

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Hygiene
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Prävalenz und Risikofaktoren der Toxoplasmose in der
Schwangerschaft in Fortaleza/ Nordost – Brasilien

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Susann Sroka

aus Leipzig

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. O. Liesenfeld

2. Prof. Dr. med. U. Gross

3. Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Th. Schneider

Datum der Promotion: 30.01.2009

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Einführung	6
1.2	Lebenszyklus	7
1.3	Epidemiologie	7
1.3.1	Transmission	7
1.3.2	Prävalenz in Brasilien	8
1.3.3	Risikofaktoren	9
1.4	Klinik	11
1.4.1	Immunkompetente Patienten	11
1.4.2	Konnatale Toxoplasmose	12
1.4.3	Immunsupprimierte Patienten	12
1.5	Diagnose und Therapie	13
1.6	Prävention	14
1.6.1	Primäre Prävention	14
1.6.2	Sekundäre Prävention	14
1.7	Fragestellung	15
2	Material und Methoden	16
2.1	Studiengebiet	16
2.1.1	Fortaleza, Hauptstadt des Bundesstaates Ceará in Brasilien	16
2.1.2	Die geburtshilfliche Universitätsklinik “Maternidade Escola Assis Chateaubriand“ (MEAC)	17
2.2	Studiendesign	18
2.2.1	Patientenrekrutierung, Einschluß- und Ausschlußkriterien	18
2.2.2	Studienaufbau und -ablauf	19
2.2.3	Erhebung der Patientendaten mittels standardisiertem Fragebogen	21
2.2.4	Die mikrobiologische Diagnostik	24
2.2.4.1	<i>Gewinnung der Serumproben</i>	24
2.2.4.2	<i>Nachweis von Toxoplasma-IgG- und IgM-Antikörpern</i>	24
2.3	Statistische Analyse	25

3	Ergebnisse	26
3.1	Prävalenz von Toxoplasma-IgG- und IgM-Antikörpern bei den Schwangeren	26
3.2	Risikofaktoren-Analyse der Schwangeren mit <i>T. gondii</i>-spezifischen IgG-Antikörpern	26
3.2.1	Sozioökonomische Faktoren	26
3.2.2	Umweltfaktoren	28
3.2.3	Essverhalten Fleisch	30
3.2.4	Sonstiges Ess- und Trinkverhalten	33
3.2.5	Multivariatenanalyse der Risikofaktoren für Seropositivität	36
3.3	Risikofaktoren-Analyse der Schwangeren mit anti-<i>T. gondii</i>-IgM-Antikörpern	38
3.4	Prävalenz von IgG und IgM bei Neugeborenen	38
4	Diskussion	39
4.1	Wie hoch ist die Prävalenz der Infektion mit <i>T. gondii</i> bei schwangeren Frauen in der geburtshilflichen Universitätsklinik „Maternidade Escola“ in Fortaleza im Nordosten von Brasilien?	39
4.2	Welche Risikofaktoren bestehen für eine Infektion <i>T. gondii</i>?	40
4.3	Welche Präventionsprogramme sind geeignet, um die Prävalenz der Infektion mit <i>T. gondii</i> in der Region zu minimieren?	44
5	Zusammenfassung	47
6	Summary	48
7	Literaturverzeichnis	49
8	Anhang	60
8.1	Der Fragebogen auf portugiesisch	60
8.2	Der Fragebogen auf deutsch	63
8.3	Antrag an die Ethikkommission auf portugiesisch	66
8.4	Antrag an die Ethikkommission auf englisch	80

Danksagung	87
Acknowledgements	88
Lebenslauf	89
Erklärung	90

1. Einleitung

1.1 Einführung

Die Toxoplasmose, eine der am weitesten verbreiteten Zoonosen, wird durch den Parasiten *T. gondii* verursacht. Schätzungsweise ein Drittel der Weltbevölkerung ist betroffen, und auch in der Tierwelt ist der Parasit weit verbreitet [1]. Hauptsächliche Infektionsquellen für den Menschen stellen die orale Aufnahme von Oozysten über den Kontakt mit Katzenkot, kontaminiertem Wasser oder Nahrungsmitteln sowie der Verzehr von rohem oder nicht ausreichend gekochtem Fleisch dar [2]. Brasilien weist eine im internationalen Vergleich sehr hohe Seroprävalenz von 51-84% auf [3-12]. Die Prävalenz der konnatalen Toxoplasmose schwankt zwischen 3,3-8/10000 Neugeborenen [13-17].

Die akute Infektion des Immunkompetenten verläuft meist asymptomatisch. Es entwickeln sich Gewebezysten, die lebenslang in Muskel oder Gehirn persistieren, ohne Symptome zu verursachen. Bei immunsupprimierten Personen kann es jedoch zu einer Reaktivierung der Krankheit aus zerfallenden Gewebezysten kommen [18, 19]. Die Gefahr der diaplazentaren Übertragung des Erregers besteht bei Erstinfektion in der Schwangerschaft, auch für immunkompetente Schwangere. Es können je nach Zeitpunkt der Infektion schwerwiegende Schäden für den Fetus und das Neugeborene bis hin zum Abort resultieren [20]. Um die Übertragung des Erregers wirkungsvoll zu verhindern und insbesondere der konnatalen Transmission vorzubeugen, müssen geeignete Präventionsmaßnahmen, z.B. durch Aufklärung der Bevölkerung implementiert werden. Zur Auswahl der effektivsten Präventionsprogramme für Schwangere sind aber detaillierte Kenntnisse zu Prävalenz und Risikofaktoren notwendig. Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Arbeit die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* und mit der Infektion assoziierte Risikofaktoren in einer großen geburtshilflichen Universitätsklinik im Nordosten Brasiliens untersucht.

1.2 Lebenszyklus

T. gondii ist ein obligat intrazellulärer Parasit, der als Endwirte Feliden und als Zwischenwirte alle warmblütigen Tiere, auch den Menschen, infiziert [21]. Es existieren drei infektiöse Stadien, Tachyzoiten, Bradyzoiten und Oozysten [1]. Katzen und andere Feliden produzieren Oozysten, die nach Ausscheidung mit dem Stuhl die Umwelt kontaminieren. Katzen scheiden während der akuten Infektion über 7-21 Tage mehrere Millionen Oozysten aus [21]. Nach 1-5 Tagen sporulieren die Oozyten, die dann Sporozoiten enthalten, und überleben in feuchtem Boden für Monate oder Jahre [1]. Nach oraler Aufnahme durch andere Wirte kommt es im Darm zu einer Umwandlung in Tachyzoiten. Diese bewirken eine Entzündungsreaktion mit Gewebedestruktion, welche die klinischen Manifestationen verursacht. Tachyzoiten disseminieren über den Blutweg und können viele Gewebe erreichen. Unter dem Druck des Immunsystems wandeln sich Tachyzoiten in Bradyzoiten um, die als Gewebezysten lebenslang im Wirt persistieren, und Zwischen- und Endwirte infizieren [18]. Eine hohe Affinität der Zysten besteht gegenüber neuronalem und muskulärem Gewebe [22]. Die enthaltenen Bradyzoiten können sich wieder in Tachyzoiten zurückverwandeln und zu einer Toxoplasma-Enzephalitis bei immungeschwächten Patienten führen.

1.3 Epidemiologie

1.3.1 Transmission

T. gondii kann horizontal durch die orale Aufnahme infektiöser Oozysten aus der Umwelt oder durch die Aufnahme von Zysten in Fleisch von Zwischenwirten erfolgen. Die vertikale Infektion findet durch Tachyzoiten als diaplazentare Übertragung statt. Obwohl die meisten Infektionen mit *T. gondii* postnatal erworben werden und die Seroprävalenz mit dem Alter zunimmt [23], stellt die Primärinfektion in der Schwangerschaft durch schwerwiegende Folgen für den Fetus bis zum Abort ein großes Problem dar [18, 19, 24]. Der häufige Konsum von rohem Fleisch wird zum Beispiel in Frankreich für die hohe Prävalenz verantwortlich gemacht. Im Kontrast dazu werden die hohen Prävalenzraten in Zentral – und Südamerika auf Umweltkontamination durch Oozysten zurückgeführt [25].

1.3.2 Prävalenz in Brasilien

Erhebliche Differenzen gibt es weltweit bei der Seroprävalenz der Toxoplasmose, die auch innerhalb eines Landes [26-30] je nach geographischer Lage und daraus resultierender unterschiedlicher Umweltbedingungen variieren kann [1, 19]. Die Seroprävalenz ist in kalten, heißen, trockenen und hoch gelegenen Gegenden [18] geringer als in Küstengebieten [31] und Gebieten mit hohen Niederschlägen [32]. Zum anderen spielen für die Prävalenz auch kulturelle, hygienische und ernährungsbedingte Gewohnheiten eine wichtige Rolle [1, 19]. Niedrige Seroprävalenzraten findet man bei Schwangeren und Frauen im gebärfähigen Alter in Nordeuropa, den USA und einigen asiatischen Ländern. Höhere Werte verzeichnen Länder in Süd- und Westeuropa, wie auch Osteuropa. In vielen Ländern Europas und der USA beobachtet man seit Jahren fallende Tendenzen [28, 29, 33-37]. In afrikanischen Ländern, Indien und Nachbarstaaten liegt die Prävalenz niedriger als in lateinamerikanischen und südamerikanischen Ländern. Auch Brasilien gehört zu den Ländern mit hohen Prävalenzen (Tab. 1).

