

# INFECCÕES DO GRUPO TORCH: ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E LABORATORIAL DE UM GRUPO DE GRAVIDEZ DE ALTO RISCO COM ÊNFASE NA INFECÇÃO POR TOXOPLASMA GONDII

## INFECCÕES DO GRUPO TORCH: ANÁLISE EPIDEMIOLÓGICA E LABORATORIAL DE UM GRUPO DE GRAVIDEZ DE ALTO RISCO COM ÊNFASE NA INFECÇÃO POR TOXOPLASMA GONDII

ANA FLÁVIA EUGÊNIO LOURENÇO<sup>1</sup>, ALINE ALMEIDA BARBARESCO<sup>1</sup>, TATIANE LUIZA DA COSTA<sup>1</sup>, MARIA HELENA TAVARES VILELA<sup>2</sup>, WALDEMAR NAVES DO AMARAL<sup>3</sup> E ANA MARIA DE CASTRO<sup>4</sup>

**Palavras-chave:** gestantes, TORCH, toxoplasmose, epidemiologia, diagnóstico

**Keywords:** pregnancy, TORCH, toxoplasmosis, epidemiology, diagnosis

### RESUMO

*Introdução:* As doenças causadas por protozoários, bactérias e vírus podem levar à morte do feto, lesão de órgãos, ou sequelas limitada, dependendo do agente patogênico. O grupo de agentes patogênicos teratogênicos se referido como TORCH.

*Objetivos:* Analisar dados epidemiológicos e os resultados sorológicos do pré-natal em gestantes de risco, para infecções do grupo TORCH, detectar a presença de *Toxoplasma gondii* por meio de análise histopatológica e PCR nas placentas de gestantes com sorologia positiva para Toxoplasmose.

*Metodologia:* Participaram deste estudo, 32 gestantes triadas pelo Serviço de Ginecologia do Hospital das Clínicas Universidade Federal de Goiás, no qual foram coletados sangue e placenta, o material biológico foi examinado por técnicas sorológica, anatomopatológica e molecular.

*Resultados:* As gestantes possuíam idade média de 26,5 anos, baixa escolaridade, com e a maioria, não possuíam renda própria. A soro-positividade encontrada foi de 78,1% para toxoplasmose, 9,4% para Citomegalovírus, 9,4% para Sífilis, 3,1% para Rubéola. A relação do peso placentário com a idade gestacional demonstrou que 43,7% baixo peso e 28,1% acima do peso. O exame anatomopatológico das placentas demonstrou sinal de infecção em 15,6% dos casos. O PCR detectou o DNA de *Toxoplasma gondii* em 60% das placentas.

*Conclusão:* O grupo estudado possui de baixa renda e escolaridade. Análise histopatológica e molecular das placentas para a detecção do *Toxoplasma gondii* demonstrou que a técnica de PCR é mais sensível do que anatomopatológico do tecido placentário. Os dados epidemiológicos e sorológicos são essenciais para implantação de programas de saúde da gestante.

### ABSTRACT

*Objectives:* To analyze the epidemiological and serological data from pre-natal examinations from pregnant women with high risk to TORCH group infection, and to detect the presence of *Toxoplasma gondii* through the histopathological and PCR analysis of the placentas from pregnant women with positive serology to toxoplasmosis.

1 - Programa de Pós Graduação em medicina Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

2 - Departamento Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Goiás.

3 - Professor adjunto do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia da Faculdade Medicina da Universidade Federal de Goiás, mestre e doutor pelo Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

4 - Departamento de Microbiologia, Imunologia, Parasitologia e Patologia (DMIPP), Setor de Microbiologia do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás.

