

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Hellen Lopes de Paula

**PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO
TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E
ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS**

Santa Maria, RS
2022

Hellen Lopes de Paula

**PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO
TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E
ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi
Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Sandra Trevisan Beck

Santa Maria, RS
2022

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Paula, Hellen Lopes de
PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO
TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E
ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS / Hellen Lopes
de Paula.- 2022.
92 p.; 30 cm

Orientadora: Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi
Coorientadora: Sandra Trevisan Beck
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós
Graduação em Ciências Farmacêuticas, RS, 2022

1. Antioxidantes 2. Delta-aminolevulinato-desidratase
3. Gestantes 4. Toxoplasmose 5. Tratamento I. de Lima
Gonçalves Bernasconi, Thissiane II. Trevisan Beck, Sandra
III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

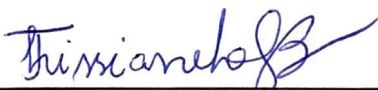
Declaro, HELLEN LOPES DE PAULA, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Tese) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

Hellen Lopes de Paula

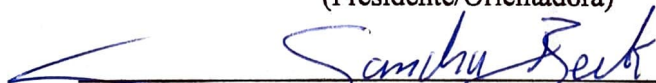
**PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO
TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E
ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas, da Universidade
Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como
requisito parcial para obtenção do título de
Doutora em Ciências Farmacêuticas.

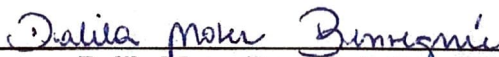
Aprovada em 25 de março de 2022:



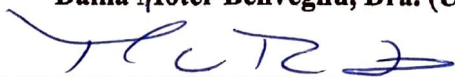
Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi, Dra. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)



Sandra Trevisan Beek, Dra. (UFSM)
(Coorientadora)



Dalila Moler Benvegnú, Dra. (UFFS)



Maria Rosa Chitolina, Dra. (UFSM)



Marli Matiko Anraque de Campos, Dra. (UFSM)



Rodrigo de Almeida Vaucher, Dr. (UFPEL)

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho ao meu filho Arthur. Desde o dia que soube da tua existência, tudo foi, e sempre será por ti. Mesmo sem entender, és meu estímulo diário.

Te amo infinitamente, meu guri!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus, pelas oportunidades, pelo fortalecimento diante dos desafios, e por colocar no meu caminho as pessoas que me acompanharam nesta trajetória.

Aos meu pais, Paulo e Ercí (*in memorian*), meus heróis, maiores exemplos de humildade e caráter. Obrigada pelo apoio, carinho, dedicação e amor, por me proporcionarem tanto, apesar das dificuldades que cruzaram nosso caminho, por acreditarem sempre na minha capacidade e auxiliarem na realização dos meus (nossos) sonhos. Para sempre serei grata. Obrigada por tudo! Amo vocês com todo meu coração!

Minha irmã Michelle e sobrinha Gabriela, obrigada estarem comigo, incentivando e apoiando minhas escolhas.

À minha querida Tia Bata (*in memorian*), ser iluminado, que junto com minha Mãe, guiam-me lá de cima.

Ao meu filho Arthur, a razão de seguir em frente, não desistir e tentar ser uma pessoa melhor todos os dias.

Ao meu marido André, meu porto seguro. Obrigada por toda paciência, dedicação, companheirismo e amor. Obrigada por estar sempre ao meu lado, não me fazer desistir, pela força e incentivo, é maravilhoso poder contar com teu apoio. Você também é responsável pela conclusão desse trabalho. Te amo tanto! E a sua família, que também é minha, pela preocupação, acolhida e apoio nas minhas decisões.

Aos colegas da Farmácia Escola, obrigada por toda colaboração para que eu pudesse concluir mais essa etapa, tive muita sorte de encontrar pessoas tão maravilhosas como vocês.

À minha orientadora Thissiane, por ter acreditado em mim, desde antes do Mestrado. Obrigada por tornar nossa parceria nesses anos tão leve, pela dedicação, carinho, ensinamentos e apoio.

À minha coorientadora Sandra, que não mediu esforços para o desenvolvimento desse trabalho. Obrigada pela paciência em transmitir todo seu conhecimento, e por estar disponível sempre que precisei.

Às colegas do laboratório pela amizade e empenho em todas nossas atividades. Agradeço em especial a Silmara, pelo companheirismo nesses anos de Mestrado e Doutorado, auxílio nos momentos difíceis, apoio nas coletas, experimentos e escritas.

Aos professores, membros da banca, pela disponibilidade e pelas sugestões que certamente serão muito importantes para o aprimoramento desse trabalho.

A todos os servidores do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas pela acolhida e auxílio sempre que preciso.

À UFSM e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, que contribuíram de forma grandiosa para minha formação profissional, proporcionando sempre ensino público de qualidade.

À CAPES pela concessão do apoio financeiro para a elaboração da pesquisa.

Aos funcionários do HUSM, especialmente ao Ambulatório de Gestantes de Alto Risco, pela disponibilidade, gentileza, compreensão e auxílio nos dias de coleta.

Um agradecimento muito especial a todas as gestantes, que tiveram boa vontade colaborando para que a pesquisa fosse possível.

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para o desenvolvimento e conclusão desse trabalho.

RESUMO

PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS

AUTORA: Hellen Lopes de Paula

ORIENTADORA: Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi

COORIENTADORA: Sandra Trevisan Beck

A toxoplasmose é uma patologia de abrangência mundial, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), que pode acometer o ser humano em qualquer período da vida, porém, torna-se de extrema relevância quando atinge pela primeira vez mulheres na gestação. A doença neste período, na maioria dos casos sem manifestações clínicas, pode levar ao acometimento fetal, provocando complicações. Entre os principais fatores envolvidos na fisiopatologia das doenças, incluindo a toxoplasmose, destaca-se o estresse oxidativo. Diante disso, este trabalho objetivou verificar em gestantes diagnosticadas e tratadas para infecção por *T. gondii*, possíveis alterações nos parâmetros imunológicos, clínicos e oxidativos, bem como avaliar os resultados perinatais. O estudo contou com 27 gestantes pertencentes ao grupo controle, e 55 com a doença, destas, 42 confirmaram fase aguda e 26 fizeram uso do esquema tríplex (sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico – SPAF) como tratamento, sendo os grupos constituídos por essa descrição. As amostras e dados foram coletados no período de fevereiro de 2017 a setembro de 2019. As participantes com toxoplasmose foram infectadas durante o Surto ocorrido em 2018 na cidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Os critérios imunológicos foram avaliados através da detecção de imunoglobulina M (IgM) e imunoglobulina G (IgG), bem como teste de avididade de IgG, sendo relacionados com a sintomatologia. A análise da condição geral foi realizada por parâmetros clínicos e laboratoriais. Já o estresse oxidativo foi determinado pela quantificação de marcadores de dano oxidativo (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e óxido nítrico (NO)), assim como protetores do estresse oxidativo (grupamentos tiólicos proteicos (P-SH) e não proteicos (NP-SH), vitamina C, capacidade plasmática de redução de ferro (FRAP)), além da verificação da atividade da enzima δ -aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D). Os resultados perinatais foram averiguados pelo grau de comprometimento clínico dos recém-nascidos através de análise de registros médicos. A resposta sorológica materna foi heterogênea, com maiores níveis de anticorpos IgM entre as gestantes que apresentaram sintomas no momento do diagnóstico. Em algumas gestantes, foram encontrados níveis menores de IgM, nem sempre acompanhados de baixa avididade de IgG, a despeito do diagnóstico de infecção aguda, diferindo do perfil sorológico clássico esperado. O tratamento instituído no momento da detecção da doença, para todas as gestantes, permitiu que apenas três recém-nascidos apresentassem a forma congênita. Os parâmetros marcadores de dano (TBARS e NO), assim como a maioria dos antioxidantes (P-SH, NP-SH e FRAP) e atividade da enzima δ -ALA-D, mostraram-se superiores nas gestantes com a doença, indicando que o tratamento farmacológico recebido pode ter estimulado uma resposta compensatória protetora. A partir deste estudo, ouve um acréscimo de informações na literatura a respeito do tema, salientando a necessidade de novos biomarcadores, bem como reforçando a importância da instituição e manutenção do tratamento.

Palavras-chave: Antioxidantes. δ -ALA-D. Gestantes. Toxoplasmose. Tratamento.

ABSTRACT

SEROLOGICAL AND OXIDATIVE PROFILE OF PREGNANT WOMEN RECEIVING TREATMENT FOR INFECTION BY *Toxoplasma gondii* AND FOLLOW-UP OF PERINATAL RESULTS

AUTHOR: Hellen Lopes de Paula
ADVISOR: Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi
COADVISOR: Sandra Trevisan Beck

Toxoplasmosis is a worldwide pathology, caused by the protozoan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), which can affect humans at any period of life, however, it becomes extremely relevant when it affects women for the first time during pregnancy. The disease in this period, in most cases without clinical manifestations, can lead to fetal involvement, causing complications. Among the main factors involved in the pathophysiology of diseases, including toxoplasmosis, oxidative stress stands out. Therefore, this study aimed to verify in pregnant women diagnosed and treated for *T. gondii* infection, possible changes in immunological, clinical and oxidative parameters, as well as to evaluate the perinatal results. The study included 27 pregnant women belonging to the control group, and 55 with the disease, of which 42 confirmed the acute phase and 26 used the triple regimen (sulfadiazine, pyrimethamine and folinic acid - SPFA) as treatment, and the groups consisted of this description. Samples and data were collected from February 2017 to September 2019. Participants with toxoplasmosis were infected during the 2018 outbreak in the city of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. The immunological criteria were evaluated through the detection of immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG), as well as IgG avidity test, being related to the symptomatology. The analysis of the general condition was performed by clinical and laboratory parameters. Oxidative stress was determined by the quantification of oxidative damage markers (thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and nitric oxide (NO)), as well as oxidative stress protectors (protein (P-SH) and non-protein (NP-SH) thiols groups, vitamin C, plasma iron reduction capacity (FRAP)), in addition to the verification of the activity of the enzyme δ -aminolevulinatase dehydratase (δ -ALA-D). Perinatal outcomes were assessed by the degree of clinical impairment of newborns through analysis of medical records. The maternal serological response was heterogeneous, with higher levels of IgM antibodies among pregnant women who had symptoms at the time of diagnosis. In some pregnant women, lower levels of IgM were found, not always accompanied by low IgG avidity, despite the diagnosis of acute infection, differing from the expected classic serological profile. The treatment instituted at the time of detection of the disease, for all pregnant women, allowed only three newborns to present the congenital form. The damage marker parameters (TBARS and NO), as well as most antioxidants (P-SH, NP-SH and FRAP) and δ -ALA-D enzyme activity, were higher in pregnant women with the disease, indicating that the pharmacological treatment received may have stimulated a protective compensatory response. From this study, there was an increase in information in the literature on the subject, emphasizing the need for new biomarkers, as well as reinforcing the importance of instituting and maintaining treatment.

Keywords: Antioxidants. δ -ALA-D. Pregnant women. Toxoplasmosis. Treatment.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO DE LITERATURA

FIGURA 1 - Representação do protozoário <i>Toxoplasma gondii</i>	16
FIGURA 2 - Ciclo biológico do protozoário <i>Toxoplasma gondii</i>	17
FIGURA 3 - Transmissão e consequências ao feto/recém-nascido.....	18
FIGURA 4 - Cinética apresentada pelas imunoglobulinas específicas na toxoplasmose.....	20
FIGURA 5 - Formação de espécies reativas de oxigênio a partir do oxigênio molecular.....	27
FIGURA 6 - Etapas do processo de peroxidação lipídica.....	28
FIGURA 7 - Ação do sistema oxidante enzimático.....	30
FIGURA 8 - Formação do porfobilinogênio catalisada pela enzima δ -ALA-D.....	32

ARTIGO

FIGURE 1 - Oxidative stress biomarkers and δ -ALA-D enzyme activity evaluated in pregnant women with and without toxoplasmosis.....	46
--	----

MANUSCRITO

FIGURE 1 - Algorithm of diagnosis, treatment, and monitoring of pregnant women and outcomes in newborns during the outbreak of toxoplasmosis (2018–2019).....	68
---	----

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - Resultados das sorologias IgM e IgG das gestantes e possíveis condutas.....	21
--	----

LISTA DE TABELAS

REVISÃO DE LITERATURA

TABELA 1 - Características das principais espécies reativas de oxigênio.....26

ARTIGO

TABLE 1 - Clinical and laboratory characteristics of pregnant women with and without toxoplasmosis.....44

MANUSCRITO

TABLE 1 - Demographic data of pregnant women being treated for acute toxoplasmosis.....69

TABLE 2 - Newborn status and characteristics of pregnant women with anti-*T. gondii* IgM titers <3.0 during prenatal care.....70

TABLE 3 - Newborn status and characteristics of pregnant women with anti-*T. gondii* IgM titers >3.0 during prenatal care.....71

TABLE 4 - Clinical and laboratory characteristics of mothers and newborns with congenital toxoplasmosis.....72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ALA	Ácido aminolevulínico
CAT	Catalase
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos
δ -ALA-D	Delta-aminolevulinato desidratase
DTNB	5',5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico)
DTT	Ditiotreitol
EROs	Espécies reativas de oxigênio
Fe ²⁺	Íon ferroso
FRAP	Poder antioxidante redutor do ferro
GSH	Glutathiona reduzida
GSH-Rd	Glutathiona redutase
GSH-Px	Glutathiona peroxidase
GSSG	Glutathiona oxidada
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
IgA	Imunoglobulina A
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
MDA	Malondialdeído
NO	Óxido nítrico
O ₂	Oxigênio
O ₂ •-	Radical superóxido
•OH	Radical hidroxila
PBG	Porfobilinogênio
PCR	Reação em cadeia da polimerase
-SH	Grupamento tiólico
SOD	Superóxido dismutase
SPAF	Sulfadiazina, pirimetamina e ácido folínico
SUS	Sistema único de saúde
<i>T. gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>

TAC	Capacidade antioxidante total
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
Zn ⁺²	Zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	REVISÃO DE LITERATURA.....	15
1.1.1	Toxoplasmose	15
1.1.1.1	Epidemiologia.....	15
1.1.1.2	Agente patógeno.....	16
1.1.1.3	Transmissão vertical.....	18
1.1.1.4	Diagnóstico materno.....	19
1.1.1.5	Toxoplasmose congênita	22
1.1.1.6	Tratamento.....	23
1.1.1.6.1	<i>Tratamentos alternativos</i>	24
1.1.1.7	Medidas de prevenção e controle.....	24
1.1.2	Estresse Oxidativo	25
1.1.3	Enzima Delta-Aminolevulinato Desidratase	31
1.1.4	Relação Toxoplasmose, Gestação e Estresse Oxidativo	33
1.2	OBJETIVOS.....	34
1.2.1	Objetivo geral	34
1.2.2	Objetivos específicos	34
1.3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
2	ARTIGO	36
3	MANUSCRITO	54
4	DISCUSSÃO	73
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	75
	REFERÊNCIAS	76
	APÊNDICE A- PLANILHA PARA COLETA DE DADOS	85
	ANEXO A- PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS (CEP)	87
	ANEXO B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	90
	ANEXO C- TERMO DE CONFIDENCIALIDADE	91
	ANEXO D- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO MANUSCRITO	92

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma importante zoonose ocasionada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), que afeta, de forma crônica, cerca de 30% da população global (LIU et al., 2015). É considerada um problema de saúde pública, apresentando relevância no âmbito médico e veterinário em nível mundial (EL BISSATI et al., 2018; LIU et al., 2015). Apresenta especial importância quando a mulher adquire a infecção no período gestacional, pelos riscos aos quais o feto é exposto (AHMED; SOOD; GUPTA, 2020). O diagnóstico precoce, apesar de complexo, e o tratamento, são essenciais, e visam prevenir a transmissão ou a diminuição de sequelas para o concepto (BRASIL, 2018a).

O estresse oxidativo é reconhecido por ter papel central em vários distúrbios, incluindo complicações na gravidez. Tem por definição ser o desequilíbrio na concentração de substâncias pró-oxidantes e antioxidantes, sendo que qualquer alteração nessa relação pode gerar perturbação no organismo. Pequenas mudanças podem ser solucionadas pela homeostase celular, porém quando em proporções maiores podem levar a danos irreparáveis (BURTON; JAUNIAUX, 2011). É sabido que este desequilíbrio está envolvido na fisiopatologia da toxoplasmose (SZEWCZYK-GOLEC et al., 2021), entretanto, quando a infecção está presente na gestação, ainda carece maiores esclarecimentos.

Estreitamente relacionada a alterações oxidativas está a enzima delta-aminolevulinato desidratase (δ -ALA-D). Esta enzima possui grupamentos sulfidrílicos sensíveis à oxidação gerada por agentes oxidantes. Apresenta importante função na biossíntese do heme e, encontra-se inibida em situações pró-oxidantes, podendo gerar o acúmulo do seu substrato, ácido 5-aminolevulínico (ALA), que acaba intensificando a produção de espécies reativas, contribuindo para o cenário de estresse oxidativo (BONFANTI et al., 2011; ZANINI et al., 2014).

No ano de 2018, ocorreu em Santa Maria, sul do Brasil, o maior surto de toxoplasmose humana descrito no mundo, até a atualidade, atingindo diversas gestantes, sendo a água apontada como veículo de transmissão (CONCEIÇÃO et al., 2021; MINUZZI et al., 2020; PREFEITURA DE SANTA MARIA, 2018).

Diante dessa situação sem precedentes, da importância do tema em questão, e com o objetivo de sanar lacunas existentes na literatura, o presente estudo foi desenvolvido. Até o nosso conhecimento, não há estudos com relação ao estresse oxidativo, incluindo a avaliação da atividade da enzima δ -ALA-D, em mulheres que tiveram toxoplasmose aguda na gestação, e que estivessem em tratamento com sulfadizina, pirimetamina e ácido fólico (SPAF).

1.1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1.1 Toxoplasmose

1.1.1.1 Epidemiologia

A toxoplasmose é uma doença comum, distribuída mundialmente, apontada como uma infecção parasitária negligenciada e relevante questão de saúde pública (AGUIRRE et al., 2019; BRASIL, 2018a). É estimado que um terço da população do mundo esteja cronicamente infectada, variando a taxa de soropositividade de 10 a 90%, de acordo com a região geográfica, hábitos culturais, alimentares e de higiene (FALLAHI et al., 2017; MAREZE et al., 2019; PEYRON et al., 2019).

Essa doença, normalmente ocorre de maneira assintomática ou se manifesta de forma inespecífica. Entretanto torna-se particularmente relevante nas primo-infecções em gestantes, visto o risco de acometimento fetal, sendo considerada uma das infecções intrauterinas mais comuns no mundo todo (BRASIL, 2012; WUJCICKA et al., 2018). Dados contabilizam que entre 1 e 10 crianças nascem infectadas a cada 10.000 nativos no mundo (DIESEL et al., 2019).

A incidência no Brasil está entre as mais elevadas relatadas pela literatura, sendo que a prevalência na sua população varia de 42 a 90% (BRASIL, 2018a; DIESEL et al., 2019). Estima-se que entre 6.000 a 9.000 casos da doença na sua forma congênita ocorram por ano. Vários surtos já ocorreram em diferentes regiões do país (BRASIL, 2018b; VILLAR et al., 2020), incluindo o ocorrido na cidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, no ano de 2018, considerado o maior a nível mundial, descrito até o momento, com cerca de 2270 casos notificados, mais de 900 casos confirmados, dentre estes, 146 gestantes (CONCEIÇÃO et al., 2021; PREFEITURA DE SANTA MARIA, 2018). O meio ambiente altamente contaminado, inclusive a água a ser ingerida, representam consideráveis fontes de infecção (BRASIL, 2018b).

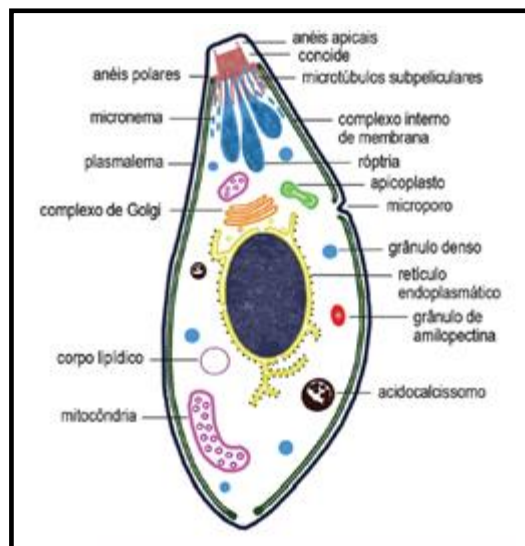
Especialmente para essa doença, no nosso país, a vigilância epidemiológica encontra-se em processo de estruturação (BRASIL, 2018a). O Ministério da Saúde, juntamente com outras entidades, desenvolve, desde 2015, ações com a finalidade de padronizar medidas para atuação em situações de toxoplasmose na gestação, em recém-nascidos e surtos. Entretanto, casos isolados não possuem notificação obrigatória (BRASIL, 2021). Encontra-se também em fase de incorporação aos procedimentos oferecidos pelo Sistema Único de Saúde (SUS), a triagem

neonatal da toxoplasmose congênita, através da pesquisa de imunoglobulina M (IgM) anti- *T. gondii* no exame do Teste do Pezinho (BRASIL, 2018b).

1.1.1.2 Agente Patógeno

O agente etiológico da toxoplasmose é o protozoário *T. gondii*, (Figura 1). Um parasita intracelular obrigatório do Filo Apicomplexa, que pode infectar qualquer animal de sangue quente, inclusive humanos (BLUME; SEEBER, 2018). Entretanto, apresenta como hospedeiro definitivo a família dos felinos (ATTIAS et al., 2020).

