública, nos quais se recomenda às gestantes que evitem contato com materiais potencialmente contaminados. Essas orientações, quando aplicadas no pré-natal, contribuem para a redução de 63% da primo-infecção na gravidez (Foulon, 1992).

A prevenção secundária consiste em tentar evitar a transmissão transplacentária do parasito por meio da adoção do diagnóstico precoce da infecção na gestante e de seu tratamento antiparasitário. Um diagnóstico sorológico realizado na mulher em idade procriativa, identificando as soronegativas como de risco para adquirirem a infecção na gestação, seleciona aquelas que necessitam de vigilância pré-natal quanto à possibilidade de infecção aguda pelo *T. gondii*. O diagnóstico de doença aguda na gestante permite a introdução precoce de uma terapêutica adequada, podendo impedir o aparecimento da infecção congênita (mais raramente) ou diminuir a incidência de formas graves na criança congenitamente afetada (Foullon et al., 1994).

A prevenção terciária concentra seus esforços em realizar um diagnóstico precoce pela dosagem de anticorpos específicos IgA e IgM em sangue coletado de recém-nascido, que permita a introdução de esquema terapêutico para prevenir ou minimizar seqüelas (Hall, 1992).

Existem programas educacionais para gestantes e imunossuprimidos associados aos programas de triagem sorológica pré-natal que podem reduzir de maneira significativa a transmissão e a ocorrência de formas graves da infecção pelo *T. gondii*. O rastreamento sorológico da toxoplasmose no pré-natal é obrigatório em poucos países, como na França e Áustria e mais recentemente em alguns estados brasileiros. Em Goiânia, a partir de setembro de 2002, teve início uma ação conjunta entre a Universidade Federal de Goiás (UFG) e as Secretarias Estadual e Municipal de Saúde num programa intitulado *Controle da Transmissão Vertical da Toxoplasmose*. Desde então, a sorologia para toxoplasmose foi incluída no pré-natal, o que tem possibilitado a identificação de pacientes agudamente infectadas ou reinfectadas.

A eficácia de um programa preventivo, segundo Avelino (2000), depende de vários fatores:

- a) do período gestacional em que a primeira amostra sorológica foi coletada;
- b) do intervalo de tempo entre as sucessivas coletas de amostras sanguíneas;
- c) do tempo de gestação da última amostra sanguínea. A soroconversão pode ocorrer no final da gravidez podendo ou não ser detectada no sangue do cordão umbilical do recém-nascido, uma vez que os anticorpos produzidos pela mãe ou pelo recém-nascido ainda não são detectáveis laboratorialmente;

- d) da cooperação entre as equipes multidisciplinares que trabalham com a mulher, incluindo profissionais de saúde, médicos generalistas, obstetras, especialistas em cordocentese, pediatras, oftalmologistas, fisioterapeutas, fonoaudiólogos, imunologistas e parasitologistas.

O tratamento pós-natal é seguido por um período de três meses a dois anos em alguns centros da França e da Suíça (Schmidt et al., 2006a; 2006b). O uso de pirimetamina e sulfonamidas é baseado em estudos experimentais realizados na década de 1950 e foram recentemente revisados (Petersen & Schmidt, 2003). Uma nova droga promissora no tratamento da toxoplasmose é o Atovaquone. Estudos experimentais sugerem que essa droga tem um efeito parcial contra cistos teciduais, assim como a azitromicina (Petersen, 2007). Não existem dados clínicos ou genéticos que evidenciem resistência a essas drogas em humanos. A resistência do *T. gondii* a sulfonamidas pode ser induzida experimentalmente (Pfefferkorn et al., 1992; Alves & Vitor, 2005). Há relato de uma mutação no códon DHPS-407, evidenciada num isolado obtido de crianças congenitamente infectadas; os autores sugeriram que essa mutação é “natural” desde que o paciente não tenha sido tratado durante a gestação (Aspinall et al., 2002). Em outro estudo do *T. gondii*, isolado de 29 crianças com infecção congênita, não foi encontrada nenhuma mutação no gene DHFR (Peyron et al., 2004).