*Methodology: 32 pregnant women triaged from the Gynecology Service of the Clinics Hospital of the Federal University of Goiás participated in this study. From them we collected blood and placenta which were examined by serological, anatomopathological and molecular techniques.*

*Results: the pregnant women had an average age of 26.5 years, low education, without personal income. The toxoplasmosis seropositivity was of 78.1%, 9.4% to cytomegalovirus, 9.4% to syphilis and 3.1% to rubeola. The relation between the placental weight with the stage of pregnancy demonstrated that 43.7% were with low weight and 28.1% were with high weight. The anatomopathological examination of the placentas showed signs of infection in 15.6% of the cases. The PCR detected *Toxoplasma gondii* DNA in 60% of the placentas.*

*Conclusion: the studied group has low income and education. The histopathological and molecular analysis of the placentas aiming the *Toxoplasma gondii* detection showed that the PCR technique is more sensitive than the anatomopathological analysis of the placental tissue. The epidemiological and serological data are essential to the implantation of pregnant women health programmes.*

## INTRODUÇÃO

As doenças causadas por protozoários, bactérias e vírus podem levar à morte do feto, lesão de órgãos, ou sequelas limitada, dependendo do agente patogênico. O grupo de agentes patogênicos teratogênicos é referido como TORCH (*Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Rubella virus*, *Citomegalovirus*, *Vírus Herpes simplex* e outros como, *Parvovirus B19*, *herpes-zóster* e *Plasmodium falciparum*<sup>1,2</sup>. Nas gestantes podem provocar alterações que determinam a morte do concepto ou que agravam o prognóstico neonatal como: prematuridade, retardo de crescimento intra-uterino, anomalias do desenvolvimento e malformações congênicas. Mesmo sendo a criança normal ao nascer, esta pode apresentar sequelas futuras, por tanto, é importante realizar um pré-natal adequado, para evitar danos futuros ao seu desenvolvimento<sup>3</sup>.

A toxoplasmose congênita, a principal causa de patologia fetal, pode aparecer quando a mãe está contaminada por o protozoário *Toxoplasma gondii* durante a gravidez<sup>4</sup>. Este protozoário é obrigatoriamente intracelular, tem como principais mecanismos de transmissão, ingestão de alimentos contaminados com oocistos liberados nas fezes de felídeos ou com cistos contendo bradizoítas e a transmissão congênita<sup>5</sup>.

O diagnóstico de toxoplasmose em mulheres grávidas são utilizados testes sorológicos e Reação em cadeia da polimerase (PCR). A triagem sorológica sistemática para *T. gondii* IgG e IgM, são realizados no início da gestação, de preferência durante o primeiro trimestre, e em mulheres soronegativas realizar em cada mês ou trimestre. O rastreio permite a detecção de soroconversão e início de tratamento<sup>6,7</sup>. Apesar de rastreio é raramente realizada, nos Estados Unidos, essa triagem é obrigatória por lei em alguns países (por exemplo, França e Áustria), para facilitar a detecção precoce da infecção<sup>8</sup>.