Figura 1 – Representação do protozoário *Toxoplasma gondii*



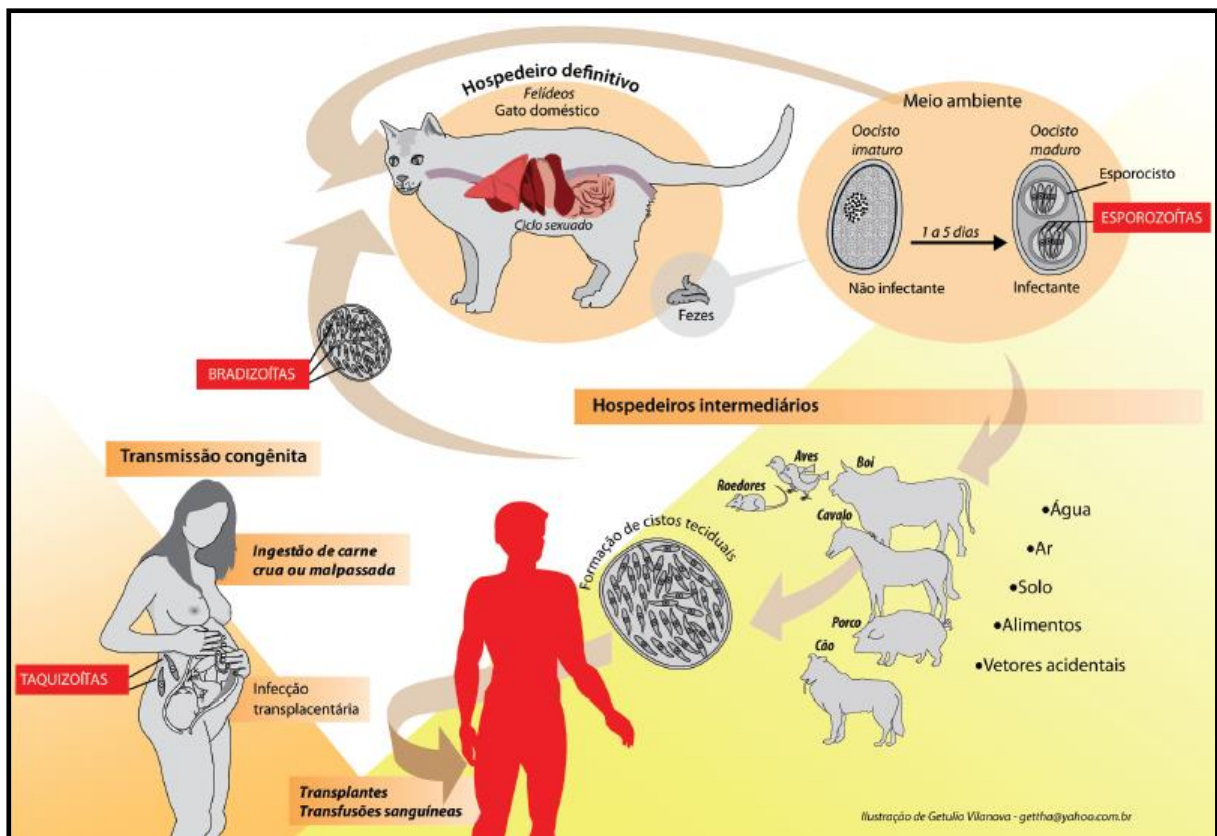
Fonte: Adaptação de SOUZA; BELFORT (2014).

No ciclo de vida do parasita, três formas podem ser infectantes: taquizoítas (estágio de fase aguda e divisão acelerada), bradizoítas (presentes na infecção crônica, geram os cistos nos tecidos e multiplicam-se de forma lenta) e esporozoítas (encontradas somente no hospedeiro definitivo, sendo liberadas nos oocistos contidos nas fezes desses animais) (ATTIAS et al., 2020).

Os humanos, hospedeiros intermediários, podem adquirir a doença por diferentes vias: pela ingestão de cistos teciduais (através do consumo de carne crua ou malcozida), oocistos (contidos no solo, água ou alimentos contaminados), transmissão da mãe para o feto, transfusão

de sangue ou transplante de órgãos. Após contato, os cistos e oocistos se rompem, liberando bradizoítas e esporozoítas no intestino, que por sua vez infectam células e se transformam em taquizoítas, caracterizando a fase aguda. Com o avanço da infecção, esses taquizoítas transformam-se em bradizoítas, evidenciando a fase crônica (ATTIAS et al., 2020; ROBERT-GANGNEUX; DARDÉ, 2012; SAADATNIA, G.; GOLKAR, M., 2012). Na figura 2, é representado o ciclo biológico do microrganismo.

Figura 2- Ciclo biológico do protozoário *Toxoplasma gondii*



Fonte: Adaptação de SOUZA; BELFORT (2014).




As principais vias de contaminação do ser humano são a oral e a transplacentária, e a água contaminada considerada importante fonte de infecção (SOUZA; BELFORT, 2014).

1.1.1.3 Transmissão Vertical

A toxoplasmose pode ser transmitida da mãe para o filho (transmissão vertical), sendo indispensável monitoramento (LEEPER; LUTZKANIN III, 2018; SOUZA; BELFORT, 2014). Essa transmissão ocorre com maior probabilidade quando a infecção ocorre pela primeira vez durante o período gestacional ou próximo à concepção (FELDMAN; KELLER; BORGIDA, 2016; ROSTAMI et al., 2019).

O risco dessa contaminação ao feto depende de diversos fatores, tais como: imunidade materna, carga parasitária e idade gestacional em que ocorreu a infecção, virulência da cepa ou genótipo do microrganismo e atraso ao começar a terapia medicamentosa depois de infecção aguda da mãe (CAPOBIANGO et al., 2014; ROSTAMI et al., 2019). As chances aumentam no decorrer da gestação, varia de 2% no período periconcepcional, 10 a 25% no primeiro trimestre, 30 a 45% no segundo, 60 a 65% no terceiro e até 80% antes do parto. No entanto, a gravidade da doença no feto, é de ordem contrária, sendo alta no começo da gestação e diminuindo com o avanço das semanas (CAPOBIANGO et al., 2014), conforme mostra a Figura 3:

Figura 3- Transmissão e consequências ao feto/recém-nascido

Trimestre de aquisição materna	I	II	III
Incidência de transmissão	17%	25%	65%
Gravidade relativa da doença congênita	Severa	Intermediária	Leve ou assintomática
Consequências para o feto e manifestações de doenças no recém-nascido	 Alto risco de aborto, natimorto ou parto prematuro	 Intermediário risco de aborto, natimorto, parto prematuro, cegueira, coriorretinite, retardo mental, alterações neurológicas ou morte	 Alto risco de infecção congênita. Baixo risco de manifestações clínicas evidentes no recém-nascido.

Fonte: Adaptação de BORGES et al. (2018).

A placenta desempenha significativa função nesse processo, uma vez que é uma barreira natural à proteção do feto contra microrganismos e sua multiplicação. Atua de forma mais eficiente para impedir a transmissão no princípio da gestação, tornando-se mais permeável ao final (FALLAHI et al., 2017).

Mais de 90% das gestantes que adquirem essa infecção não apresentam sintomas, bem como 85% dos neonatos que nascem afetados (FELDMAN; KELLER; BORGIDA, 2016).

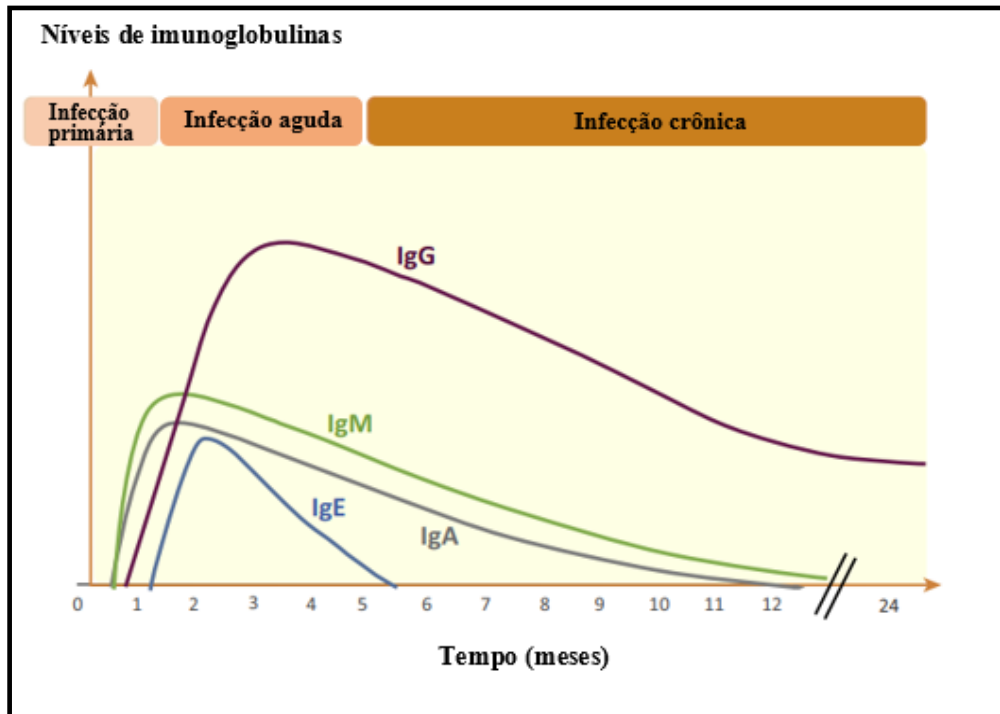
1.1.1.4 Diagnóstico Materno

A toxoplasmose é considerada um critério de risco gestacional (BRASIL, 2018a), e o diagnóstico precoce nessas pacientes é fator considerável para diminuir o risco de transmissão vertical e desenvolvimento de sequelas na criança afetada. Em caso de confirmação do diagnóstico, a mãe deve iniciar rapidamente o tratamento (BERNARDO; CHINZON; CHAVES, 2015).

Como citado anteriormente, a maior parte dos casos da doença ocorre sem sintomas ou, quando presentes, estes são inespecíficos como febre, cefaleia e linfadenomegalia (BRASIL, 2012; PEYRON et al, 2019). Diante dessas evidências, o diagnóstico materno clínico é difícil, e acaba tornando-se basicamente laboratorial, sendo a forma mais utilizada para essa avaliação o emprego de métodos de detecção no soro, uma vez que a demonstração direta do parasita é complexa (BRASIL, 2012; FELDMAN; KELLER; BORGIDA, 2016; YBAÑEZ; YBAÑEZ; NISHIKAWA, 2020).

A interação do microrganismo com o organismo pela primeira vez, leva à produção de imunoglobulinas específicas. Cada isotipo apresenta uma cinética diferenciada, variando de acordo com a fase da infecção, conforme demonstrado na Figura 4. De forma geral, a IgM e a imunoglobulina A (IgA) surgem na primeira semana, com pico após um mês, a Imunoglobulina E (IgE) apresenta níveis máximos em cerca de três meses de infecção, e a Imunoglobulina G (IgG) surge cerca de duas semanas após a IgM, com pico em 2-3 meses (DARD et al., 2016).

Figura 4 – Cinética apresentada pelas imunoglobulinas específicas na toxoplasmose



Fonte: Adaptação de DARD et al. (2016).

Nas gestantes, é realizada a detecção dos anticorpos das classes IgM e IgG no soro (Quadro 1). Se ambos forem não reagentes, a infecção não procede. Já, se IgM negativo e IgG positivo, no primeiro trimestre, indica que a infecção antecede a gestação, sendo esta gestante considerada imune, embora exista a possibilidade de se contaminar com genótipos diferentes da primeira infecção. Um teste de IgM positivo, independente dos níveis de IgG, requer exames adicionais para determinar o status da infecção. Sendo indicado, neste caso, a avaliação do teste de avididade de IgG, para medir a intensidade da ligação antígeno-anticorpo, que cresce de acordo com o tempo que a infecção permanece. A avididade elevada demanda de pelo menos 3 meses, e dessa forma auxilia a descartar incertezas (BRASIL, 2012; FELDMAN; KELLER; BORGIDA, 2016).

Quadro1- Resultados das sorologias IgM e IgG das gestantes e possíveis condutas

Situação	Resultados		Interpretação
	IgG	IgM	
Primeira sorologia no 1º trimestre da gestação	Positiva / reagente	Negativa / não reagente	Imunidade remota. Gestante com doença antiga ou toxoplasmose crônica.
	Negativa / não reagente	Negativa / não reagente	Suscetibilidade. Realizar ações de prevenção.
	Positiva / reagente	Positiva / reagente	Possibilidade de infecção durante à gestação. Realizar avidéz de IgG na mesma amostra: <ul style="list-style-type: none"> ▪ Avidéz forte/alta: Infecção adquirida antes da gestação. ▪ Avidéz fraca/baixa: Possibilidade de infecção durante a gestação.
	Negativa / não reagente	Positiva / reagente	Infecção muito recente ou IgM falso positivo. Repetir a sorologia em três semanas, se o IgG positivar, a infecção na gestante será confirmada.
Primeira sorologia após o 1º trimestre da gestação	Positiva / reagente	Negativa / não reagente	Imunidade remota. Gestante com doença antiga ou toxoplasmose crônica.
	Negativa / não reagente	Negativa / não reagente	Suscetibilidade
	Positiva / reagente	Positiva / reagente	Possibilidade de infecção durante à gestação.
	Negativa / não reagente	Positiva / reagente	Infecção muito recente ou IgM falso positivo.
Sorologias subsequentes na gestante inicialmente suscetível	Positiva / reagente	Negativa / não reagente	Possibilidade de IgG falso negativo na amostra anterior. Provável imunidade remota.
	Negativa / não reagente	Negativa / não reagente	Suscetibilidade.
	Positiva / reagente	Positiva / reagente	Infecção durante a gestação.
	Negativa / não reagente	Positiva / reagente	Infecção muito recente ou IgM falso positivo.

Fonte: (BRASIL, 2018a).

Sempre que os anticorpos forem reagentes, é necessário entender se a infecção ocorreu antes ou depois da concepção, para isso, o tempo de gestação em que os exames forem realizados ajudam a identificação do momento em que ocorreu a infecção (PEYRON et al., 2019).

Nem sempre é fácil chegar ao diagnóstico de toxoplasmose adquirida durante o período gestacional (SANTOS; DE SÁ, 2021). Nos testes sorológicos realizados após as 16 semanas,

não é necessário a realização da avidéz de IgG, pois mesmo que está esteja alta, não teria como afirmar que a infecção não ocorreu depois da concepção (BRASIL, 2012). Em algumas pessoas, a presença de IgM pode persistir, assim como a avidéz de IgG pode permanecer baixa por mais tempo, não sendo estes achados certeza de infecção recente. Exames sorológicos sequenciais, podem ser utilizados para auxiliar a definição do momento da infecção (BRASIL, 2012; PEYRON et al., 2019). Entretanto é recomendado que o tratamento seja iniciado sempre que tenha o diagnóstico de doença aguda ou que está seja provável (SANTOS; DE SÁ, 2021).

1.1.1.5 Toxoplasmose Congênita

Quando a mãe adquire a toxoplasmose pela primeira vez durante o período gestacional, o protozoário acaba entrando em contato com o feto pela infecção da placenta (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

Apesar da grande maioria dos bebês não apresentarem manifestações clínicas ao nascer, alguns estudos revelam que até 90% das crianças podem vir a apresentar sintomas posteriormente, seja durante o primeiro ano de vida, na infância, ou até mesmo na vida adulta. Esses recém-nascidos precisam de tratamento para evitar essas manifestações tardias (DIESEL et al., 2019; FELDMAN; KELLER; BORGIDA, 2016).

Quando o feto é atingido no início da gestação, inúmeras manifestações severas podem ser observadas, inclusive a morte, entretanto, quando a infecção se sucede no final, muitas vezes ocorre de forma subclínica ao nascimento (KIEFFER; WALLON, 2013).

Entre os danos funcionais e anatômicos resultantes da transmissão para o feto, podem ser encontrados: restrição de crescimento intrauterino, prematuridade e/ou manifestações clínicas e sequelas como, por exemplo: microftalmia, microcefalia, lesões oculares, calcificações cerebrais, retardo mental, hidrocefalia, pneumonite, erupção cutânea, hepatoesplenomegalia e morte fetal (BRASIL, 2012).

O rastreamento deve ser realizado em todos os recém-nascidos cuja mãe teve suspeita ou diagnóstico de toxoplasmose adquirida no período gestacional, devendo ser submetido à investigação completa, incluindo exame clínico e neurológico, oftalmológico completo com fundo de olho, imagem cerebral (tomografia computadorizada ou ecografia), hematológico e de função hepática (BRASIL, 2012).

A ultrassonografia pode ser utilizada para detectar algumas complicações decorrentes da toxoplasmose no feto. Alguns achados podem sugerir que o feto esteja afetado, incluindo: ventriculomegalia bilateral ou unilateral, calcificações intra-hepáticas ou intracranianas, ascite,

esplenomegalia, hepatomegalia e restrição de crescimento intrauterino. Se anormalidades não forem encontradas, a monitorização por meio do ultrassom deve ser continuada durante toda a gestação, pois a presença de sinais atípicos pode determinar a alteração do tratamento (BRASIL, 2012; FELDMAN; KELLER; BORGIDA, 2016).

O exame de amniocentese deve ser disponibilizado para realização de testes de reação em cadeia da polimerase (PCR) do líquido amniótico, a fim de auxiliar no diagnóstico pelo método direto de detecção do ácido desoxirribonucleico (ADN) do parasita. Essa coleta deve ser feita após 18 semanas de idade gestacional e 4 ou mais semanas após a possível data de contaminação, a fim de evitar resultados incorretos pelo tempo que o microrganismo necessita para ultrapassar a placenta (BRASIL, 2018a; PEYRON et al., 2019).

Após o nascimento, é realizada a triagem sorológica nos recém-nascidos. Em geral as dosagens de IgG são semelhantes às da mãe no instante do parto, pois essa imunoglobulina pode ser transferida através da placenta. Dessa forma, IgG reagente, pode significar transmissão congênita ou níveis maternos, e deve ser monitorada durante o primeiro ano de vida. Já a presença de IgM e IgA caracterizam toxoplasmose congênita pelo fato de não ultrapassarem a barreira placentária, porém sua ausência não descarta a infecção (BRASIL, 2018a; SOUZA; BELFORT, 2014).

1.1.1.6 Tratamento

Gestantes

O tratamento é indicado quando existe suspeita ou confirmação de infecção aguda durante a gestação, devendo ser introduzido o quanto antes, a fim de diminuir as chances de transmissão para o feto. Se a patologia ocorrer antes das 18 semanas, o tratamento é iniciado com espiramicina, sendo modificado para esquema tríplice a partir das 18 semanas, devido à maior virulência das cepas no Brasil, com vistas a diminuir o risco de sequelas decorrentes da infecção fetal (TELESSAÚDERS-UFRGS, 2019).

A espiramicina é um antibiótico macrolídeo, parasitostático, que tem como principal objetivo prevenir a infecção fetal, obtendo sua ação sem ultrapassar a barreira placentária, sendo assim, sem efeitos teratogênicos para o feto e toxicidade para a mãe (BERNARDO; CHINZON; CHAVES, 2015; KIEFFER; WALLON, 2013). A mesma permanece em altas concentrações na placenta, protegendo o contato do feto com o parasita, entretanto, não apresenta efeito

terapêutico no feto já infectado (AVCI et al., 2015; BERNARDO; CHINZON; CHAVES, 2015).

O esquema tríplice, combinação de sulfadiazina (inibidora da dihidropteroato sintetase), pirimetamina (inibidor da diidrofolato redutase) e ácido fólico (SPAF) consegue atravessar a barreira placentária. Este tratamento é usado quando a infecção do feto é de grande suspeita ou já constatada, não sendo administrada no início da gestação, devido aos possíveis problemas hematológicos, como neutropenia e anemia aplástica, provocados pela supressão da medula óssea, e teratogenicidade. A sulfadiazina e pirimetamina atuam sinergicamente, inibindo a biossíntese do ácido fólico, expressando maior efetividade contra a forma de taquizoítas do protozoário. Por sua vez, o ácido fólico previne a toxicidade hematológica da pirimetamina, não apresentando atividade contra o agente patógeno (ASSOLINI et al., 2017; BERNARDO; CHINZON; CHAVES, 2015; DUNAY et al., 2018; FELDMAN; KELLER; BORGIDA, 2016). Essa associação é oferecida por ser fortemente parasiticida, diminuindo assim, o risco de manifestações clínicas, bem como possivelmente a redução da transmissão (KIEFFER; WALLON, 2013).

Recém-nascidos

O tratamento, utilizado em casos suspeitos ou confirmados de toxoplasmose congênita, é o esquema tríplice (SPAF), e deve ser administrado desde o nascimento. Em casos confirmados, estendendo-se durante o primeiro ano de vida (MITSUKA-BREGANÓ; LOPES-MORI; NAVARRO, 2010).

1.1.1.6.1 Tratamentos alternativos

Os tratamentos citados acima, são preconizados conforme protocolos do Ministério da Saúde, entretanto possuem algumas limitações. Diante disso, algumas drogas ou compostos, com os mais diversos mecanismos de ação, têm sido testados *in vitro* e *in vivo*, como possíveis alternativas para a terapia desta infecção (BARBOSA et al., 2015; MONTAZERI et al., 2017; SZEWCZYK-GOLEC et al., 2021).

1.1.1.7 Medidas de prevenção e controle

A profilaxia deve ser fundamentada em ações que diminuam ao máximo as 3 formas infectantes do parasita (MITSUKA-BREGANÓ; LOPES-MORI; NAVARRO, 2010). Medidas

de saúde pública para prevenção da infecção são uma abordagem possível para diminuir a carga de doenças, incluindo, rastreamento sorológico durante a gravidez, bons hábitos alimentares e de higiene (BRASIL, 2012; DUBEY, 2008; MONTOYA; LIESENFELD, 2004).

1.1.2 Estresse Oxidativo

Estresse oxidativo é o estado reconhecido pela perda do equilíbrio entre substâncias oxidantes e antioxidantes, podendo ocorrer pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), ou diminuição de sua remoção pelos seus respectivos sistemas de defesas no organismo (AGARWAL et al., 2012; AOUACHE et al., 2018; HALLIWELL, 2001).

A terminologia EROs é usada para fazer referência a espécies derivadas do oxigênio, sendo mais reativas que ele mesmo, abrangendo tanto radicais livres, como intermediários não-radicalares do elemento (BURTON; JAUNIAUX, 2011; HALLIWELL, 2001). A Tabela 1 traz os principais representantes e suas características.