Tabelle 1: Seroprävalenzen von *T. gondii*

Land/ Kontinent	Klientel	Prävalenz	Referenz
Nord-Europa	Schwangere und gebärfähige Frauen	9,1 – 23%	[38-40]
Süd- und West-Europa	Schwangere/ Frauen im gebärfähigem Alter	20 – 67,3%	[33, 41-43]
Ost- Europa	Allg./ Gebärfähige	24,2% - 77%	[34, 44, 45]
USA	Frauen, in den USA geboren	11%	[37]
Süd-Ost-Asien	Schwangere/ Allgemeinbevölkerung	0,79 – 48%	[46-51]
Afrika	Schwangere/ Allgemeinbevölkerung	18 – 35%	[52-54]

Tabelle 1; Fortsetzung

Land/ Kontinent	Klientel	Prävalenz	Referenz
Süd-und Lateinamerika	Frauen im gebärfähigem Alter	51 – 72%	[23]
Brasilien			
Nord- Osten			
Recife	Blutspenderinnen im gebärfähigem Alter	51,6%	[4]
Cascavel	Schwangere	70%	[6]
Fortaleza	Schwangere	71,5%	[5]
Süden	Schwangere/ Frauen im gebärfähigem Alter	59,8 – 77%	[3, 7-11]
Zentrum	Allgemeinbevölkerung/ indianische Bevölkerung	73 – 80,4%%	[12, 55, 56]

1.3.3 Risikofaktoren

Eine Infektionsquelle für die Toxoplasmose stellt die Aufnahme von Oozysten dar [1, 19]. Die Seroprävalenz bei Hauskatzen in Europa, Südamerika und den USA liegt bei 9–46% [23]. Meireles et al. [57] fanden eine Seroprävalenz von 40% bei streunenden Katzen in Sao Paulo, Dubey von 84,4% in Paraná [58] und Cavalcante [59] von 87,3% bei Katzen in Rondonia, Brasilien. Der Besitz von Katzen, als auch der Kontakt zu ihnen erwies sich in Studien aus Brasilien [5], Guadeloupe [32], Kolumbien [60] und der Tschechischen Republik [61] als häufiger Risikofaktor für eine Infektion mit *T. gondii*. Eine zusätzliche Verbreitung finden Oozysten durch mechanische Vektoren wie Fliegen, Kakerlaken, Mistkäfer und Regenwürmer [23, 62]. Aber auch Hunde gelten durch ihr Verhalten, wie das Fressen von Kot und das Welzen darin, und dem engen Kontakt zum Menschen als Vektoren [23, 63]. Ausbrüche von Toxoplasmose wurden auf kontaminiertes Trinkwasser in British Columbia, Kanada [64] und Indien [65] zurückgeführt. Der Ausbruch in Kanada wurde vermutlich durch Kontamination des Oberflächenwassers durch den Kot von Hauskatzen oder Pumas verantwortet, bis zu

7700 Menschen könnten infiziert worden sein [66]. Im Bundesstaat Rio de Janeiro erwies sich das Trinken von ungefiltertem Wasser als Risiko für eine Toxoplasmose [9]. Ein Toxoplasmose–Ausbruch in Paraná 2001 war ebenfalls auf kontaminiertes ungefiltertes Trinkwasser zurückzuführen [120]. Da Oozysten in der Umwelt lange überleben können [67], besteht das Risiko einer oozystenbedingten Infektion auch bei Verunreinigung von Lebensmitteln wie Obst und Gemüse und deren ungenügendem Waschen vor Verzehr [12, 44, 68, 69] oder Kontakt mit Erdboden [3, 30], z.B. bei Gartenarbeit [3, 70, 71]. Mangelnde Händehygiene [72] und das Reinigen von Katzenklos [68] stellen weitere Gefahrenquellen dar.

Die zweite relevante Infektionsquelle stellt der Verzehr von Gewebezysten in rohem oder ungenügend gekochtem Fleisch infizierter Tiere dar [1, 18, 19]. Eine europäische multizentrische Fallkontrollstudie im Jahr 2000 ergab, dass 30–63% der Infektionen mit *T. gondii* in Belgien, Dänemark, Italien, Norwegen und der Schweiz auf den Verzehr von unzureichend erhitztem oder gepökelttem Fleisch zurückzuführen waren [71]. Auch in Frankreich wird die hohe Seroprävalenz mit dem Konsum von rohem bzw. unzureichend gekochtem/ gebratenem Fleisch assoziiert [25]. Ungekochtes Fleisch konnte in Studien aus Serbien [29, 45], der Tschechischen Republik [61], der Slowakei [44], der Türkei [73], Jordanien [74], Korea [75], Taiwan [76], Kolumbien [60], Mexiko [77] und Principe [69] als Risikofaktor identifiziert werden. Neben dem Verzehr von „biologischen“ Fleischprodukten kommt dem Verzehr von nicht durchgegartem Fleisch und dem Verkosten des rohen Fleisches bei Zubereitung eine wichtige epidemiologische Bedeutung zu [78]. Signifikant mit einer erhöhten Seropositivität waren der Verzehr von getrocknetem, gesalzenem oder geräuchertem Fleisch sowie gefrorenem Lammfleisch bei Bewohnern in Erechim, Brasilien assoziiert [70]. So berichten auch drei weitere brasilianische Studien aus Goiana [11], Paraná [79] und Rio Grande do Sul [3], dass der Konsum von rohem (Hammel)- Fleisch ein Risikofaktor für den Erwerb einer Toxoplasmose sei. Zysten finden sich am häufigsten in Schweinen, Schafen und Ziegen. Selten sind sie bei Geflügel und Rind zu finden [23, 25]. Die Durchseuchung von Schlachtvieh variiert in Abhängigkeit der geographischen Lage und Tierhaltung. Infolge von veränderten Haltungssystemen ist die Prävalenz der Erkrankung bei Schweinen in den letzten zwei Jahrzehnten erheblich gesunken und liegt jetzt bei Mastschweinen aus Intensivhaltungsbetrieben bei unter einem Prozent [78]. Auch in den USA ist die Prävalenz von Schweinen, die ohne Katzen- oder

Nagetierkontakt gehalten werden, erheblich zurückgegangen [80]. Bei Nutztieren in Freilandhaltung und Weidegang liegt die Prävalenz immer noch bei bis zu 70% [23, 80]. In Brasilien betrug die Prävalenz von Hühnern durch die häufige Freilandhaltung 66% [81] bis 71% [82], die von Rindern 41,4% [83]. Abgetötet werden Zysten in Fleischprodukten durch Gefrierung bei -13°C [84] oder eine Erhitzung auf mindestens 67°C [85, 86]. Ausbrüche von Toxoplasmose wurden auch durch den Verzehr von roher Leber und Milz von Wildschweinen in Korea [75], Wildverzehr bei Jägern in den USA [87] und den Verzehr von rohem, gefrorenem oder getrocknetem Rentier- und Seehundfleisch [88] berichtet. Welchem Risiko für eine Toxoplasmoseinfektion schwangere Frauen ausgesetzt sind, ist nicht nur abhängig von den Infektionsquellen, sondern wird auch durch die Lebensverhältnisse mitbestimmt. Ein erhöhtes Risiko für die Transmission von *T. gondii* wurde in mehreren Studien für Personen mit niedrigem sozioökonomischem- oder Bildungs-Status festgestellt [31, 89]. Auch brasilianische Untersuchungen bestätigen die Abhängigkeit der Prävalenz von sozioökonomischen Bedingungen wie der Bildung der Mutter [90] und geringem Einkommen [11], während umgekehrt eine bessere Bildung als protektiver Faktor identifiziert wurde [10]. Im Bundesstaat Rio de Janeiro betrug die Seroprävalenz 84% in der Bevölkerungsgruppe mit niedrigem, 62% in der Gruppe mit mittlerem und 23% in der Gruppe mit hohem sozioökonomischen Status [9].

1.4 Klinik

1.4.1 Immunkompetente Patienten

Die Primärinfektion verläuft bei Immungesunden meist asymptomatisch [18, 19], selten erscheinen milde Krankheitszeichen [19]. Die häufigsten klinischen Manifestationen sind Fieber, Unwohlsein und Lymphadenopathie. Selten treten Myokarditis, Polymyositis, Hepatitis und Enzephalitis auf [18, 19, 91]. Die Toxoplasma-Retinochoroiditis kann Ursache einer konnatalen oder postnatal erworbenen Infektion oder aber der Reaktivierung beider Formen sein [92].

