

Andreia Isabel de Azevedo Rodrigues

Diagnóstico da Toxoplasmose Congénita

Monografia realizada no âmbito da unidade Estágio Curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, orientada pela Professora Doutora Maria do Céu Sousa e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2015



FFUC FACULDADE DE FARMÁCIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Eu, Andreia Isabel de Azevedo Rodrigues, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o nº 2011113033 declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo da Monografia apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade curricular de Estágio Curricular.

Mais declaro que é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia desta Monografia segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Setembro, 10 de Setembro de 2015.

(Andreia Isabel de Azevedo Rodrigues)

Monografia como o tema “ *Diagnóstico da Toxoplasmose Congénita*” elaborada no âmbito do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

O orientador da Monografia

(Professora Doutora Maria do Céu Rodrigues Sousa)

O Autor da Monografia

(Andreia Isabel de Azevedo Rodrigues)

Deixo de forma simples os meus mais sinceros agradecimentos à Professora Doutora Maria do Céu Sousa, por todos os esclarecimentos, orientação prestados mas acima de tudo, toda a paciência e atenção e toda a disponibilidade que sempre demonstrou, não poderia ter escolhido melhor orientadora, por tudo isso, um muito Obrigada.

À Ana Lousã pela confiança, força e por todo o apoio que sempre me deu, és um orgulho diria até que uma inspiração.

À Raquel Roxo por todos os esclarecimentos e dúvida que sempre esclareceu tão prontamente, mas acima de tudo por toda a amizade.

Aos meus pais e aos meus amigos (são poucos, mas são os melhores) sem vocês nada disto seria possível.

Ao João de Carvalho por me ter feito chegar até aqui, por me fazer não desistir e por lutar sempre por mim.

Dedico ainda esta Monografia ao meu irmão (mais que um irmão, é a minha vida) e à minha Patty, que me vão dar o que de melhor a vida nos poderia oferecer, o meu *Gustavinho*.

Obrigada a todos.

RESUMO:

A toxoplasmose congênita é uma infecção resultante da transmissão vertical de *T. gondii* aquando de uma primoinfecção materna durante a gestação. Pode ser prevenida através da educação das grávidas para os fatores de risco, podendo ser diagnosticada através de testes serológicos e moleculares apropriados e tratada com protocolos terapêuticos que reduzem o risco de transmissão vertical e o risco de sequelas no recém-nascido.

Existem vários métodos analíticos específicos para o diagnóstico da toxoplasmose durante a gravidez, no entanto, o diagnóstico precoce da toxoplasmose congênita é mais difícil, uma vez que a produção de anticorpos contra *T. gondii* no feto ou recém-nascido é frequentemente mascarado por anticorpos maternos e/ou inibida pela terapêutica instituída.

O diagnóstico pré-natal da toxoplasmose faz-se pela deteção do DNA parasitário no líquido amniótico, sendo este o método de eleição para a determinação de infecção fetal, seguido de inoculação da amostra no murganho e pela ecografia fetal.

O diagnóstico pós-natal é normalmente realizado através da deteção dos anticorpos específicos IgM ou IgA, embora numa grande percentagem de crianças infetadas congenitamente estes possam estar ausentes ou produzidos em concentrações abaixo dos limites de sensibilidade dos métodos disponíveis. Assim, na ausência de sinais clínicos, o diagnóstico poderá ser retardado até existir uma persistência ou aumento observável de IgG específica. Pode-se ainda recorrer à inoculação da placenta no murganho e à deteção do DNA parasitário no sangue periférico, urina e LCR do recém-nascido. PCR positivo no LCR, sangue periférico ou na urina do RN é considerado diagnóstico definitivo de toxoplasmose congênita. Uma vez que a maioria dos fetos e recém-nascidos infetados não apresentam manifestações clínicas da doença, a realização de testes laboratoriais apenas a recém-nascidos que apresentassem manifestações clínicas não detetaria a infecção na maioria das crianças infetadas desde o nascimento. Assim, os métodos laboratoriais disponíveis para o diagnóstico da infecção por *T. gondii*, que incluem testes serológicos, PCR, exames citológicos e histológicos de tecido e fluidos corporais e isolamento do parasita, são essenciais para um diagnóstico e tratamento o mais precoce possível de modo a evitar sequelas severas do feto e por consequência do recém-nascido.

ABSTRACT:

Congenital Toxoplasmosis is an infection resulting from the vertical transmission of *T. gondii*, in a maternal primary infection, during pregnancy. Can be prevented through education of pregnant women for the risk factors and may be diagnosed through serological and molecular tests and treated with therapeutic protocols to reduce the risk of mother-to-child transmission and the risk of sequelae in the newborn.

There are several specific analytical methods for the diagnosis of toxoplasmosis during pregnancy, however, the early diagnosis of congenital toxoplasmosis is more difficult, since the production of antibodies against *T. gondii* in fetus or newborn is often masked by maternal antibodies and/or inhibited by therapy instituted.

Prenatal diagnosis of toxoplasmosis is done by detection of parasite DNA in amniotic fluid, which is the method of choice for the determination of fetal infection, followed by inoculation of the specimen in the gerbil and the fetal ultrasound.

Postnatal diagnosis is usually performed through the detection of specific antibodies IgM or IgA, although a large proportion of congenitally infected children can be absent or produced at concentrations below the limits of sensitivity of the methods available. Thus, in the absence of clinical signs, diagnosis may be delayed until there is a persistence or observable increase of specific IgG. You can still do an inoculation of the placenta in the gerbil and the detection of parasitic DNA in peripheral blood, urine and CSF of newborn. Positive PCR in CSF, peripheral blood or urine of newborn is considered definitive diagnosis of congenital toxoplasmosis. Since most of the fetuses and newborns infected do not show clinical signs of disease, if the laboratory tests were only submitted in newborns with clinical manifestations would not detect the infection in most children infected at birth. Thus, the available laboratory methods for the diagnosis of infection by *T. gondii*, including serological, histological and cytological tests, PCR of tissue and bodily fluids, and isolation of the parasite, are essential for a diagnosis and treatment as early as possible in order to avoid severe consequences of the fetus and consequently of the newborn.