Tabela 1 – Características das principais espécies reativas de oxigênio

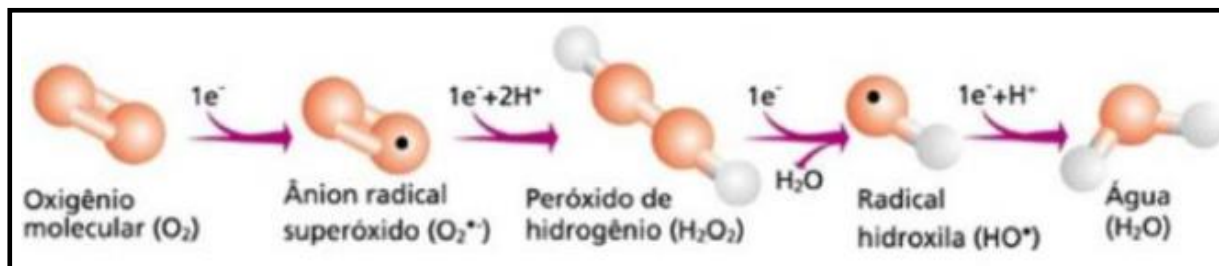
	Espécies	Estrutura química	Descrição	Ocorrência	Ação
Radicalares	Superóxido	$O_2^{\bullet-}$	Radical mais potente na indução de dano celular	Aproximadamente em todas as células aeróbicas	Na maioria das reações atua como agente redutor
	Hidroxila	$\bullet OH$	Altamente reativo	Formado a partir da homólise da água	DNA, proteínas, carboidratos e lipídeos
	Hidroperoxila	$HOO\bullet$	Protonado a partir do $O_2^{\bullet-}$	Através do peróxido de hidrogênio	Membranas biológicas
Não-radicalares	Peróxido de Hidrogênio	H_2O_2	Mais deletério ao organismo	Reações para produção de $\bullet OH$	Proteínas e lipídios
	Oxigênio Singlete	$^1\Delta O_2$	Molécula de oxigênio excitada	Produzidos pelos fagócitos, indução luminosa e reações catalisadas pelas peroxidases	Mutações no DNA

Fonte: Adaptado de OLIVEIRA; SCHOFFEN (2010); complementado com informações de ABUJA; ALBERTINI (2001); e BARREIROS; DAVID; DAVID (2006).

Radical livre é uma espécie apta de existir de forma independente, e possui em sua estrutura, um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL, 2001). Este elétron desemparelhado normalmente confere importante grau de reatividade (VALKO et al., 2007). Vários elementos são capazes de formar radicais livres, entretanto os mais relevantes para os sistemas biológicos são o oxigênio e nitrogênio (BURTON; JAUNIAUX, 2011).

Todo metabolismo aeróbico está constantemente exposto ao efeito oxidante dessas espécies reativas, pelo fato de serem formadas no decorrer de processos de consumo de oxigênio (O_2) (AGARWAL et al., 2012; RIBEIRO et al., 2005). A redução incompleta de O_2 na cadeia respiratória mitocondrial é uma das mais importantes fontes de formação de EROs (ABUJA; ALBERTINI, 2001), conforme demonstrado abaixo na Figura 5.

Figura 5- Formação de espécies reativas de oxigênio a partir do oxigênio molecular



Fonte: Adaptação de AUGUSTO (2006).

A produção de EROs é obtida a partir do metabolismo intracelular normal de mitocôndrias, enzimas e peroxissomos. Além disso, vários agentes externos também podem contribuir, como luz ultravioleta, radiação ionizante, citocinas inflamatórias, quimioterapia, bem como toxinas ambientais (FINKEL; HOLBROOK, 2000).

A diminuição dos níveis de EROs, abaixo do limite esperado, pode impedir importantes funções fisiológicas destes, como por exemplo, facilitação da quimiotaxia, síntese de energia, defesa imunológica (fagocitose), regulação do crescimento da célula, produção de substâncias biológicas (prostaglandinas e colágeno) e sinalização intracelular (CORRALES; ARIZA, 2012; FINKEL; HOLBROOK, 2000).

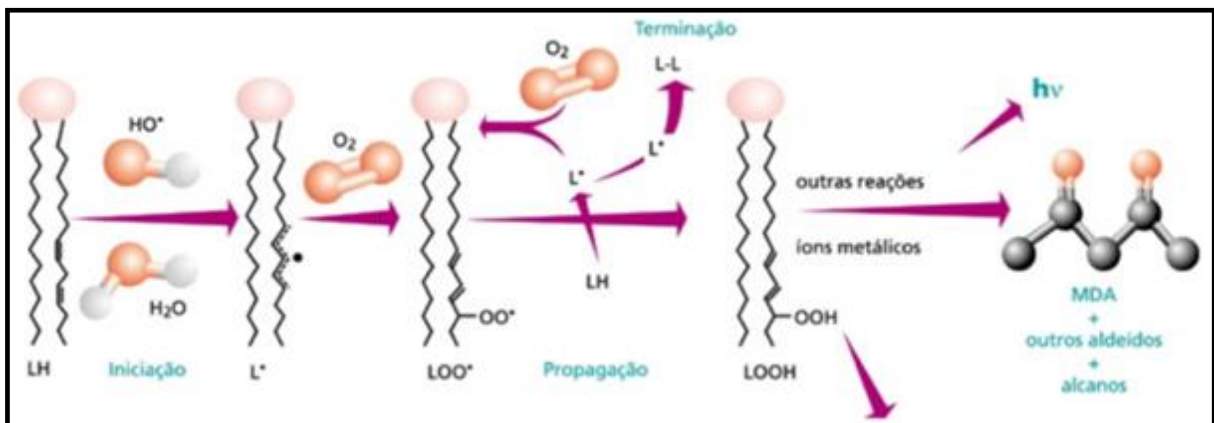
Da mesma maneira, a elevação destas, pode ser igualmente prejudicial, levando à morte das células, acelerando o envelhecimento, dentre outros malefícios (FINKEL; HOLBROOK, 2000). O dano na célula resulta principalmente da ação dessas espécies reativas sobre macromoléculas como ácidos nucleicos, açúcares, lipídios e proteínas, impedindo estes de realizarem sua função normal (VALKO et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2007). Inclusive metais, como o ferro e cobre, estão envolvidos na catálise de algumas reações, contribuindo para essas modificações (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

Todos os componentes da célula são passíveis de sofrer ação das espécies reativas, entretanto, a membrana celular constitui um dos principais focos de atuação (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; VASCONCELOS et al., 2007).

A peroxidação lipídica é o processo onde os lipídios que fazem parte da estrutura da membrana celular ou organelas subcelulares, que contenham dupla (s) ligação (ões) de carbono, especialmente ácidos graxos poli-insaturados, sofrem ataque desses agentes oxidantes (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014; JAKOVLJEVIC et al., 2012). Essa modificação gera alterações nas suas propriedades químicas e físicas, com consequente mudança na

estrutura, permeabilidade, fluidez, risco de ruptura e morte celular, além de originar diversos produtos secundários, principalmente aldeídos, com a capacidade de intensificar essas transformações (DEL RIO; STEWART; PELLEGRINI, 2005; VASCONCELOS et al., 2007). As etapas desse processo estão representadas na Figura 6.

Figura 6 – Etapas do processo de peroxidação lipídica



Fonte: (AUGUSTO, 2006).

O malondialdeído (MDA) é um desses produtos, considerado o mais mutagênico, e muito usado como marcador de estresse oxidativo e lipoperoxidação, sendo facilmente avaliado. Um dos ensaios mais usados para essa determinação é a técnica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), onde o MDA reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) levando à formação de compostos colorimétricos, permitindo quantificação (AYALA; MUÑOZ; ARGÜELLES, 2014; CUFFE; XU; PERKINS, 2017; DATOR et al., 2019).

Também ligado a questões oxidativas, encontra-se o óxido nítrico (NO), um radical livre que representa um dos mediadores de processos extra e intracelulares mais relevantes (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003). É conhecido por desenvolver importantes funções nos sistemas biológicos, tais como, inibição da agregação plaquetária, prevenção da adesão de plaquetas e neutrófilos às células endoteliais, vasodilatação, inibição da migração e proliferação de células musculares lisas, regulação da apoptose e manutenção da função de barreira das células endoteliais (ROSSELLI; KELLER; DUBEY, 1998). Entretanto, pode ser altamente tóxico em circunstâncias de desequilíbrio oxidativo (DUSSE; VIEIRA; CARVALHO, 2003).

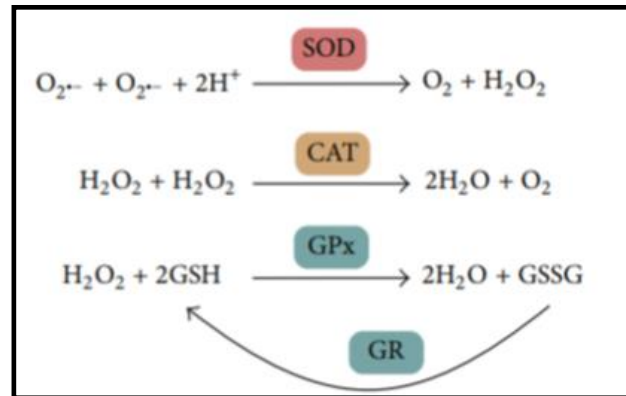
A exposição do organismo às mais diversas fontes de oxidantes, fez com que diferentes mecanismos de ação fossem estabelecidos pelos sistemas antioxidantes, tais como: preventivos (impedem a formação), de reparo (auxiliam na reconstituição das estruturas lesadas) e varredores (impedindo a ação) (BARBOSA et al., 2010; VALKO et al., 2007).

Por definição, o termo “antioxidantes” refere-se a qualquer substância capaz de prevenir ou retardar a oxidação de um substrato oxidável, mesmo que em concentrações menores que este (VILLANUEVA; KROSS; 2012). Apresentam a importante função de proteger o organismo, reduzindo ou inibindo a ação prejudicial das EROs, dessa forma, auxiliando na manutenção do balanço oxidante/antioxidante (AGARWAL et al., 2012; BARBOSA et al., 2010). Normalmente são divididos em 2 categorias: enzimáticos e não-enzimáticos (BIRBEN et al., 2012). Outros critérios também podem ser levados em consideração para mais classificações: exógeno ou endógeno, origem (natural ou sintético), primário ou secundário, propriedades físico-químicas (hidrossolúvel ou lipossolúvel) (PISOSCHI; POP, 2015; VERTUANI; ANGUSTI; MANFREDINI, 2004).

Os principais representantes do sistema antioxidante enzimático são: superóxido dismutase (SOD) (EC 1.15.1.11), catalase (CAT) (EC 1.11.1.6), e glutathiona peroxidase (GSH-Px) (EC 1.11.1.9) (BIRBEN et al., 2012). Essas enzimas além de possuírem outras funções essenciais nos organismos, são consideradas imprescindíveis como a primeira linha de proteção contra o ataque das EROs (IGHODARO; AKINLOYE, 2018; PISOSCHI; POP, 2015).

A enzima SOD transforma $O_2^{\bullet-}$, em O_2 e H_2O_2 . O H_2O_2 em quantidades excessivas é tóxico para o organismo, e na presença de íon ferroso (Fe^{2+}), através da Reação de Fenton, é transformado no prejudicial $\bullet OH$. Por sua vez, a CAT nos peroxissomos, e a GSH-Px na mitocôndria, decompõe o H_2O_2 em compostos menos reativos. A ação dessas enzimas, representada na Figura 7, reduz muito os danos induzidos pelas espécies reativas (IGHODARO; AKINLOYE, 2018).

Figura 7- Ação do sistema oxidante enzimático



Fonte: Adaptação de PENG et al. (2014).

CAT: catase; SOD: superóxido dismutase; GPx: glutathiona peroxidase; GR: glutathiona redutase; GSH: glutathiona reduzida; GSSG: glutathiona oxidada.

A CAT humana é formada por quatro subunidades idênticas de proteínas, sendo cada uma destas, composta de um grupamento prostético heme e quatro domínios diferentes. Está localizada dentro da célula, em grande quantidade nos peroxissomos, local onde também tem alta produção de H_2O_2 (GLORIEUX; CALDERON, 2017; YOUNG; WOODSIDE, 2001). Possui importante papel no controle da concentração de H_2O_2 , regulando dessa forma os danos gerados por este (GLORIEUX; CALDERON, 2017; GOYAL, M. M.; BASAK, 2010).

Os antioxidantes abrangem do mesmo modo, um sistema não enzimático, o qual inclui alguns compostos provenientes da dieta, tais como: vitaminas E, C, flavonoides, selênio e zinco. E também, substâncias produzidas pelo próprio organismo, ou seja, endógenas, como L-arginina, coenzima Q10, glutathiona, melatonina, ácido úrico, bilirrubina, transferrina, entre outras (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008).

A vitamina C ou ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel, essencial para várias funções biológicas, como a biossíntese de neurotransmissores e colágeno (PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008). Como antioxidante, comporta-se como agente redutor eliminando espécies reativas prejudiciais. Este mecanismo auxilia na prevenção de danos ao DNA, lipídios e proteínas (GROSSO et al., 2013). Atua sinergicamente com a vitamina E, na redução de radicais livres e também auxiliando na reciclagem a vitamina E oxidada (AGARWAL; GUPTA; SHARMA, 2005; PHAM-HUY; HE; PHAM-HUY, 2008).

A glutathiona reduzida (GSH) é o principal composto sulfidrílico não proteico do organismo, é um antioxidante solúvel, presente em grande quantidade em todos os compartimentos celulares, possuindo diversas funções biológicas. Este grupamento tiólico ou

sulfidrílico (-SH), presente em sua estrutura, é responsável pela desintoxicação contra as EROs e peróxidos de lipídios, bem como pela manutenção do estado redox. Sua forma reduzida (GSH) atua contra essas moléculas, formando a sua versão oxidada (GSSG), mediada pela GSH-Px, que é reduzida pela glutathione redutase (GSH-Rd) gerando novamente GSH. Essa relação GSH/GSSG, é um bom determinante de estresse oxidativo. Atua também na conversão das vitaminas C e E as suas formas ativas, como cofator de enzimas e na proteção contra apoptose (ADEOYE et al., 2018; BIRBEN et al., 2012).

Os grupamentos -SH, presentes em algumas moléculas nos sistemas biológicos, são de grande importância para regulação e manutenção do balanço redox (GORI et al., 2014; YANG; GUAN, 2015). Possuem papel relevante em funções fisiológicas e processos patológicos por apresentarem capacidade de redução, quelação e nucleofilicidade. Os mesmos podem ser divididos em grupamentos tiólicos proteicos (envolvem proteínas de sinalização reguladas por tióis (ex.: quinases), proteínas de armazenamento de tióis (ex.: albumina) e proteínas contendo tióis propriamente envolvidos na regulação redox (ex.: GSH-Px), e não proteicos (como GSH, cisteína e homocisteína) (YANG; GUAN, 2015). A quantificação dos grupamentos -SH ocorre pela reação destes com o 5',5'-ditiobis-(2-ácido nitrobenzóico) (DTNB) e pode ser realizada tanto nos eritrócitos como no plasma (BOYNE; ELLMAN, 1972).

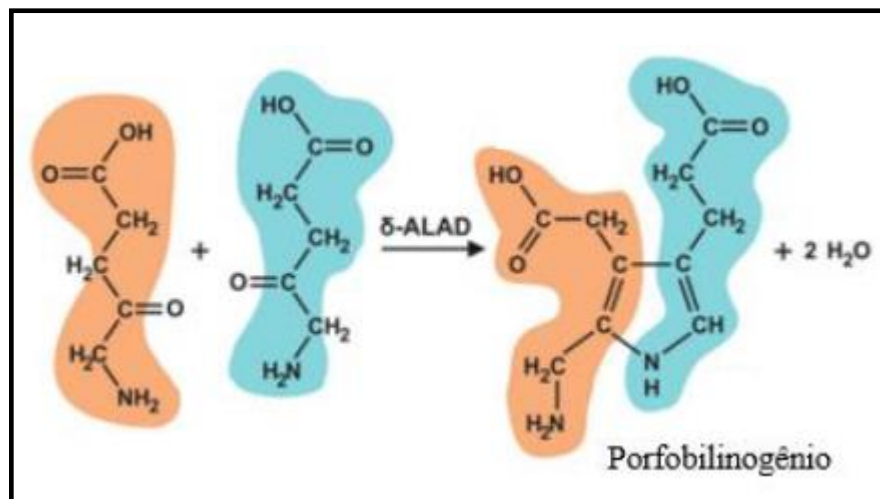
Para a avaliação do sistema antioxidante de forma geral podemos mencionar os seguintes testes: Capacidade antioxidante total equivalente ao trolox ("Trolox equivalent antioxidant capacity") (TAC) e Poder antioxidante redutor do ferro ("Ferric reducing - antioxidant power") (FRAP) (KUSANO; FERRARI, 2008). O ensaio TAC determina a capacidade dos antioxidantes em inibir o cátion radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (SHAHIDI; ZHONG, 2015). Enquanto a técnica FRAP testa a força antioxidante da amostra em reduzir íons férricos em ferrosos (VASCONCELOS et al., 2007). A principal vantagem é o fato de levarem em consideração a capacidade de todos os antioxidantes, ao invés da análise de compostos isolados, principalmente devido à interação que pode existir entre eles (BARTOSZ, 2003, KUSANO; FERRARI, 2008).

1.1.3 Enzima Delta-Aminolevulinato desidratase

A enzima δ -ALA-D (E.C. 4.2.1.24), também denominada como 5- aminolevulinato-hidrolase ou porfobilinogênio sintase é uma zinco metaloproteína citosólica que participa da biossíntese do heme, função de extrema importância para todos os organismos aeróbicos (EMANUELLI, 1997; JAFFE et al., 1995; PANIZ et al., 2007). Atua nessa via catalisando a

condensação assimétrica e ciclização de duas moléculas de ALA para formar o porfobilinogênio (PBG) (Figura 8), o precursor monopirrólico das moléculas tetrapirrólicas (corrinas, bilinas, clorofilas e hemes) (DJORDJEVIĆ, 1985; EMANUELLI, 1997; GIBBS; CHAUDHRY; JORDAN, 1985). Essas moléculas compõem grupos prostéticos de relevantes proteínas como mioglobina, hemoglobina, e enzimas como CAT, peroxidases e citocromos (SOUZA et al., 2007).

Figura 8- Formação do porfobilinogênio catalisada pela enzima δ -ALA-D



Fonte: Adaptação de ROCHA et al. (2012).

A δ -ALA-D possui alta sensibilidade ao oxigênio, assim como todas as enzimas desidratases. Esta característica está associada a seus resíduos de cisteína fortemente reativos, necessários para sua estabilidade e atividade (GIBBS; CHAUDHRY; JORDAN, 1985). Esses grupamentos, em condições oxidantes, tornam-se suscetíveis e levam à inibição da enzima. Essa inibição prejudica a produção de moléculas tetrapirrólicas e leva ao acúmulo de ALA. O acúmulo desse substrato, tem se mostrado um indutor de eventos pró-oxidantes, pelo aumento da geração de espécies reativas, como H_2O_2 , $\text{O}_2^{\cdot-}$ e $\cdot\text{OH}$, intensificando o desequilíbrio redox (DE LUCCA et al., 2016a; LA-LLAVE-LEÓN et al., 2017; ZANINI et al., 2014).

A inibição da enzima pode ser revertida e/ou prevenida, *in vitro*, pela adição de zinco (Zn^{+2}) ou agentes redutores, como o ditioneitol (DTT), sendo possível calcular o seu índice de reativação. Essa ocorrência indica que a oxidação de grupos $-\text{SH}$ está envolvida na inibição da δ -ALA-D (BAIERLE et al., 2014; ROCHA et al., 2012).

A avaliação da δ -ALA-D tem sido relatada como um possível marcador de estresse oxidativo na fisiopatologia de algumas doenças (ROCHA et al., 2012). Dentre algumas situações em que a enzima já foi citada encontram-se estudos realizados durante a gestação em grávidas saudáveis nos três trimestres (DE LUCCA et al., 2019), nos diferentes modos de entrega (VENDRAME et al., 2019a) e variação de tempo de duração de trabalho de parto com avaliação de impacto nos neonatos (VENDRAME et al., 2019b), e expostas a condições de risco por pré-eclâmpsia (DE LUCCA et al., 2016b), diabetes (DE PAULA et al., 2020; RODRIGUES et al., 2018) e gemelaridade (JANTSCH et al., 2019).

1.1.4 Relação Toxoplasmose, Gestação e Estresse Oxidativo

Os mecanismos da infecção pelo *T. gondii* na gestação, bem como suas complicações para o feto não estão bem descritos, porém cita-se o estresse oxidativo como uma possível causa (XU et al., 2012).

A gestação, por si só, é um período onde o metabolismo oxidativo encontra-se sabidamente elevado. Isso ocorre devido à grande demanda de oxigênio requisitada pela mãe, pelo feto e pela placenta, que é rica em mitocôndrias. Esse cenário faz com que ocorra uma maior produção de EROs, no entanto, nas gestações normais, existe um equilíbrio oxidativo fisiológico (HASTIE; LAPPAS, 2014; VIDAL et al., 2014). Essa geração de EROs possui função essencial, entretanto em quantidades exacerbadas pode colaborar para o dano oxidativo (RAMIRO-CORTIJO et al., 2016).

Alguns estudos foram realizados em gestantes humanas (ABDUL-RAHMAN; MAHMOOD; AZIZ, 2015; ABDULAMEER, 2020; AZIZ; UMAR; ALI, 2006; MARCHIORO et al., 2018; MOHAMMED et al., 2020; MUSTAFA; IBRAHEEM, 2019) e em modelo de gestação animal (XU et al., 2012; XU et al., 2015) com toxoplasmose, abordando a avaliação de estresse oxidativo nessas situações. No entanto, estes foram desenvolvidos em pacientes com IgG reagente (fase crônica) (ABDUL-RAHMAN; MAHMOOD; AZIZ, 2015; MOHAMMED et al., 2020), com IgM reagente (fase aguda), utilizando látex como método de detecção (AZIZ; UMAR; ALI, 2006), inclusive sem fazer referência à fase da infecção que se encontravam (MUSTAFA; IBRAHEEM, 2019), porém todos sem utilização da terapia. Até o nosso conhecimento, não foram realizados estudos com relação ao estresse oxidativo e avaliação da atividade da enzima δ -ALA-D, em mulheres que tiveram toxoplasmose aguda na gestação, e que estivessem em tratamento com SPAF, o que justifica o presente estudo.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Verificar em gestantes diagnosticadas e tratadas para infecção por *T. gondii* possíveis alterações nos parâmetros imunológicos, clínicos e oxidativos, bem como avaliar os resultados perinatais.