Este trabalho tem como objetivos, analisar história epidemiológica e os resultados sorológicos do pré-natal de um grupo de gestantes de risco, para infecções do grupo TORCH, detectar a presença de *T. gondii* por meio de análise histopatológica e PCR nas placentas de gestantes de risco com sorologia positiva para o *T. gondii*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás (HC-UFG), protocolo 041/07. As gestantes foram incluídas na pesquisa após assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido e responderem a um questionário epidemiológico com informações sobre: idade, escolaridade, vínculo empregatício, epidemiologia e paridade. Este questionário serviu para estabelecer características sócio-demográficas que podem estar associadas à infecção pelo *T. gondii*. Durante o período correspondente de maio de 2007 a outubro de 2008, foram acompanhadas no pré-natal de alto risco do HC-UFG, 104 gestantes, todas foram entrevistadas, um total de 54 gestantes se enquadrava na pesquisa por apresentarem sorologia positiva para algum dos agentes da TORCH, e aceitaram participar do projeto. Durante o período estudado foi possível coletar 32 amostras placentárias. A triagem foi realizada obtendo-se os dados sorológicos dos prontuários do HC-UFG. Durante o pré-natal as gestantes foram atendidas nos postos de atendimento do Sistema Único de saúde (SUS) e o material coletado (sangue) foi encaminhado ao Instituto de Pesquisa, Ensino e Diagnóstico (IPED) da Associação dos Pais e Amigos dos Excepcionais (APAE) de Goiânia, para realização dos exames sorológicos para sífilis, toxoplasmose, rubéola, citomegalovírus, doença de chagas, toxoplasmose, e a este foi acrescido o teste de avididade da IgG para *Toxoplasma gondii*. A metodologia utilizada para os exames sorológicos foram: teste de floculação VDRL (Venereal Diseases Research Laboratory) e Imunofluorescência Indireta (FTA-ABS) para detecção da sífilis, teste de ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*) para doença de Chagas, toxoplasmose, rubéola e o citomegalovírus. As gestantes que apresentaram anticorpos específicos das classes IgM e/ou IgG em níveis elevados, pelo menos três vezes o valor do *Cut-off* da reação de ELISA, para as infecções da síndrome de TORCH foram encaminhadas ao Serviço de Ginecologia e Obstetrícia do HC-UFG, que possui um Programa de Gestação de Alto Risco que é referência para o município de Goiânia, Goiás.

Após o parto as placentas foram coletadas pela equipe cirúrgica do HC, cerca de 10 gramas da placenta foi armazenada em solução fisiológica a 0,9% em frasco estéril e processada no Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) para o diagnóstico parasitológico de identificação do *T. gondii* por PCR, e a outra parte da placenta foi armazenado em solução de Formol a 10% para o anatomopatológico. A placenta foi analisada por exame macroscópico e microscópico utilizando o protocolo para o anatomopatológico de Benirschke; Kaufmann<sup>9</sup>. O DNA do tecido placentário foi extraído segundo recomendação Invitrogen™ PureLink™ Genomic DNA Purification Kit®, Carlsbad, CA, USA. A reação de PCR foi realizada com volume final de 25 µL, contendo 10 mM TRIS HCl (pH 9,0), 3,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 U de Taq DNA Polimerase (Invitrogen), 0,5 mM de cada dNTP (Sigma Chemical Co., USA), 25 pmoles de cada primer (Invitrogen) e 2 µL de DNA molde. As reações foram realizadas no termociclador Master Cycler Persona®. O programa de amplificação foi constituído de uma desnaturação inicial a 94°C (5 min), 35 ciclos de desnaturação a 94°C (1 min), anelamento a 62°C (1 min) e extensão a 72°C (1 min), seguida de extensão final a 72°C (10 min). As reações foram realizadas em duplicata, utilizando uma sequência do gene B1 do *T. gondii*. Os pares de primers utilizados foram: Toxo-T1 (5'-ATG GTC CGC CCG GTG TAT GAT ATG CGA T -3'), Toxo-T2 (5'-TCC CTA CGT GGT GCC GCA GTT CCT -3')<sup>10</sup>. Os produtos amplificados pela PCR foram visualizados por eletroforese em géis de poliacrilamida a 6% revelados pela prata<sup>11</sup>. Foram utilizados tecidos de camundongos infectados com a cepa RH como controles positivos, e de animais sem infecção como controle negativo. Os resultados foram analisados estatisticamente no programa *Sigma Stat*, todas as variáveis foram testadas quanto à distribuição normal e variância homogênea. As diferenças observadas foram consideradas significantes quando  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

**Dados sócio-demográficos:** As características maternas como: faixa etária, paridade, escolaridade, vínculo empregatício e epidemiologia foram analisados de acordo com o questionário aplicado as gestantes, logo após o aceite em participar da pesquisa, os dados estão representados na tabela 1.

**Soropositividade para TORCH:** Das 32 amostras analisadas 62,5% (20/32) tinham sorologia IgM e IgG positiva para toxoplasmose, 15,6% (5/32) somente IgG, totalizando 25 pacientes com sorologia para *T. gondii*, 9,4% (3/32), para Citomegalovírus, 9,4% (3/32) com sorologia positiva para Sífilis, 3,1% (1/32), com sorologia positiva para Rubéola e nenhuma com sorologia positiva para Herpes.