ABREVIATURAS

ABR –Auditory Brainstem (Audiometria do tronco encefálico)

ART – Antirretroviral

CT – Tomografia Computarizada

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DT –DyeTest

ELISA – Enzyme-linked Immunosorbent Assays

IFA – Indirect Fluorescent Antibody

Ig – Imunoglobulina

ISAGA – Immunosorbent Agglutination Assay

LA – Líquido amniótico

LCR – Líquido cefalorraquidiano

PCR – Polymerase Chain Reaction

qPCR – PCR quantitativo em tempo real

RN –Recém-nascido

TC – Toxoplasmose congénita

VPP – Valor Preditivo Positivo

VPN – Valor Preditivo Negativo

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	5
2. TOXOPLASMOSE CONGÉNITA.....	7
3. DIAGNÓSTICO	9
3.1. Diagnóstico por métodos indiretos.....	9
3.2. Diagnóstico por métodos diretos.....	14
3.2.1. Técnicas moleculares	14
4. DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL	15
4.1. Exames radiológicos.....	16
4.2. Amniocentese e deteção direta do parasita	17
4.3. Sangue Fetal.....	17
5. DIAGNÓSTICO PÓS-NATAL.....	18
5.1. Serologia e PCR	18
5.2. Técnicas de imagiologia e ecografia	19
5.3. Avaliação oftalmológica e audiológica.....	19
5.4. Hemograma e função hepática.....	20
6. CONCLUSÃO	21
7. BIBLIOGRAFIA:	22

I. INTRODUÇÃO

A Toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, que pode infectar o homem e uma ampla variedade de animais, como aves e mamíferos domésticos, incluindo gatos. É causada por *Toxoplasma gondii*, um parasita eucarionte e intracelular obrigatório, de carácter oportunista.^[2,3]

O ciclo de vida de *T. gondii* caracteriza-se como heteroxeno, possuindo hospedeiros definitivos ou completos (gatos) e hospedeiros intermediários ou incompletos (mamíferos, herbívoros e aves). Os hospedeiros completos apresentam uma fase sexuada e outra fase assexuada. Os hospedeiros incompletos apenas se multiplicam assexuadamente.^[3]

A fase sexuada tem início quando um gato ingere uma das três formas de transmissão: taquizoíto, quisto contendo bradizoítos e oocistos. Estas formas infetantes podem penetrar no epitélio intestinal e multiplicarem-se, originando um conjunto de merozoítos que permanecem fechados no interior de um vacúolo celular. A lise do vacúolo liberta e dissemina os merozoítos, que irão infectar novas células. Os merozoítos evoluem para gametócitos, os quais sofrem um processo de maturação dando origem aos gâmetas: o microgâmeta fecunda o macrogâmeta formando o zigoto. Este reveste-se de uma parede originando o oocisto. Após alguns dias, o oocisto imaturo é excretado simultaneamente com as fezes (**Figura I**). O período que decorre entre a infeção inicial e a libertação dos oocistos varia de acordo com a estrutura infecciosa contaminante, sendo mais curto quando a infeção resulta da ingestão de quistos teciduais (3-10 dias) do que após a ingestão de oocistos (superior a 18 dias), independentemente da dose infetante. No exterior, os oocistos sofrem maturação por um processo de esporogonia, formando esporozoítos (**Figura I**). O oocisto maduro pode manter-se viável, em solo húmido, durante meses.^[3]

Na fase assexuada, o homem, bem como qualquer animal de sangue quente, pode ingerir oocistos, contendo esporozoítos, tornando-se assim um hospedeiro intermediário (**Figura I**). O parasita tem a capacidade de infectar estes hospedeiros, fazendo a sua replicação no interior de qualquer célula nucleada. Os esporozoítos penetram nas células do hospedeiro intermediário e transformam-se em taquizoítos, os quais se replicam rapidamente e se disseminam por novas células, caracterizando a infeção aguda.^[3]

Com a multiplicação e propagação dos taquizoítos surge a imunidade específica. Em alguns casos, pode ocorrer a morte do hospedeiro imunodeprimido ou até morte fetal. Os taquizoítos diferenciam-se em bradizoítos, como consequência da resposta imunitária, os quais constituem uma forma de latência quando encerrados no interior dos quistos teciduais. A multiplicação dos bradizoítos é caracteristicamente pouco acelerada, constituindo a infeção crónica. No hospedeiro, podem permanecer os quistos, contendo bradizoítos,

durante meses a anos. Pode ocorrer uma reativação espontânea, revertendo-se novamente os bradizoítos em taquizoítos. Contudo, geralmente uma resposta imunitária eficiente impede a disseminação de taquizoítos. Nos indivíduos imunocomprometidos esta situação verifica-se com maior frequência.^[3]

A transmissão da infecção pode ocorrer, também, quando um hospedeiro suscetível, intermediário ou definitivo, ingere quistos teciduais viáveis, provenientes de animais com infecção crónica (**Figura I**). Os bradizoítos são libertados no epitélio intestinal e voltam a diferenciar-se em taquizoítos.^[3]

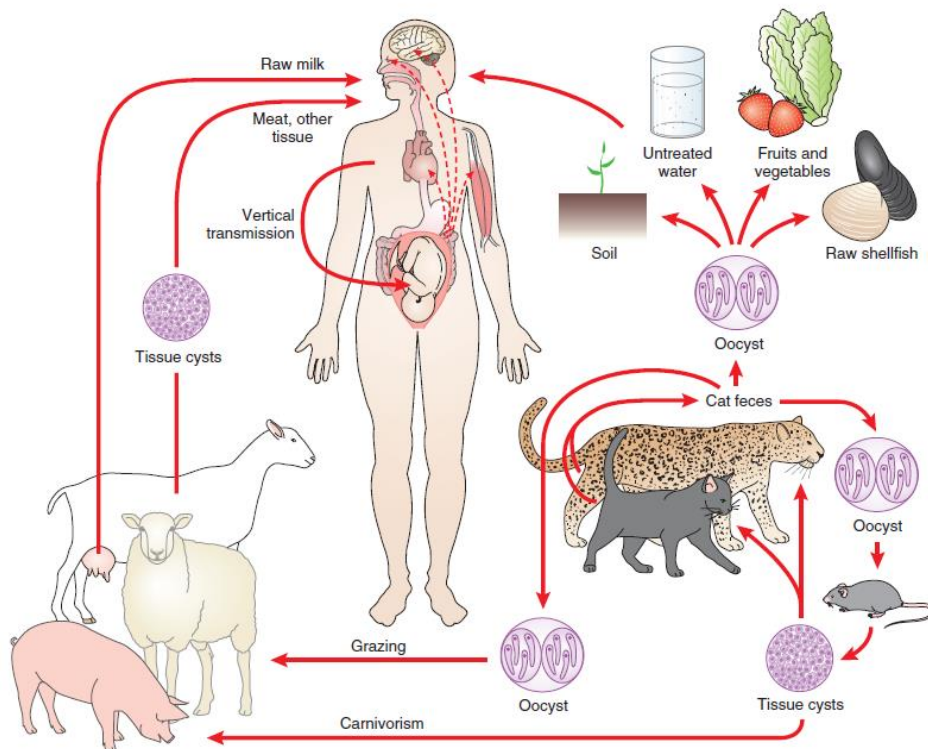


Figura I: Ciclo de vida do parasita *Toxoplasma gondii*. A via de contaminação principal é fecal-oral, isto é, ocorre através da ingestão de alimentos crus ou mal cozinhados que contém quistos ou que são contaminados com oocistos, geralmente a partir de gatos infetados de forma aguda, podendo estes também, serem transportados para os alimentos através de insetos (moscas e baratas).^[2,4]