1.2.2 Objetivos Específicos

Nas amostras das gestantes diagnosticadas e tratadas para infecção por *T. gondii*, objetivou-se:

- Averiguar a resposta humoral de gestantes na fase aguda da infecção, associando a presença ou ausência de sintomatologia, bem como condições clínicas gerais;
- Analisar marcadores de dano oxidativo, assim como protetores do sistema de defesa antioxidante;
- Avaliar a atividade da enzima sulfidrílica δ -ALA-D.

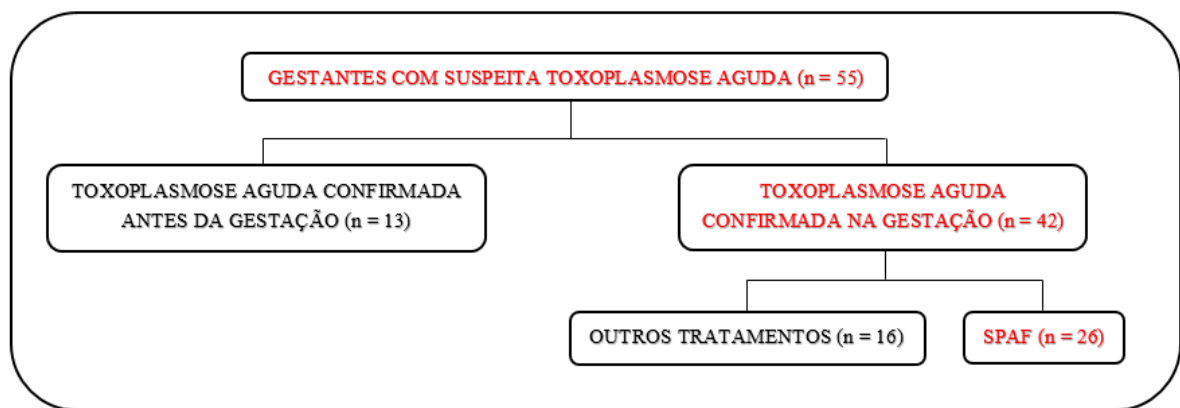
Com os resultados perinatais, pretendeu-se:

- Determinar o grau de comprometimento clínico dos recém-nascidos de mães que receberam tratamento para infecção pelo *T. gondii*.

1.3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais e métodos que pertencem à essa Tese, estão apresentados sob a forma de um artigo e um manuscrito. O artigo, encontra-se publicado no periódico científico *Microbial Pathogenesis*, enquanto o manuscrito encontra-se submetido no periódico científico *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease*. Os itens Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências, estão contidos nos mesmos.

O fluxograma abaixo explica o método que os grupos das participantes com a patologia foram estabelecidos para a realização dos referidos estudos.



2 ARTIGO - Delta-aminolevulinate dehydratase enzyme activity and the oxidative profile of pregnant women being treated for acute toxoplasmosis

Artigo publicado no periódico científico *Microbial Pathogenesis*

Hellen Lopes de Paula, Leidiane de Lucca, Silmara Ana Vendrame, Ligia Carine Wess, Carolina dos Santos Stein, Rafael Noal Moresco, Sandra Trevisan Beck, Thissiane de Lima Gonçalves

Delta-aminolevulinate dehydratase enzyme activity and the oxidative profile of pregnant women being treated for acute toxoplasmosis

Hellen Lopes de Paula^a, Leidiane de Lucca^a, Silmara Ana Vendrame^a, Ligia Carine Wess^a, Carolina dos Santos Stein^a, Rafael Noal Moresco^a, Sandra Trevisan Beck^a, Thissiane de Lima Gonçalves^a

^aDepartment of Clinical and Toxicology Analysis, Center of Healthy Sciences, Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Brazil

Hellen Lopes de Paula: hellen_lopes89@hotmail.com

Leidiane de Lucca: leidi_lucca@hotmail.com

Silmara Ana Vendrame: silmaravendrame@yahoo.com.br

Ligia Carine Wess: ligia-wess@hotmail.com

Carolina dos Santos Stein: stein.carolina@gmail.com

Rafael Noal Moresco: rnmoresco@ufsm.br

Sandra Trevisan Beck: stbeck.beck@gmail.com

Thissiane de Lima Gonçalves: thissianegoncalves@yahoo.com.br

Corresponding Author:

Thissiane de Lima Gonçalves,
E-mail: thissianegoncalves@yahoo.com.br,
Department of Clinical and Toxicology Analysis, Center of Healthy Sciences,
Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul,
97105-900, Brazil.

Abstract: ¹

The aim of this study was to investigate the clinical and oxidative profile, including the activity of the enzyme delta-aminolevulinate dehydratase (δ -ALA-D), in women who acquired toxoplasmosis during pregnancy and used the triple regimen (sulfadiazine + pyrimethamine + folinic acid [SPFA]) as treatment. These parameters have not been evaluated in pregnant women with toxoplasmosis who used the triple regimen. A total of 53 pregnant women were recruited and divided into two groups: control (C; n = 27) and acute toxoplasmosis (AT; n = 26). Clinical data and blood samples were obtained from all patients. The clinical profile was analyzed by checking parameters such as body mass index, blood pressure, and complete blood count. Oxidative stress was evaluated by quantifying protein (P-SH) and non-protein (NP-SH) thiol groups, vitamin C, plasma iron reduction capacity (FRAP), δ -ALA-D enzyme activity, reactive substances to thiobarbituric acid (TBARS), and nitric oxide (NO). Changes in hematological parameters (increased red cell distribution width and decreased hemoglobin and mean corpuscular hemoglobin concentration), increased antioxidant system (P-SH, NP-SH, FRAP, δ -ALA-D enzyme activity), as well as damage markers (TBARS and NO), were significantly elevated in pregnant women with toxoplasmosis, compared to those in the control group. Pregnant women treated for this acute infection showed increased damage markers, as well as a significant increase in the antioxidant system, including the activity of the δ -ALA-D enzyme. Given this evidence, it is suggested that these changes occur as a form of compensation, with a possible contribution from drug therapy.

Keywords: Acute toxoplasmosis; Antioxidants; Delta-aminolevulinate dehydratase; Pregnant women; *Toxoplasma gondii*.

¹ **Abbreviations:** AT, women who had acute toxoplasmosis during pregnancy; BMI, body mass index; C, control group; δ -ALA-D, delta-aminolevulinate dehydratase; EDTA, ethylenediamine tetraacetic acid; FRAP, ferric reducing ability of plasma; GSH, reduced glutathione; GSSH, oxidized glutathione; HUSM, University Hospital of Santa Maria; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; MDA, malondialdehyde; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; NO, nitric oxide; NP-SH, non-protein thiol groups; P-SH, protein thiol groups; RDW, red cell distribution width; SPFA, sulfadiazine + pyrimethamine + folinic acid; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances; UBS, Basic Health Units.

1. Introduction

Toxoplasmosis is a common zoonosis with worldwide distribution. Its etiological agent is the intracellular protozoan *Toxoplasma gondii* [1]. This parasite infects humans as well other warm-blooded animals and the infectious forms vary according to the route of transmission: bradyzoites, by consumption of raw/undercooked meat and transplantation of solid organs, sporozoites, by contamination of soil, water, fruits and vegetables, and tachyzoites, transplacental transmission and blood transfusion [2, 3].

Studies estimate that about a third of the world's population may be chronically infected [2, 4]. Generally, in immunocompetent patients, the acute phase occurs asymptotically or manifests itself through non-specific symptoms [4]. This heterogeneous response depends on individual characteristics, and may have different intensity, reflecting the production of cytokines, which are involved in the manifestation of symptoms [5]. However, this infection is extremely relevant when it occurs for the first time during the gestational period due to the possibility of transmission to the fetus. According to the gestational age at which it occurs, the risk of neonatal sequelae may present with different intensities [6, 7]. These clinical manifestations can range from prematurity to perinatal death or severe eye and brain damage [8, 9].

When maternal infection is suspected or confirmed, treatment should be started immediately. The antibiotic spiramycin is administered until 18 weeks of gestation. After that period, continuation of the medication is defined according to whether the fetus is infected or not. If fetal infection is not confirmed, spiramycin is continued until delivery. However, if the infection of the fetus is confirmed or suspected, or the maternal diagnosis of the infection occurs after more than 18 weeks of gestation, the triple regimen (sulfadiazine, pyrimethamine, and folic acid [SPFA]) is then instituted and sustained until the end of pregnancy [10, 11].

Oxidative stress is defined as an imbalance between pro-oxidant substances and antioxidant defenses, in favor of the first [12]. Antioxidant defense mechanisms act to control the effects of oxidizing species [13]. This disparity is known to be involved in the pathophysiology of toxoplasmosis, both in the infectious process caused by the pathogen and in the response generated by the host [14].

During normal pregnancy, several complex events occur in a well-organized manner, so that the development of the fetus occurs with an ideal supply of oxygen and nutrients, and the delivery has a good outcome [15, 16]. Thus, oxidative metabolism is increased as a result of the increase in oxygen demand, both from the mother and fetus, leading to a greater production of

reactive oxygen species. However, in these situations, there is a physiological balance [17]. This elevation plays an essential role in pregnancy, but in exacerbated amounts, reactive oxygen species, often associated with complications, can lead to oxidative damage [18].

The enzyme delta-aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D) (EC 4.2.1.24) that participates in the biosynthesis of tetrapyrrolic molecules, which are part of prosthetic groups of proteins relevant to aerobic organisms, such as hemoglobin, is relevant in this context [19]. Its activity and stability are very sensitive to oxidizing agents because of the possible oxidation of their thiol groups [20]. Its inhibition can generate an accumulation of aminolevulinic acid substrate, which in turn exacerbates oxidative stress by forming reactive species [21]. To date, there are no studies in the literature that address the behavior of the δ -ALA-D enzyme in pregnant women in the acute phase of toxoplasmosis and receiving the triple scheme (SPFA) as treatment.

In 2018, in the city of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, the largest outbreak of toxoplasmosis, where water was suspected as the possible transmission vehicle, was observed. As a result of this outbreak, there were a significant number of people infected with *T. gondii*, including many pregnant women [22, 23].

Given this context and the relevance and uniqueness of the theme presented, this study sought to analyze the clinical and oxidative profiles of women who acquired the infection during pregnancy and used SPFA as a treatment for toxoplasmosis. This study also observed the activity of the enzyme δ -ALA-D due to its relevance in aerobic organisms and the behavior demonstrated in situations of oxidative stress.

2. Materials and Methods

2.1. Study Population

The study included 53 participants, divided into two groups: healthy pregnant women, as the control group (C) (n = 27) and women who had acute toxoplasmosis during pregnancy (AT) (n = 26). Group C participants were recruited from healthy women who underwent prenatal care at Basic Health Units (UBSs) in the city of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, between February 2017 and June 2018. Patients with AT were selected from the Fetal Medicine Outpatient Clinic of the University Hospital of Santa Maria (HUSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil, with suspected *T. gondii* infection, between August 2018 and September 2019. The diagnosis of toxoplasmosis was based on the detection of anti-*T. gondii* immunoglobulin M (IgM), immunoglobulin G (IgG) antibodies and intensity of IgG avidity [24]. Pregnant

women who obtained reagent anti-*T. gondii* IgM and IgG results, as well as low avidity of IgG, during pregnancy, were classified into the AT group. This study included pregnant women with a single fetus in the third trimester of pregnancy (based on data provided by the first ultrasound) and aged between 18 and 40 years. All patients included in the AT group received SPFA as drug therapy for the treatment of toxoplasmosis, since the protocol of the Ministry of Health indicated this treatment according to the clinical criteria presented by these pregnant women. Patients with pre-existing chronic diseases, smokers, alcoholics, those with adjacent infections, and those who were not treated with SPFA were excluded. All patients agreed to participate in the survey by signing an informed consent form. The study was authorized by those responsible for the UBSs, the Center for Permanent Education in Health, and the Municipal Health Department, and the study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Santa Maria (CAAE: 59366116.5.0000.5346).

2.2. Sample Collection and Processing

Before routine medical consultations, biological samples were collected, and a questionnaire was applied by researchers to obtain clinical data. Relevant information was supplemented through access to the medical records.

Venous blood samples (8 mL) were collected in tubes containing heparin, ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), and no anticoagulant. Serum and plasma samples were obtained by centrifugation at 3000 rpm. After removing the plasma, the samples containing heparin were washed with 0.9% NaCl solution three times to isolate erythrocytes. Serum aliquots were separated and stored at -80 °C as soon as they were obtained. This was done for performing the ferric reducing ability of plasma (FRAP) and nitric oxide (NO) tests at a later stage, while the other tests were performed on the same day.

2.3. Serological diagnosis

The determination of antibodies anti- *T. gondii* IgM and IgG was performed using serum by electrochemiluminescence immunoassay in a COBAS 6000 automated equipment (Roche®, Basel, Switzerland). IgG avidity testing was performed on serum using the chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA) on Architect I2000 analyzer (Abbott®, Illinois, USA). The parameters used as reference were those provided by the manufacturers.

2.4. Clinical and Laboratory Profile

Body mass index (BMI) was estimated by dividing the weight by height squared (kg/m^2). Hematimetric indices (erythrocytes, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume [MCV], mean corpuscular hemoglobin [MCH], mean corpuscular hemoglobin concentration [MCHC], and red cell distribution width [RDW]) as well as platelets and leukocyte counts were evaluated in a blood sample containing EDTA, as determined using a Sysmex XE 5000® automated cell counter (Sysmex Corporation, Kobe, Japan). Blood pressure was measured using a calibrated aneroid sphygmomanometer (mmHg).

2.5. Oxidative Profile

2.5.1. Antioxidants

Thiolic groups were quantified using the method reported by Boyne and Ellman [25], with modifications by Jacques-Silva et al. [26]. This determination consists of the reduction of 5,5-dithiobis (2-nitrobenzoic acid) in phosphate buffer and measurement in a spectrophotometer at 412 nm. Protein thiol groups (P-SH) were determined in plasma samples and presented as nmol P-SH/mL plasma, while non-protein thiol groups (NP-SH) quantified in erythrocytes were represented as nmol NP-SH/mL erythrocytes. Vitamin C was measured in plasma samples, following the methodology of Galley et al. [27] modified by Jacques-Silva et al. [26] in which the final orange-red product is determined using a spectrophotometer at 520 nm, and the results are given in μg vitamin C/mL plasma. The FRAP measurement was performed in serum samples using an automated analyzer BS 380 ® (Mindray Medical International, Shenzhen, China) following the method described by Benzie and Strain [28], and the results are expressed in mmol/L.

2.5.2. Oxidants

The determination of lipoperoxidation in plasma samples was performed by measuring the level of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) in the samples using a spectrophotometer at 532 nm, following the technique described by Lapenna et al. [29], and the results are represented in nmol malondialdehyde (MDA)/mL plasma. The NO evaluation (through the nitrate/nitrite ratio) was performed in serum samples using an automated analyzer BS 380 ®, following the method described by Tatsch et al. [30], and the results are expressed in $\mu\text{mol}/\text{L}$.

2.5.3. Enzymatic Activity

The evaluation of the δ -ALA-D enzyme activity was performed in whole blood samples, based on the method proposed by Berlin and Schaller [31], and the results are represented as U/L (nmol PBG/h/mg Hb).

2.6. Statistical Analysis

Data analysis was performed using GraphPad Prism® software (La Jolla, CA, USA) version 6.0. The Shapiro-Wilk test was used to assess the normality of the samples. When the groups were distributed parametrically, Student's t-test was applied, and the results were represented as mean \pm standard deviation (SD). However, in the case of non-parametric variables, the Mann–Whitney U test was used, and the results were represented as median and interquartile range. Statistical significance was set at $p < 0.05$.

3. Results

A total of 53 pregnant women were included in this study. The clinical and laboratory characteristics of the pregnant women are shown in **Table 1**. Some parameters analyzed showed a significant difference in the group with the infection, compared to the control group, such as high RDW and decreased hemoglobin and MCHC levels.

Parameter	C (n = 27)	AT (n = 26)	P
Clinical and hematological characteristics			
BMI (kg/m ²)	26.44 ± 3.66	28.58 ± 4.34	0.0599
Erythrocytes (10 ⁶ /mm ³)	3.99 (3.73 – 4.30)	3.94 (3.70–4.07)	0.4005
Hemoglobin (g/dL)	11.83 ± 1.04	11.24 ± 0.87*	0.0376*
Hematocrit (%)	35.04 ± 3.06	34.00 ± 2.26	0.1884
MCV (micra ³)	88.63 ± 6.39	87.70 ± 5.27	0.6205
MCH (pg)	30.60 (29.40–31.33)	29.10 (27.90–31.00)	0.1256
MCHC (%)	33.79 ± 1.13	33.05 ± 0.90*	0.0274*
RDW (%)	12.75 (12.43–13.35)	13.80 (13.50–14.20)*	0.0002*
Platelets (MIL/mm ³)	219000 ± 50660	218304 ± 62278	0.9658
Leukocytes (mm ³)	9800 (8150–11610)	11900 (9470–13400)	0.0878
Systolic Pressure (mmHg)	110.00 (100.00– 110.00)	110.00 (110.00– 120.00)	0.1602
Diastolic Pressure (mmHg)	60.00 (60.00–70.00)	60.00 (60.00–70.00)	0.6329

Table 1. Clinical and laboratory characteristics of pregnant women with and without toxoplasmosis

Parametric data were evaluated by Student's t-test and are displayed as mean ± SD. Nonparametric data were evaluated using the Mann–Whitney U test and displayed as median (interquartile range). The value of *p < 0.05, was considered statistically significant when compared to the control group of pregnant women. AT, group with acute toxoplasmosis; BMI, body mass index; C, control group; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; MCV, mean corpuscular volume; RDW, red cell distribution width.

The evaluated oxidative biomarkers and the δ -ALA-D enzyme activity are shown in **Figure 1**. The levels of the thiol groups, P-SH and NP-SH (**Figure 1a** and **1b**), were higher in pregnant women with the infection, 59.17% (160.60 (146.80–192.80 nmol/mL)) and 18.26% (907.10 ± 146.40 nmol/mL), compared to the control group (100.90 (91.25–134.70 nmol/mL)) and (767.00 ± 221.50 nmol/ mL), respectively. The FRAP results (**Figure 1d**) showed a significant increase in the levels in the AT group (380.00 [348.00–459.50 mmol/L]) compared to the C group (283.00 (250.00–334.00 mmol/L)). TBARS levels (**Figure 1e**) were higher in pregnant women with the infection (7.34 (6.12–72.60 nmol/mL)) compared to the control group

(5.59 (4.22–7.54 nmol/mL]). The NO values (**Figure 1f**) were almost three times higher in participants with toxoplasmosis (433.00 (238.50–598.00 $\mu\text{mol/L}$]) when compared to group C (155.00 (55.00 – 379.00 $\mu\text{mol/L}$]). The δ -ALA-D enzyme activity (**Figure 1g**) was 39.86% higher in the AT group (42.42 ± 11.98 U/L) than in the C group (30.33 ± 13.47 U/L).

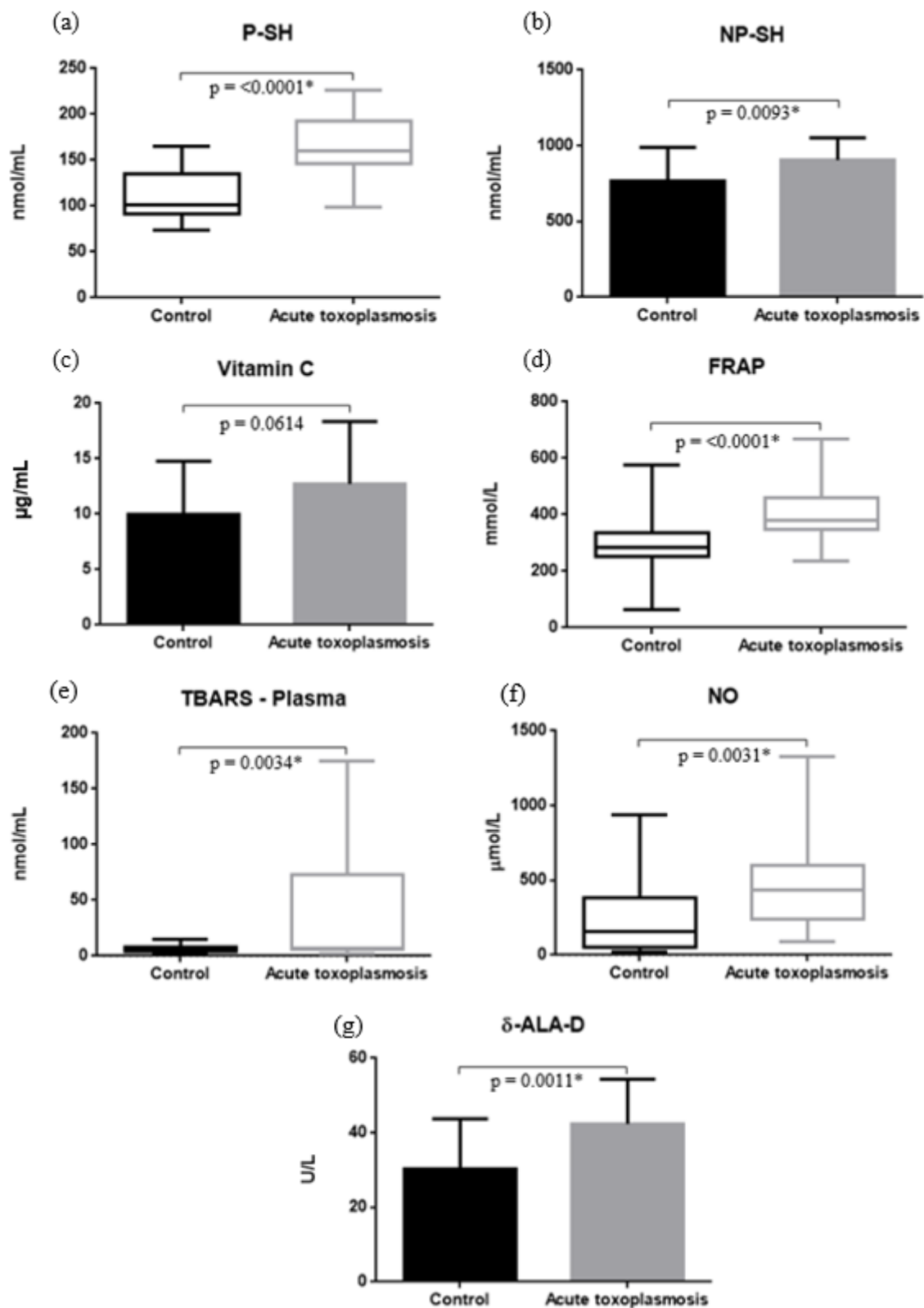


Figure 1. Oxidative stress biomarkers and δ -ALA-D enzyme activity evaluated in pregnant women with and without toxoplasmosis. Parametric data were evaluated by Student's t test and displayed as mean \pm SD. Nonparametric data were evaluated by the Mann–Whitney U test and displayed as median (interquartile range). The value of $*p < 0.05$ was considered statistically

significant when compared to the control group of pregnant women. δ -ALA-D, delta-aminolevulinate dehydratase; FRAP, plasma iron reduction capacity; NO, nitric oxide; NP-SH, non-protein thiol groups; P-SH, protein thiol groups; TBARS, thiobarbituric acid reactive substances.