CONCLUSÕES

O diagnóstico da toxoplasmose é baseado na sorologia, porém, concomitantemente, deve-se fazer a interpretação clínica dos resultados. O advento das técnicas automatizadas no diagnóstico sorológico trouxe à tona a presença de anticorpos residuais, os quais produziram resultados duvidosos e/ou inconclusivos, tornando necessário o uso de métodos parasitológicos. Entre esses destacam-se as técnicas de biologia molecular, que permitem um diagnóstico precoce e seguro, podendo-se monitorar a carga parasitária de gestantes e até mesmo validar o tratamento utilizado.

Na mãe, é de suma importância a confirmação da infecção por técnicas parasitológicas para se avaliar a carga parasitária circulante, uma vez que ela interfere na possibilidade de transmissão vertical e em sua conseqüente gravidade. Além disso, é útil para a solução de casos de sorologia inconclusiva. Mas o tratamento imediato da gestante suspeita diminui a carga parasitária, tornando essa metodologia de baixa sensibilidade. Programas de atendimento à gestante como o *Serviço de Referência do Hospital das Clínicas da UFG* realizam o diagnóstico da toxoplasmose, com tratamento terapêutico gratuito, porém o uso desses medicamentos pode interferir nos resultados dos testes laboratoriais parasitológicos utilizados no diagnóstico da infecção fetal, que apresentam baixa sensibilidade, apesar de elevada especificidade.

Assim, a prevenção da toxoplasmose congênita é de fundamental importância para melhorar o controle da infecção e evitar as graves seqüelas que podem ocorrer em fetos e recém-nascidos.

PERSPECTIVAS

O parasito vivo atenuado e antígenos são considerados agentes potenciais para a vacinação. O parasito vivo atenuado da cepa S48 é usado na vacinação de ovelhas na Europa e Nova Zelândia, mas é inapropriado para humanos (Rorman et al., 2006; Letscher-Bru et al., 2003; Haumont et al., 2000; Nielsen et al., 1999; Denkers & Gazzinelli, 1998). Muitos trabalhos têm focalizado sua atenção no antígeno SAG1 expresso nos taquizoítos de *T gondii*. O desenvolvimento de uma vacina com o uso de antígenos expressos por bradizoítos e oocistos também tem sido estudado (Roque-Rosendiz et al., 2004; Bhopale, 2003; Mohamed et al., 2003; Buxton & Innes, 1995).

ABSTRACT

Toxoplasma gondii – Emphasis on diagnosis

Toxoplasmosis is a disease caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*. In Brazil, its prevalence range (10%-80%) varies depending on the studied area. Humans may acquire the infection by ingestion of contaminated food with cysts or oocysts, blood transfusion, organs transplant and congenital transmission. In the latter, the parasite crosses the placental barrier and infects the fetus causing severe sequelae. The serological diagnosis of toxoplasmosis is based on the detection of antibodies anti-*T. gondii*. Contrary to the efficiency of serology in pregnant women (in 89.5% of cases), the confirmation of infection in the fetus and/or newborn is difficult due to the presence of residual antibodies from the mother which produces doubtful and/or inconclusive results. This fact enhances the need of parasitological methods, especially molecular biology techniques that may allow the follow-up of pregnant women and the validation of the treatment. Prevention of congenital toxoplasmosis is of main importance to infection control, avoiding the severe sequelae that may occur in the fetus and the newborn. This review describes the etiological agent of toxoplasmosis, *T. gondii*, its epidemiology, clinical manifestations, diagnosis, prevention and treatment.

KEY WORDS: Toxoplasmosis. *Toxoplasma gondii*. Epidemiology. Diagnosis. Treatment.

REFERÊNCIAS

1. Ajzenberg D, Cogné N, Paris L, Bessières MH, Thulliez P, Filisetti D, Pelloux H, Mrty P, Dardé ML. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. *J Infect Dis* 186: 684-689, 2002.
2. Alves CF, Vitor RW. Efficacy of atovaquone and sulfadiazine in the treatment of mice infected with *Toxoplasma gondii* strains isolated in Brazil. *Parasite* 12: 171-177, 2005.