2. TOXOPLASMOSE CONGÊNITA

A Toxoplasmose congênita é uma infecção resultante da transmissão transplacentária de *T. gondii* aquando de uma primoinfecção (exposição pela primeira vez) materna durante a gravidez, ou durante o parto normal (vaginal).^[3,4,2] O feto é infetado geralmente por taquizoítos que atravessam a placenta via circulação materna durante a infecção primária, embora haja quistos teciduais adormecidos, de infecção passada, que podem reiniciar o ciclo de vida do parasita em gestantes imunodeprimidas, podendo, em casos raros, ocorrer em gestantes imunocompetentes se houver uma infecção com uma estirpe de parasita de maior virulência.^[5]

A incidência e a gravidade da Toxoplasmose congênita variam consoante o trimestre de gravidez no qual a infecção materna foi adquirida sendo a severidade da infecção fetal, por transmissão vertical, inversamente proporcional ao período de gestação: no terceiro trimestre existe maior risco de transmissão, contudo a gravidade das consequências são moderadas.^[6,3] A gravidade da infecção e dos danos causados ao feto dependem também do estágio ou forma do parasita, carga parasitária, estado imunológico da mulher e da interação entre o parasita e o hospedeiro.^[6] Nas infecções maternas não tratadas e adquiridas no primeiro trimestre, cerca de 17% dos fetos são infetados e normalmente apresentam doença grave. Já na infecção materna não tratada e adquirida no terceiro trimestre, cerca de 65% dos fetos são infetados e geralmente apresentam doença leve ou assintomática no nascimento. Estas taxas estão relacionadas com o fluxo de sangue placentário, virulência, inóculo de *T.gondii* e capacidade imunológica da mãe para limitar a parasitémia.^[4]

Quando a infecção ocorre no primeiro trimestre há uma grande probabilidade de ocorrer morte fetal. Se ocorrer no segundo trimestre, o bebé pode nascer prematuramente mostrando sinais de encefalite com convulsões, pleocitose do líquido e calcificações cerebrais. Pode ainda apresentar Tétrade de Sabin, isto é, microcefalia com hidrocefalia, coriorretinite, atraso mental e calcificações intracranianas, sendo esta síndrome a mais característica da toxoplasmose congênita.^[5] Se a infecção ocorrer no último trimestre de gravidez, o recém-nascido (RN) pode apresentar principalmente pneumonia, miocardite ou hepatite com icterícia, anemia, plaquetopenia, coriorretinite, ausência de ganho de peso ou pode permanecer assintomático.

Em doentes imunodeprimidos, nomeadamente portadores de SIDA, a encefalite é a causa mais vulgar de lesões intracerebrais por toxoplasmose.^[6]

Existem 3 estirpes principais de *toxoplasma* presentes nas diferentes zonas do mundo, caracterizando-se a estirpe I como altamente virulenta, responsável pelos casos de encefalite

grave em imunodeprimidos, e as estirpes II e III como avirulentas. Assim, identificação e caracterização genotípica e fenotípica das estirpes de *T. gondii* influenciam o prognóstico da infecção e a escolha da prevenção, verificando-se maior prevalência da estirpe do tipo II em Portugal, estirpe destituída de virulência [3]

Atualmente em Portugal, na consulta pré-concepcional ou na primeira consulta da gravidez, é realizado o rastreio da toxoplasmose. O resultado do anticorpo IgG é determinante para uma intervenção posterior, isto é, se a mulher apresentar IgG anti-toxoplasma positiva, a análise não é repetida; todavia, se não forem detetados IgG específicos, o teste serológico deve ser repetido uma vez, por trimestre, de forma a ser detetada uma possível seroconversão durante a gestação. Neste caso é de máxima relevância a grávida ser orientada e sensibilizada, para a adoção de cuidados básicos (medidas higiénicas e dietéticas) ou ser corretamente tratada, aquando da infecção materna e fetal.[3]

3. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da toxoplasmose é muito complexo, principalmente na diferenciação entre infecção aguda e a crônica.^[8] No caso de indivíduos imunocompetentes é realizado por métodos serológicos e em indivíduos imunodeprimidos por métodos parasitológicos.^[6]

3.1. Diagnóstico por métodos indiretos

Os testes serológicos de determinação de anticorpos específicos anti-*Toxoplasma* continuam a ser, atualmente, a primeira linha de diagnóstico de infecção atual, recente ou passada. Contudo, a interpretação da cinética destes anticorpos nem sempre é fácil e continua a representar um desafio no diagnóstico laboratorial e clínico.^[8] Assim:

IgG: Aparece entre a 2^a e a 3^a semana, após a infecção e aumenta até às 6-8 semana e mantém-se positiva toda a vida (**Figura 2**). A sua deteção apenas indica que houve exposição ao parasita. Este é de especial importância para a triagem da infecção em mulheres grávidas. A IgG é transmitida por via transplacentária ao RN. Para diferenciar os IgG transmitidos pela mãe ao feto, dos que são sintetizadas por este, é promissora a técnica de Western blot, realizada com o soro do recém-nascido e da mãe em simultâneo, embora esta técnica se realize em poucos laboratórios, devido à sua complexidade e custos elevados.^[8]

IgM: Torna-se positiva na 1^a semana após a infecção, incrementando rapidamente até alcançar o título máximo no primeiro mês. Começa a diminuir após 2 ou 3 meses e desaparece posteriormente, permanecendo residualmente positiva, por vezes, durante anos (**Figura 2**). A presença de IgM na mulher grávida serve apenas de orientação para a possibilidade de haver uma infecção recente e deve ser confirmado através de outras técnicas de diagnóstico. No entanto, a sua presença é determinante pois, devido à sua grande dimensão, estas não atravessam a barreira placentária, logo a sua presença indicará infecção congénita. Contudo, existem casos de falsos positivos por “contaminação” com sangue materno, por rutura da barreira placentária, pelo processo de extração de sangue do cordão umbilical ou, mesmo por falta de especificidade da técnica usada. Por outro lado, também poderão ocorrer falsos negativos, isto é, ausência de IgM em RN infetados, devido à imaturidade do sistema imunitário ou à baixa sensibilidade das técnicas utilizadas.^[8]

IgA: Tal como o IgM também pode persistir mais de um ano, pelo que é apenas indicativo e não diagnóstico, quando positivo. Permite o diagnóstico no RN, tal como o IgM, podendo também originar falsos negativos em RN infetados.^[8]

IgE: Aumenta rapidamente depois da infeção aguda e desaparece antes dos 4 meses, permanecendo detetável durante um curto a variável período de tempo, não sendo por isso sempre útil para o diagnóstico.^[8]