4. Discussion

In 2018, we witnessed the world's largest outbreak of toxoplasmosis that occurred in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil [22]. In these circumstances, a significant number of pregnant women were concomitantly infected. Given this scenario, we sought to fill important gaps in the literature such as elucidating the oxidative profile of patients using drug therapy, including the assessment of the δ -ALA-D enzyme activity.

The diagnosis of toxoplasmosis in pregnant women is essential because of the possibility of early initiation of treatment to reduce the chances of transmission of the infection to the fetus. One of the available therapies is SPFA [11], which was used by all the pregnant women in this study. In this combination, sulfadiazine and pyrimethamine act synergistically as an efficient treatment, which inhibits the folate metabolic pathway and prevents the parasite's survival and proliferation [32, 33]. Ludwig et al. (2022) [34] obtained low detection values when analyzing the presence of parasitic DNA in placentas of women treated for acute toxoplasmosis during pregnancy, associating this result with most patients having used SPFA as a treatment. However, pyrimethamine can cause several adverse effects, which can lead to changes in or discontinuation of therapy, even affecting the final outcome of pregnancy [33]. Among these consequences is its toxicity to human cells, causing hematological complications such as leukopenia, anemia, and thrombocytopenia. The administration of folinic acid along with this treatment is extremely important as it protects the bone marrow and reduces the possible disorders associated with the use of pyrimethamine [32, 35]. When evaluating the hematological characteristics of all the pregnant women in this study, we observed an elevated RDW and decreased hemoglobin and MCHC levels (**Table 1**) in the group with toxoplasmosis compared to the control, even when folinic acid was used as a shield.

Glutathione is one of the most important antioxidants produced by the body. It is the compound with the largest amount of NP-SH and has numerous functions, including protection against oxidative damage and maintenance of redox homeostasis [36, 37]. Our results showed higher levels of P-SH and NP-SH (**Figure 1a** and **1b**) in the group with toxoplasmosis under treatment compared to the control group. James et al. (2004) [38] and Frye et al. (2013) [39]

reported associations between behavioral improvement in patients with autism and, performed evaluations of folic acid supplementation along with other compounds. Interestingly, by increasing the antioxidant function, they found an increase in reduced glutathione (GSH) and a decrease in oxidized glutathione (GSSG), thereby decreasing the GSH/GSSG ratio. The mechanism in this situation involves the transformation of this reduced folate derivative into 5-methyl-tetrahydrofolate, converting sulfur-containing substances into glutathione, thus improving the redox state [40]. In view of this, we suggest that this increase can be explained by the influence of folic acid supplementation.

In addition, with regard to antioxidant defenses, we observed an increase in FRAP (**Figure 1d**) and δ -ALA-D enzyme activity (**Figure 1g**) in the AT group, which allows us to infer that this system is overactive in these patients. According to Türkoğlu et al. (2018) [41], infection with toxoplasmosis itself was able to promote a response in the body, increasing antioxidant levels in the liver of rats with acute infection. When considering the treatment, Adisa et al. (2011) [42] demonstrated that the administration of sulfadoxine and pyrimethamine was able to induce oxidative stress and that the body faces this change through the elevation of antioxidants, including GSH.

The lipoperoxidation process is initiated when the interaction of reactive species with polyunsaturated fatty acids from lipoproteins or membranes occurs. One of the end products of this chain reaction is MDA, which was experimentally quantified using the TBARS technique. MDA is a highly toxic product that is capable of reacting with important molecules such as proteins and DNA and is potentially mutagenic, thus leading to damage to the organism [43, 44]. In this study, higher plasma levels of MDA were found in the AT group than in the control group (**Figure 1e**). Aziz et al. (2006) [45] observed similar results in samples collected in the first 3 months of pregnancy from patients in the acute phase of the infection who were not treated and possibly attributed these changes in the body's response to the parasitic disease itself.

NO plays relevant roles in biological systems such as in platelet aggregation, synaptic transmission, and cytotoxicity. It acts as a free radical, in addition to playing a role in suppressing and stimulating the immune system and acting against bacteria and viruses [46]. The levels of NO in the serum of the pregnant women in the AT group were higher than those in the C group (**Figure 1 f**). This elevation may be associated with the body's attempt to control the infection caused by *T. gondii*, even helping to kill tachyzoites or changing the stage to bradyzoites [14]. Similarly, Legorreta-Herrera et al. (2010) [47] found increased levels of NO, MDA, and antioxidants in rats infected with malaria and treated with pyrimethamine,

suggesting a possible involvement of oxidative stress as an immunomodulatory mechanism of action of this drug and upregulation of antioxidants to compensate for this scenario.

The main limitation of our study was the fact that we were unable to obtain a group of pregnant women with the disease who did not use the treatment, as this approach is a protocol in cases of suspected or confirmed infection during this period in our country.

5. Conclusion

In conclusion, our results suggest an increase in oxidative stress, probably caused by the disease as well as by an important compensation for the rise of the antioxidant system, which seemed to be well influenced by the drug therapy in question.

Author Contributions

Protocol and Project Development, H.L.d.P., R.N.M., S.T.B., and T.d.L.G.; Data Collection or Management, H.L.d.P., L.d.L., S.A.V., L.C.W., and C.d.S.S.; Data Analysis, H.L.d.P., S.T.B., and T.d.L.G.; Manuscript Editing and Writing, H.L.d.P., S.A.V., C.d.S.S., R.N.M., S.T.B., and T.d.L.G.

Funding

This study was funded by the Graduate Support Program (PROAP) of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

Acknowledgments

The authors would like to thank the study participants and the entire team at the HUSM's Fetal Medicine outpatient clinic.

Competing Interest Statement

The authors declare no conflict of interest.

References

[1] G. Saadatnia, M. Golkar, A review on human toxoplasmosis, *Scand. J. Infect. Dis.* 44 (11) (2012) 805-814. <https://doi.org/10.3109/00365548.2012.693197>.

- [2] S. Fallahi, A. Rostami, M. Nourollahpour Shiadeh, et al, An updated literature review on maternal-fetal and reproductive disorders of *Toxoplasma gondii* infection, J. Gynecol. Obst. Hum. Reprod. 47 (3) (2018) 133-140. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2017.12.003>.
- [3] F. Robert-Gangneux, M.-L. Dardé, Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis, Clin. Microbiol. Rev. 25 (2) (2012) 264-296. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>.
- [4] R.H.D. Ybañez, A.P. Ybañez, Y. Nishikawa, Review on the current trends of toxoplasmosis serodiagnosis in humans, Front. Cell. Infect. Microbiol. 10 (204) (2020). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00204>.
- [5] J.H. Yamamoto, A.L. Vallochi, C. Silveira, et al, Discrimination between patients with acquired toxoplasmosis and congenital toxoplasmosis on the basis of the immune response to parasite antigens, J. Infect. Dis. 181(6) (2000) 2018-2022. <https://doi.org/10.1086/315494>.
- [6] M. Borges, T.M. Silva, C. Brito, et al, How does toxoplasmosis affect the maternal-foetal immune interface and pregnancy?, Parasite Immunol. 41 (3) (2018) e12606. <https://doi.org/10.1111/pim.12606>.
- [7] N. Kalantari, T. Gorgani-Firouzjaee, Z. Moulana, et al, *Toxoplasma gondii* infection and spontaneous abortion: A systematic review and meta-analysis, Microb. Pathog. 158 (2021) 105070. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105070>.
- [8] M.M. Hampton, Congenital toxoplasmosis: a review, Neonatal Netw. 34 (5) (2015) 274-278. <https://doi.org/10.1891/0730-0832.34.5.274>.
- [9] K. Khan, W. Khan, Congenital toxoplasmosis: an overview of the neurological and ocular manifestations, Parasitol. Int. 67 (6) (2018) 715-721. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2018.07.004>.
- [10] D.M. Feldman, R. Keller, A.F. Borgida, Toxoplasmosis, parvovirus, and cytomegalovirus in pregnancy, Clin. Lab. Med. 36 (3) (2016) 407-419. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2016.01.011>.
- [11] R. Mitsuka-Breganó, F.M.R. Lopes-Mori, I.T. Navarro (orgs), Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas [online], Londrina: EDUEL, 2010, 62 p. <https://static.scielo.org/scielobooks/cdtqr/pdf/mitsuka-9788572166768.pdf> (accessed 12 August 2021).
- [12] A. Agarwal, A. Aponte-Mellado, B.J. Premkumar, et al, The effects of oxidative stress on female reproduction: a review, Reprod. Biol. Endocrinol. 10 (2012) 49. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-49>.
- [13] U. Karaman, T. Celik, T.R. Kiran, et al, Malondialdehyde, glutathione, and nitric oxide levels in *Toxoplasma gondii* seropositive patients, Korean J. Parasitol. 46 (4) (2008) 293-295. <https://doi.org/10.3347/kjp.2008.46.4.293>.

- [14] K. Szewczyk-Golec, M. Pawłowska, R. Wesołowski, et al, Oxidative stress as a possible target in the treatment of toxoplasmosis: perspectives and ambiguities, *Int. J. Mol. Sci.* 22 (11) (2021) 5705. <https://doi.org/10.3390/ijms22115705>.
- [15] D.I. Chiarello, C. Abad, D. Rojas, et al, Oxidative stress: normal pregnancy versus preeclampsia, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.* 1866 (2) (2020) 165354. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2018.12.005>.
- [16] K. Toboła-Wróbel, M. Pietryga, P. Dydowicz, et al, Association of oxidative stress on pregnancy, *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020 (6398520) (2020). <https://doi.org/10.1155/2020/6398520>.
- [17] Z.E.O. Vidal, S.C. Rufino, E.H. Tlaxcalteco, et al, Oxidative stress increased in pregnant women with iodine deficiency, *Biol. Trace Elem. Res.* 157 (3) (2014) 211-217. <https://doi.org/10.1007/s12011-014-9898-6>.
- [18] D. Ramiro-Cortijo, T. Herrera, P. Rodríguez-Rodríguez, et al, Maternal plasma antioxidant status in the first trimester of pregnancy and development of obstetric complications, *Placenta* 47 (2016) 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2016.08.090>.
- [19] L. De Lucca, L.B. Jantsch, S.A. Vendrame, et al, Longitudinal study of delta-aminolevulinate dehydratase activity and oxidative profile in healthy pregnant women, *Biomolecules* 9 (1) (2019) 18. <https://doi.org/10.3390/biom9010018>.
- [20] S.A. Vendrame, L. De Lucca, H.L. De Paula, et al, Activity of the enzyme delta-aminolevulinate dehydratase and parameters of oxidative stress in different modes of delivery, *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* 24 (34) (2019) 4035-4040. <https://doi.org/10.1080/14767058.2019.1702957>.
- [21] D. Zanini, L.P. Pelinson, R. Schmatz, et al, δ -aminolevulinate dehydratase activity in lung cancer patients and its relationship with oxidative stress, *Biomed. Pharmacother.* 68 (5) (2014) 603-609. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2014.04.005>.
- [22] A.R. Conceição, D.N. Belucik, L. Missio, et al, Ocular findings in infants with congenital toxoplasmosis after a toxoplasmosis outbreak, *Ophthalmology* (2021). <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2021.03.009>.
- [23] C.E. Minuzzi, F. D. Fernandes, L.P. Portella, et al, Contaminated water confirmed as source of infection by bioassay in an outbreak of toxoplasmosis in South Brazil, *Transbound. Emerg. Dis.* 68 (2) (2020) 767-772. <https://doi.org/10.1111/tbed.13741>.
- [24] Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. *Gestação de alto risco: manual técnico / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. – 5. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2010, 302p.* https://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/gestacao_alto_risco.pdf (accessed 08 February 2022).

- [25] A.F. Boyne, G.L. Ellman, A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components, *Anal. Biochem.* 46 (2) (1972) 639–653. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(72\)90335-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90335-1).
- [26] M.C. Jacques-Silva, C.W. Nogueira, L.C. Broch, et al, Diphenyldiselenide and ascorbic acid changes deposition of selenium and ascorbic acid in liver and brain of mice, *Pharmacol. Toxicol.* 88 (3) (2001) 119–125. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0773.2001.d01-92.x>.
- [27] H.F. Galley, M.J. Davies, N.R. Webster, Ascorbyl radical formation in patients with sepsis: effect of ascorbate loading. *Free Radic. Biol. Med.* 20 (1) (1996) 139–143. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02022-5](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02022-5).
- [28] I.F.F. Benzie, J.J. Strain, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay, *Anal. Biochem.* 239 (1) (1996) 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>.
- [29] D. Lapenna, G. Ciofani, S.D. Pierdomenico, et al, Reaction conditions affecting the relationship between thiobarbituric acid reactivity and lipid peroxides in human plasma, *Free Radic. Biol. Med.* 31 (3) (2001) 331–335. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(01\)00584-6](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(01)00584-6).
- [30] E. Tatsch, G.V. Bochi, R.daS. Pereira, et al, A simple and inexpensive automated technique for measurement of serum nitrite/nitrate, *Clin. Biochem.* 44 (4) (2011) 348–350. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.12.011>.
- [31] A. Berlin, K.H. Schaller, European standardized method for the determination of delta-aminolevulinic acid dehydratase activity in blood, *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 12 (8) (1974) 389–390.
- [32] M. Antczak, K. Dzitko, H. Długońska. Human toxoplasmosis—searching for novel chemotherapeutics. *Biomed. Pharmacother.* 82 (2016) 677–684. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.05.041>.
- [33] R.R. Ben-Harari, E. Goodwin, J. Casoy, Adverse event profile of pyrimethamine-based therapy in toxoplasmosis: a systematic review, *Drugs R D* 17 (4) (2017) 523–544. <https://doi.org/10.1007/s40268-017-0206-8>.
- [34] A. Ludwig, F.D. Fernandes, R.R. Guerra, et al., Molecular detection of *Toxoplasma gondii* in placentas of women who received therapy during gestation in a toxoplasmosis outbreak, *Infect. Genet. Evol.*, 97 (2022) 105145. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105145>.
- [35] DARAPRIM: comprimidos. Responsável técnico: Marcia Weiss I. Campos. Rio de Janeiro: Farmoquímica S/A, 2018. Bula de Remédio. 10p. <https://www.fqmgrupo.com.br/fqmfarma/uploads/attachment/20108007755ce59b7fce594.pdf> (accessed 02 December 2021).
- [36] S.C. Lu, Glutathione synthesis, *Biochim. Biophys. Acta* 1830 (5) (2013) 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>.
- [37] V. Ribas, C. García-Ruiz, J.C. Fernández-Checa, Glutathione and mitochondria, *Front. Pharmacol.* 5 (151) (2014). <https://doi.org/10.3389/fphar.2014.00151>.

- [38] S.J. James, P. Cutler, S. Melnyk, et al, Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism, *Am. J. Clin. Nutr.* 80 (6) (2004) 1611-1617. <https://doi.org/10.1093/ajcn/80.6.1611>.
- [39] R.E. Frye, S. Melnyk, G. Fuchs, et al. Effectiveness of methylcobalamin and folic acid treatment on adaptive behavior in children with autistic disorder is related to glutathione redox status, *Autism Res. Treat.* 2013 (609705) (2013). <https://doi.org/10.1155/2013/609705>.
- [40] A.M. Castejon, J.A. Spaw, Autism and oxidative stress interventions: impact on autistic behavior, *Austin J. Pharmacol. Ther.* 2 (2) (2014).
- [41] Ş.A. Türkoğlu, K. Yaman, H. Orallar, et al, Acute toxoplasmosis and antioxidant levels in the liver, kidney and brain of rats, *Ann. Parasitol.* 64 (3) (2018) 241-247. <https://doi.org/10.17420/ap6403.159>.
- [42] R.A. Adisa, O.A. Ogunbayo, O.O. Olorunsogo, et al, Sulphadoxine-pyrimethamine alters the antioxidant defense system in blood of rabbit. *Niger. J. Physiol. Sci.* 26 (2) (2011) 207-211.
- [43] A. Ayala, M.F. Muñoz, S. Argüelles, Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2014 (360438) (2014). <https://doi.org/10.1155/2014/360438>.
- [44] D. Tsikas, Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Anal. Biochem.* 524 (2017) 13-30. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021>.
- [45] B.N. Aziz, F.H. Umar, W.K. Ali, Effect of *Toxoplasma gondi* infestation on lipid peroxidation and certain antioxidants in pregnant women in Mosul city, *Rafidain J. Sci.* 17 (10) (2006)16-25. <https://doi.org/10.33899/rjs.2006.43908>.
- [46] S. Papi, F. Ahmadizar, A. Hasanvand, The role of nitric oxide in inflammation and oxidative stress. *Immunopathol. Persa* 5(1) (2019) e08. <https://doi.org/10.15171/ipp.2019.08>.
- [47] M. Legorreta-Herrera, R. Retana-Ugalde, J.L. Ventura-Gallegos, et al, Pyrimethamine induces oxidative stress in *Plasmodium yoelii* 17XL-infected mice: a novel immunomodulatory mechanism of action for an old antimalarial drug? *Exp. Parasitol.* 126 (3) (2010) 381-388. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2010.02.013>.

3 MANUSCRITO - *Toxoplasma gondii* outbreak in southern Brazil: heterogeneity of the serological humoral response in pregnant women and outcomes in newborns

Manuscrito submetido ao periódico científico *Diagnostic Microbiology & Infectious Disease*

Hellen Lopes de Paula, Silmara Ana Vendrame, Ligia Carine Wess, Cristine Kolling Konopka, Thissiane de Lima Gonçalves, Sandra Trevisan Beck

***Toxoplasma gondii* outbreak in southern Brazil: heterogeneity of the serological humoral response in pregnant women and outcomes in newborns**

Running title: Immune response in pregnant with toxoplasmosis

Words counts:

Abstract: 144

Body of the text: 2544

Hellen Lopes de Paula^a, Silmara Ana Vendrame^a, Ligia Carine Wess^a, Cristine Kolling Konopka^b, Thissiane de Lima Gonçalves^a, Sandra Trevisan Beck^{a*}

^aDepartment of Clinical and Toxicology Analysis, Center of Healthy Sciences, Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Brazil

^bHospital Universitário de Santa Maria (HUSM), Santa Maria, Brazil

Hellen Lopes de Paula: hellen_lopes89@hotmail.com

Silmara Ana Vendrame: silmaravendrame@yahoo.com.br

Ligia Carine Wess: ligia-wess@hotmail.com

Cristine Kolling Konopka: cristine.ufsm@gmail.com

Thissiane de Lima Gonçalves: thissianegoncalves@yahoo.com.br

Sandra Trevisan Beck: stbeck.beck@gmail.com

***Corresponding Author:**

Sandra Trevisan Beck,

E-mail: stbeck.beck@gmail.com

Department of Clinical and Toxicology Analysis, Center of Healthy Sciences, Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, 97105-900, Brazil. Fax: +55 55 3220 8018, Phone: +55 55 3220 8749.

Abstract

The aim of the study was to describe the heterogeneity of the humoral immune response and pregnancy outcomes in infected women during an outbreak of toxoplasmosis. Forty-two pregnant women referred to the University Hospital of Santa Maria (HUSM), RS, Brazil in 2018 and 2019, were evaluated. Clinical symptoms were reported in 33.33% of the patients. The majority (64.29%) of symptomatic pregnant women had IgM index >7.0 . Considering asymptomatic pregnant women, the most (46.43%) presented IgM index below 3.0. Low IgG avidity are present in 23.53% of pregnant women with a IgM index <3.0 . Three newborns had the congenital form of the infection, and of these, only one had a reagent IgM serological result. The serological response detected at the time of diagnosis of the infection is heterogeneous, which can make it difficult to interpret the tests, due to the presence of non-classical serological profiles.

Keywords: Acute toxoplasmosis; Diagnosis; Immune response; Pregnant women.

1. Introduction

Toxoplasmosis is a zoonosis caused by the intracellular protozoan *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) that affects humans and other warm-blooded animals, mainly through ingestion of food and water or via contaminated soil.^{1,2}

The prevalence of infection may vary according to the geographic region,³ affecting about one-third of the world population.⁴ In Brazil, the prevalence is 42–90%.⁵ In pregnant women, the prevalence follows this variation, with 31% in the city of Caxias do Sul (RS), around 50% in Londrina and Rolândia (PR), and 91.60% in the state of Mato Grosso do Sul.⁶

In Santa Maria, Rio Grande do Sul State, southern Brazil, during the year 2018, there was an outbreak of toxoplasmosis affecting the general population, which included pregnant women and their fetuses. Water was identified as a likely vehicle for disease transmission.⁷ Official data reported 2,270 cases with more than 900 confirmed cases. Of these, 146 cases were in pregnant women.⁸ If a primary infection occurs during pregnancy, there is a possibility of transmission of the parasite to the fetus, with the newborn (NB) manifesting the congenital form of the disease.^{9,10,11}

The incidence of congenital cases in Brazil is between four and ten cases for every 10,000 live births.¹² The transplacental passage of the parasite depends on several factors, such as the gestational period in which the infection occurs and maternal immunity. As pregnancy progresses the probability of parasitic transmission increases. However, the severity of the infection for the fetus decreases.¹³ Congenital toxoplasmosis can cause eye problems, hydrocephalus and even death of the conceptus.¹⁴ The screening of this pathology during prenatal care is important, since this infection can occur without maternal clinical manifestations. Thus, the results of laboratory tests will be the markers that will allow the identification of susceptible pregnant women or the early diagnosis of the infection, resulting in immediate treatment, reducing the magnitude of the fetal damage.^{15,16}

However, in the case of pregnant women, the interpretation of serological results is a challenge, as it is not always possible to determine whether there was a primary infection during pregnancy.