1.4.2 Konnatale Toxoplasmose

Die Primoinfektion der Mutter während der Schwangerschaft kann zu einer konnatalen Transmission führen [23]. Bei häufig fehlender oder unspezifischer klinischer Symptomatik der Primärinfektion wird bei den meisten Patienten nicht *T. gondii* als Ursache identifiziert [91]. Abhängig vom Infektionszeitpunkt in der Schwangerschaft führt die Infektion der Mutter im ersten Trimester oft zu einer schwerwiegenden klinischen Erkrankung des Fetus oder aber zum Spontanabort. Die klassischen Zeichen einer konnatalen Toxoplasmose mit Retinochoroiditis, intrakraniellen Kalzifikationen, Mikroenzephalie und Hydrozephalus werden nur bei ca. 1% der Neugeborenen beobachtet. Andere Erscheinungsbilder sind u.a. Enzephalitiden, Epilepsie, Hepatomegalie und Ikterus [19, 93]. Eine Toxoplasmose in der Spätschwangerschaft führt zwar in bis zu 90% der Fälle zu einer konnatalen Transmission, bis zu 85% der infizierten Neugeborenen bleiben aber bei Geburt klinisch unauffällig [18, 94, 95]. Bis zu 50% dieser Neugeborenen entwickelt im Laufe der ersten 20 Lebensjahre Spätschäden, die vor allem das Auge und das zentrale Nervensystem betreffen [19, 96, 97]. Die Inzidenz konnataler Toxoplasmose bei Geburt schwankt zwischen 1-10/10000 Lebendgeburten [18]. In Brasilien wurde 2005 die Inzidenz mit 3,3/10000 angegeben, es wurden 15162 Neugeborene auf IgM-Toxoplasma-Antikörper untersucht [14]. Zu gleichem Ergebnis kam Neto im Jahr 2000 bei einer landesweiten Untersuchung von 140914 Neugeborenen [13]. Unter Zuhilfenahme eines neonatalen Screeningprogrammes wurden 2007 bei sechs von 10000 Neugeborenen IgM-Antikörper gegen *T. gondii* festgestellt [16]. Noch höhere Inzidenzraten von 8/10000 ermittelten Neto 2004 in Porto Alegre und Mozzatto 2003 in Passo Fundo bei Testung von 364130 bzw. 1250 Neugeborenen auf IgM-Antikörper gegen *T. gondii* [15, 17].

1.4.3 Immunsupprimierte Patienten

Bei Immunsupprimierten, vor allem bei Einschränkung der T-Zell-Antwort, kann es zu einer Reaktivierung der latenten Infektion mit *T. gondii* kommen. Meist ist das Gehirn betroffen, was klinisch als Toxoplasma-Enzephalitis imponiert [1]. Vor allem bei schwangeren Frauen mit AIDS kann eine solche Reaktivierung zu konnataler Toxoplasmose des Neugeborenen führen [98].

1.5 Diagnose und Therapie

In Abhängigkeit von der klinischen Symptomatik und des Immunstatus stehen verschiedene diagnostische Methoden zur Verfügung. Bei immunkompetenten Personen werden indirekte serologische Nachweisverfahren zum Nachweis von IgG-Antikörpern angewandt. Empfohlen wird eine serologische Stufendiagnostik [18, 19, 43]: In den ersten drei Monaten der Schwangerschaft sollte ein Toxoplasma-IgG- und IgM-Antikörper-Suchtest durchgeführt werden [99]. Werden weder IgG- noch IgM-Antikörper nachgewiesen, liegt keine Infektion vor, aber auch keine schützende Immunität. Der Nachweis von IgG-Antikörpern spricht für eine stattgehabte Infektion, wobei für Feten von immunkompetenten schwangeren Frauen kein Risiko für eine Transmission von *T. gondii* in der Schwangerschaft besteht. Bei positivem IgM-Nachweis wird durch weitere Abklärungsverfahren eine aktive von einer inaktiven oder abklingenden Infektion mit persistierenden IgM-Antikörpern differenziert. Hierzu zählt vor allem die Bestimmung der Avidität von IgG-Antikörpern [43].

In Brasilien erfolgt bei Erstinfektion der Schwangeren eine durchgehende medikamentöse Therapie mit Spiramycin bis zum Ende der Schwangerschaft. Ist die konnatale Infektion mit *T. gondii* gesichert wird die Therapie, nach der 18.-21. SSW auf Pyrimethamin plus Sulfadiazin umgestellt [18, 20, 99-101].

Durch die hohe Sensitivität und Spezifität der IgM- und IgA- Tests können bis zu 75% der infizierten Neugeborenen identifiziert werden [19, 43, 102]. Für den Nachweis von IgG-Antikörpern kann im Gegensatz dazu auch eine diaplazentare Übertragung verantwortlich sein. Mütterliche IgG-Antikörper verschwinden nach sechs bis zwölf Monaten [99]. Bei Verdacht und Diagnose einer konnatalen Infektion wird das Neugeborene im ersten Jahr mit Pyrimethamin und Sulfadiazin behandelt. Begleitend zur Therapie werden neuroradiologische und ophthalmologische Untersuchungen empfohlen. Im Falle einer aktiven Retinochoroiditis oder dem Nachweis von >1 g/dl Liquorprotein erfolgt eine zusätzliche Behandlung mit Kortikosteroiden [18, 19].

1.6 Prävention

1.6.1 Primäre Prävention

Primäre Prävention einer mütterlichen Infektion in Form von gesundheitlicher Aufklärung bleibt die am einfachsten umsetzbare Option zur Vermeidung der konnatalen Toxoplasmose [103, 104]. Das Aushändigen von Informationsmaterial und die wiederholte Anwendung von Vermeidungsmaßnahmen führten zu einer Reduktion der Serokonversionsrate bei schwangeren Frauen in Belgien [105]. Im Zeitraum von 1991-97 wurden durch aktive Förderung von Aufklärungsprogrammen in Polen die Kenntnisse über Krankheit und Prävention der Toxoplasmose innerhalb von vier Jahren verdoppelt [106]. Auch ein zehnminütiges Gesundheitsprogramm konnte in Kanada das Verhalten gegenüber Risikofaktoren für die Toxoplasmose tatsächlich verändern [107]. In einer französischen Studie dagegen versuchten nur 17% der gefährdeten schwangeren Frauen nach aufklärenden gesundheitlichen Informationen aktiv eine Infektion zu vermeiden [108]. Aufklärungsmaßnahmen, die auf dem Wissen über Risikofaktoren für die Infektion mit *T. gondii* vor und während der Schwangerschaft basieren, sollten mit geringen Kosten verbunden sein und die gesamte Population erreichen [109].

1.6.2 Sekundäre Prävention

In Frankreich wird pränatales Screening seit 1987 praktiziert [35]. Seronegative schwangere Frauen werden monatlich auf Antikörper gegen *T. gondii* getestet [110], während die Frequenz der serologischen Untersuchung alle drei Monate bei dem im Jahr 1975 eingeführten Screening-Programm in Österreich beträgt [111]. Seit dem Einführen dieser Screening-Maßnahmen ist ein Rückgang der Inzidenz der Infektionen während der Schwangerschaft und der konnatalen Toxoplasmose in beiden Ländern zu verzeichnen [35, 110]. Auch Studien aus anderen Ländern Europas und der USA belegen einen Rückgang der Seroprävalenzen [28, 29, 34, 80]. Kontrovers wird eine Debatte über den Nutzen von pränatalem Screening geführt, wobei inhaltlich die Schwerpunkte für eine Entscheidung zum Screenen bei der Prävalenz der gefährdeten Frauen, ihrem Risiko für eine Infektion, der Effizienz einer Therapie, dem Erfolg von Screening- und diagnostischen Tests und dem Kosten-Nutzen-Verhältnis liegen [110].

Eine kostengünstigere Alternative ist das Screening von Neugeborenen, das in Dänemark seit 1999 angewendet wird. Das Screening auf Toxoplasma-spezifische IgM-Antikörper identifizierte zwischen 70 und 80% der konnatalen Toxoplasmosefälle [113]. In Porto Alegre im Süden von Brasilien wurde 2002 ein neonatales Screening-Programm durchgeführt. Bei zwei von sechs IgM-positiven Neugeborenen war die Infektion ausschließlich durch das Screening entdeckt worden [16]. Auch in New Hampshire und Massachussetts wird seit 1986 ein Neugeborenen-Screening praktiziert [113-115].

1.7 Fragestellung

Die Toxoplasmose in der Schwangerschaft kann zu schwerwiegenden Schäden für den Fetus und das Neugeborene führen [20]. Die Infektion durch die orale Aufnahme von Oozysten aus Erdboden und Wasser oder durch orale Aufnahme von Gewebezysten in ungekochtem oder rohem Fleisch kann durch geeignete präventive Maßnahmen verhindert werden. Prävention durch Aufklärung der Bevölkerung stellt ein einfach durchzuführendes und kostengünstiges Verfahren dar, das auch für Schwellenländer wie Brasilien eine umsetzbare Alternative zu sein scheint. Unabdingbare Voraussetzungen für die Entwicklung und Durchführbarkeit effektiver Präventionsmaßnahmen sind jedoch das Wissen über Prävalenz und Risikofaktoren dieser Erkrankung. Die vorliegende Arbeit hatte deshalb zum Ziel, anhand von serologischen Untersuchungen die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* bei schwangeren Frauen und Neugeborenen in einem Universitätskrankenhaus im Nordosten von Brasilien zu bestimmen. Gleichzeitig sollten Risikofaktoren für die Infektion anhand eines standardisierten Fragebogens erfragt werden, um die Ausarbeitung von effektiven Präventionsmaßnahmen entwickeln zu können. Im Detail wurden in der vorliegenden Studie die folgenden Fragen bearbeitet:

1. Wie hoch ist die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* bei schwangeren Frauen in der geburtshilflichen Universitätsklinik „Maternidade Escola“ in Fortaleza im Nordosten von Brasilien?
2. Welche Risikofaktoren prädisponieren für eine Infektion mit *T. gondii*?
3. Welche Präventionsprogramme sind geeignet, um die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* in der Region zu minimieren?

2. Material und Methoden

1.8 Studiengebiet

1.8.1 Fortaleza, Hauptstadt des Bundesstaates Ceará in Brasilien

Der Bundesstaat Ceará liegt im Nordosten Brasiliens und nimmt mit seiner Größe von 148.825 km² knapp 10% der nordöstlichen Region und 1,7% von Brasilien ein.