Avidez da IgG: Este baseia-se no aumento da afinidade funcional (avidéz) ou força de ligação entre o IgG específico e o antigénio. Esta força aumenta ao longo da infeção, sendo os anticorpos de baixa avidéz originados numa fase inicial e os de alta avidéz produzidos posteriormente, com mais especificidade. Um alto índice de avidéz indica uma infeção que ocorreu há mais de 4 meses e se a grávida está no primeiro trimestre é indicativo que a infeção ocorreu no período pré-concepcional tendo baixo risco de transmissão vertical. Um baixo índice de avidéz não exclui uma infeção recente ou inferior a 4 meses e portanto pode existir, risco de infeção placentária e consequente infeção fetal. Existem casos em que se detetou baixa avidéz até um ano após a infeção inicial.^[8]

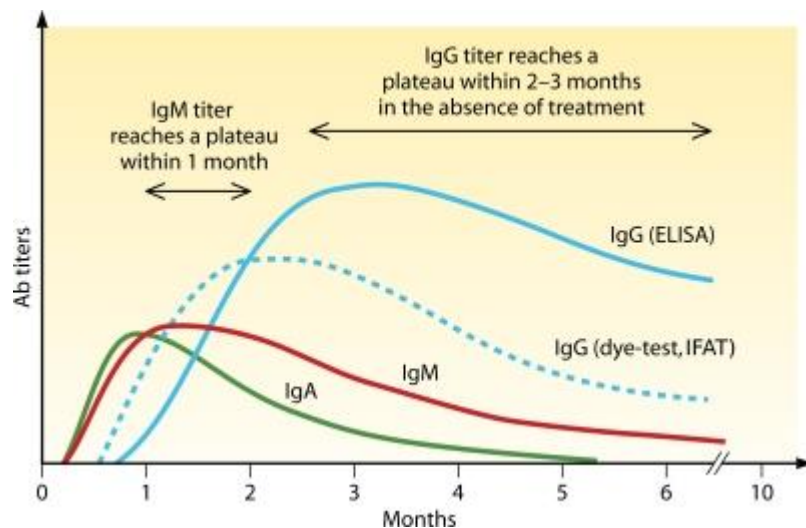


FIGURA 2: Cinética da resposta dos anticorpos. Representação das diferentes cinéticas dos diferentes isotipos de imunoglobulinas, podendo diferir entre pacientes e de acordo com a técnica serológica utilizada.^[14]

Na suspeita de infeção aguda, independentemente da frequência da vigilância, deve-se efetuar um seguimento serológico materno, especialmente nas seguintes situações:

IgG-/IgM-: Deve haver uma monitorização serológica durante a gravidez de uma mulher não imunizada, mesmo após o aconselhamento e prática das medidas básicas para a prevenção primária. Em Portugal, recomenda-se a repetição dos testes serológicos uma vez a cada trimestre ou em casos de ocorrência de manifestações clínicas que possam indicar uma infeção. Desta forma, a periodicidade da monitorização serológica está correlacionada com os fatores de custo/benefício dos rastreios. Perante a deteção de uma seroconversão durante a gestação deverá ser iniciada a terapêutica farmacológica adequada à sua profilaxia o mais atempadamente possível.^[3]

IgG-/IgM+: Uma mulher grávida ou em situação pré-concepcional, em que exista a suspeita de infeção aguda, deve repetir os testes serológicos após 3 semanas. Contudo, a mulher grávida deve iniciar o tratamento farmacológico profilático de imediato. Passadas 3 semanas, se o resultado for *IgG +/IgM+* confirmar-se-á a existência de infeção primária recente; se o resultado da primeira serologia se mantiver como *IgG - /IgM +*, indica que os anticorpos IgM não são específicos e a grávida não apresenta infeção aguda e continua sem imunidade.^[3]

IgG+/IgM+: No caso de estas duas classes de anticorpos serem detetadas em simultâneo, deve determinar-se a avidéz das IgG, de forma a determinar a possível data da infeção. Este teste tem em conta que a avidéz dos anticorpos IgG adquiridos após a infeção, em relação ao antigénio, aumenta ao longo do tempo. No caso de haver uma forte avidéz, há uma extrapolação para 4 meses antes, no mínimo. Se houver uma fraca avidéz, é impossível datar a infeção, não se podendo excluir uma primoinfeção recente. A fraca avidéz poderá também dever-se ao facto do sistema imunitário da mulher ainda não ter alcançado a maturação das IgG, ou à incapacidade de maturação das IgG. Deve repetir-se o teste serológico, após 3 semanas, qualquer seja o resultado serológico, utilizando uma nova amostra e realizando um ensaio paralelo, com as primeiras amostras. Caso os níveis de IgG se mantiverem estáveis, conclui-se a existência de uma infeção antiga. Eventualmente, se os títulos de IgG aumentarem significa uma primoinfeção recente. Nas situações em que há indício de manifestações clínicas, como adenopatias de origem desconhecida, deve dar-se início à terapêutica farmacológica profilática, enquanto se aguarda pelos novos resultados serológicos.^[3]

Apenas nas mulheres consideradas imunes (*IgG + /IgM-*), não se justifica a repetição dos testes serológicos, tendo em consideração o *ratio* custo/benefício, embora alguns

autores considerem que, na presença de níveis muito baixos de IgG e simultaneamente, com suspeita clínica de infecção, é aconselhável repetir a medição 3 semanas depois da primeira titulação; o quádruplo do aumento dos IgG é um forte indício de infecção, embora não justifique a repetição serológica, por rotina, como representado esquematizadamente na **Figura 3**.^[3]

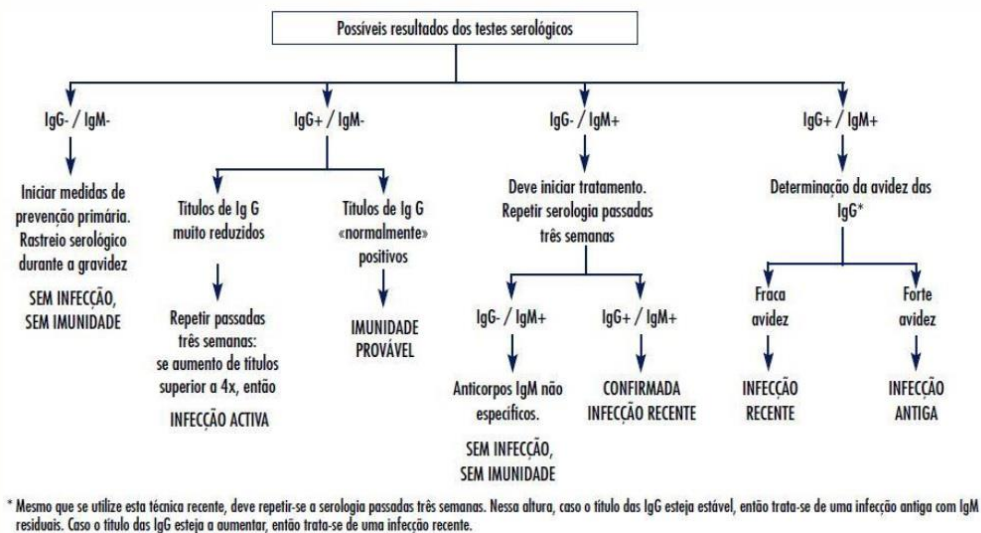


Figura 3: Diferentes possibilidades de resultados serológicos no diagnóstico de *Toxoplasma gondii*.^[3]