**Teste de Aidez para Toxoplasmose:** Nas 25 amostras soropositivas para *T. gondii*, foi realizado o teste de aidez sendo que 4% (1/25) apresentou baixa aidez, estando no 3º trimestre da gravidez, 12% (3/25) apresentaram resultados indeterminados, sendo que um das gestantes não tinha dados sobre o período de gravidez e as outras duas, estavam no segundo trimestre, estas gestantes foram consideradas com indicativo de infecção recente; e 84% (21/25) apresentaram alta aidez, indicativo de infecção tardia.

**Análise macroscópica da placenta:** O peso da placenta relacionado com a idade gestacional demonstrou que 28,1% (9/32) das placentas tiveram peso normal; 43,8% (14/32) apresentaram peso menor do que o esperado para a idade gestacional, e 28,1% (9/32) apresentavam-se com peso maior que o normal. Dentre as 25 mulheres com sorologia positiva para toxoplasmose; 28% (7/25) das placentas tinham baixo peso; 44% (11/25) estavam acima do peso e 28% (7/25) apresentavam peso normal para idade gestacional (Tabela 2). Esses dados foram realizados com base á tabela de peso placentário de Boyd & Hamilton<sup>12</sup>.

**Análise Microscópica da Placenta:** Nas 32 amostras placentárias analisadas, os resultados foram compatíveis com processo infeccioso específico em 15,6% (5/32). Dessas cinco placentas que apresentaram presença de infecção, 80% (4/5) pertenciam a mães com sorologia positiva para toxoplasmose e 20% (1/5) apresentou sorologia positiva para rubéola. Não foram observadas alterações morfológicas relacionadas à infecção nas placentas das pacientes com sífilis e citomegalovírus. As principais alterações placentárias encontradas foram associadas a infecções por via hematogênica ou ascendente sendo observado: corionite em 40% (2/5) das placentas, corioamnionite também em 40% (2/5) e vilosite em 20% (1/5).

**PCR:** Foi realizada nas 25 amostras de placentas das grávidas que apresentavam sorologia positiva para *T. gondii*. A reação foi realizada em duplicata, sendo que o resultado considerado positivo ou negativo, quando concordante em duas reações, no caso de dúvida uma terceira reação foi realizada. Foi possível detectar a presença de *T. gondii*, em 60% (15/25) das amostras analisadas.

## DISCUSSÃO

A iniquidade na assistência à gestante<sup>13</sup> e a falta de protocolo nacional de atendimento as gestantes, gera múltiplos problemas para implantação de programas de saúde tanto da gestante como no controle das doenças de transmissão congênita<sup>14</sup>. O conhecimento sobre a epidemiologia, clinica e dados laboratórios das grávidas de risco são suma importância.

As gestantes que participaram desta pesquisa tinham idade média de 26,5 anos, Considerando-se a faixa etária, identifica-se maior prevalência de anticorpos IgG em gestantes na idade

adulta, o que pode ser explicado pelo aumento da exposição a fontes de infecção ao longo de sua vida, dado este corroborado pela revisão de Elsheika<sup>15</sup>.

Dados relatados na literatura como por Varela e colaboradores<sup>16</sup>, informam que, entre todas as variáveis estudadas, o que leva a um maior risco de adquirir toxoplasmose é uma educação de nível inferior a nove anos de escolaridade, resultados semelhantes foram relatados por Avelino et al.<sup>17</sup>, onde mulheres grávidas, com baixo nível educacional e baixa renda (menos de dois salários mínimos) mostraram uma maior chance de infecção de toxoplasmose. Trabalho recente também demonstrou que gestantes com até oito anos de escolaridade possuem 1,8 vezes mais o risco de se infectarem<sup>18</sup>. Estes resultados enfatizam a importância de investir em educação como meio de promoção a saúde da população<sup>15,16,18</sup>.