Abb. 1: Geographische Lage des Bundesstaates Ceará mit der Hauptstadt Ceará

Das Klima von Ceará reicht von über 90% halb- trockenen Regionen mit geringen Niederschlagsmengen bis zu tropischem Klima in Gegenden mit tropischen Wäldern und Niederschlägen bis über 1000 mm jährlich. An der Küste ist das Klima halbtrocken, die Jahresdurchschnittstemperatur liegt bei 26° C. Von den 8 Millionen Einwohnern sind 50% unter 25-jährig. Die Lebenserwartung liegt landesweit bei 72 Jahren, das Durchschnittsalter lag 2006 bei Männern bei 27,5 Jahren und bei Frauen bei 29 Jahren. Die Kindersterblichkeit konnte in den letzten Jahren auf 28/1000 Lebendgeburten gesenkt werden.

An der Küste liegt die Bundeshauptstadt Fortaleza mit ihren 114 Bezirken. Sie ist mit 2,4 Millionen Einwohnern und der Metropolenregion mit einer Million Menschen die viertgrößte Stadt Brasiliens. Die Metropolenregion von Fortaleza umfasst außer der

verdichteten Großstadregion auch große ländliche Gebiete, die als Motoren der sozialen, gesellschaftlichen und wirtschaftlichen Entwicklung betrachtet werden. Mit 21 m Höhe und tropischen Küstenklima verzeichnet die Stadt ein durchschnittliches Tagesmaximum der Lufttemperatur von 28° C und ein Minimum von 23° C. Die Regenmenge im Jahresdurchschnitt beträgt 1600 mm, wobei der größte Anteil auf die Regenzeit im Januar bis Mai fällt.

Die Einwohner von Fortaleza erwirtschaften mit 6.772 Real (3900 Dollar) pro Kopf jährlich 47,5% des Bruttoinlandsprodukts von Ceará, wobei der Handel mit Textilien und wirtschaftlichen Produkten sowie der Tourismus die Haupteinnahmequellen darstellten.

1.8.2 Die geburtshilfliche Universitätsklinik „Maternidade Escola Assis Chateaubriand“ (MEAC)

Die vorliegende Studie wurde in der „Maternidade Escola Assis Chateaubriand“ (MEAC), der geburtshilflichen Klinik der medizinischen Fakultät der Bundesuniversität des Staates Ceará (UFC) durchgeführt. Als staatliches Referenzzentrum für Gynäkologie und Geburtshilfe werden alle Patientinnen kostenlos behandelt. Ebenso sind apparative Untersuchungen und Medikamente unentgeltlich zu erhalten. Deshalb setzt sich die Patientenklientel v.a. aus sozial schwächeren Schichten der Stadt- und Landbevölkerung zusammen. Zum Einzugsgebiet des Krankenhauses gehören, neben Fortaleza, die Metropolenregion und weiter entfernte Gegenden im Landesinneren.

Die Einrichtung verfügt über eine neonatologische Intensivstation, eine Station für materno-fetale Medizin, Geburtshilfe und Risikoschwangerschaften, und eine Intensivstation für Mütter. Spezial-Ambulanzen wurden für Ultraschall, pränatale Diagnostik für niedriges, mittleres und hohes Risiko, sowie für Jugendliche und Schwangere mit HIV eingerichtet. Zusätzlich bietet die MEAC Sprechstunden für trophoblastische Neoplasien in der Schwangerschaft und das Projekt Känguru für Frühchen an. Im Gebäude befinden sich außerdem ein Kreißsaal mit 12 Betten und eine Notaufnahme. Die MEAC verfügt über 235 Betten und behandelt jährlich ca. 45.000 ambulante und 5.046 stationäre Patientinnen. Die Zahl der Geburten beträgt jährlich ca. 4.800. Da die MEAC mit vielen Risikoschwangerschaften konfrontiert ist, betrug die Kaiserschnitttrate im Jahr 2004 48%. Als Indikationen für einen Kaiserschnitt gelten unter anderem Plazenta praevia, Quer- oder Beckenendlage, Früh- und

Mehrlingsgeburten, vorzeitige Plazentalösung, und Geburtsstillstand. 2004 wurden bei 4.822 Geburten 92 neonatale Sterbefälle und 22 Totgeburten aufgeführt.



Abb. 2: Die geburtshilfliche Universitätsklinik „Maternidade Escola Assis Chateaubriand“ des Universitätsklinikums der UFC und ihr Kreißsaal.

1.9 Studiendesign

Um an einem großen Kollektiv von schwangeren Patientinnen die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* zu bestimmen und Risikofaktoren für die Infektion zu ermitteln, wurde bei Patientinnen, die sich zur Entbindung in der MEAC aufhielten, Blut entnommen. Ebenso wurde den Neugeborenen, nach der Geburt zur Diagnose der Infektion mit *T. gondii*, Nabelschnurblut abgenommen. Parallel dazu wurden anhand eines standardisierten Fragebogens mögliche Risikofaktoren für die Infektion mit *T. gondii* ermittelt. Drei medizinische Doktoranden der Charité (die Autorin der vorliegenden Arbeit, Nina Bartelheimer, Andreas Winter) führten die Studie gemeinsam durch. Die Autorin der vorliegenden Dissertationsschrift und Nina Bartelheimer waren Stipendiaten des UNIBRAL-Programms des DAAD.

http://www.charite.de/studium/international/andere_programme/unibral/

1.9.1 Patientenrekrutierung, Einschluß- und Ausschlußkriterien

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der UFC im Januar 2005 genehmigt (siehe Anhang 8.3 und 8.4). Die Einschluss- und Ausschlusskriterien wurden folgendermaßen definiert:

Alle Patientinnen, die sich vom 21.02.2005 bis zum 04.05.2005 zur Entbindung ambulant oder stationär in der MEAC vorstellten, deren Wohnort Fortaleza oder die

Metropolenregion mit den Städten Caucaia, Maranguape, Pacatuba, Aquiraz, Maracanaú, Eusébio, Guaiúba, Itaitinga, Chorozinho, Pacajus, Horizonte, Sao Goncalo do Amarante war, wurden in die Studie eingeschlossen, wenn sie mindestens 18 Jahre alt waren, die Einwilligungserklärung auf dem Aufklärungsbogen unterschrieben oder bei Alter < 18 Jahre von einem gesetzlichen Vertreter unterschreiben lassen hatten. Bei allen Patientinnen und Neugeborenen wurde eine Blutprobe entnommen und ein standardisierter Fragebogen im Rahmen eines Interviews ausgefüllt.

Ausschlusskriterien waren bei Alter <18 Jahre die fehlende Unterschrift des gesetzlichen Vertreters, das Fehlen der Einwilligungserklärung, fehlende oder ungenügende Serumproben oder fehlender Fragebogen.

Bei einigen Patientinnen wurde erst im Rahmen der Auswertung festgestellt, dass ihr Wohnort nicht im definierten Einzugsgebiet der Studie lag, bzw. Serum oder Fragebogen unvollständig waren oder fehlten. Diese Patientinnen wurden nachträglich aus der Studie ausgeschlossen.