Os testes serológicos são ainda os mais úteis, em parte devido à rápida formação de quistos teciduais após uma infecção aguda, o que limita a possibilidade da detecção direta do parasita ou do seu DNA. Estes testes detetam anticorpos específicos anti-toxoplasma, sendo IgG e IgM os mais usados. Já os testes para pesquisa da imunidade celular só estão disponíveis em alguns laboratórios de referência, e a sua utilidade e performance estão menos estabelecidas relativamente aos testes serológicos.^[9]

Existe um largo espectro de kits comercialmente disponíveis que são amplamente utilizados como testes de rastreio de rotina. Contudo, estes variam em algumas das suas características e qualidade com limitações no que respeita à sua performance. Algumas vezes é necessário enviar amostras de soro a um laboratório de referência, onde existam testes mais específicos para que se possa proceder à confirmação da doença, bem como para estabelecer a data em que se estabeleceu a infecção.^[9] Normalmente, os resultados positivos relativos a IgM anti-*Toxoplasma*, necessitam de posterior confirmação por laboratórios de referência.^[2]

O diagnóstico da infecção por *T.gondii*, seja aguda ou crônica, não pode ser confirmada apenas por um único teste. Na maioria dos casos, são necessários diversos testes para distinguir a infecção aguda da crônica, sendo a combinação de testes dependente especificamente do estado clínico do doente, grávida ou imunodeprimido.^[2]

Um conjunto de testes são usados com sucesso, tais como: Sabin-Feldman Dye Test (para a detecção de IgG); IgM, IgA- e IgE- ELISA, Teste de Aglutinação Diferencial (mede os anticorpos IgG, sendo também conhecido como AC/HS); Teste de Avidéz de IgG^[2]

Método serológico com recurso a proteínas recombinantes:

Para a detecção da infecção por *T. gondii* devem ser utilizados métodos com elevada sensibilidade e especificidade, cruciais para a correta ponderação da instituição da terapêutica. Como já referido anteriormente, a toxoplasmose é geralmente diagnosticada através da demonstração de imunoglobulinas IgM e IgG específicas dos antígenos de *T. gondii*. A maioria dos testes comercialmente disponíveis utilizam antígenos nativos de *T. gondii*, sofrendo grandes variações na precisão do teste.^[10]

Os antígenos recombinantes têm, um grande potencial como reagentes de diagnóstico para utilização em ensaios de detecção da toxoplasmose. Apesar das vantagens associadas ao potencial destes antígenos recombinantes no diagnóstico serológico, apenas alguns kits de diagnóstico comerciais são baseados nestes antígenos, limitando assim o seu uso no diagnóstico da doença.^[10]

Diversos antígenos recombinantes foram usados para detecção de *T.gondii* em bebés, tendo capacidade de diferenciar bebés infetados de não infetados, particularmente com idades inferiores a 4 meses. A presença de anticorpos IgM anti-*Toxoplasma* específicos contra antígenos recombinantes podem ser utilizados no diagnóstico pós-natal precoce de TC.

Foi também descoberto que os RN com infecção primária por *T. gondii* produzem anticorpos IgG2 e IgG3 contra os antígenos recombinantes, enquanto que as IgG provenientes da transferência vertical são principalmente anticorpos IgG1. Assim, a análise das amostras de soro provenientes da mãe e do bebé, contra certos antígenos recombinantes, poderão vir a melhorar o diagnóstico de infecção de TC no RN.^[10]

Os antígenos recombinantes *standard* vão ser de especial utilidade em países com recursos limitados, devido ao seu elevado potencial como reagentes de diagnóstico, estes podem ser usados em kits comerciais de diagnóstico, permitindo um diagnóstico de menor custo e de maior acessibilidade para esses países (não tendo de recorrer a laboratórios de referência).^[10]

O ensaio de avidéz de IgG e IgG1 tem demonstrado grande utilidade na diferenciação da infeção aguda da crónica. Contudo, os resultados variam de acordo com os antigénios utilizados, sendo necessário uma maior pesquisa e investigação para identificar os antigénios recombinantes que podem discriminar com precisão os anticorpos de alta e de baixa avidéz.^[10]

Até hoje, a confirmação de toxoplasmose, na maioria das situações, exige uma variedade de testes, muitas vezes só realizados em laboratórios de referência. Porém, na maioria dos países tais centros de referência para o diagnóstico da toxoplasmose não estão disponíveis. Assim, a descoberta de novos marcadores e o desenvolvimento de ensaios de diagnóstico de infeção que utilizem antigénios recombinantes são essenciais, especialmente para a confirmação de infeção aguda, de modo a eliminar a repetição de testes e a racionalizar recursos, possibilitando assim, redução do custo de diagnóstico da doença e torná-lo mais acessível nos países em desenvolvimento.^[10]

3.2. Diagnóstico por métodos diretos

3.2.1. Técnicas moleculares

Existem diversas técnicas moleculares (PCR, PCR em tempo real) que utilizam diferentes sequências de DNA para detectar o parasita.^[8]

No diagnóstico pré-natal a amostra de eleição para o PCR é o líquido amniótico, que deve ser recolhido 4 semanas após a data estimada da infeção e sempre a partir das 18 semanas de gestação. Esta técnica tem sido também bem sucedida em amostras de LCR, sangue, urina e em tecidos placentares e fetais no diagnóstico da infeção fetal.^[8]

O PCR do LA tem uma sensibilidade entre os 65-92% e uma especificidade próxima de 100%, tendo revolucionado o diagnóstico de infeção por *T. gondii* intrauterina, ou pré-natal, permitindo um diagnóstico precoce e evitando, desta forma, a utilização de procedimentos invasivos no feto.^[8,2]

Parece que a sensibilidade do procedimento varia em função do tempo de gestação aquando da infeção materna, com uma sensibilidade máxima quando se dá a infeção entre as 17 e 21 semanas. O valor preditivo negativo (VPN) nas doentes que adquiriram a infeção no primeiro trimestre é alto, devido à baixa transmissão do parasita neste período de gestação. Um resultado positivo indica uma infeção congénita, mas um resultado negativo poderá não descartar a possibilidade da mesma. Contudo, a sensibilidade do PCR no LA parece ser superior à que se obtém no sangue, urina e LCR do RN, pelo que deve ser sempre realizado em caso de suspeita de infeção materna em qualquer trimestre de gravidez.^[8]

A técnica de PCR em tempo real (qPCR) permite a quantificação da carga parasitária, sendo que uma carga elevada parece estar relacionada com uma infecção fetal precoce e também com a gravidade da infecção. Existem poucos estudos de qPCR do sangue de cordão umbilical, tendo uma baixa sensibilidade (16%), mas um resultado positivo permite o tratamento precoce da doença.^[8]