Pode-se observar que a maioria das gestantes (72%) reside no município de Goiânia sendo este dado justificado pelo sistema de descentralização de atendimento do SUS, onde as pacientes são atendidas em seu próprio município.

Os dados demonstram que soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* foram de 79%, seguida de 9% para citomegalovírus, 9% para sífilis e 3% para rubéola, estes resultados reforçam e corroboram com a alta soroprevalência e importância da toxoplasmose em Goiás, estando de acordo com os dados obtidos por Avelino, em Goiânia<sup>19</sup> que demonstrou que 65,8% das mulheres em idade fértil, possuíam sorologia positiva para toxoplasmose<sup>3</sup>.

Alguns estudos relacionam às infecções placentárias com um aumento no peso e volume da placenta é resultado do edema em resposta a reação inflamatória<sup>12,20</sup>. A análise macroscópica das placentas, neste estudo, demonstrou que 43,8% eram de baixo peso para idade gestacional, contrariando outras pesquisas, como a de Garcia<sup>21</sup>, que descreve que nas infecções hematogênicas o aspecto macroscópico apresenta um aumento do peso e volume da placenta causada principalmente pelo edema viloso. Em outro estudo realizado por Garcia & Bittencourt<sup>20</sup> afirma que na placentite aguda causada pela toxoplasmose, na análise macroscópica a placenta apresenta um discreto aumento de peso e volume. A presença de alterações histopatológicas compatíveis com infecção específica no exame placentário foi verificada somente em cinco placentas que correspondem a 15,6% dos casos, desses 80% (4/5) das gestantes tinham anticorpos IgM para toxoplasmose e uma anticorpos IgM para rubéola. Os resultados específicos que podem ser relacionados com infecções parasitaria, incluíram, com mais frequência, a corioamnionite aguda, a amnionite e a vilosite<sup>20,22</sup>. Nos dados de Knox & Fox<sup>23</sup>, a vilosite crônica é um importante achado patológico na placenta, porém em sua maioria é de etiologia desconhecida pode ser encontrada

em casos de infecções específicas, como citomegalovírus, toxoplasmose, rubéola<sup>23,24</sup>.

O teste de avidéz tem sido utilizado para definir se a infecção é recente ou tardia, em infecções de até quatro meses, os índices de avidéz quando são inferiores a valores a 40%, são caracterizados como baixa avidéz, e se ocorreu há mais de seis meses os títulos permanecem acima de 60% de anticorpos de alta avidéz<sup>25</sup>. Das 25 pacientes que tiveram sorologia positiva para toxoplasmose, 23 (92%) fizeram o teste de avidéz da IgG, sendo que só uma (4%) apresentou baixa avidéz, indicativo de infecção recente, três (12%) apresentaram resultados indeterminados e 21 (84%) apresentaram alta avidéz, indicativa de infecção que ocorreu há mais de quatro meses, estes dados são corroborados pelo trabalho de Rahbari et al.<sup>25</sup>, demonstrando que o teste de avidéz pode ser importante para indicação do período de infecção pelo *T. gondii*. Devido à importância da toxoplasmose, e da maioria das pacientes serem de risco para toxoplasmose congênita, enfatizamos a pesquisa de *T. gondii* nas placentas pela PCR, procedimento indicado por Garcia & Bittencourt<sup>20</sup>, como subsidiários que podem ser usados para complementação dos exames. O exame de PCR é usado na detecção do DNA do parasito. Esse exame foi realizado nas placentas das 25 gestantes que apresentaram sorologia positiva para toxoplasmose e dessas a PCR demonstrou a presença do *T. gondii* em 60% das amostras, sendo considerada uma porcentagem relevante, frente aos dados sorológicos e de avidéz obtidos no soro das pacientes, apesar de não ter sido possível o acompanhamento dos recém-nascidos destas mulheres, salientamos a necessidade do acompanhamento dos recém-nascidos destas grávidas, pois a correlação da presença de *T. gondii* na placenta com a ocorrência de infecção fetal é muito elevada<sup>26</sup>. Na fisiologia da toxoplasmose congênita a placentopatia precede sempre a fetopatia, e a transmissão materno-fetal se faz pela via hematogênica<sup>26</sup>. Apesar da importância da análise histopatológica das placentas e de todas as informações obtidas em nosso trabalho, foi possível detectar o DNA do parasito em 60% das pacientes com sorologia positiva para *T. gondii*, ressaltando a sensibilidade da técnica para detecção do parasito em relação à anatomopatologia, para detecção do parasito. Na comparação feita entre os exames mostrou-se que o exame anatomopatológico do tecido placentário apresentou baixa sensibilidade, no diagnóstico das infecções do grupo TORCH. O pré-natal é de suma importância no acompanhamento das gestantes e detecção da gravidez de risco. Portanto, quanto mais completa a avaliação epidemiológica e clínica com auxílio dos diferentes métodos laboratoriais, melhor será o prognóstico dos recém-nascidos de mulheres soropositivas para os agentes causadores da síndrome de TORCH.