1.9.2 Studienaufbau und -ablauf

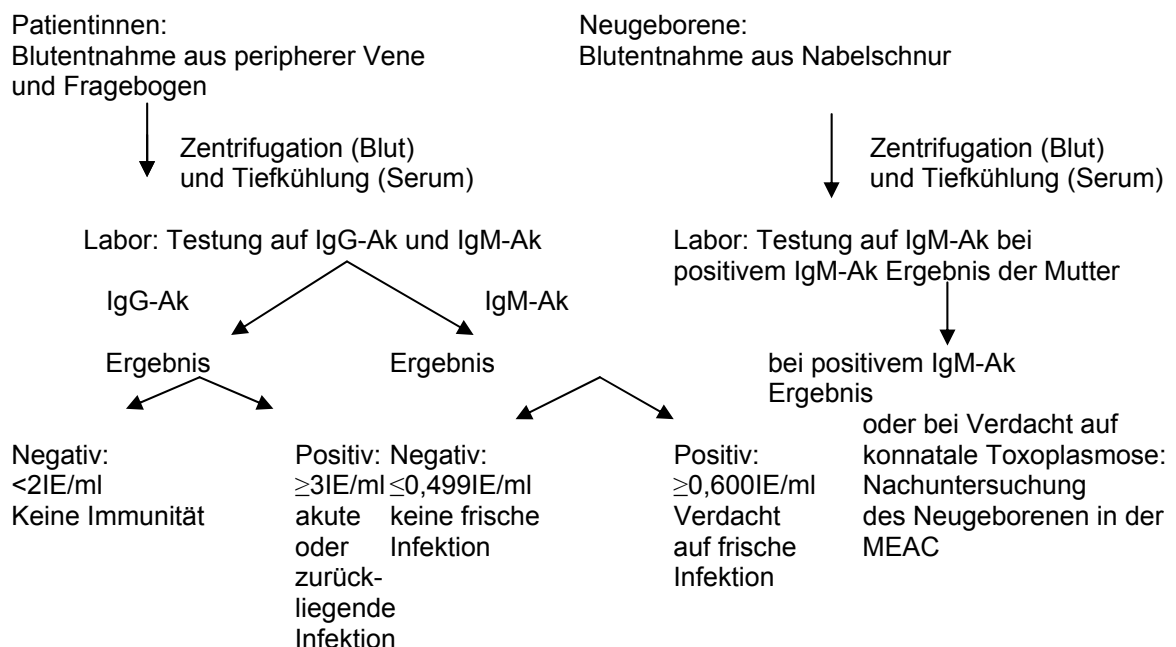


Abb. 3: Fließdiagramm zum Ablauf der Studie

Die Studie gliederte sich in einen transversalen und einen longitudinalen Arm (Abb. 3). Aus dem Belegungs- und Geburtenbuch des Kreißsaals wurden täglich die Daten zu spontanen Geburten, Kaiserschnitten und Neuzugängen entnommen. Anhand dieser Informationen wurden die Patientinnen von den Untersuchern aufgesucht. Alle in die Studie eingeschlossenen Patientinnen wurden anhand eines Fragebogens zur Person und zu Risikofaktoren für eine Toxoplasmose befragt. Zusätzlich wurde bei allen Schwangeren eine Blutprobe zum Nachweis von IgG- und IgM-Antikörpern gegen *T. gondii* entnommen. Parallel dazu wurde den Neugeborenen im Anschluss an die Geburt über die Nabelschnur kindliches Blut abgenommen. Bei Nachweis von mütterlichen IgM-Antikörpern gegen *T. gondii* wurden Kinder, bei denen keine Serumprobe gewonnen wurde, für die Blutentnahme zum serologischen Nachweis von IgM-Antikörpern gegen *T. gondii* erneut einbestellt. Neugeborene mit IgM-Antikörpern gegen *T. gondii* oder klinischem Verdacht auf konnatale Toxoplasmose wurden von der MEAC entsprechend der lokalen Richtlinien weiterversorgt. Sie beinhalten neben der klinischen Untersuchung auch die Entnahme von Blutproben bis zum zwölften Lebensmonat.

Insgesamt konnten in einem Zeitraum von zweieinhalb Monaten 963 Schwangere, im Durchschnitt 13,2 Patientinnen pro Tag, in die Studie eingeschlossen werden. Alle Teilnehmerinnen wurden von den Untersuchern mündlich über die Studie aufgeklärt. Nach schriftlicher Einwilligung erfolgten die Interviews, die durchschnittlich 20 bis 30 Minuten dauerten, sowie die Blutentnahmen der Mütter. Bei Frauen, die bereits vor Beginn der Studie im Rahmen der Schwangerschaftsvorsorge auf Toxoplasmose untersucht, und bei denen IgG-Antikörper gegen *T. gondii* festgestellt worden waren, wurde auf eine weitere Blutentnahme verzichtet. Die Blutentnahme der Frauen und die Interviews wurden zumeist auf der Station für Wöchnerinnen nach der Geburt des Kindes vorgenommen, wo die Wöchnerinnen nach Spontangeburt mindestens 24h, postoperativ nach Sectio caesarea mindestens 48 Stunden verweilen. Durch die hohe Anzahl an Patientinnen und Geburten pro Tag wurden aus Zeitgründen bei einem kleinen Teil der Frauen die Blutentnahmen und das Interview vor der Geburt noch im Kreißsaal durchgeführt. Parallel zu den Interviews wurde von den Untersuchern im Kreißsaal bzw. bei Kaiserschnittgeburten im chirurgischen Zentrum das Blut der Neugeborenen aus der kindlichen Nabelschnur entnommen. Da die Plazenta mit den anhängenden Nabelschnurgefäßen kurz nach der Entbindung entsorgt wurde und die Gefäße nach ca. 15 Minuten nicht mehr zu punktieren waren, wurde am jeweiligen

Entbindungsort im Anschluss an die Geburt das Blut abgenommen. Aufgrund von technischen Schwierigkeiten und mangelnder Kooperation einiger Mitarbeiter des Personals in den Nachtstunden konnte nur bei 626 Neugeborenen Nabelschnurblut gewonnen werden.

Alle erhobenen Daten wie Name, Krankenaktennummer, Adresse, Tag der Befragung, Tag der Blutentnahme bei Mutter und Kind sowie die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen wurden in ein täglich aktualisiertes Untersuchungsbuch eingetragen.

1.9.3 Erhebung der Patientendaten mittels standardisiertem Fragebogen

Der Fragebogen zu Demographie und Risikofaktoren setzte sich aus 28 Fragen zusammen. Es wurden Fragen zur Person, zu sozioökonomischen Aspekten und zu mit *T. gondii* assoziierten Infektionsquellen gestellt. Der Fragebogen wurde in Anlehnung an Fragebögen aus 2 brasilianischen [6, 9] und einer europäischen [71] Studie zur Erfassung von Risikofaktoren für die Infektion erstellt. Er ist im Anhang (8.1 und 8.2) im Original und in übersetzter Version aufgeführt.

Im Detail wurden die folgenden Punkte abgefragt:

1. Person: Name, Geburtsdatum, Schuljahre, Erwerbstätigkeit

2. Sozioökonomische Aspekte: Gesamtmonatseinkommen der Bewohner, Beschaffenheit/ Baumaterial des Hauses, Fußbodenbeschaffenheit, Straßenverhältnisse, Elektrizität, Wasserversorgung, Duschgewohnheiten, Abwasserentsorgung

3. Potentielle Infektionsquellen: Behandlung des Trinkwassers, Entsorgung der Exkremente, Anzahl und Haltung folgender Tiere: Katzen, Hunde, Hühner, Schweine, Kontakt mit diesen Tieren, Kontakt mit Erde bei Gartenarbeit, Essgewohnheiten: Pulver- oder Frischmilch, Käse, Milcheis, selbst hergestelltes Wasserfruchteis, selbst angepflanztes oder gekauftes Gemüse und dessen Waschen vor Verzehr, Verzehr von gekochten oder rohen Waren wie Eier, Rindfleisch, Schweinefleisch, Hühnerfleisch, und Ziegenfleisch, Probieren von rohem Fleisch beim Zubereiten

Die Ergebnisse der Einzelanalysen und der multivariaten logistischen Regression zur Bestimmung von Risikofaktoren für die Infektion mit *T. gondii* wurden in Tabellen angegeben. Die folgenden Ausprägungen von Variablen wurden nachträglich für die Berechnung der ODDS-Ratio zusammengelegt und/oder modifiziert.

Tabelle 2: Modifikationen von Variablen vor Berechnung der ODDS-Rationes

Variable im Fragebogen	Variable in Auswertung
Frage 3: Schulausbildung	Zusammenlegung Schulausbildung 1-8 Jahre und > 8 Jahre zu Alphabetisierung
Frage 6: Monatseinkommen pro Haushalt	Zusammenlegung Monatseinkommen <½ML (Mindestlohn) und ½-1ML zu ≤1ML, Zusammenlegung 1-2ML, 2-5ML und >5ML zu >1ML.
Frage 8: Fußboden	Zusammenlegung Sand- und Erdfußboden zu Sandfußboden
Frage 9: Straße	Zusammenlegung Sand und Pflaster zu Sand/Pflaster
Frage 11: Leitungswasser	Zusammenlegung Fluss/See, Brunnen oder Handwerkerbrunnen (Nein), Leitungswasser aus der städtischen Wasserversorgung (CAGECE) (Ja)
Frage 13:	Zusammenlegung gekochtes Wasser, gefiltertes Wasser und Mineralwasser zu behandeltem Trinkwasser (Nein) versus Trinkwasser ohne Behandlung (Ja)
Frage 14:	Zusammenlegung Wald und Grube zu Wald/Grube
Fragen 15-18: Besitz und Kontakt Tiere	Zusammenlegung Besitz und Kontakt (Ja) versus Keine Tiere (Nein)

Tabelle 2; Fortsetzung

Variable Fragebogen	Variable Auswertung
Frage 15: Katzenklo im Haus	Zusammenlegung Keine Katzen und Katzen lassen ihre Fäkalien außer Haus (Nein) versus Katzenklo im Haus (Ja)
Frage 21: Zubereitung und Verzehr Eier	Zusammenlegung von Verzehr von rohen oder ungenügend gekochten, gebratenen Eiern (Nein) versus Kein Verzehr von Eiern und Eier gut gebraten/gekocht (Ja)
Fragen 21-25: Frequenz des Verzehrs von Eiern, Milch, Käse, Milch- und Wasserfruchteis	Zusammenlegung <1x pro Woche, 1-2x pro Woche zu <2x pro Woche (Nein) versus > 2x pro Woche (Ja)
Fragen 26.1-26.4: Essverhalten Fleisch	Zusammenlegung von roh, ungenügend gekocht oder gebraten zu Verzehr von rohem oder ungenügend gekochtem Fleisch (Ja) versus gut gekochtes oder gebratenes Fleisch und Kein Verzehr von Fleisch (Nein)
Fragen 26.1-26.4: Frequenz Fleischverzehr	Zusammenlegung <1x pro Woche, 1-2x pro Woche, zu <2x pro Woche (Nein) versus >2x pro Woche (Ja)
Frage 27a: Frequenz Gemüseverzehr	Zusammenlegung <1x pro Woche, 1-2x pro Woche zu <2x pro Woche (Nein) versus >2x pro Woche (Ja)
Frage 27c: Waschen von Gemüse vor Verzehr	Zusammenlegung von Behandlung mit gekochtem-, gefiltertem Wasser, Mineralwasser oder Kein Verzehr von Gemüse zu behandeltes Wasser (Ja) versus Wasser ohne Behandlung (Nein)

1.9.4 Die mikrobiologische Diagnostik

1.9.4.1 Gewinnung der Serumproben

Den Studienteilnehmerinnen wurde nach lokaler Desinfektion der Haut aus peripheren Venen 5-10 ml Blut mit Hilfe von Vacutainern (Becton Dickinson Vacutainer Systems, Franklin Lakes, New Jersey, USA) ohne Zusatz von Koagulanzen entnommen. Die Röhrchen wurden anschließend mit dem Namen der Patientin und der Krankenaktennummer beschriftet. Zur Entnahme des Neugeborenenblutes wurde nach der Geburt aus der Plazenta die Nabelschnur punktiert. Die Mindestblutabnahme betrug dabei 5 ml.