Aquando do nascimento pode realizar-se o PCR no preparado de placenta. A especificidade de um resultado positivo de PCR na placenta sobre a possibilidade de infecção no RN é de cerca de 97%, indicando apenas, em alguns casos, que somente a placenta está infetada e não o feto. A sensibilidade varia entre 50% no primeiro trimestre de gravidez e 87% no terceiro trimestre. O estudo anatomopatológico da placenta é pouco rentável, uma vez que é pouco específico, pelo que se desaconselha esta técnica.^[8]

No diagnóstico pós-natal, a técnica de PCR no sangue, urina e LCR pode realizar-se como complemento do método serológico no RN com suspeita de infecção, no qual não se detetam IgM e IgA específica. Esta apresenta boa especificidade, pelo que um resultado positivo confirma a presença de infecção. No entanto, a sensibilidade é mais baixa do que o PCR no LA, sendo que um resultado negativo não exclui a presença de infecção e nestes casos, deve haver uma monitorização serológica. Assim, a análise simultânea dos 3 tipos de amostras permite aumentar a sensibilidade do método.^[8]

Não existindo nenhum ensaio padronizado de PCR, as características e desempenho variam amplamente dependendo do laboratório, do gene-alvo, dos *primers* e da amostra utilizada. Para que haja máxima confiança nos resultados obtidos deve ser realizada em laboratórios de referência.^[2]

3.2.2. Isolamento do parasita

O isolamento do parasita é realizado mediante a inoculação intraperitoneal em animais (murganhos) ou em culturas celulares *in vitro*. É uma técnica de referência usada para confirmação do diagnóstico, mas a sensibilidade e VPN têm grandes variações, dependendo das condições de preservação das amostras, carga parasitária e virulência.^[8]

4. DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL

O diagnóstico pré-natal da TC tem como principal objetivo identificar a infecção no feto, prevenindo lesões e eventuais manifestações clínicas, no período de gestação, tendo por base exames radiológicos (ecografia) e PCR do LA (**Tabela I**).^[11]

Muitas vezes, a infecção por *T. gondii* é assintomática, sendo necessário um controle serológico repetido para grávidas não imunes, embora ocasionalmente possa apresentar um quadro inespecífico de mal estar geral, febre moderada e adenopatias generalizadas.^[11]

A sensibilidade do PCR no LA varia com o trimestre em que foi adquirida a infecção pela grávida, sendo o segundo trimestre o que revela maior sensibilidade, podendo ainda ser melhorada pela seleção de sondas e *primers* específicos, bem como pela quantidade da amostra de DNA.^[12]

Nos países em que não é realizado o rastreio pré-natal de seroconversão materna para a toxoplasmose, o diagnóstico pode ser sugerido pela detecção de sinais compatíveis com infecção fetal, através de ecografias de rotina. Nesses casos, utilizam-se outros meios de diagnóstico, como testes serológicos e, quando indicado, a avaliação do LA deve ser utilizada para determinar se as alterações estão relacionadas com a infecção por *T. gondii*.^[9]

A amniocentese é contraindicada em mulheres grávidas imunocomprometidas, nomeadamente HIV positivas, pelo risco de infecção do feto, tal não ocorre aquando do tratamento com terapêutica ART.^[12]

4.1. Exames radiológicos

O acompanhamento da grávida por ecografias de rotina ao longo da gravidez tem por objetivo diferenciar fetos portadores de infecção congénita assintomática de fetos com alterações ultrassonográficas compatíveis com a infecção.

Assim sendo, nos casos em que a seroconversão materna ocorre durante a gravidez, as ecografias devem ser realizadas todos os meses, ou até mesmo a cada 2 semanas. Os sinais mais característicos nos exames de ultrassons estão relacionados com alterações a nível cerebral. Apesar da microcefalia ser um sintoma clássico de toxoplasmose, este não é observado *in utero*.^[9] Outros sinais detetados por ultrassons mas menos específicos podem ser observados em muitas outras infeções fetais, tais como hepatomegalia, ascites, derrame pleural e aumento do tamanho da placenta. Uma Ressonância Magnética Fetal demonstra as mesmas lesões cerebrais que a ecografia, como dilatação ventricular e necroses pontuais. A excelência de resultados dos ultrassons de sondas de alta frequência tornam a Ressonância Magnética uma técnica relativamente menos relevante. No entanto, esta pode ainda fornecer alguma informação adicional como, em alguns casos, a hipoplasia parcial do cerebelo. A Ressonância Magnética Fetal pode ser utilizada como diagnóstico pré-natal para confirmação de infeções fetais.^[9]

Destaca-se a importância da avaliação ultrassonográfica para estabelecer um prognóstico fetal e na monitorização da terapêutica instituída, permitindo a elaboração do plano de atuação pós-natal adequado, visando diminuir a severidade das lesões nas crianças afetadas.

4.2. Amniocentese e detecção direta do parasita

O diagnóstico biológico pré-natal deve ser realizado em grávidas que apresentem seroconversão durante a gravidez ou cujo feto demonstre sinais na ecografia que indiquem anomalias causadas por *T.gondii*. As infecções maternas adquiridas antes das 20 semanas de gestação com a presença de mais de 100 parasitas/mL no LA estão associadas a elevado risco de infecção fetal severa (morte fetal, hidrocefalia e anasarca).

É recomendado, fazer a amniocentese depois das 18 semanas de gestação e até pelo menos 4 semanas depois da data estimada de infecção materna, para minimizar o risco de falsos negativos, devido à passagem tardia do parasita através da placenta para o feto.^[13]

A técnica de referência para o diagnóstico da toxoplasmose é o PCR em amostras de LA, amplificando-se inicialmente o *locus* gene B1 do parasita. Desde o ano 2000 que a técnica qRT-PCR foi desenvolvida, tendo sido alterado o gene-alvo para o fragmento de DNA 529-bp, devido à presença de um maior número de cópias no genoma do parasita. Esta nova técnica, tem melhor sensibilidade (92%) mantendo a especificidade e o VPP (100%).^[9]

O PCR do LA tem uma performance excelente, contudo deve ser ponderado o risco de indução de aborto por amniocentese, e o *ratio* risco-benefício deve ser claramente compreendido pelos futuros pais. Os efeitos psicologicamente negativos têm de ser ponderados com os benefícios esperados. No primeiro trimestre de gestação, um resultado negativo está associado a uma probabilidade de 99% de não infecção no feto.^[9]

Na detecção direta do parasita é utilizada a inoculação do material biológico em murganhos, ou seja, o LA é injetado intraperitonealmente no murganho não imune que é sacrificado depois às 3-6 semanas, sendo pesquisada a presença de quistos cerebrais (especificidade de 100% e sensibilidade 42-64%). Esta técnica foi gradualmente descartada devido à qualidade de resultados do PCR, contrastando com a baixa sensibilidade e a demora na obtenção de resultados pela técnica de inoculação.^[9]