3. Amato Neto V, Servolo MEA, Levi GC, Seixas DMI. *Toxoplasmose*. 4.ed. São Paulo: Sarvier, 1995.
4. Amato Neto V, Marchi CR. Toxoplasmose. In: Cimerman B & Cimerman S, ed. *Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais*. 2 ed. São Paulo, Atheneu, 2002. p.160-177.
5. Aspinall TV, Joynson DH, Guy E, Hyde JE, Sims PF. The molecular basis of sulfonamide resistance in *Toxoplasma gondii* and implications for the clinical management of toxoplasmosis. *J Infect Dis* 185: 1637-1643, 2002.
6. Avelino MM. A gestação como fator de risco para a primo-infecção pelo *Toxoplasma gondii* [Tese Doutorado em Medicina].Brasília: Universidade de Brasília, 2000. 271 p.
7. Barragan A, Sibley LD. Transepithelial migration of *Toxoplasma gondii* is linked to parasite motility and virulence. *J Exp Med* 195: 1625-1633, 2002.
8. Bastien P. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 96: 205-215, 2002.
9. Boothroyd JC, Burg JL, Perelman D, Kasper LH, Ware PL. Molecular analysis of the gene encoding the major surface antigen of *Toxoplasma gondii*. *J Immunol* 141: 3584-3591, 1988.
10. Bhopale GM. Development of a vaccine for toxoplasmosis: current status. *Microbes Infect* 5: 457-462, 2003.
11. Boyer KM, Remington JS, MacLeod RL. Toxoplasmosis. In: Feigin and Cherry, ed. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1998. p. 2473-2490.
12. Brezin AP, Kasner L, Thulliez P, Li Q, Daffos F, Nussenblatt RB, Chan CC. Ocular toxoplasmosis in the fetus: immunohistochemistry analysis and DNA amplification. *Retina* 14: 19-26, 1994.
13. Buchinder S, Blatz R, Rodloff AC. Comparison of real-time PCR detection methods for B1 and P30 genes of *Toxoplasma gondii*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 45: 269-271, 2003.
14. Burg JL, Grover CM, Poutetty P, Boothroyd JC. Direct and sensitive detection of pathogenic protozoa, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 27: 1787-1792, 1989.
15. Buxton D, Innes EA. A commercial vaccine for ovine toxoplasmosis. *Parasitol* 110 (Suppl. S): 11-16, 1995.
16. Calvão AD. Manifestações oftalmológicas na toxoplasmose congênita [Monografia, curso de medicina].Niterói: Universidade Federal Fluminense, 2002.
17. Camargo ME, Leser PG, Rocca A. Rheumatoid factors as a cause for false positive IgM anti-Toxoplasma fluorescentes testes. A technique for specific results. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 14: 310-313, 1972.
18. Camargo ME, Leser PG, Guarnieri DB, Rocca A. Padronização de testes sorológicos para toxoplasmose, problema urgente da patologia clínica. *Rev Bras Patol Clin* 13: 1-5, 1977.
19. Camargo ME, Silva SM, Leser PG, Granato CH. Aidez de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 33: 213-218, 1991.
20. Camargo ME. Toxoplasmose. In: Ferreira AW, Ávila SLM, ed. *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-íunes*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 278-286.
21. Chumpitazi BF, Boussaid A, Pelloux H, Racinet C, Bost M, Goullier-Fleuret A. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by immunoblotting and relationship with other methods. *J Clin Microbiol* 33: 1479-1485, 1995.
22. Contreras MD, Sandoval ML, Salinas P, Muñoz P, Vargas S. Utilidad diagnóstica de ELISA IgG/IgM/IgA y ELISA aidez de IgG em toxoplasmosis reciente y cronica. *Bol Chil. Parasitol* 55: 1-10, 2000.
23. Davidson MG, Lapin MR, English RV, Tompkins MB. A feline model of ocular toxoplasmosis. *Invest Ophthalmol Sissual Sci* 12: 3653-3660, 1993.
24. Denkers EY, Gazzinelli RT. Regulation and function of T-cell-mediated immunity during *Toxoplasma gondii* infection. *Clin Microbiol Rev* 11: 569-588, 1998.
25. Derouin F, Mazon MC, Garin YJF. Comparative study of tissue culture and mouse inoculation methods for demonstration of *Toxoplasma gondii*. *J Clin Microbiol* 25: 1597-1600, 1987.
26. Desmonts G, Naot Y, Remington JS. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious disease: diagnosis of acute congenital and acquired *Toxoplasma* infections. *J Clin Microbiol* 14: 486, 1981.