Das mütterliche und kindliche Blut wurden in der Zeit bis zur Weiterverarbeitung in einer mit Eispacks gefüllten Styroporbox vor Ort kühl gelagert. Am Abend, bei Probenentnahme während der Nacht auch morgens, wurden die Proben in das Labor des Instituts für Pathologie der UFC transferiert und dort 15 Min. bei 3000 U/min zentrifugiert (Typ K, Gemmy Industrial Corp., Taipei, Taiwan). Jeweils 2 ml Serum wurden abpipettiert, in Eppendorf-Probengefäße überführt, mit Namen, Krankenaktennummer, einer farblichen Markierungen, sowie mit Abkürzungen „M“ für Mutter und „K“ für Kind beschriftet und in einem Gefrierschrank (Prosdócimo, Salvador, Brasilien) bei -20°C tiefgefroren.

Nach Weitertransport in das Zentrallabor des Universitätskrankenhauses „Walter Cantidio“ wurden die mütterlichen Seren auf IgG- und IgM-Antikörper mit dem Abbott AxSym System (Abbott Laboratories, Sao Paulo, Brasilien) getestet. Proben der Neugeborenen wurden auf anti-*T. gondii*-IgM-Antikörper in gleicher Weise getestet, wenn die mütterlichen Proben IgM-positiv waren. Seren, die nach serologischer Testung ein unklares Ergebnis anzeigten, wurden erneut im gleichen Test untersucht, bis ein eindeutiges Ergebnis vorlag.

1.9.4.2 Nachweis von *Toxoplasma*-IgG- und IgM-Antikörpern

Anti-*T. gondii*-Antikörper der Klassen IgG und IgM wurden mithilfe der AxSym Toxo IgG- und IgM-Assays (Abbott Laboratories) nachgewiesen. Der AxSym Toxo IgG Assay beruht auf der Technik des Mikropartikel-Enzymimmunoassays (MEIA). Die Seren wurden vor der Verarbeitung aufgetaut und gemischt. Alle weiteren Schritte wurden wie vom Hersteller angegeben durchgeführt. Ergebnisse von <2 Internationale Einheiten

(IE)/ml wurden als negativ bewertet, der Nachweis von ≥ 3 IE/ml wurde als positiv bewertet. Ergebnisse von ≥ 2 IE/ml und < 3 IE/ml wurden als grenzwertig beurteilt.

Der Toxo IgM MEIA dient als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Primärinfektion. Das AxSym-Analysengerät berechnet einen Toxo-IgM-Index-Wert aus dem Quotienten aus Probenwert (Patient/Kontrolle) und dem Mittelwert des Index-Kalibrators. Proben mit Index-Werten $\leq 0,499$ IE/ml gelten als nicht reaktiv für IgM-Antikörper gegen *T. gondii*. Ergebnisse mit Werten zwischen 0,500 und 0,599 IE/ml werden als nicht eindeutig betrachtet. Proben mit Index-Werten $\geq 0,600$ IE/ml werden als reaktiv gewertet.

1.10 Statistische Analyse

Die erhobenen Patientendaten wurden mit Hilfe der Software EPI Info 6.0 (Version 6.04d, CDC, Atlanta, USA) in eine Datenbank eingegeben und danach auf Eingabefehler überprüft. Eine Patientenanzahl von mindestens 814 Frauen war erforderlich, um eine ODDS- Ratio von zwei für eine positive IgM-Serologie, bei einer geschätzten Prävalenz von 60-70% mit einem Konfidenzintervall von 95% zu erreichen. Die Daten des Fragebogens und der serologischen Untersuchung wurden tabellarisch (Microsoft Office Excel 2003) zusammengefügt. Mit dem Programm STATA (Version 7; Stata Corporation, College, Texas) erfolgten die Einzelanalysen zur Analyse eines möglichen Zusammenhangs zwischen potentiellen Risikofaktoren und einer Infektion mit *T. gondii*. In den Einzelanalysen erfolgte die Berechnung der ODDS-Ratio und der respektiven 95% Konfidenzintervalle. Für alle statistischen Auswertungen wurde ein einheitliches Signifikanzniveau von $p \leq 0,05$ festgelegt und der Fisher-Exact-Test angewendet.

Im Anschluß wurde eine multivariate logistische Regression mit Rückwertselimination durchgeführt. Ergebnisse der Einzelanalyse mit Werten $p \leq 0.3$ wurden in die multivariate Analyse des STATA Softwareprogramms einbezogen. Variablen, die nach der Regression einen p-Wert von $p > 0.3$ aufwiesen wurden eliminiert.

3. Ergebnisse

1.11 Prävalenz von Toxoplasma-IgG- und IgM-Antikörpern bei den Schwangeren

An der Studie nahmen 1000 schwangere Frauen teil. 963 Schwangere erfüllten die Einschlusskriterien. Unvollständige Fragebögen, fehlende Seren oder Seren mit einem zu geringen Volumen führten bei 37 Schwangeren im Untersuchungszeitraum zum Ausschluß aus der Studie.

661 Frauen (68,6%) wiesen IgG-Antikörper und 5 (0,5%) IgG- plus IgM -Antikörper gegen *T. gondii* auf. Die altersabhängige IgG- Prävalenz ergab für Frauen im Alter von 12-15 Jahren eine Prävalenz von 91,7%, in der Altersspanne von 16-18 Jahren 63,5%, von 19-25 Jahren 63,9%, von 26-30 Jahren 69,8% und bei Frauen von 31-44 Jahren 77%. Der Mittelwert des Alters betrug 25,2 Jahre und der Median 24 Jahre (Tab. 3).

Tabelle 3: Prävalenz pro Altersgruppe

Altersgruppe	Anzahl n	Prävalenz (95% KI) IgG positiv
Total	661/963	68,6% (65,6 - 71,6)
12–15	11/12	91,7% (61,5 - 99,8)
16–18	38/104	63,5% (53,4 - 72,7)
19–25	158/438	63,9% (59,2 - 68,4)
26–30	57/132	69,8% (62,8 - 76,3)
31–44	44/147	77,0% (70,3 - 82,7)

1.12 Risikofaktoren-Analyse der Schwangeren mit *T. gondii*-spezifischen IgG-Antikörpern

1.12.1 Sozioökonomische Faktoren

Bei der Einzelanalyse von Risikofaktoren, die im Zusammenhang mit den Lebens- und Wohnverhältnissen der Schwangeren standen, wurden Assoziationen mit Seropositivität untersucht (Tab. 4). Das Alter stellt in dieser Analyse einen signifikanten Risikofaktor dar ($p=0,004$). Mit steigendem Alter kommt es zu einer Zunahme von Schwangeren mit

IgG-Antikörpern gegen *T. gondii*. Eine Ausnahme stellt die Altersgruppe der 12-15jährigen Frauen dar, bei der die Seroprävalenz höher liegt als in den übrigen Altersgruppen. Ebenso erwies sich ein monatliches Einkommen von ≤ 1 ML pro Haushalt als Risikofaktor ($p=0,007$) für die Infektion mit *T. gondii*.

Die Variablen Schulausbildung, Arbeitsverhältnis und Wohnort waren nicht mit einem höheren Risiko für eine Infektion mit *T. gondii* assoziiert. Auch die Variablen, die die Wohnverhältnisse beschreiben wie Haus, elektrisches Licht, Leitungswasser und Sanitäranlage, stellten in der Einzelauswertung keine signifikanten Risikofaktoren für eine Seropositivität dar.