4.3. Sangue Fetal

O uso de amostras de sangue fetal para a detecção de sinais biológicos não específicos (hipereosinofilia, elevados níveis totais de IgM e trombocitopenia) ou sinais biológicos específicos (IgM ou IgA contra *T.gondii*, isolamento do parasita em murganhos) não é muito sensível, sendo acompanhada de elevado risco de morte fetal. Atualmente não é utilizada como diagnóstico de rotina da toxoplasmose congénita.^[9]

Tabela 1: Diagnóstico pré-natal versus pós-natal. (Adaptado de MONCADA et al.^[2])

Diagnóstico pré-natal (feto) versus diagnóstico pós-natal (RN)	
Feto	RN
<ul style="list-style-type: none"> • Obtenção de LA através de amniocentese às 18 semanas de gravidez ou após - O PCR tem como objetivo a detecção de DNA de <i>T.gondii</i> • Obtenção de ecografias fetais - A cada 4 semanas ao longo da gestação 	<ul style="list-style-type: none"> • História clínica e exame físico; • Avaliação neurológica pediátrica; • Exame oftalmológico pediátrico; • Hemograma com contagem diferencial de plaquetas; • Testes de função hepática (incluindo bilirrubina direta e GGTP); • Pesquisa de Ig específicas anti-<i>T. gondii</i> no sangue periférico (soro) IgG (Dye Test é a melhor técnica) IgM ISAGA (5 dias após o nascimento) IgA ELISA (10 dias após o nascimento) • PCR: Sangue periférico, urina ou LCR caso seja indicada uma punção lombar; • Análise do LCR no caso de indicação de punção lombar Contagem celular diferencial de proteínas e glicose; • ABR antes dos 3 meses de idade Avaliação audiológica total antes dos 24-30 meses de idade; • Ecografia à cabeça e CT (sem contraste) • Avaliação oftalmológica de rotina

5. DIAGNÓSTICO PÓS-NATAL

O diagnóstico da toxoplasmose congênita no RN tem início na correta recolha de dados relativos à toxoplasmose durante a gestação (**Tabela 1**). Com todos os dados relativos ao período de gestação poderá definir-se a semana em que ocorreu a infeção materna, de forma, a avaliar o risco e o prognóstico de infeção fetal.^[11]

5.1. Serologia e PCR

O diagnóstico definitivo da TC no RN pode ser realizado através de exames serológicos e de PCR (**Tabela 1**).^[12]

Um resultado positivo de IgG específica anti-*Toxoplasma* numa criança de 12 meses de idade é considerado diagnóstico de TC e é também considerado o diagnóstico laboratorial definitivo. Em oposição, um resultado negativo de IgG específico, até aos 12 meses de idade, numa criança capaz de produzir anticorpos IgG e que não esteja a fazer nenhum tratamento anti-*Toxoplasma*, descarta a possibilidade de ter TC. Crianças nascidas de mães infetadas cronicamente nascem com IgG anti-toxoplasma materna, devido à transmissão vertical passiva.^[12]

O diagnóstico serológico pode também ser feito em RN com IgM ou IgA anti-*Toxoplasma* positivos, respectivamente aos 5 ou 10 dias após o nascimento (de forma a excluir a contaminação por sangue materno). O método IgM-ISAGA e o método IgA-ELISA apresentam um desempenho superior em relação à determinação da IgG no diagnóstico da TC nas crianças.

No entanto, parece que o método IgM-ISAGA é mais sensível que o IgM-ELISA no diagnóstico da doença congênita. Os baixos títulos de IgM pela técnica de ISAGA, podem ser observados em RN que tenham recebido transfusão de produtos sanguíneos ou os seus derivados, sendo estes resultados frequentemente falsos positivos.^[12]

A análise do LCR pode ser útil em RN infetados com *T. gondii* e que apresentem sinais clínicos e estudos de imagem sugestiva de envolvimento do SNC. O LCR pode ser extraído e analisado por testes serológicos, PCR e por outros exames de rotina, caso a punção lombar seja segura e viável. Quando o IgM específico de *T. gondii* é positivo no LCR trata-se de um diagnóstico de uma doença congênita, enquanto o resultado positivo IgG específico para o *T. gondii* reflete possivelmente uma transferência passiva do IgG específico do *T.gondii*. Um resultado positivo de *T. gondii* por PCR no LCR, no sangue periférico e na urina do RN é considerado diagnóstico definitivo de toxoplasmose congênita. Estes testes devem ser realizados em todos os RN com suspeitas de estarem infetados com o parasita, sendo as amostras idealmente obtidas antes do início do tratamento.^[12]

5.2. Técnicas de imagiologia e ecografia

O estudo do cérebro do RN através de técnicas de imagiologia pode revelar calcificações ou hidrocefalia. Uma tomografia computadorizada (CT) sem contraste é superior a um exame de ultrassons na deteção destas malformações no SNC. Um exame de Ressonância Magnética ao cérebro do RN, apesar de útil, pode ser arriscada devido à necessidade de sedação. As calcificações, a microcefalia com hidrocefalia e ascites podem também ser detetadas através de ecografia cerebral.^[12]

5.3. Avaliação oftalmológica e audiológica

Uma avaliação de rotina aos olhos, realizada por um oftalmologista experiente, é recomendável a cada 3 meses até aos 18 meses de idade, seguida de uma avaliação a cada 6 ou 12 meses até aos 18 anos de idade. Contudo, a frequência destas avaliações deve ser adaptada tendo em conta a severidade da doença. A qualquer sintoma ou sinal ocular que

surja é indispensável a avaliação imediata, independentemente das avaliações de rotina realizadas anteriormente.

O rastreio da perda auditiva, através da audiometria do tronco encefálico (ABR) ou emissões auto acústicas, deve ser realizado periodicamente durante o 1º ano em RN nos quais há uma suspeita ou confirmação de toxoplasmose. Ambos os testes aparentam relativa fiabilidade em crianças com idades inferiores a 3 meses. Todas as crianças com a infeção congénita devem realizar uma avaliação auditiva completa se os rastreios revelarem alguma suspeita. Além disso, independentemente dos resultados dos rastreios, devem fazer uma avaliação auditiva pelo menos 1 vez nos primeiros 2 anos de vida.