27. Dobrowolski JM, Sibley LD. Toxoplasma invasion of mammalian cells is powered by the actin cytoskeleton of the parasite. *Cell* 84: 933-939, 1996.
28. Dubey JP, Lin TL. Acute toxoplasmosis in a gray fox (*Urocyon cinereargenteus*). *Vet Parasitol* 51: 321-325, 1994.
29. Dubey JP, Navarol. TC, Sreekumar E, Dah RL, Freire HH, Kawabata MCB, Vianna OCH, Kwok SK, Shen P, Thulliez and T. Lehmann Lin TL. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Parana, Brazil: Seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic Characterization of isolates. *J Parasitol* 90: 721-726, 2004.
30. Ellis JT. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. *Int J Parasitol* 28: 1053-1060, 1998.
31. Evengard B, Petersson K, Engman ML, Wiklund S, Ivarsson SA, Tear Fahnehjelm K, Forsgren M, Gilbert R, Malm G. Low incidence of toxoplasma infection during pregnancy and in newborns in Sweden. *Epidemiol Infect* 127: 121-127, 2001.
32. Falangola MF, Petito CK. Choroid plexus infection in cerebral toxoplasmosis in AIDS patients. *Neurology* 10: 2035-2040, 1993.
33. Foulon W. Congenital toxoplasmosis: is screening desirable? *Scandin J Infect Dis* 84 (Suppl.): 11-17, 1992.
34. Foulon W, Naessens A, Derde MP. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. *Am J Prenatal* 11: 57-62, 1994.
35. Frenkel JK. Toxoplasmosis: parasite life cycle pathology and immunology. In: Hammond DM, Long PL, eds. *The Coccidia*. Baltimore: University Park Press, 1973. p. 343-410.
36. Frenkel JK. Toxoplasmosis. In: Veronesi R, editor. *Tratado de infectologia*. 2a ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 1310-1325.
37. Garcia JL, Gennari SM, Machado RZ, Navarro IT. *Toxoplasma gondii*: Detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. *Exp Parasitol* 113: 267-271. 2006.
38. Gross U, Roos T, Appoldt D, Heeseman J. Improved serological diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection by detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against P30 by using the immunoblot technique. *J Clin Microbiol* 30: 1436-1441, 1992.
39. Hall SM. Congenital Toxoplasmosis [Review]. *BMJ* 305: 291-297, 1992.
40. Haumont M, Delhaye L, Garcia L, Jurado M, Mazzu P, Daminet V, Verlant V, Bollen A, Biemans R, Jacquet A. Protective immunity against congenital toxoplasmosis with recombinant SAG1 protein in a guinea pig model. *Infect Immun* 68: 4948-4953, 2000.
41. Hinrichsen SL, Valente A, Rolim H, Jucá M. Toxoplasmosis. In: Hinrichsen SL, ed. *Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 1 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2005. p. 421-427.
42. Hofflin JM, Remington JS. Tissue culture isolation of *Toxoplasma* from blood of a patient with AIDS. *Arch Intern Med* 145: 925-926, 1985.
43. Howe DK, Sibley DL. *Toxoplasma gondii* comprise three clonal lineage: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis* 172: 1561-1566, 1995.
44. Jenum PA, Stray-Pedersen B, Melby KK, Kapperud G, Whitelaw A, Eskil A, Eng J. Incidence of *Toxoplasma gondii* infection in 35.940 pregnant women in Norway and pregnancy out-come for infected women. *J Clin Microbiol* 36: 2900-2906, 1998.
45. Jones JL, Kruszon-Moran D, Wilson M. *Toxoplasma gondii* infection in the United States, 1999-2000. *Emerg Infect Dis* 9: 1371-1374, 2003.
46. Joynton DH, Payne RA, Rawal BK. Potential role of IgG avidity for diagnosing toxoplasmosis. *J Clin Pathol* 43: 1032-1033, 1990.
47. Kawazoe U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves DP. *Parasitologia Humana*. 11 ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 149-156.
48. Khalifa KES, Roth A, Roth B, Arasteh KN, Janitscheke K. Value of PCR for evaluating occurrence of parasitemia in immunocompromised patients with cerebral and extracerebral toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 32: 2813-2819, 1994.