Tabelle 4: Assoziation der sozioökonomische Faktoren mit dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *T. gondii* in der Einzelanalyse

Variable	Anzahl n	Positiv n (%)	IgG (n=963)	
			OR (95% KI**)	p-Wert
Sozioökonomische Faktoren				
Alter in Jahren				
>25	380	279 (73,4)	1,52 (1,13 – 2,05)	0,004
≤ 25	554	357 (64,4)		
Schulausbildung				
Nicht alphabetisiert	28	22 (78,6)	1,70 (0,66 – 5,18)	0,305
Alphabetisiert	934	638 (68,3)		
Monatseinkommen pro Haushalt				
≤ 1 ML*	379	278 (73,4)	1,49 (1,11 – 2,01)	0,007
>1ML	566	367 (64,8)		
Arbeitsverhältnis				
Nein	618	431 (69,7)	1,13 (0,84 – 1,52)	0,424
Ja	343	230 (67,1)		

Tabelle 4; Fortsetzung

Variable	Anzahl n	Positiv n (%)	IgG (n=963)	
			OR (95% KI**)	p-Wert
Wohnort Fortaleza				
Nein	77	52 (67,5)	0,93 (0,55 – 1,61)	0,798
Ja	868	599 (69,0)		
Haus				
Lehm	20	16 (80,0)	1,85 (0,59 – 7,65)	0,336
Backstein	943	645 (68,4)		
Elektrisches Licht				
Nein	7	6 (85,7)	2,76 (0,33 – 127,24)	0,444
Ja	956	655 (68,5)		
Leitungswasser				
Nein	58	35 (60,3)	0,68 (0,38 – 1,23)	0,189
Ja	905	626 (69,2)		
Sanitäranlage				
Wald/ Grube	538	376 (69,9)	1,16 (0,87 – 1,54)	0,294
Abwasserkanal	420	280 (66,7)		

- * ML = Mindestlohn von 260 Reais (entsprechen ca. 80 Euro)
- ** KI = Konfidenzintervall

1.12.2 Umweltfaktoren

Neben den sozioökonomischen Faktoren wurde die Assoziation von Umweltfaktoren mit Seropositivität ausgewertet (Tab. 5). In der Einzelanalyse war das Fehlen eines Zement- oder Keramik-Fußbodens im Haus ($p=0,037$) und das Fehlen eines asphaltierten Straßenbelags ($p=0,026$) signifikant häufiger bei seropositiven als bei seronegativen Schwangeren anzutreffen. Auch die Präsenz von Hunden ($p=0,018$)

erwies sich als signifikanter Risikofaktor. Dagegen konnten bekannte Risikofaktoren wie Katzenbesitz und -kontakt oder der Kontakt mit Erde bei Gartenarbeit nicht mit Seropositivität assoziiert werden. Auch der Besitz und Kontakt zu anderen Tieren stellte kein signifikantes Risiko für die Seropositivität dar.

Tabelle 5: Assoziation von Umweltfaktoren mit dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *T. gondii*- in der Einzelanalyse

Variable	Anzahl n	IgG (n=963)		
		Positiv n (%)	OR (95% KI**)	p-Wert
<i>Umweltfaktoren</i>				
Fussboden (Haus)				
Sand/ Erde	34	29 (85,3)	2,73 (1,02 – 9,10)	0,037
Zement/ Keramik	929	632 (68,0)		
Strasse				
Sand/ Pflaster	359	262 (73,0)	1,39 (1,03 – 1,88)	0,026
Asphalt	603	398 (66,0)		
Kontakt mit Erde				
Ja	116	81 (69,8)	1,07 (0,69 – 1,68)	0,831
Nein	847	580 (68,5)		
<i>Eigene Tiere</i>				
Katzen				
Ja	246	179 (72,8)	1,31 (0,94– 1,83)	0,112
Nein	716	481 (67,2)		
Anzahl Katzen				
≥2	38	28 (73,7)	1,30 (0,60 – 3,03)	0,594
0-2	924	632 (68,4)		
Katzenklo im Haus				
Ja	43	29 (67,4)	0,95 (0,48 – 1,97)	0,867

Tabelle 5; Fortsetzung

Variable	Anzahl n	IgG (n=963)		
		Positiv n (%)	OR (95% KI**)	p-Wert
Nein	919	631 (68,7)		
Hunde				
Ja	360	264 (73,3)	1,43 (1,06 – 1,92)	0,018
Nein	603	397 (65,8)		
Anzahl Hunde				
≥2	752	504 (67,0)	0,70 (0,49 – 1,00)	0,605
0-2	211	157 (74,4)		
Hühner				
Ja	40	26 (65,1)	0,84 (0,42 – 1,78)	0,605
Nein	923	635 (68,8)		
Schweine				
Ja	10	8 (80,0)	1,83 (0,36 – 17,79)	0,733
Nein	952	653 (68,6)		

1.12.3 Essverhalten Fleisch

Bei der Einzelanalyse des Fleischkonsums der Schwangeren zeigte sich, dass der Verzehr von rohem oder nicht durchgebratenem/gekochtem Rindfleisch ($p=0,020$) einen Risikofaktor darstellte. Ein mehr als zweimaliger Verzehr von Hühnerfleisch pro Woche war ebenfalls mit Seropositivität assoziiert ($p=0,003$), nicht aber der generelle Verzehr von Hühnchen und auch nicht die Art der Zubereitung. Der Verzehr anderer Fleischsorten wie Schwein und Ziege stellten kein erhöhtes Risiko dar, wobei bei diesen Variablen seltener ein häufiger Verzehr angegeben wurde und das Fleisch vorwiegend gut gebraten oder gekocht wurde. Ebenfalls ergab sich keine signifikante Assoziation zwischen dem Probieren von rohem Fleisch während des Kochens und der Seropositivität.

Tabelle 6: Assoziation des Fleischkonsums mit dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *T. gondii* in der Einzelanalyse

Variable	Anzahl n	Positiv n (%)	IgG (n=963)	
			OR (95% KI**)	p-Wert
Rindfleisch				
Ja	865	595 (68,8)	1,07 (0,66 – 1,70)	0,818
Nein	98	66 (67,3)		
Verzehr von rohem oder nicht durchgebratenem/gekochtem Rindfleisch				
Ja	98	57 (58,2)	0,59 (0,38 – 0,93)	0,020
Nein	767	538 (70,1)		
Rindfleischverzehr > 2x/Woche				
Ja	414	276 (66,7)	0,85 (0,64 – 1,13)	0,262
Nein	549	385 (70,1)		
Hühnerfleisch				
Ja	926	637 (68,8)	1,19 (0,55 – 2,48)	0,593
Nein	37	24 (64,9)		
Verzehr von rohem oder nicht durchgebratenem/gekochtem Hühnerfleisch				
Ja	15	10 (66,7)	0,91 (0,28 – 3,44)	1,0
Nein	947	650 (68,6)		
Hühnerfleischverzehr > 2x/ Woche				
Ja	508	370 (72,8)	1,52 (1,14 – 2,01)	0,003
Nein	454	290 (63,8)		

Tabelle 6; Fortsetzung

Variable	Anzahl n	IgG (n=963)		
		Positiv n (%)	OR (95% KI**)	p-Wert
Schweinefleisch				
Ja	290	196 (67,6)	0,93 (0,69 – 1,27)	0,650
Nein	673	465 (69,1)		
Verzehr von rohem oder nicht durchgebratenem/gekochtem Schweinefleisch				
Ja	5	4 (80,0)	1,83 (0,18 – 90,67)	1,0
Nein	957	656 (68,6)		
Schweinefleischverzehr >2x/ Woche				
Ja	20	16 (80,0)	1,84 (0,59 – 7,66)	0,336
Nein	943	645 (66,4)		
Ziegenfleisch				
Ja	208	142 (68,3)	0,98 (0,70 – 1,38)	0,933
Nein	755	519 (68,7)		
Verzehr von rohem oder nicht durchgebratenem/gekochtem Ziegenfleisch				
Ja	4	3 (75,0)	1,37 (0,11 – 74,27)	1,0
Nein	959	658 (68,6)		
Ziegenfleischverzehr > 2x/ Woche				
Ja	8	6 (75,0)	1,37 (0,24 – 14,00)	1,0
Nein	955	655 (68,6)		

Tabelle 6; Fortsetzung

Variable	Anzahl n	IgG (n=963)		
		Positiv n (%)	OR (95% KI**)	p-Wert
Probieren von Fleisch während des Kochens				
Ja	346	242 (69,9)	1,10 (0,82 – 1,49)	0,515
Nein	615	417 (67,8)		

1.12.4 Sonstiges Ess- und Trinkverhalten

Der Zusammenhang zwischen Seropositivität für *T. gondii* und anderen Faktoren des Ess- und Trinkverhaltens ist in Tab. 7 dargestellt. Der Verzehr von Wasserfruchteis „Dimdim“ ($p=0,009$) und häufiger Milchkonsum ($p=0,001$) wurden signifikant häufiger von seropositiven als seronegativen Schwangeren berichtet. Der grundsätzliche Konsum von Milch ($p=0,056$) war hingegen nicht signifikant mit einer erhöhten Seropositivität assoziiert. Die Zubereitung von Milch aus Milchpulver ($p=0,04$) stellte in der Einzelanalyse einen signifikanten Risikofaktor dar, die Art der Zubereitung aber nicht. Die Variablen Eier, deren Zubereitung und häufiger Verzehr stellten keine Risikofaktoren dar, so auch das Essen von Käse und Milcheis nicht.

Dem Essen von rohem Gemüse konnte kein signifikant erhöhtes Risiko für eine Infektion mit *T. gondii* zugeschrieben werden, wohl aber der Zubereitung des Gemüses vor Verzehr ($p=0,017$). Das Waschen von Gemüse mit unbehandeltem Wasser fand sich ebenfalls signifikant häufiger bei seropositiven als bei seronegativen Schwangeren. Ein erhöhtes Risiko für eine Seropositivität konnte ebenfalls beim Trinken von unbehandeltem gegenüber behandeltem Wasser festgestellt werden.