The present study aimed to describe the heterogeneity of the humoral immune response and clinical characteristics of pregnant women infected with *T. gondii* during an outbreak of toxoplasmosis (2018), referred for care and treatment at a referral hospital in southern Brazil, describing the consequences of this infection on NBs.

2. Material and Methods

A cross-sectional observational study was conducted using a convenience sample. The clinical records of 55 women suspected of having acute toxoplasmosis, between August 2018 and September 2019, were evaluated, who, after undergoing care and evaluation in Basic Health Units in the city and region, were referred to the reference service for care at the Fetal Medicine outpatient clinic of the University Hospital of Santa Maria (HUSM), RS, Brazil. Suspected cases were women with laboratory tests immunoglobulin M (IgM) and immunoglobulin G (IgG) reagents. Clinical and serological data were obtained through a questionnaire carried out by the researcher before the routine medical consultation and data recorded in the medical records. Toxoplasmosis prior to pregnancy was confirmed in 13 pregnant women, who had highly avidity IgG, and were in the first trimester of pregnancy. In these cases, IgM was considered residual or due to re-exposure. Recent infection, likely to have occurred during the gestational period, was confirmed in 42 pregnant women. These participants were treated, since diagnosis until delivery, according to guidelines defined in a protocol established by the Ministry of Health.¹⁷ For 38 pregnant women, the delivery took place in the same hospital where outpatient follow-up was performed, and the outcome in the NB was evaluated through clinical testing and records in the medical record. The NBs were followed up until confirmation of serology. The study was approved by the Ethics Committee for Research with Human Beings at the Federal University of Santa Maria (UFSM) (CAAE: 59366116.5.0000.5346).

2.1 Serological diagnosis

The results of the serological markers IgM, IgG, and IgG avidity specific for *T. gondii* were evaluated, using the reference values provided by the manufacturers of the commercial reagents.

Determination of anti-*T. gondii* IgM and IgG in the serum samples of pregnant women and NBs, was performed using the electrochemiluminescence immunoassay in a COBAS 6000 automatic analyzer (Roche®, Basel, Switzerland), using following references: IgM index value ≥ 1.0 is reagent, value ≥ 0.80 to < 1.0 inconclusive, and < 0.80 non-reagent; and IgG values ≥ 3.0 IU/mL is reagent, values ≥ 1.0 to < 3.0 IU/mL inconclusive, and < 1.0 IU/mL non-reagent. The IgG avidity test was performed on the pregnant women's serum using the chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) on the Architect I2000 analyzer (Abbott®, Illinois, USA), using the following avidity parameters: $< 50\%$ low avidity, $50\text{--}60\%$ moderate, and $> 60\%$ high avidity.

2.2 Complementary exams

Amniocentesis for the investigation of fetal infection was authorized by 17 patients. In the collected amniotic fluid, the presence of the parasitic DNA was investigated using the polymerase chain reaction (PCR) method in a real-time TaqMan system, with a detection limit of 25 copies/ml. Periodic ultrasounds were performed in all pregnant women to identify fetal alterations.

In NBs, after birth, a complete investigation was performed through clinical examination, examination of the fundus of the eye, evoked otoacoustic emissions (little ear test), lumbar puncture, transfontanellar ultrasound, cerebral tomography (when necessary), as well as liver and hematological evaluation for detection of congenital infection.

2.3 Therapeutic regimens

All patients were pharmacologically treated for the infection until the baby was born, using spiramycin or a triple regimen (sulfadiazine, pyrimethamine, and folinic acid, SPFA) according to a clinical protocol. After amniocentesis, if parasitic DNA was not detected, spiramycin was indicated or maintained. Pregnant women were monitored for adverse effects through periodic blood counts. Those babies congenitally affected by the infection were treated with SPFA and steroids (prednisolone).

3. Results

The period of diagnosis and treatment of the 42 pregnant women in this study varied, as shown in **Figure 1**. Most patients were diagnosed in the first trimester (50%). Seroconversion was a diagnostic criterion in eight patients (one in the first, four in the second, and three in the third trimester). Considering the treatment scheme, SPFA, was used and was maintained until the end of pregnancy in 27 (64.28%) of pregnant women.

The pregnant women who participated in the study were young, mostly under 25 years of age. At diagnosis, reported clinical symptoms were similar, or even absent. Congenital toxoplasmosis occurred in three pregnancies. (**Table 1**).

The intensity of the serological response, considering the values of IgM and IgG avidity at diagnosis, can be seen in **Tables 2** and **3**. The greatest amplitude of IgM level was observed among pregnant women who presented with low levels of IgG avidity.

Clinical symptoms were reported by 14 (33.33%) of the patients at diagnosis. When evaluated symptomatic pregnant women, the IgM index value was <3.0 in four (28.57%); in

one (7.14%) it was between 3.0 and 7.0, and in nine (64.29%), the IgM index value was >7.0 (**Tables 2 and 3**).

Among the 28 patients without clinical manifestations reported at diagnosis, 13 (46.43%) had an IgM index value <3.0, and 10 (35.71%) intermediate IgM index values between 3.0 and 7.0. Only five patients (17.86%) present the IgM index value was >7.0 (**Tables 2 and 3**).

Analyzing the pregnant women with IgM index value <3.0 (n=17), the most, 13 (76.47%), did not present clinical symptoms during infection (**Table 2**).

A comprehensive review of maternal history, including gestational age at the time of likely maternal infection, was conducted to aid in diagnosis (**Figure 1**). Out of the 42 pregnant women, 17 (40.48%) underwent amniocentesis. The PCR result was positive in one woman; however, congenital toxoplasmosis was reported in three of 38 NBs, regardless of the period of onset and type of maternal treatment received (**Table 4**).

In all three cases, eye damage occurred. NB 1 died at the age of 4 months, and the treatment was sometimes suspended due to neutropenia. NB 2 did not show signs or abnormal exams at birth; however, during the serological follow-up after birth, he showed a significant increase in IgG levels, which reached 3,198 IU/mL after 17 days of birth, and bilateral retinal damage, suggesting congenital transmission. NB 3 had reagent IgM at birth (1.84), with an IgG level of 207.8 IU/ml. The IgG level decreased after 1 month (112.6 IU/ml) and increased again after 6 months (209.1 IU/ml). The IgG level in the other NBs, not affected by congenital toxoplasmosis, decreased during follow-up.

4. Discussion

Infections by protozoa, in general, do not usually cause serious damage in most infected individuals, because the immune system controls the infection, inhibiting the multiplication of the infecting agent, even without sterilization action. In toxoplasmosis, this balance between parasitism and the immune response of the immunocompetent host can be maintained for a long period without causing disease.¹⁸

In the study group, 50% of the patients were diagnosed in the first trimester of pregnancy. Diagnosis during this period is extremely important. As the probability of congenital infection during this period is lower, treatment may contribute to a good outcome of pregnancy⁹, as evidenced in the present study, where one NB in this group had a congenital infection.

In a recent study that evaluated the presence of ocular toxoplasmosis in 187 NBs of mothers with suspected acute toxoplasmosis during pregnancy, 55.40% of pregnant women received treatment. Among the 187 NBs, 15.51% (29) were diagnosed with congenital toxoplasmosis.¹⁹ In our study, all 42 pregnant women received treatment, with only three NBs diagnosed with congenital toxoplasmosis at birth (7.89%) where one died. The diagnosis of this maternal infection occurred in the 22nd week of pregnancy. NBs whose mothers were diagnosed and treated at seventh and 36th weeks of gestation had retinochoroiditis with a healed lesion. Although the number of pregnant women studied was small, it was possible to demonstrate the importance of diagnosis and rapid treatment to minimize the transmission of infection and harm to the NB, as described in the literature.^{13,20}

In the diagnosis of *T. gondii* infection, serological tests are of great value, since many cases are asymptomatic or present with nonspecific symptoms or similar to manifestations common to other pathologies, such as muscle pain, lymphadenopathy, headache, cutaneous eruption, and fever.^{13, 21} These clinical differences may be related to the individual characteristics of the immune response, and the parasite load to which the individual was exposed. Among the pregnant women evaluated, 33.33% reported signs and symptoms at the time of diagnosis, like other studies where this frequency was 22.5%¹³ and 22.1%.¹⁶ It has been shown that T cell activity and cytokine secretion can occur heterogeneously among patients affected by this infection, reflecting in the intensity of the manifestations of symptoms.¹⁸

Although the serological diagnosis of toxoplasmosis is well characterized worldwide, seroconversion (change of serological status from non-reagent to reagent) is the safest way to diagnose acute primary infection. Classically, the first immunoglobulin detected is of the IgM class (acute phase), which reaches its peak after 4 weeks of infection, decreasing over time. After approximately 2 to 3 weeks of infection, low levels of IgG are detected, which reach high values in approximately 2 to 3 months and may remain at a medium residual level for many years (chronic phase).²² The degree of avidity of IgG is an important parameter for determining the precise time of infection where the low avidity of anti-*T. gondii* IgG is an indicator of recent toxoplasmosis.^{2,23} However, depending on the time of pregnancy at which serological tests are performed, the IgM and IgG response profile and IgG avidity may not present as classically known. In present study, among pregnant women with an IgM index value <3.0, only 23.53% had low specific IgG avidity at the time of serological diagnosis. This is important because these low levels of IgM associated with high avidity of IgG can be confused with residual IgM, failing to characterize the acute phase of the disease. In this case, the association of other clinical

parameters is required for a correct diagnosis.²⁴ Cordeiro et al. (2010)²⁵ studied toxoplasmic retinochoroiditis and concluded that there must be a controlled balance between pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in determining the occurrence and severity of toxoplasmosis.²⁶ The number of infected cells, as well as the intracellular concentration of the parasite, influence the pathophysiological process of infection.²⁷ In the present study, maternal clinical symptoms were more frequently present among pregnant women with higher levels of anti-*T. gondii* IgM and low avidity of IgG reflecting the stimulation of the immune response.

Serological tests are also important for the diagnosis of congenital toxoplasmosis in NBs, especially in cases where PCR was not performed in the amniotic fluid or where the PCR result was negative. In the present study, one of the three NBs with confirmed clinical signs of congenital infection presented with anti-*T. gondii* IgM detected in serum shortly after birth, probably because maternal infection occurred at the end of pregnancy. Classically, the presence of anti-*T. gondii* IgM in an NB blood sample confirms the congenital infection since this class of antibodies does not cross the placenta. However, the literature describes the possibility that one-third of NBs with congenital toxoplasmosis have a negative IgM test at birth.²⁸ The absence of anti-*T. gondii* IgM in the serum of the other two NBs can be justified by the stage of pregnancy in which the maternal infection occurred (before 22 weeks of gestation) or as a result of maternal treatment, which can block or delay the immune response.²⁹ In this situation, although IgG class antibodies are not markers of congenital infection, as IgG from mothers cross the placenta and remain circulating in the child's blood, the dynamics of the production of these antibodies must be evaluated. When the levels of this class of immunoglobulins remain stable or increase until the child's first year of life, it suggests the occurrence of congenital infection, as verified in one of the NBs in the present study.

The main limitation of this study was the small number of patients evaluated, and the fact that the analysis was retrospective. Many pregnant women affected by toxoplasmosis during the outbreak were treated in private clinics and were not referred to a public hospital. Pregnant women who were referred to the clinic and did not receive treatment due to clinical criteria that indicated infection before pregnancy, were also excluded. It was not possible to clinically and serologically follow up the four NBs, which prevented the investigation of all outcomes.

Even in the presence of timely maternal treatment and diagnosis, it was not possible to completely prevent the occurrence of congenital toxoplasmosis in the study group. The serological response detected at the time of diagnosis of the infection is heterogeneous. This diversity in the immune response can make the interpretation of serological tests challenging,

due the presence of non-classical serological profiles. Nevertheless, the rapid institution of maternal treatment was important to prevent congenital toxoplasmosis in almost all pregnancies.

Declaration of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Funding

The study was funded by the Graduate Support Program (PROAP) of the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES, Brazil).

Acknowledgments

The authors would like to thank the entire team at the Fetal Medicine Outpatient Clinic at the University Hospital of Santa Maria, as well as the pregnant women participating in the study.

References

1. Robert-Gangneux F, Dardé M-L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25(2):264-296. <https://doi.org/10.1128/CMR.05013-11>
2. Yamada H, Tanimura K, Deguchi M, et al. A cohort study of maternal screening for congenital *Toxoplasma gondii* infection: 12 years' experience. *J Infect Chemother.* 2019;25(6):427-430. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.01.009>
3. Milne G, Webster JP, Walker M. *Toxoplasma gondii*: an underestimated threat? *Trends Parasitol.* 2020. <https://doi.org/10.1080/00325481.2019>
4. Fallahi S, Rostami A, Shiadeh MN, et al. An updated literature review on maternal-fetal and reproductive disorders of *Toxoplasma gondii* infection. *J Gynecol Obstet Hum Reprod.* 2017;47(3):133-140. <https://doi.org/10.1016/j.jogoh.2017.12.003>
5. Diesel AA, Zachia SA, Müller ALL, et al. Follow-up of toxoplasmosis during pregnancy: ten-year experience in a University Hospital in Southern Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2019;41(9):539-547. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1697034>
6. Bittencourt LHF, Lopes-Mori FMR, Mitsuka-Breganó R, et al. 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. <https://doi.org/10.1590/S0100-72032012000200004>

7. Minuzzi CE, Fernandes FD, Portella LP, et al. Contaminated water confirmed as source of infection by bioassay in an outbreak of toxoplasmosis in South Brazil. *Transbound Emerg Dis*. 2020. <https://doi.org/10.1111/tbed.13741>
8. Prefeitura Municipal de Santa Maria. Relatório anual de gestão 2018. <https://www.santamaria.rs.gov.br/saude/658-relatorios-anuais-de-gestao>. Accessed May 4, 2021.
9. Hampton MM. Congenital toxoplasmosis: a review. *Neonatal Netw*. 2015;34(5):274-278. <https://doi.org/10.1891/0730-0832.34.5.274>
10. Rajapakse S, Weeratunga P, Rodrigo C, et al. Prophylaxis of human toxoplasmosis: a systematic review. *Pathog Glob Health*. 2017;111(7):333-342. <https://doi.org/10.1080/20477724.2017.1370528>
11. Rostami A, Riahi SM, Contopoulos-Ioannidis DG, et al. Acute *Toxoplasma* infection in pregnant women worldwide: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2019;13(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007807>
12. Bischoff AR, Friedrich L, Cattan JM, et al. Incidência de toxoplasmose congênita no período de 10 anos em um hospital universitário e frequência de sintomas nesta população. *Bol Cient Ped*. 2015;4(2):38-44.
13. Capobiango JD, Mitsuka-Breganó R, Navarro IT, et al. Congenital toxoplasmosis in a reference center of Paraná, Southern Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2014;18(4):364-371. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2013.11.009>
14. Wallon M, Peyron F. Congenital toxoplasmosis: a plea for a neglected disease. *Pathogens*. 2018;7(1): 25. <https://doi.org/10.3390/pathogens7010025>
15. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet*. 2004;363:1965-1976. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(04\)16412-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(04)16412-X)
16. Villar BBF, Neves ES, Louro VC, et al. Toxoplasmosis in pregnancy: a clinical, diagnostic, and epidemiological study in a referral hospital in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2020;24(6):517-523. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2020.10.001>
17. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. *Gestação de alto risco: manual técnico / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. – 5. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde. 302 p. 2010.* https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/gestacao_alto_risco.pdf. Accessed January 6, 2022.
18. Yamamoto JH, Vallochi AL, Silveira C, et al. Discrimination between patients with acquired toxoplasmosis and congenital toxoplasmosis on the basis of the immune response to parasite antigens. *J Infect Dis*. 2000;181(6):2018-2022. <https://doi.org/10.1086/315494>

19. Conceição AR, Belucik DN, Missio L, et al. Ocular findings in infants with congenital toxoplasmosis after a toxoplasmosis outbreak. *Ophthalmology*. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2021.03.009>
20. Bollani L, Strocchio L, Stronati M. Congenital toxoplasmosis. *Early Hum Dev*. 2013;89:S70-S72. [https://doi.org/10.1016/S0378-3782\(13\)70107-5](https://doi.org/10.1016/S0378-3782(13)70107-5)
21. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de Notificação e Investigação: Toxoplasmose gestacional e congênita / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde. 31 p. 2018. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_notificacao_investigacao_toxoplasmos_e_gestacional_congenita.pdf. Accessed April 4, 2021.
22. Fricker-Hidalgo H, Bailly S, Brenier-Pinchart M-P, et al. How to estimate time of infection with *Toxoplasma gondii* in pregnant women. Use of specific IgG and IgM kinetics by 7 techniques on 691 sera. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;96(4):114987. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.114987>
23. Pomares C, Montoya JG. Laboratory diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2016;54(10):2448-2454. <https://doi.org/10.1128/JCM.00487-16>
24. Peyron F, L'Ollivier C, Mandelbrot L, et al. Maternal and congenital toxoplasmosis: diagnosis and treatment recommendations of a French multidisciplinary working group. *Pathogens*. 2019;8(1):24. <https://doi.org/10.3390/pathogens8010024>
25. Cordeiro CA, Moreira PR, Dutra WO, et al. Imunologia da retinocoroidite toxoplásmica. *Arq Bras Oftalmol*. 2010;73(6):548-551. <https://doi.org/10.1590/s0004-27492010000600018>
26. Machado PRL, Araújo MIAS, Carvalho L, et al. Mecanismos de resposta imune às infecções. *An Bras Dermatol*. 2004;79(6):647-664. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962004000600002>
27. Nagineni CN, Detrick B, Hooks JJ. *Toxoplasma gondii* infection induces gene expression and secretion of interleukin 1 (IL-1), IL-6, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and intercellular adhesion molecule 1 by human retinal pigment epithelial cells. *Infect Immun*. 2000;68(1):407-410. <https://doi.org/10.1128/IAI.68.1.407-410.2000>
28. Lago EG, Oliveira AP, Bender AL. Presence and duration of anti-*Toxoplasma gondii* immunoglobulin M in infants with congenital toxoplasmosis. *J Pediatr*. 2014;90(4):363-369. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2013.12.006>
29. Guegan H, Stäjner T, Bobic B, et al. Maternal anti-*Toxoplasma* treatment during pregnancy is associated with reduced sensitivity of diagnostic tests for congenital infection in the neonate. *J Clin Microbiol*. 2021;59(2). <https://doi.org/10.1128/JCM.01368-20>

Author Contributions

Hellen Lopes de Paula: Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Validation; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing. **Silmara Ana Vendrame:** Data curation; Investigation; Validation. **Ligia Carine Wess:** Data curation; Investigation; Validation. **Cristine Kolling Konopka:** Conceptualization; Funding acquisition; Project administration. **Thissiane de Lima Gonçalves:** Conceptualization; Data curation; Funding acquisition; Project administration; Resources; Supervision; Visualization; Writing - original draft. **Sandra Trevisan Beck:** Conceptualization; Data curation; Formal analysis; Investigation; Methodology; Supervision; Visualization; Roles/Writing - original draft; Writing - review & editing.

Caption figure

Figure 1. Algorithm of diagnosis, treatment, and monitoring of pregnant women and outcomes in newborns during the outbreak of toxoplasmosis (2018–2019). AF PCR, amniotic fluid polymerase chain reaction; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; NB 1, newborn 1; NB 2, newborn 2; NB 3, newborn 3; SPFA, Sulfadiazine, pyrimethamine and folinic acid; SPI, Spiramycin; *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

Caption tables

Table 1. SPFA, sulfadiazine, pyrimethamine, and folinic acid.