5.4. Hemograma e função hepática

Os RN com infeções clínicas ou subclínicas (assintomáticas) podem apresentar leucopenia ou leucocitose, podendo também apresentar linfocitose periférica, monocitose e/ou eosinofilia. Há ainda casos frequentes de anemia e trombocitopenia. As enzimas hepáticas e a bilirrubina indireta elevadas foram igualmente descritas durante a disseminação da doença.^[12]

Quando se compara o diagnóstico pré-natal *versus* pós-natal é possível verificar que existe à disposição uma ampla variedade de métodos de diagnósticos disponíveis para o RN, o que já não se verifica no feto, havendo, por vezes, uma grande dificuldade em realizar um diagnóstico precoce definitivo da doença (**Tabela I**)

6. CONCLUSÃO

Sendo a toxoplasmose uma zoonose de ampla distribuição geográfica mundial, presente na lista das 10 infecções oportunistas mais frequentes, a otimização das formas de intervenção clínica e o investimento no diagnóstico e prevenção tornam os procedimentos contra a infecção mais seguros e eficazes.^[3]

Apesar das evidências da eficácia do tratamento da infecção por *T. gondii*, o diagnóstico e tratamento precoce tem melhorado o prognóstico, curso normal da doença, a longo prazo. No entanto, continuam a ser necessários *check-ups* de rotina a crianças infetadas como prevenção de lesões oculares tardias.^[1]

Atualmente, o diagnóstico de infecção fetal faz-se pela deteção do DNA parasitário por PCR numa amostra de LA, sendo este o método de eleição para a determinação de infecção fetal, seguido de inoculação da amostra no murganho e pela ecografia fetal pormenorizada. Já no RN, faz-se recorrendo a ensaios serológicos para determinação de IgM e IgG e de *Imunoblot* para diferenciar IgG maternas das do RN, seguido da inoculação da placenta no murganho e da deteção do DNA por PCR no sangue periférico e LCR. Deverá também ser feito um estudo da repercussão da infecção sobre os órgãos e sistemas, através de hemograma, função hepática, ecografia cerebral e exame oftalmológico, de acordo com os protocolos de diagnóstico e terapêutica em infeciologia perinatal.

Em suma, existem diversos tipos de diagnóstico pré e pós-natal com diferenças na sensibilidade e especificidade, tendo concluído que a técnica que oferece melhores resultados é o PCR do LA, tendo em conta os *ratios* risco-benefício e custo-benefício, permitindo um diagnóstico precoce evitando a utilização de procedimentos invasivos no feto. No entanto, é sempre aconselhável em mulheres não imunes, a educação para a saúde e uma vigilância serológica apertada, durante a gravidez.

7. BIBLIOGRAFIA:

1. MAGI, B. and L., MIGLIORINI. **Western blotting for the diagnosis of congenital toxoplasmosis.** 2011. *New Microbiologia*. p. 34: 93-95.
2. MONTOYA, J., et al., ***Toxoplasma gondii*.** *Infectious Diseases and Their Etiologic Agents*. 2008. p. 3122-3153.
3. GONÇALO, T., **Prevenção da Toxoplasmose Congênita em Portugal.** 2012. Departamento das Ciências da Saúde da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. p. 1-37.
4. MCLEOD, R., **Toxoplasmosis (*Toxoplasma gondii*).** *Nelson Textbook of Pediatrics*. 2012. p. 1208-1216.
5. SOUZA, S., **Toxoplasmose Congênita: Uma Revisão Bibliográfica.** 2010. Escola de Enfermagem da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 11-18.
6. PARIS, L., **Toxoplasmosis.** *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease*. 2013. p. 765-775.
7. MCAULEY, J. et al., **Toxoplasmosis.** *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases*, 2013. p. 2986-3005.
8. BAQUERO-ARTIGAO, F., et al., **Guia de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica para el diagnóstico y tratamiento de la toxoplasmosis congénita.** 2013: (Elsevier Doyma) *Anales de Pediatría*, 79; p. 116e1-e16.
9. PEYRON, F., et al., **Toxoplasmosis.** *Remington and Klein's Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*, 2012. p. 949-1042.
10. KOTRESHA, D. and R., NOORDIN, **Recombinant proteins in the diagnosis of toxoplasmosis.** 2013: *APMIS*. 118; p. 529-542.
11. KIEFFER, F. and M., WALLON, **Congenital toxoplasmosis.** *Handbook of Clinical Neurology*, 2013. p. 1099-1101.
12. MONCADA, P. A. and J., MONTOYA, **Toxoplasmosis in the fetus and newborn: an update on prevalence, diagnosis and treatment.** 2012: *Expert Reviews Anti Infectious Therapy*, 10; p. 815-828.
13. PAQUET, C. et al., **Toxoplasmosis in Pregnancy: Prevention, Screening, and Treatment.** 2013. *Socg clinical practice guideline*, 285; s1-s7.
14. ROBERT-GANGNEUX, F. and M.L.DARDÉ, **Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis.** 2012. *Clin Microbiol Ver.* 25(2); p. 264-96.

GLOSSÁRIO

Anasarca: é um sintoma caracterizado por um inchaço generalizado pela pele do corpo, devido ao derrame do fluído no espaço extracelular.

Ascite: é uma acumulação de líquidos na cavidade abdominal.

Bradizoíto: é uma forma de reprodução lenta de *T. gondii*, presente nas infeções congénitas e crónicas.

Coriorretinite: inflamação da retina e da coróide, que pode levar à cegueira completa através da degeneração da retina.

ELISA: técnica que consiste na ligação entre antígenos e anticorpos específicos, fazendo o rastreio rápido de várias amostras.

Fator Reumatoide: anticorpo contra a porção Fc do anticorpo IgG.

Hepatomegalia: inflamação do fígado, ficando com um tamanho exacerbado, isto é, maior do que o normal.

Heteroxeno: ciclo de vida parasitário caracterizado por só ser completado (o ciclo) na presença de dois ou mais hospedeiros.

Hidrocefalia: acumulação de LCR no interior da cavidade craniana (nos ventrículos ou no espaço subaracnóide).

Hidrópsia fetal: é uma complicação que gera edema num feto em desenvolvimento intrauterino, que aparece em pelo menos dois locais diferentes.

Isotipo: é cada um dos tipos de anticorpos, determinado por uma das cinco formas possíveis, IgA, IgD, IgE, IgG, IgM.

Oocisto: forma evolutiva enquistada do ciclo sexuado de determinados parasitas.

Pleocitose do líquido: é o aumento anormal do número de leucócitos em fluidos corporais.

Seroconversão: corresponde à passagem de um doente de seronegativo para seropositivo.

Taquizoíto: são as formas de proliferação rápida, estando presentes em grande número, nas infeções agudas.

Trombocitopenia: é a redução do número de plaquetas no sangue.

Ultrassonografia ou Ecografia: é um método de diagnóstico que utiliza o eco produzido pelo som para ver em tempo real as reflexões produzidas pelas estruturas e órgãos do organismo.

VPN: é a proporção de doentes com resultados verdadeiramente negativos entre os diagnosticados como negativos.

VPP: é a proporção de doentes com resultados verdadeiramente positivos entre os diagnosticados como positivos.

Zoonose: doenças que podem ser transmitidas entre os animais vertebrados e o homem, tendo como agentes desencadeadores microrganismos (bactérias, fungos, vírus, helmintos e rickettsias).