Tabela 1– Dados sócio demográficos de 32 gestantes associadas à faixa etária, paridade, escolaridade, vínculo empregatício, epidemiologia das gestantes com sorologia positiva para infecções do grupo TORCH

CARACTERÍSTICAS	n	%
<i>Idade Materna</i>		
15 a 24 anos	19	59,4
25 a 34 anos	8	25,0
≥ 35 anos	5	15,6
<i>Paridade</i>		
Não declarou	1	
1 gestação	17	53,2
2 gestações	9	28,2
3 gestações	1	3,1
≥4 gestações	4	12,5
<i>Escolaridade</i>		
Não alfabetizada	2	6,3
Ensino fundamental	10	31,2
Ensino médio	20	62,5
<i>Vínculo Empregatício</i>		
Empregadas	4	12,5
Desempregadas	24	75,0
Trabalho informal	4	12,5
<i>Regiões do Centro Oeste</i>		
Goiânia	23	72,0
Outros municípios do Estado de Goiás	9	23,0

PESO PLACENTÁRIO	TORCH		TOXOPLASMOSE	
	n	%	n	%
Normal	9	28,1	7	28
Abaixo do Peso	14	43,8*	7	28
Acima do Peso	9	28,1	11	44*
<b>TOTAL</b>	<b>32</b>	<b>100</b>	<b>25</b>	<b>100</b>

Tabela 2- Alterações do peso placentário em gramas relacionado à idade gestacional em semanas das gestantes com sorologia positiva para TORCH