Table 2. Reference values for reagent tests: IgG ≥ 3 UI/mL; IgM $\geq 1,0$; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; max, maximum; min, minimum; NB 2**, newborn 2; RS*, recent seroconversion, maternal diagnosis at 36 weeks of gestation; RS**, recent seroconversion, maternal diagnosis at 7 weeks of gestation; UN, uneventful; *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

Table 3. Reference values for reagent tests: IgG ≥ 3 UI/mL; IgM $\geq 1,0$; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; max, maximum; min, minimum; NB 1, newborn 1; NB 3, newborn 3; RS*, recent seroconversion; **Maternal diagnosis at 22 weeks of gestation; ***Maternal diagnosis at 36 weeks of gestation; UN, uneventful; *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

Table 4. BT, brain tomography; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; L, left; NB 1, newborn 1; NB 2, newborn 2; NB 3, newborn 3; NC, no major changes; NR, non-reagent; PCR, polymerase chain reaction; R, reagent; RE, right eye; SPFA, sulfadiazine, pyrimethamine, and folinic acid; WC, with major changes (fetal hydrops, pericardial effusion, pleural fluid, ascites, cerebral ventriculomegaly, and placentomegaly); *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

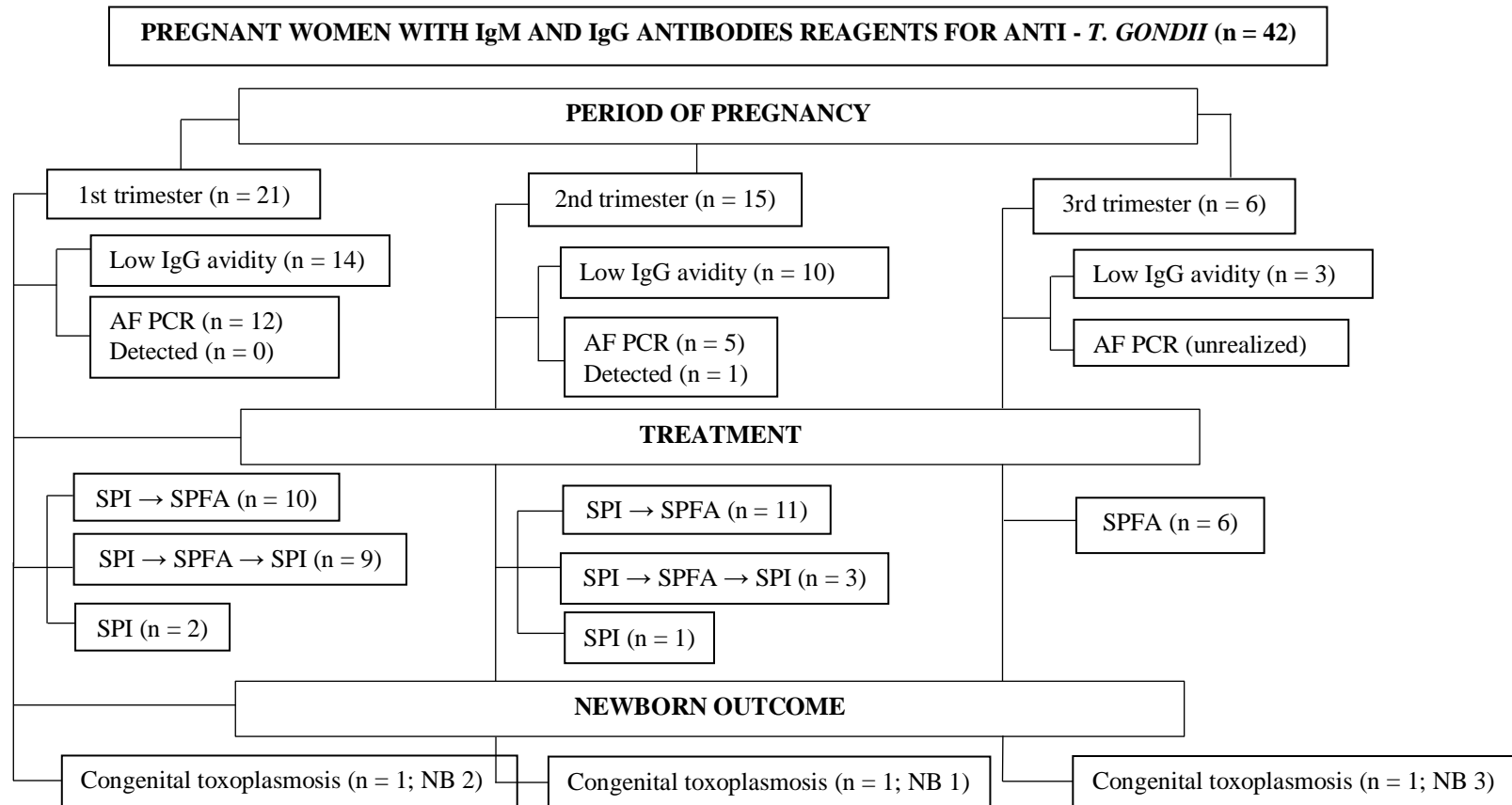


Figure 1. Algorithm of diagnosis, treatment, and monitoring of pregnant women and outcomes in newborns during the outbreak of toxoplasmosis (2018–2019). AF PCR, amniotic fluid polymerase chain reaction; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; NB 1, newborn 1; NB 2, newborn 2; NB 3, newborn 3; SPFA, Sulfadiazine, pyrimethamine and folinic acid; SPI, Spiramycin; *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

Table 1. Demographic data of pregnant women being treated for acute toxoplasmosis

Age (years)	Frequency n (%)	Symptoms			Treatment			Outcome
		Fever /Body ache (n)	Headache (n)	Lymphadenomegaly (n)	None (n)	SPFA (n)	Spiramicin (n)	Congenital toxoplasmosis (n)
18-24	22 (52.38)	2	4	2	17	15	7	2
26-30	13 (30.95)	4	1	2	8	7	6	0
32-38	7 (16.67)	3	1	2	3	5	2	1
TOTAL	42							3

SPFA, sulfadiazine, pyrimethamine, and folinic acid.

Table 2. Newborn status and characteristics of pregnant women with anti-*T. gondii* IgM titers <3.0 during prenatal care.

Pregnant women with anti- <i>T. gondii</i> IgG reagent			Newborn
IgM index ≥ 1 e <3 n (min/max)	IgG avidity index	With clinical symptoms at diagnosis (n)	Outcome (n)
4 (2.08–2.96)	<50%	01	UN (n = 4)
2 (1.62–2.31)	50–60%	01	UN (n = 2)
9 (1.25–2.98)	>60%	01	UN (n = 8) Segment loss (n = 1)
1 (2.20)	RS*	00	UN (n = 1)
1 (1.51)	RS**	01	Congenital toxoplasmosis NB 2**(n = 1)
TOTAL	17	04	

Reference values for reagent tests: IgG ≥ 3 UI/mL; IgM $\geq 1,0$; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; max, maximum; min, minimum; NB 2**, newborn 2; RS*, recent seroconversion, maternal diagnosis at 36 weeks of gestation; RS**, recent seroconversion, maternal diagnosis at 7 weeks of gestation; UN, uneventful; *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

Table 3. Newborn status and characteristics of pregnant women with anti-*T. gondii* IgM titers >3.0 during prenatal care.

Pregnant women with anti- <i>T. gondii</i> IgG reagente			Newborn
IgM index >3 n (min/max)	IgG avidity index	With clinical symptoms at diagnosis (n)	Outcome (n)
15(4.39–95.90)	<50%	06	Congenital toxoplasmosis NB 1**(n = 1) Segment loss (n = 2) UN (n = 12)
3 (3.16–6.78)	50–60%	00	UN (n = 3)
1 (10.80)	>60%	00	Segment loss (n = 1)
4 (3.80–9.41)	RS*	04	UN (n = 4)
2 (3.37–4.78)	RS*	00	Congenital toxoplasmosis NB 3***(n = 1) UN (n = 1)
TOTAL	25	10	

Reference values for reagent tests: IgG ≥ 3 UI/mL; IgM $\geq 1,0$; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; max, maximum; min, minimum; NB 1, newborn 1; NB 3, newborn 3; RS*, recent seroconversion; **Maternal diagnosis at 22 weeks of gestation; ***Maternal diagnosis at 36 weeks of gestation; UN, uneventful; *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

Table 4. Clinical and laboratory characteristics of mothers and newborns with congenital toxoplasmosis.

	Weeks of gestation at diagnosis	Amniocentesis (PCR)	Ultrasound	Maternal Treatment		Weeks at birth	IgM/IgG at birth	Birth injuries
Newborn								
NB 1	22	Detected <i>T. gondii</i>	WC	SPFA		32	NR/R	Bronchopulmonary dysplasia + cholestasis + congenital toxoplasmosis + microcephaly + chorioretinitis L + microphthalmia RE + bilateral congenital cataract → Death
NB 2	7	Unrealized	NC	Spiramycin SPFA		38	NR/R	Bilateral retinochoroiditis → Healed lesion
NB 3	36	Unrealized	NC	SPFA		38	R/R	RE: Retinochoroiditis, BT: diffuse brain calcifications (neurotoxoplasmosis) → Healed eye injury

BT, brain tomography; IgG, immunoglobulin G; IgM, immunoglobulin M; L, left; NB 1, newborn 1; NB 2, newborn 2; NB 3, newborn 3; NC, no major changes; NR, non-reagent; PCR, polymerase chain reaction; R, reagent; RE, right eye; SPFA, sulfadiazine, pyrimethamine, and folinic acid; WC, with major changes (fetal hydrops, pericardial effusion, pleural fluid, ascites, cerebral ventriculomegaly, and placentomegaly); *T. gondii*, *Toxoplasma gondii*.

4 DISCUSSÃO

Buscamos através da realização deste estudo, identificar o perfil de parte das gestantes afetadas pelo maior surto de toxoplasmose ocorrido no mundo, até o momento. O artigo e o manuscrito inseridos nesta tese evidenciam os desafios enfrentados para que o diagnóstico seja realizado, assim como o tratamento adequado instituído na toxoplasmose aguda no período gestacional.

Através dos perfis sorológicos descritos pode-se verificar a heterogeneidade da resposta imune encontrada durante o diagnóstico da infecção, onde algumas vezes não é verificado o perfil sorológico clássico de fase aguda, com mesma intensidade na resposta a formação de anticorpos IgM e IgG. Essa diversidade encontrada, possivelmente está associada à resposta individual, incluindo a diferente atividade de células T e secreção de citocinas, assim como a concentração do parasita no ambiente intracelular e número de células infectadas (NAGINENI; DETRICK; HOOKS, 2000; YAMAMOTO et al., 2000).

Durante a gestação, ocorrem muitas alterações no organismo, a fim de suprir as necessidades do feto, incluindo, dentre elas, a maior utilização de oxigênio. Essas transformações fazem com que ocorra o aumento da produção de espécies reativas, e por diversos mecanismos, a busca pelo equilíbrio com o sistema de defesa antioxidante (DE LUCCA et al., 2019). No presente estudo, a gestação foi complicada pelo fato dessas pacientes adquirirem toxoplasmose, necessitando a realização desse diagnóstico seguro, e dessa forma, necessitarem fazer utilização de medicações. Nessa situação foi possível observarmos elevação nos marcadores de dano, assim como da maioria dos antioxidantes analisados. Verificamos também a alteração da enzima δ -ALA-D, fundamental para organismos aeróbicos, além de desempenhar também importante função frente a situações oxidativas (FOLMER et al., 2003). Uma possível explicação para estas modificações é a contribuição de alguns medicamentos que minimizam danos causados pela terapia específica para o tratamento da infecção, como é o caso do esquema SPAF. Desta forma podemos sugerir que o tratamento farmacológico pode ter estimulado uma resposta compensatória protetora, como observado de forma semelhante por Adisa et al. (2011), demonstrando de maneira indireta uma resposta benéfica no combate ao estresse oxidativo alterado normalmente durante a gestação, e provavelmente exacerbado pela presença da infecção pelo *T. gondii*.

Neste contexto, destaca-se possivelmente o papel da suplementação do ácido fólico na composição do tratamento SPAF. Nossos resultados, corroboram com alguns estudos (FRYE et al., 2013; JAMES et al., 2004) que sugerem que a utilização desta medicação pode influenciar

na elevação da função antioxidante, uma vez que também encontramos importante ascensão na maior parte dos parâmetros avaliados desse sistema.

Também indicando que a instituição do SPAF exerce um alto benefício, foi a presença de complicações graves em apenas três neonatos, justificando sua manutenção mesmo com os indesejáveis efeitos adversos decorrentes dessa utilização (BEN-HARARI; GOODWIN; CASOY, 2017).

Todos esses indícios justificam o tratamento de todas as gestantes onde há suspeita de infecção aguda. Esses esquemas terapêuticos têm como objetivo impedir a propagação do parasito, minimizando desta forma a gravidade da infecção, inclusive contaminação e sequelas no concepto (MITSUKA-BREGANÓ; LOPES-MORI; NAVARRO, 2010).

Diante dessas evidências, podemos concluir, que a dificuldade apresentada para que a toxoplasmose gestacional seja diagnosticada, deve servir de base para pesquisa de novos marcadores, a fim de sanar essas lacunas, facilitando essa definição. Assim como o tratamento sempre que possível estabelecido pelas vantagens oferecidas. Sugerimos também, mais estudos correlacionando a suplementação de ácido fólico para avaliação da função antioxidante, inclusive considerando pacientes com essa patologia, averiguando possível relação entre a ascensão dessa atividade com menores chances de transmissão ou sequelas severas nos recém-nascidos. Todas essas ações sempre com o propósito de reduzir as complicações congênitas dessa doença que ainda é prevalente e necessita de atenção.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os resultados expostos nesta Tese, podemos concluir que:

- 1) A resposta imune materna mostrou-se heterogênea no grupo de gestantes avaliado, nem sempre atingindo o padrão clássico esperado para a doença aguda, o que dificulta o diagnóstico seguro.
- 2) As gestantes tratadas para a infecção ocasionada pelo *T. gondii*, apresentaram marcadores de danos aumentados, bem como um aumento expressivo do sistema antioxidante, incluindo a atividade da enzima δ -ALA-D. Diante dessas evidências, sugere-se que essas mudanças ocorram como forma de compensação, com uma possível contribuição da terapia medicamentosa.
- 3) O tratamento utilizado pelas pacientes do estudo, pareceu ter efeito benéfico em relação a redução de casos congênitos, assim como pela possível influencia nos níveis elevados do sistema antioxidante.

REFERÊNCIAS

- ABDULAMEER, Nawres Adnan. The Effect of toxoplasmosis on some blood parameters of gravid women in Al-Diwaniyah city. **International Journal of Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 2, 2020.
- ABDUL-RAHMAN, Sahib J.; MAHMOOD, Omaima I.; ABDUL-AZIZ, Reem S. Evaluation of oxidative stress during toxoplasmosis in pregnant women. **Iraqi Journal of Science**, v. 20, p. 122-126, 2015.
- ABUJA, Peter M.; ALBERTINI, Riccardo. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. **Clinica Chimica Acta**, v. 306, p. 1-17, 2001.
- ADEOYE, Oyewopo et al. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. **JBRA Assisted Reproduction**, v. 22, n. 1, p. 61-66, 2018.
- ADISA, Rahmat A. et al. Sulphadoxine-pyrimethamine alters the antioxidant defense system in blood of rabbit. **Nigerian Journal of Physiological Sciences**, v. 26, p. 207-211, 2011.
- AGARWAL, Ashok; GUPTA, Sajal; SHARMA, Rakesh K. Role of oxidative stress in female reproduction. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 3, n. 1, p. 28, 2005.
- AGARWAL, Ashok et al. The effects of oxidative stress on female reproduction: a review. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 10, p. 49, 2012.
- AGUIRRE, A. Alonso et al. The one health approach to toxoplasmosis: epidemiology, control, and prevention strategies. **Ecohealth**, v. 16, n. 2, p. 378-390, 2019.
- AHMED, Maimoona; SOOD, Akanksha; GUPTA, Janesh. Toxoplasmosis in pregnancy. **European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology**, v. 255, p. 44-50, 2020.
- AOUACHE, Rajaa et al. Oxidative stress in preeclampsia and placental diseases. **International Journal of Molecular Science**, v. 19, n. 5, p. 1496, 2018.
- ASSOLINI, João Paulo et al. Nanomedicine advances in toxoplasmosis: diagnostic, treatment, and vaccine applications. **Parasitology Research**, v. 116, n. 6, p. 1603-1615, 2017.
- ATTIAS, Márcia et al. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. **Parasites & Vectors**, v. 13, n. 1, p. 1-13, 2020.
- AUGUSTO, Ohara. **Radicais livres: bons, maus e naturais**. São Paulo: Oficina de Textos, 2006. 114 p.
- AVCI, Muhittin Eftal et al. Role of spiramycin in prevention of fetal toxoplasmosis. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 29, n. 13, p. 2073-2076, 2015.

AYALA, Antonio; MUÑOZ, Mario F.; ARGÜELLES, Sandro. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, 2014.

AZIZ, N. Bassam; UMAR, Farah H.; ALI, Wasan K. Effect of *Toxoplasma gondii* infestation on lipid peroxidation and certain antioxidants in pregnant women in Mosul city. **Rafidain Journal of Science**, v. 17, n. 10, p. 16-25, 2006.

BAIERLE, Marília et al. Are delta-aminolevulinatase dehydratase inhibition and meta concentrations additional factors for the age-related cognitive decline? **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 11, n. 10, p. 10851-10867, 2014.

BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARBOSA, Matheus Azevedo et al. Potenciais alternativas terapêuticas em estudo para a toxoplasmose congênita: uma revisão bibliográfica. **Revista de Patologia Tropical**, v. 44, n. 1, p. 1-11, 2015.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BARTOSZ, Grzegorz. Total antioxidant capacity. **Advances in Clinical Chemistry**, v. 37, p. 219-92, 2003.

BEN-HARARI, Ruben R.; GOODWIN, Elizabeth; CASOY, Julio. Adverse event profile of pyrimethamine-based therapy in toxoplasmosis: a systematic review. **Drugs in R&D**, v. 17, n. 4, p. 523-544, 2017.

BERNARDO, Wanderley Marques; CHINZON, Miriam; CHAVES, Felipe Galvão Batista. Is sulfadiazine alone equivalent (benefit and harm) to spiramycin to treat acute toxoplasmosis in the first trimester of pregnancy? **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 61, n. 6, p. 495-496, 2015.

BIRBEN, Esra et al. Oxidative stress and antioxidant defense. **World Allergy Organization Journal**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2012.

BLUME, Martin; SEEBER, Frank. Metabolic interactions between *Toxoplasma gondii* and its host. **F1000Research**, v. 7, n. F1000 Faculty Rev, 2018.

BONFANTI, Gabriela et al. δ -Aminolevulinatase dehydratase activity in type 2 diabetic patients and its association with lipid profile and oxidative stress. **Clinical Biochemistry**, v. 44, n. 13, p. 1105-1109, 2011.

BORGES, Margarida et al. How does toxoplasmosis affect the maternal-foetal immune interface and pregnancy? **Parasite Immunology**, v. 41, n. 3, p. e12606, 2018.

BOYNE, Alan F.; ELLMAN, George L. A methodology for analysis of tissue sulfhydryl components. **Analytical Biochemistry**, v. 46, p. 639-653, 1972.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Gestação de alto risco: manual técnico** / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. – 5. ed. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde. 302 p. 2012. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_tecnico_gestacao_alto_risco.pdf. Acesso em: 24 jan. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Protocolo de Notificação e Investigação: Toxoplasmose gestacional e congênita** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde. 31 p. 2018a. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_notificacao_investigacao_toxoplasmose_gestacional_congenita.pdf. Acesso em: 24 jan. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **NOTA INFORMATIVA Nº 164/2018-CGDT/DEVIT/SVS/MS**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília, 2018b. Disponível em: <https://antigo.saude.gov.br/images/pdf/2019/dezembro/10/SEI-MS---4490962---Nota-Informativa.pdf>. Acesso em: 28 jan. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Toxoplasmose**. Brasil, 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z-1/t/toxoplasmose>. Acesso em: 24 jan. 2021.

BURTON, Graham J.; JAUNIAUX, Eric. Oxidative stress. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 25, n. 3, p. 287-299, 2011.

CAPOBIANGO, Jaqueline Dario et al. Congenital toxoplasmosis in a reference center of Paraná, Southern Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 18, n. 4, p. 364-371, 2014.

CONCEIÇÃO, Aline Reetz et al. Ocular findings in infants with congenital toxoplasmosis after a toxoplasmosis outbreak. **Ophthalmology**, 2021.

CORRALES, Lucía Constanza; ARIZA, Maira María Muñoz. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. **Nova**, v. 10, n. 18, 2012.

CUFFE, James S. M.; XU, Ziheng Calvin; PERKINS, Anthony V. Biomarkers of oxidative stress in pregnancy complications. **Biomarkers in Medicine**, v. 11, n. 3, p. 295-306, 2017.

DARD, Céline et al. Relevance of and new developments in serology for toxoplasmosis. **Trends in Parasitology**, v. 32, n. 6, p. 492-506, 2016.

DATOR, Romel P. et al. Bioanalytical and mass spectrometric methods for aldehyde profiling in biological fluids. **Toxics**, v. 7, n. 2, p. 32, 2019.

DE LUCCA, Leidiane et al. Oxidative profile and δ -aminolevulinatase dehydratase activity in healthy pregnant women with iron supplementation. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 13, n.5, p. 463, 2016a.

DE LUCCA, Leidiane et al. Delta-aminolevulinatase dehydratase activity and oxidative stress markers in preeclampsia. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v.84, p. 224-229, 2016b.

DE LUCCA, Leidiane et al. Longitudinal study of delta-aminolevulinatase dehydratase activity and oxidative profile in healthy pregnant women. **Biomolecules**, v. 9, n. 1, 2019.

DE PAULA, Hellen Lopes et al. Delta-aminolevulinatase dehydratase activity and oxidative profile in pregnant women with pre-gestational type 2 diabetes and gestational diabetes. **International Journal of Innovation Education and Research**, v. 8, n. 1, p. 220-231, 2020.

DEL RIO, Daniele; STEWART, Amanda J.; PELLEGRINI, Nicoletta. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 15, n. 4, p. 316-328, 2005.

DIESEL, Amanda Andrade et al. Follow-up of toxoplasmosis during pregnancy: ten-year experience in a University Hospital in Southern Brazil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 41, n. 9, p. 539-547, 2019.

DJORDJEVIĆ, Vidosava. δ -Aminolevulinic acid dehydratase activity in erythrocytes of diabetic patients. **Archives Internationales de Physiologie et de Biochimie**, v. 93, n. 4, p. 285-290, 1985.

DUBEY, Jitender P. The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 55, n. 6, p. 467-475, 2008.

DUNAY, Ildiko Rita et al. Treatment of toxoplasmosis: historical perspective, animal models, and current clinical practice. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 31, n. 4, 2018.

DUSSE, Luci Maria Sant'Ana; VIEIRA, Lauro Mello; CARVALHO, Maria das Graças. Revisão sobre óxido nítrico. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 39, n. 4, p. 343-350, 2003.

EL BISSATI, Kamal et al. Global initiative for congenital toxoplasmosis: an observational and international comparative clinical analysis. **Emerging Microbes & Infections**, v. 7, n. 1, 2018.

EMANUELLI, Tatiana. A enzima delta-aminolevulinato desidratase. **Revista Ciência e Natura**, v. 19, p. 201-224, 1997.

FALLAHI, Shirzad et al. An updated literature review on maternal-fetal and reproductive disorders of *Toxoplasma gondii* infection. **Journal of Gynecology Obstetrics Human Reproduction**, v. 47, n. 3, p. 133-140, 2017.

FELDMAN, Deborah M.; KELLER, Rebecca; BORGIDA, Adam F. Toxoplasmosis, parvovirus, and cytomegalovirus in pregnancy. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 36, n. 3, p. 407-419, 2016.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68, 1997.

FINKEL, Toren; HOLBROOK, Nikki J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. **Nature**, v. 408, n. 6809, p. 239-247, 2000.

FOLMER, Vanderlei et al. A high fat diet inhibits δ -aminolevulinate dehydratase and increases lipid peroxidation in mice (*Mus musculus*). **The Journal of Nutrition**, v. 133, n. 7, p. 2165-2170, 2003.

FRYE, Richard E. et al. Effectiveness of methylcobalamin and folinic acid treatment on adaptive behavior in children with autistic disorder is related to glutathione redox status. **Autism Research and Treatment**, v. 2013, n. 609705, 2013.

GIBBS, Philip N. B.; CHAUDHRY, Abdul-Ghafoor; JORDAN, Peter M. Purification and properties of 5-aminolaevulinate dehydratase from human erythrocytes. **Biochemical Journal**, v. 230, n. 1, p. 25-34, 1985.

GLORIEUX, Christophe; CALDERON, Pedro Buc. Catalase, a remarkable enzyme: targeting the oldest antioxidant enzyme to find a new cancer treatment approach. **Biological Chemistry**, v. 398, n. 10, p. 1095-1108, 2017.