49. Kompalic-Cristo A. Lack of technical specificity in the molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 98: 92-95, 2004.
50. Kong JT, Grigg ME, Uyetake L, Parmley S, Boothroyd JC. Serotyping of *Toxoplasma gondii* infections in humans using synthetic peptides. *J Infect Dis* 187: 1484-1495, 2003.
51. Letscher-Bru V, Pfaff AW, Abou-Bacar A, Filisetti D, Antoni E, Vilard O, Klein JP, Candolfi E. Vaccination with *Toxoplasma gondii* SAG-1 protein is protective against congenital toxoplasmosis in BALB/c mice but not in CBA/J mice. *Infect Immun* 71: 6615-6619, 2003.
52. Liesenfeld O. Immune responses to *Toxoplasma gondii* in the gut. *Immunobiology* 201: 229-239, 1999.
53. Manual de Instruções de Uso do Sistema AXSYM Toxo IgG e IgM produzido por Abbott Laboratories ; Estados Unidos, 2000.
54. Manual de Instruções de Uso do Sistema VIDAS Toxo IgM, produzido por Bio-Merieux, S.A.; França, 1998.
55. McQuillan GM, Kruszon-Moran D, Kottiri BJ, Curtin LR, Lucas JW, Kington RS. Racial and ethnic differences in the seroprevalence of 6 infectious diseases in the United States: data from NHANES III, 1988-1994. *Am J Public Health* 94: 1952-1958, 2004.
56. Meirelles Filho J. Toxoplasmose e gravidez: inquérito sorológico em gestantes e seus recém-nascidos na Maternidade-Escola da Universidade Federal do Rio de Janeiro. *J Bras Ginecol* 95: 393-401, 1985.
57. Mineo J, McLeod R, Mack D, Smith J, Khan IA, Ely KH, Kasper LH. Antibodies to *Toxoplasma gondii* major surface protein (SAG-1, P30) inhibit infection of host cells and are produced in murine intestine after peroral infection. *J Immunol* 150: 3951-3964, 1993.
58. Mohamed RM, Aosai F, Chen M, Mun HS, Norose K, Belal US, Piao LX, Yano A. Induction of protective immunity by DNA vaccination with *Toxoplasma gondii* HSP70, HSP 30 and SAG1 genes. *Vaccine* 21: 2852-2861, 2003.
59. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 363: 1965-1976, 2004.
60. Nascimento ILO, Carvalho S, Asfora S, Freire SM, Simões JM, Schaefer RE, Roberto M. Estudo da prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em mulheres grávidas no Estado da Bahia. *Rev Cienc Med Biol* 1: 12-15, 2002.
61. Nielsen HV, Laemoller SL, Christiansen L, Buus S, Fomsgaard A, Petersen E. Complete protection against lethal *Toxoplasma gondii* infection in mice immunized with a plasmid encoding the SAG1 gene. *Infect Immun* 67: 6358-6363, 1999.
62. Nóbrega MC, Magalhães V, Albuquerque Y, Magalhães C, Arcoverde C. Toxoplasmose em gestantes e em seus recém-nascidos, atendidos no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco. *RBM Cad Ginecol Obstet* 56: 23-29, 1999.
63. Petersen E, Schmidt DR. Sulfadiazine and pyrimethamine in the postnatal treatment of congenital toxoplasmosis: What are the options? *Expert Rev Anti Infect Ther* 1: 175-182, 2003.
64. Petersen E, Borobio MV, Guy E, Liesenfeld O, Meroni V, Naessens A, Spranzi E, Thulliez P. European multicentre study of the LIAISON automated diagnostic system for determination of specific IgG, IgM and IgG-avidity index in toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 43: 1570-1574, 2005.
65. Petersen E. Toxoplasmosis. *Seminars in Fetal et Neonatal Medicine* 12: 214-223, 2007.
66. Peyron F, Eudes N, de Monbrison F, Wallon M, Picot S. Fitness of *Toxoplasma gondii* is not related to DHFR single-nucleotide polymorphism during congenital toxoplasmosis. *Int J Parasitol* 34: 1169-1175, 2004.
67. Pfefferkorn ER. Cell Biology of *Toxoplasma gondii*. In: David J W. *Modern parasite biology: Cellular, immunological and molecular aspects*. New York: WH Freeman, 1990. p. 26-50.
68. Pfefferkorn ER, Borotz SE, Nothnagel RF. *Toxoplasma gondii*: characterization of a mutant resistant to sulfonamides. *Exp Parasitol* 74: 261-270, 1992.
69. Philocreon GR. Toxoplasmose e gravidez: inquérito clínico-epidemiológico em gestantes de Goiânia [Tese de Doutorado]. Goiânia: Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Goiás, 1976. 121 p.
70. Reiche EMV, Morimoto HK, Farias GN, Hisatsugu KR, Geller L, Gomes ACLF, Inoue HY, Rodrigues G, Tiemi M. Prevalence of American trypanosomiasis, syphilis, toxoplasmosis, rubella,