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Waldorf KMA, Mcadams RM. Influence of infection during pregnancy on fetal development. *Reproduction*, 2013; 146(5):R151-62.
2. Shet A. Congenital and Perinatal Infections: Throwing New Light with an Old TORCH. *Indian J Pediatr*, 2011; 78(1):88-95.
3. Avelino MM & Amaral WN. Toxoplasmose e Gravidez. In: *Transmissão Vertical, Infecções Congênitas. Contato Comunicações: Goiânia*. 2008. p. 326.
4. Sterkers Y, Ribot J, Albaba S, Issert E, Bastien P, Pratlong F. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by polymerase chain reaction on neonatal peripheral blood. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2011; 71(2):174-6.
5. Silva RC, Langoni H. *Toxoplasma gondii*: host-parasite interaction and behavior manipulation. *Parasitol Res*, 2009; 105(4):893-8.
6. Boyer KM, Holfels E, Roizen N, Swisher C, Mack D, Remington J, Withers S, Meier P, McLeod R. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in mothers of infants with congenital toxoplasmosis: implications for prenatal management and screening. *Am J Obstet Gynecol*, 2005; 192(2):564-71.
7. Rorman E, Zamir CS, Rilkis I, Ben-David H. Congenital toxoplasmosis—prenatal aspects of *Toxoplasma gondii* infection. *Reprod Toxicol*, 2006; 21(4):458-72.
8. Roberts T & Frenkel JK. Estimating income losses and other preventable costs caused by congenital toxoplasmosis in people in the United States. *J Am Vet Med Assoc*, 1990; 196(2):249-56.
9. Benirschke K & Kaufmann P. *Pathology of the Human Placenta*. Springer-Verlag, 1995 p. 14-22.
10. Burg JL, Grover CM, Pouletty P, Boothroyd JC. Direct and sensitive detection of pathogenic protozoa, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol*, 1989; 27(8):1787-92.
11. Santos FR, Pena SD, Epplen JT. Genetic and population study of a Y-linked tetranucleotide repeat DNA polymorphism with a simple non-isotopic technique. *Hum Genet*, 1993; 90(6):655-6.
12. Boyd JD, Hamilton WJ. *The human placenta*. Cambridge, Heffer, 1970; 2:25-36.
13. Mano PS, Cesar JA, González-Chica DA, Neumann NA. Iniquidade na assistência à gestação e ao parto em município do semiárido brasileiro. *Rev. Bras. Saúde Mater. Infant*, 2011; 11(4):381-388.
14. Margonato FB, Silva AMR, Soares DA, Araújo DA, Petris AJ. Toxoplasmose na gestação: diagnóstico, tratamento e importância de protocolo clínico. *Rev. Bras. Saúde Mater. Infant*, 2007; 7(4):381-386.
15. Elsheika HM. Congenital toxoplasmosis: Priorities for further health promotion action. *Public Health*, 2008; 122(4):335-53.
16. Varella IS, Wagner MB, Darel AC, Nunes LM, Müller RW. Prevalência de soropositividade para toxoplasmose em gestante. *J Pediatr*, 2003; 79(1):69-74.
17. Avelino MM. et al. Risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in women of child bearing age. *Braz infect Dis*. 2004; 8:164-74.
18. Bittencourt LHFB, Lopes-Mori FMR, Mitsuka-Bregano R, Valentim-Zabott M, Freire RL, Pinto SB, Navarro IT. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gestantes a partir da implantação do Programa de Vigilância da Toxoplasmose Adquirida e Congênita em municípios da região oeste do Paraná. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 2012; 34(2):63-68.
19. Avelino MM et al. Distribuição sócio-geográfica da toxoplasmose. *Rev Brasil Ginecol Obstet*, 1999; 72-76.
20. Garcia AGP & Bittencourt AL. A placenta nas infecções hematogênicas. In Bittencourt AL, *Infecções Congênitas Transplacentárias*, Revinter, São Paulo. 1995; p.15-37.
21. Garcia AGP. Fisiologia Placentária. In Garcia A, Azoubel R, *A placenta humana: morfologia e patologia fetal e perinatal*, Atheneu, Rio de Janeiro. 1986; p. 203.
22. Driscoll SG. Histopathology of gestational rubella. *Am J Di Child*, 1969; 118:49-55.
23. Knox WF & Fox H. Villitis of unknown aetiology, its incidence and significance in placental from a British population. *Rev Assoc Med Bras*, 1984; 5: 395-99.
24. Altshuler G, Russell P, Ermocilla R. The placental pathology of small for gestational age infants. *Am J Obstet Gynecol*, 1975; 121(3):351-9.
25. Rahbari AH, Keshavarz H, Shojae S, Mohebal M, Rezaeian M. IgG Avidity ELISA Test for Diagnosis of Acute Toxoplasmosis in Humans. *Korean J Parasitol*. 2012; 50(2):99-102.
26. Garcia AG, Coutinho SG, Amendoeira MR, Assumpção MR, Albano N. Placental morphology of newborn at risk for congenital toxoplasmosis. *J Trop Pediatr*, 1983; 29(2):95-103.