GORI, Sadakatali S. et al. Profiling thiol metabolites and quantification of cellular glutathione using FT-ICR-MS spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 406, n. 18, p. 4371-4379, 2014.

GOYAL, Madhur M.; BASAK, Anjan. Human catalase: looking for complete identity. **Protein & Cell**, v. 1, n. 10, p. 888-897, 2010.

GROSSO, Giuseppe et al. Effects of vitamin C on health: a review of evidence. **Frontiers in Bioscience-Landmark**, v. 18, n. 3, p. 1017-1029, 2013.

HALLIWELL, Barry. Free radicals and other reactive species in disease. **eLS**. 2001.

HASTIE, R.; LAPPAS, M. The effect of pre-existing maternal obesity and diabetes on placental mitochondrial content and electron transport chain activity. **Placenta**, v. 35, n. 9, p. 673-683, 2014.

IGHODARO, O. M.; AKINLOYE, O. A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. **Alexandria Journal of Medicine**, v. 54, n. 4, p. 287-293, 2018.

KIEFFER, François; WALLON, Martine. Congenital toxoplasmosis. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 112, p. 1099-1101, 2013.

KUSANO, Carlos; FERRARI, Bucalen. Total antioxidant capacity: a biomarker in biomedical and nutritional studies. **Journal of Cell and Molecular Biology**, v. 7, n. 1, p. 1-15, 2008.

JAFFE, Eileen K. et al. Characterization of the role of the stimulatory magnesium of *Escherichia coli* porphobilinogen synthase. **Biochemistry**, v. 34, n. 1, p. 244-251, 1995.

JAKOVLJEVIC, Branislava et al. Lipid peroxidation in the first trimester of pregnancy. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 25, n. 8, p. 1316-1318, 2012.

JAMES, S. Jill et al. Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, n. 6, p. 1611-1617, 2004.

JANTSCH, Letícia Bigolin et al. Evaluation of oxidative stress and δ -aminolevulinate dehydratase activity in twin pregnancies. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, v. 33, n. 18, p. 3071-3076, 2019.

LA-LLAVE-LEÓN, Osmel et al. Association between blood lead levels and delta-aminolevulinic acid dehydratase in pregnant women. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 4, p. 432, 2017.

LEEPER, Connie; LUTZKANIN III, Andrew. Infections during pregnancy. **Primary Care**, v. 45, n. 3, p. 567-586, 2018.

LIU, Quan et al. Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. **Parasites & Vectors**, v. 8, 2015.

MARCHIORO, Ariella Andrade et al. Analysis of cytokines IFN- γ , TNF- α , TGF- β and nitric oxide in amniotic fluid and serum of pregnant women with toxoplasmosis in southern Brazil. **Cytokine**, v. 106, p. 35-39, 2018.

MAREZE, Marcelle et al. Socioeconomic vulnerability associated to *Toxoplasma gondii* exposure in southern Brazil. **PLoS One**, v. 14, n. 2, p. e0212375, 2019.

MINUZZI, Camila Encarnação et al. Contaminated water confirmed as source of infection by bioassay in an outbreak of toxoplasmosis in South Brazil. **Transboundary and Emerging Diseases**, 2020.

MITSUKA-BREGANÓ, Regina; LOPES-MORI, Fabiana Maria Ruiz; NAVARRO, Itamar Teodorico (Org.). **Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas**. Londrina: EDUEL, 62 p., 2010. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/cdtqr/pdf/mitsuka9788572166768.pdf>. Acesso em: 02 fev. 2021.

MOHAMMED, Mohammed A. et al. Evaluation some antioxidants and oxidative stress index in seropositive toxoplasmosis in pregnant women in Ramadi city of Iraq. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v. 11, n. 12, p. 701-705, 2020.

MONTAZERI, Mahbobeh et al. A systematic review of in vitro and in vivo activities of anti-Toxoplasma drugs and compounds (2006–2016). **Frontiers in microbiology**, v. 8, n. 25, 2017.

MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, v. 363, p. 1965-1976, 2004.

MUSTAFA, Layla A.; IBRAHEEM, Muna I. Effect of some biochemical parameters on the level of enzymes in the serum and placenta of the infected pregnant woman with toxoplasmosis. **The Eurasia Proceedings of Science, Technology, Engineering & Mathematics**, v. 7, p. 308-314, 2019.

NAGINENI, Chandrasekharam N.; DETRICK, Barbara; HOOKS, John J. *Toxoplasma gondii* infection induces gene expression and secretion of interleukin 1 (IL-1), IL-6, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and intercellular adhesion molecule 1 by human retinal pigment epithelial cells. **Infection and Immunity**, v. 68, n. 1, p. 407-410, 2000.

OLIVEIRA, Monique Cristine de; SCHOFFEN, João Paulo Ferreira. Oxidative stress action in cellular aging. **Brazilian Archives of Biology Technology**, v. 53, n. 6, p. 1333-1342, 2010.

PANIZ, Clóvis et al. The influence of the serum vitamin C levels on oxidative stress biomarkers in elderly women. **Clinical Biochemistry**, v. 40, n. 18, p. 1367-1372, 2007.

PENG, Cheng et al. Biology of ageing and role of dietary antioxidants. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.

PEYRON, François et al. Maternal and congenital toxoplasmosis: diagnosis and treatment recommendations of a French multidisciplinary working group. **Pathogens**, v. 8, n. 1, p. 24, 2019.

PHAM-HUY, Lien Ai; HE, Hua; PHAM-HUY, Chuong. Free radicals, antioxidants in disease and health. **International Journal of Biomedical Science**, v. 4, n. 2, p. 89-96, 2008.

PISOSCHI, Aurelia Magdalena; POP, Aneta. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 97, p. 55-74, 2015.

PREFEITURA MUNICIPAL DE SANTA MARIA. Relatório anual de gestão 2018. Disponível em: <https://www.santamaria.rs.gov.br/saude/658-relatorios-anuais-de-gestao>. Acesso em: 28 mar. 2022.

RAMIRO-CORTIJO, David et al. Maternal plasma antioxidant status in the first trimester of pregnancy and development of obstetric complications. **Placenta**, v. 47, p. 37-45, 2016.

RIBEIRO, Sônia Machado Rocha et al. A formação e os efeitos das espécies reativas de oxigênio no meio biológico. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 3, 2005.

ROCHA, João B. T. et al. Aminolevulinatase (delta-ALA-D) as marker protein of intoxication with metals and other pro-oxidant situations. **Toxicology Research**, v. 1, n. 2, p. 85-102, 2012.

ROBERT-GANGNEUX, Florence; DARDÉ, Marie-Laure. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 2, p. 264-296, 2012.

RODRIGUES, Fabiane et al. Influence of gestational diabetes on the activity of δ -aminolevulinatase dehydratase and oxidative stress biomarkers. **Redox Report**, v. 23, n. 1, p. 63-67, 2018.

ROSSELLI, Marinella; KELLER, Paul J.; DUBEY, Raghvendra K. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. **Human Reproductive Update**, v. 4, n. 1, p. 3-24, 1998.

ROSTAMI, Ali et al. Acute *Toxoplasma* infection in pregnant women worldwide: a systematic review and meta-analysis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 10, p. e0007807, 2019.

SAADATNIA, Geita; GOLKAR, Majid. A review on human toxoplasmosis. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 44, n. 11, p. 805-814, 2012.

SANTOS, Luisa Guimarães; DE SÁ, Renato Augusto Moreira. Toxoplasmose na gestação. **Jornal Brasileiro de Ginecologia**, v. 131, n. 2, p. 91-94, 2021.

SHAHIDI, Fereidoon; ZHONG, Ying. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, p. 757-781, 2015.

SOUZA, João B. et al. Delta-aminolevulinatase (δ -ALA-D) activity in diabetes and hypothyroidism. **Clinical Biochemistry**, v. 40, n. 5-6, p. 321-325, 2007.

SOUZA, Wanderley de; BELFORT JR, Rubens (Orgs.) **Toxoplasmose & *Toxoplasma gondii***. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2014. 214 p. Disponível em: <http://books.scielo.org/id/p2r7v>. Acesso em: 23 jan. 2021.

SZEW CZYK-GOLEC, Karolina et al. Oxidative stress as a possible target in the treatment of toxoplasmosis: perspectives and ambiguities. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 5705, 2021.

TELESSAÚDERS-UFRGS. **Telecondutas nº 22 – Toxoplasmose na gestação**. Porto Alegre: TelessaúdeRS, 2019. Disponível em: https://www.ufrgs.br/telessauders/documentos/telecondutas/tc_toxoplasmosegestacao.pdf. Acesso em: 02 fev. 2021.

VALKO, Marian et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, n. 1, p. 44–84, 2007.

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima et al. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30, n.5, p. 1323-1338, 2007.

VENDRAME, Silmara Ana et al. Activity of the enzyme delta-aminolevulinatase dehydratase and parameters of oxidative stress in different modes of delivery. **The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine**, p. 1-6, 2019a.

VENDRAME, Silmara Ana et al. Influence of maternal labor time on delta-aminolevulinate dehydratase enzyme activity and markers of oxidative stress in newborns. **Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation**, v. 79, n. 7, p. 496-501, 2019b.

VERTUANI, Silvia; ANGUSTI, Angela; MANFREDINI, Stefano. The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. **Current Pharmaceutical Design**, v. 10, n. 14, p. 1677-1694, 2004.

VILLANUEVA, Cleva; KROSS, Robert D. Antioxidant-induced stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, n. 2, p. 2091-2109, 2012.

VILLAR, Bianca Balzano De La Fuente et al. Toxoplasmosis in pregnancy: a clinical, diagnostic, and epidemiological study in a referral hospital in Rio de Janeiro, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 24, n. 6, p. 517-523, 2020.

VIDAL, Zedy Evelyn Olivo et al. Oxidative stress increased in pregnant women with iodine deficiency. **Biological Trace Element Research**, v. 157, n. 3, p. 211-217, 2014.

XU, Xiucan et al. Reactive oxygen species-triggered trophoblast apoptosis is initiated by endoplasmic reticulum stress via activation of caspase-12, CHOP, and the JNK pathway in *Toxoplasma gondii* infection in mice. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 6, p. 2121-2132, 2012.

XU, Xiucan et al. *Toxoplasma gondii* isolate with genotype Chinese 1 triggers trophoblast apoptosis through oxidative stress and mitochondrial dysfunction in mice. **Experimental Parasitology**, v. 154, p. 51-61, 2015.

YBAÑEZ, Rochelle Haidee D.; YBAÑEZ, Adrian P.; NISHIKAWA, Yoshifumi. Review on the current trends of toxoplasmosis serodiagnosis in humans. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 10, n. 204, 2020.

YAMAMOTO, Joyce H. et al. Discrimination between patients with acquired toxoplasmosis and congenital toxoplasmosis on the basis of the immune response to parasite antigens. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 181, n. 6, p. 2018-2022, 2000.

YANG, Yang; GUAN, Xiangming. Rapid and thiol-specific high-throughput assay for simultaneous relative quantification of total thiols, protein thiols, and nonprotein thiols in cells. **Analytical Chemistry**, v. 87, n. 1, p. 649-655, 2015.

YOUNG, I. S.; WOODSIDE, J. V. Antioxidants in health and disease. **Journal of Clinical Pathology**, v. 54, n. 3, p. 176-186, 2001.

WUJICKA, Wioletta et al. Genetic modifications of cytokine genes and *Toxoplasma gondii* infections in pregnant women. **Microbial Pathogenesis**, v. 121, p. 283-292, 2018.

ZANINI, Daniela et al. δ -aminolevulinate dehydratase activity in lung cancer patients and its relationship with oxidative stress. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 68, n. 5, p. 603-609, 2014.

APÊNDICE A- PLANILHA PARA COLETA DE DADOS

Identificação: _____

Data da coleta: _____

SAME: _____

1. Idade:

2. Idade Gestacional no momento da coleta:

3. Peso pré-gestacional: Altura: IMC:
 Peso no terceiro trimestre: IMC:

4. Histórico de hipertensão na gestação: () Sim () Não
 PA no momento da coleta:

5. Primeira gestação?

() Sim () Não

Complicações nas gestações anteriores?

6. Idade gestacional ao diagnóstico:

7. Perfil Sorológico no momento do diagnóstico:

8. Apresentava algum sintoma no momento do diagnóstico?

9. Realizou amniocentese? () Sim () Não

Resultado:

10. Em que período gestacional iniciou o tratamento?

() primeiro trimestre

() segundo trimestre

() terceiro trimestre

Momento exato:

11. Qual o esquema terapêutico INICIAL

() Espiramicina () SPAF

12. Teve alteração do tratamento para toxoplasmose durante o período da gestação?

() Sim () Não

No período gestacionalalterou para

Motivo da modificação:

13. Apresenta comorbidades? () Sim () Não

Quais?

Exames adicionais realizados:

► DADOS DO RECÉM-NASCIDO:

Idade Gestacional ao nascimento:

Tipo de parto:

Complicações no momento do parto:

Capurro:

Sexo:

Peso:

Altura:

Apgar 1º min: Apgar 5º min:

Achados no neonato:

Fundo de olho:

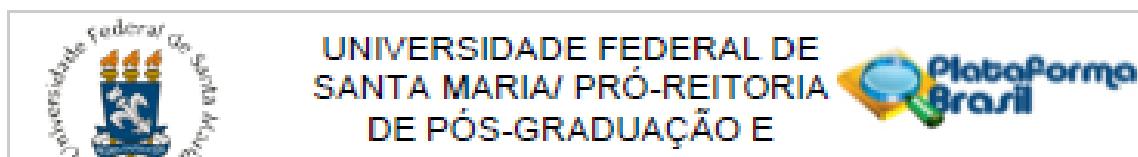
Punção lombar:

US transfontanelar:

TC cerebral:

Informações adicionais:

ANEXO A- PARECER CONSUBSTANCIADO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS (CEP)



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: EVOLUÇÃO E DESFECHO DAS GESTAÇÕES ACOMPANHADAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA.

Pesquisador: Cristine Kolling Konopka

Área Temática:

Versão: 5

CAAE: 59366116.5.0000.5346

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.614.895

Apresentação do Projeto:

Pela notificação, o proponente do projeto intitulado "EVOLUÇÃO E DESFECHO DAS GESTAÇÕES ACOMPANHADAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA".

Justificou pela necessidade de "pesquisa de novos fatores envolvidos nas complicações da toxoplasmose, tanto para a gestante como para o feto."

Em função dos documentos apresentados, a emenda pode ser aprovada.

Objetivo da Pesquisa:

-

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

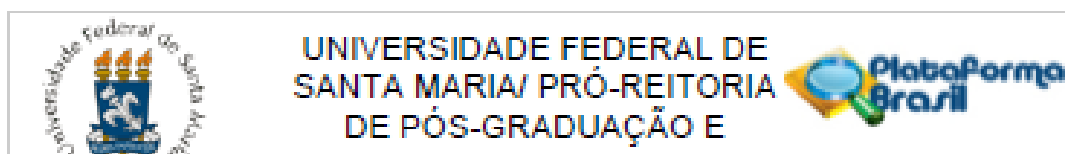
-

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

-

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar
 Bairro: Camobi CEP: 97.105-970
 UF: RS Município: SANTA MARIA
 Telefone: (55)3220-9382

E-mail: cep.ufsm@gmail.com



Continuação do Parecer: 2.014.085

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

.

Recomendações:

.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

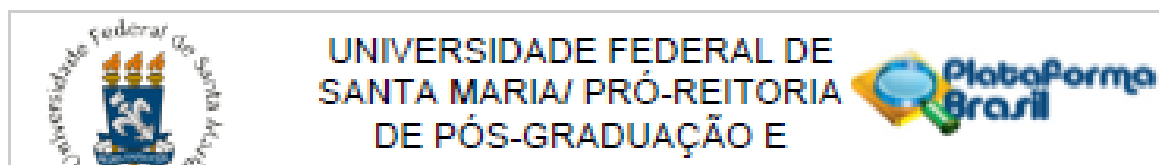
.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB - INFORMAÇÕES_BASICAS_119466_0_E2.pdf	05/08/2018 09:31:29		Aceito
Outros	TCLE_Toxo.pdf	05/08/2018 09:29:56	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Outros	Emenda.pdf	05/08/2018 09:23:22	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Outros	Formulario_Emenda2.jpeg	05/08/2018 09:22:57	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Outros	Emenda_Cristine.jpeg	01/08/2018 11:56:44	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_completo.pdf	14/11/2016 16:00:37	Larissa Emile Paulo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Termo_de_assentimento.pdf	14/11/2016 15:59:48	Larissa Emile Paulo	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	14/11/2016 15:58:55	Larissa Emile Paulo	Aceito
Outros	Confidencialidade.pdf	28/09/2016 13:28:12	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Outros	Aprovacao_GEP.pdf	28/09/2016 13:27:05	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Projeto Detalhado	Comprovante_registro_GAP.docx	17/08/2016	Cristine Kolling	Aceito

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar
 Bairro: Camobi CEP: 97.105-070
 UF: RS Município: SANTA MARIA
 Telefone: (55)3220-0382 E-mail: cep.ufsm@gmail.com



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
SANTA MARIA/ PRÓ-REITORIA
DE PÓS-GRADUAÇÃO E

Continuação do Parecer: 2.014.005

/ Brochura Investigador	Comprovante_registro_GAP.docx	23:33:07	Konopka	Aceito
Orçamento	Orçamento.docx	07/07/2016 12:19:13	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Cronograma	Cronograma.docx	06/07/2016 19:27:14	Cristine Kolling Konopka	Aceito
Folha de Rosto	projeto.pdf	19/05/2016 21:05:53	Leticia Royer Volgt	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SANTA MARIA, 11 de Agosto de 2016

Assinado por:
CLAUDEMIR DE QUADROS
(Coordenador)

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar
Bairro: Camobi CEP: 97.105-070
UF: RS Município: SANTA MARIA
Telefone: (55)3220-0382 E-mail: cep.ufsm@gmail.com

ANEXO B- TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS.

Pesquisador responsável: Prof^a Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi.

Instituição/ Departamento: Universidade Federal de Santa Maria – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Telefone para contato: (55) 3220 – 8464.

Você está sendo convidada a participar da pesquisa: PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS.

O principal objetivo deste estudo é investigar o nível de estresse oxidativo, que são alterações normais provocadas no seu corpo pela gestação. Como você está recebendo um tratamento especial para a infecção pelo *Toxoplasma gondii*, é importante saber qual o impacto deste tratamento no seu organismo. Para isto será avaliada amostra de seu sangue.

Portando o fato de você participar de nosso estudo implicará somente na coleta de uma amostra de 8 mL de sangue, no momento da sua consulta de rotina no ambulatório. Este procedimento foi previamente acordado com os responsáveis. O material biológico será destinado para análises bioquímicas. Sua participação não é obrigatória, não haverá nenhuma forma de compensação financeira e não haverá nenhum custo para você. O fato de você não participar do estudo, não acarretará alteração no seu atendimento e acompanhamento médico. Todos os seus direitos serão preservados.

RISCOS: O desconforto se resume à picada da agulha, sendo que após a coleta o local poderá ficar dolorido ou arroxeadado, mas não requer nenhum cuidado especial, voltando ao normal em poucos dias.

BENEFÍCIOS: O benefício por sua participação no estudo será indireto, isto é, você estará contribuindo para maior conhecimento sobre a Toxoplasmose durante a gestação e sobre os mecanismos envolvidos nas suas complicações tanto para a mãe, quanto para o bebê, o que poderá auxiliar outras pessoas na mesma situação em casos futuros. Os resultados de suas análises bioquímicas, bem como as explicações sobre as mesmas, serão fornecidos pelo pesquisador quando solicitado.

As informações obtidas através desta pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo sobre a sua participação. Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço do pesquisador principal, podendo tirar suas dúvidas sobre o projeto e sua participação, agora ou a qualquer momento.

Eu,.....(assinatura da participante da pesquisa), RG n^o: _____ declaro que entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Prof^a. Dra. Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi (Pesquisadora responsável)
thissianegoncalves@yahoo.com.br

Qualquer dúvida entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa:
Avenida Roraima, 1000 - Prédio da Reitoria - 2^o andar - Cidade Universitária, Bairro Camobi -
CEP:97105-900 - Santa Maria – RS, Tel.: (55)3220-9362 - e-mail: cep.ufsm@gmail.com

ANEXO C- TERMO DE CONFIDENCIALIDADE

Título do projeto: PERFIL SOROLÓGICO E OXIDATIVO DE GESTANTES RECEBENDO TRATAMENTO PARA INFECÇÃO PELO *Toxoplasma gondii* E ACOMPANHAMENTO DOS RESULTADOS PERINATAIS

Pesquisador responsável: Prof^a Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi

Instituição/Departamento: Universidade Federal de Santa Maria (UFSM) / Centro de Ciências da Saúde (CCS) – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas (DACT)

Telefone para contato: (55) 3220-8464

Local da coleta de dados: Ambulatório de Medicina Fetal do Hospital Universitário de Santa Maria (HUSM)

Os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados no Ambulatório de Medicina Fetal do HUSM. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima e serão mantidas no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, sala 1232, prédio 26 da Universidade Federal de Santa Maria, Avenida Roraima nº 1000 (local onde serão armazenados os dados) por um período de cinco anos, sob a responsabilidade da Prof.^a Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi. Após este período, os dados serão destruídos. Quanto às amostras biológicas, essas serão descartadas segundo as normas de controle de descarte para materiais biológicos existentes em nosso departamento.


Este projeto de pesquisa foi revisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFSM, com o número do CAAE 59366116.5.0000.5346.

Prof^a Thissiane de Lima Gonçalves Bernasconi

Pesquisador Responsável

ANEXO D- COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO MANUSCRITO

Diagnostic Microbiology & Infectious Disease



HOME • LOGOUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
 MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS • POLICIES

Role: Author

← Submissions Being Processed for Author

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Results per page 10

Action <input type="checkbox"/>	Manuscript Number <input type="checkbox"/>	Title <input type="checkbox"/>	Initial Date Submitted <input type="checkbox"/>	Status Date <input type="checkbox"/>	Current Status <input type="checkbox"/>
Action Links		Toxoplasma gondii outbreak in southern Brazil: heterogeneity of the serological humoral response in pregnant women and outcomes in newborns	Mar 07, 2022	Mar 07, 2022	Submitted to Journal