- hepatitis B, hepatitis C, human immunodeficiency virus infection, assayed through serological tests among pregnant patients, from 1996 to 1998, at the Regional University Hospital Norte do Paraná. *Rev Soc Bras Med Trop* 33: 519-527, 2000.
71. Remington JS, Macleod R, Desmots G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO. *Infectious diseases of the new-fetus and born infant*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994.
 72. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmots G. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, eds. *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 5 ed. Philadelphia: WB Saunders, 2001. p. 205-346.
 73. Remington JS, Thulliez P, Montoya JG. Recent developments for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol* 42: 941-945, 2004.
 74. Roberts C, Cruickshank S, Alexander J. Sex-determined resistance to *Toxoplasma gondii* is associated with temporal differences in cytokine production. *Infect Immun* 63: 2549-2555, 1995.
 75. Roque-Resendiz JI, Rosales R, Herion P. MVA ROP2 vaccinia virus recombinant as a vaccine candidate for toxoplasmosis. *Parasitol* 128: 397-405, 2004.
 76. Rorman E, Zamir CS, Rilkis I, Ben-David H. *Reprod Toxicol* 21: 458-472, 2006.
 77. Rosa C, Kasail N, Souza SLP, Guerra JL, Rego AA, Gennari SM. Comparação das técnicas de imuno-histoquímica e bioensaio em camundongos para pesquisa de *Toxoplasma gondii* em tecidos de caprinos, experimentalmente inoculados. *Arq Inst Biol São Paulo* 68: 13-17, 2001.
 78. Sáfadi MAP. Toxoplasmose. *Pediatria Moderna* 36: 9-19, 2000.
 79. Salvador-Guillouet F, Ajzenberg D, Chaillou-Opitz S, Saint-Paul MC, Dunais B, Dellamonica P, Marty P. Severe pneumonia during primary infection with an atypical strain of *Toxoplasma gondii* in an immunocompetent young man. *J Infection* 53: 47-50, 2006.
 80. Schmidt DR, Hogh B, Andersen O, Fuchs J, Fledelius H, Petersen E. The national neonatal screening programme for congenital toxoplasmosis in Denmark: results from the initial four years, 1999-2002. *Arch Dis Child* 91: 661-665, 2006.
 81. Schmidt DR, Hogh B, Andersen O, Hansen SH, Dalhoff K, Petersen E. Treatment of infants with congenital toxoplasmosis: tolerability and plasma concentration of sulfadiazine and pyrimethamine. *Eur J Pediatr* 165: 19-25, 2006.
 82. Sensini A. *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy: opportunities and pitfalls of serological diagnosis. *Clin Microbiol Infect* 12: 504-512, 2006.
 83. Sibley LD, Boothroyd JC. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. *Nature* 359: 82-85, 1992.
 84. Spalding SM, Amendoeira MRR, Ribeiro LC, Silveira C, Garcia AP, Camillo-Coura L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop*. 36: 483-491, 2003.
 85. Sternberger L, Hardy PH, Cuculis JJ, Meyer HG. The unlabeled antibody method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen antibody complex (Horseradish peroxidase anti horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem* 18: 315, 1970.
 86. Su C, Howe DK, Dubey JP, Ajioka JW, Sibley LD. Identification of quantitative trait loci controlling acute virulence in *Toxoplasma gondii*. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 10753-10758, 2002.
 87. SVS/MS (Secretaria de Vigilância em Saúde/Ministério da Saúde) – Surto de Toxoplasmose no Município de Anápolis-GO, Fevereiro de 2006. Disponível em: <<http://www.portal.saude.gov.br/portal>> Acesso em: 13 jun.2008.
 88. Tsunematsu Y, Shioiri K, Kusano N. Three cases of lymphadenopathy toxoplasmic with special reference to the application of fluorescent antibody technique for detection of *Toxoplasma gondii* in tissue. *J Exp Med* 34: 217-230, 1964.
 89. Viotti NMA, Freire RL, Navarro IT, Vidotto O. Avaliação das técnicas de Hematoxilina-Eosina, imunofluorescência e peroxidase anti-peroxidase no diagnóstico post-mortem da Toxoplasmose suína. *Semina Cienc Agric* 16 : 107-1141, 1995.
 90. Wong SY, Remington JS. Biology of *T. gondii*. *AIDS* 7: 299-316, 1993.

PRÓXIMOS EVENTOS NA ÁREA DE PATOLOGIA TROPICAL E SAÚDE PÚBLICA

17ª. Conferencia Internacional sobre Aids, Ciudad de México, México, 3 a 8 de agosto de 2008. Informações: www.aids2008.org

X International Congress on Paracoccidiodomycosis, Medellín, Colômbia, 7 a 10 de agosto de 2008. Information: www.pcm2008.org

11º. Simpósio Internacional sobre Esquistossomose, Salvador, BA, 20 a 22 de agosto de 2008. Informações: www.esquistossomose2008.com.br

XI Simpósio Internacional sobre control Epidemiológico de enfermedades transmitidas por vectores, Buenos Aires, Argentina, 2 a 3 de septiembre de 2008. Informaciones: www.mundosano.org

II Simpósio da Sociedade Brasileira de Parasitologia, Regional da Bahia. Alagoinhas, BA, 4 a 5 de setembro de 2008. Informações: neuzalcantara@gmail.com

VII Congresso da Sociedade Brasileira de Doenças Sexualmente Transmissíveis, Goiânia, GO, 7 a 10 de setembro de 2008. Informações: www.dst2008.com.br

International Health and Tropical Medicine 08, the Annual meeting of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, Brighton, United Kingdom, 17th to 19th September, 2008. Information: www.rstmh.ukevents.org

24ª Reunião de Pesquisa Aplicada em doença de Chagas e 12ª Reunião de Pesquisa Aplicada em Leishmanioses, Uberaba, 23 a 25 de outubro de 2008. Informações em: chagasleish2008@cpqrr.fiocruz.br e www.cpqrr.fiocruz.br/chagasleish2008

9th International Meeting on Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics of Infectious Diseases (MEEGID IX), Irvine, California, USA, 30th october to 1st November, 2008. Information: www.ird.fr or www.uci.edu

VIII Congreso Argentino de Protozoología y Enfermedades Parasitarias, Rosario, Argentina, 2 al 5 de noviembre, 2008. Informaciones: congreso_sap08@ibr.gov.ar

I Workshop de inovação tecnológica em saúde da Fiocruz/Pernambuco, Recife, PE, 11 a 12 de novembro, 2008. Informações: factos@factos.com.br

57th Annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, New Orleans, USA, 7 to 11 december, 2008. Information: www.astmh.org/meetings

45º. Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Recife, PE, 8 a 12 de março de 2009. Informações: www.medtrop2009.com.br

XXI Congresso Brasileiro de Parasitologia e II Encontro de Parasitologia do Mercosul, Foz do Iguaçu, PR, 26 a 30 de outubro de 2009. Informações: www.cbparasito2009.com.br