Tabelle 7: Assoziation von Sonstigem Ess- und Trinkverhalten mit dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *T. gondii* in der Einzelanalyse

Variable	Anzahl n	IgG (n=963)		
		Positiv n (%)	OR (95% KI**)	p-Wert
Eier				
Ja	916	632 (69,0)	1,38 (0,71 – 2,62)	0,333
Nein	47	29 (61,7)		
Verzehr von rohen oder ungenügend gebraten/gekocht Eiern				
Ja	6	5 (83,3)	2,29 (0,25 – 108,48)	0,672
Nein	956	656 (68,6)		
Eierverzehr >2x/ Woche				
Ja	462	324 (70,1)	1,13 (0,85 – 1,51)	0,362
Nein	500	337 (67,4)		
Milch				
Ja	813	548 (67,4)	0,68 (0,44 – 1,023)	0,056
Nein	150	113 (75,3)		
Pulvermilch				
Ja	631	419 (66,4)	0,73 (0,54 - 0,99)	0,04
Nein	330	241 (73,0)		
Zubereitung Pulvermilch/ Wasser behandelt				
Nein	69	51 (73,9)	1,32 (0,74 – 2,44)	0,35
Ja	882	602 (68,3)		

Tabelle 7; Fortsetzung

Variable	Anzahl n	IgG (n=963)		
		Positiv n (%)	OR (95% KI**)	p-Wert
Milchverzehr >2x/ Woche				
Ja	613	400 (65,3)	0,62 (0,42 – 0,84)	0,001
Nein	344	259 (75,3)		
Käse				
Ja	750	513 (68,0)	0,95 (0,67 – 1,33)	0,802
Nein	213	148 (69,5)		
Käseverzehr >2x/ Woche				
Ja	220	142 (64,5)	0,78 (0,57 – 1,10)	0,138
Nein	743	519 (69,9)		
Milcheis				
Ja	767	520 (67,8)	0,82 (0,57 – 1,17)	0,301
Nein	196	141 (71,9)		
Milcheisverzehr >2x/ Woche				
Ja	188	134 (71,3)	1,24 (0,85 – 1,82)	0,281
Nein	579	386 (66,7)		
Dimdim°/Wasserfruchteis				
Ja	632	452 (71,5)	1,46 (1,09 – 1,96)	0,009
Nein	331	209 (63,1)		
Dimdim/Wasserfruchteisverzehr > 2x/ Woche				
Ja	312	221 (70,8)	1,16 (0,86 – 1,59)	0,3
Nein	649	438 (67,5)		

Tabelle 7; Fortsetzung

Variable	Anzahl n	IgG (n=963)		
		Positiv n (%)	OR (95% KI**)	p-Wert
Rohes Gemüse				
Ja	751	518 (69,0)	1,07 (0,76 – 1,50)	0,676
Nein	212	143 (67,5)		
Zubereitung: Waschen Gemüse vor Verzehr				
Wasser behandelt				
Nein	349	256 (73,4)	1,42 (1,06 – 1,92)	0,017
Ja	604	398 (65,9)		
Gemüseverzehr >2x/ Woche				
Ja	480	318 (66,3)	0,81 (0,61 – 1,07)	0,144
Nein	476	337 (70,8)		
Trinkwasser behandelt				
Nein	196	145 (74,0)	1,38 (0,96 – 2,00)	0,084
Ja	765	515 (67,3)		

- ° „Dimdim“ ist der Name eines populären selbstgemachten Eises, das aus Wasser, Früchten, und Zucker hergestellt und in Plastiktütchen tiefgefroren zum Verkauf angeboten wird

1.12.5 Multivariatenanalyse der Risikofaktoren für Seropositivität

In der multivariaten logistischen Regression wurden alle Risikofaktoren mit einem p-Wert von $\leq 0,3$ eingeschlossen. Da sich das Alter in epidemiologischen Studien häufig als „Confounder“ herausstellt, wurde bei der multivariaten Analyse eine Adjustierung nach Alter vorgenommen. Insbesondere Risikofaktoren aus den Bereichen Essgewohnheiten, Umweltfaktoren und sozioökonomischen Faktoren erzielten eine signifikante Assoziation mit Seropositivität. So war der Verzehr von rohem oder ungebratenem/gekochtem Rindfleisch signifikant häufiger bei seropositiven als bei seronegativen Schwangeren nachweisbar. Der Verzehr des Wasserfruchteises

„Dimdim“ wurde ebenfalls signifikant häufiger bei seropositiven als bei seronegativen Schwangeren beobachtet.

Auch das Trinken von Milch und der mehr als zweimalige Verzehr von Hühnerfleisch pro Woche wurde signifikant häufiger von seropositiven als von seronegativen Schwangeren berichtet.

Bei den sozioökonomischen Faktoren war ein Monatseinkommen von $\leq 1\text{ML}$ signifikant mit dem Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *T. gondii* verbunden. Zusammenfassend weisen die erhobenen Befunde der multivariaten Analyse auf die Assoziation der Seropositivität mit einem niedrigen sozioökonomischen Niveau, dem Verzehr von mit unbehandeltem Wasser hergestellten Nahrungsmitteln und dem Verzehr von ungenügend gekochtem oder rohem Fleisch hin. Demgegenüber scheint Katzenkontakt in dieser Population kein signifikantes Risiko für Seropositivität darzustellen.

Tabelle 8: Multivariate logistische Regression für die Assoziation der Risikofaktoren mit Toxoplasmose (IgG), Adjustierung nach Alter

Variable	OR (95% KI**)	p-Wert
Verzehr von rohem oder nicht		
durchgebratenem/gekochtem Rindfleisch	1,92 (1,22 – 3,03)	0,005
Milchverzehr >2x/Woche	1,54 (1,11 – 2,13)	0,009
Verzehr von Dimdim	1,49 (1,09 – 2,04)	0,01
Verzehr von Hühnerfleisch >2x/Woche	1,49 (1,12 – 2,00)	0,007
Hundebesitz	1,46 (1,07 – 1,98)	0,02
Gemüseverzehr bei Waschen mit nicht		
behandeltem Wasser	1,43 (1,05 – 1,94)	0,03
Monatseinkommen $\leq 1\text{ML}$*	1,40 (1,02 – 1,90)	0,04

* ML = Mindestlohn = 260 Reais = 80 Euro

1.13 Risikofaktoren-Analyse der Schwangeren mit anti-*T. gondii*-IgM-Antikörpern

Die Untersuchung auf anti-*T. gondii*-IgM-Antikörper ergab nur bei fünf Schwangeren einen positiven Befund. Bei diesen Schwangeren ist somit eine akute Infektion nicht auszuschließen. Aufgrund der geringen Fallzahl konnte bei keiner der im Fragebogen aufgelisteten Variablen eine Signifikanz bei IgM-Positivität gegen *T. gondii* nachgewiesen werden. Die Einzelanalyse ergab jedoch, dass diese fünf Schwangeren ≤ 25 Jahre alt waren und in Häusern mit Sand- oder Erdboden lebten. Alle 5 Schwangeren berichteten über den regelmäßigen Verzehr von Rind-, Hühnchen-, und Ziegenfleisch. Milch wurde von vier der fünf Schwangeren $>2x$ pro Woche konsumiert; die Milch wurde aus Pulvermilch und Wasser hergestellt. Der Verzehr von rohem Gemüse wurde bei vier Frauen angegeben. Auffällig war, dass alle fünf Frauen den Konsum des Wasserfruchteises „Dimdim“ angaben.

1.14 Prävalenz von IgG und IgM bei Neugeborenen

Von den fünf Neugeborenen, deren Mütter IgM-Antikörper aufwiesen, konnten nur drei serologisch untersucht werden. Bei keinem der Neugeborenen wurden spezifische IgM-Antikörper im Serum nachgewiesen. Zwei der Neugeborenen, bei denen das Blut zum Zeitpunkt der Geburt aus der Nabelschnur entnommen wurde, wiesen keine IgM-Antikörper auf. Von drei Neugeborenen, bei denen zum Geburtszeitpunkt keine Serumproben gewonnen werden konnten, wurde in einem Fall nach der Entlassung ambulant Blut entnommen. IgM-Antikörper gegen *T. gondii* waren nicht nachweisbar. Die Mutter eines der Neugeborenen stimmte einer Untersuchung nicht zu, eine weitere Mutter war unter der von ihr angegebenen Adresse nicht erreichbar.

4. Diskussion

1.15 Wie hoch ist die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* bei schwangeren Frauen in der geburtshilflichen Universitätsklinik „Maternidade Escola“ in Fortaleza im Nordosten von Brasilien?

Die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* wird auf ein Drittel der Menschheit geschätzt, wobei es große geographische Unterschiede gibt [23]. Gemeinsam ist allen Regionen, dass die Seroprävalenz von *T. gondii* mit steigendem Alter zunimmt und dass es keine Unterschiede in der Geschlechterverteilung gibt.

Brasilien weist weltweit eine der höchsten Seroprävalenzen für *T. gondii* auf. Auch die Prävalenz in der vorliegenden Studie lag bei schwangeren Frauen in Fortaleza bei 68,6%. Sowohl im Nordosten (Cascavel: 70% [6], Fortaleza: 71,5% [5], Recife: 51,6 % [4]), als auch im Süden des Landes (Porto Alegre: 59,8% [10], Süd- Brasilien: 71,5% [3], Landbevölkerung Paraná: 77% [8], Sao Paulo: 70% [7]) finden sich trotz unterschiedlicher klimatischer Bedingungen ähnliche Prävalenzen. Auch im Zentrum des Landes (Goiana: 65,8% [11], - Rondonia Allgemeinbevölkerung: 73% [12]) und bei der indianischen Bevölkerung unterscheiden sich diese Angaben nur wenig (Mato Grosso: 60,4% [56], und 80,4% [55]). Zwei brasilianische Studien konnten die Abhängigkeit der Prävalenz vom sozioökonomischen Status aufzeigen. 84% der Allgemeinbevölkerung Rio de Janeiro´s mit niedrigem sozioökonomischen Status, 62% der Bevölkerung mit mittlerem sozioökonomischen Status und nur 23% der Bevölkerung mit hohem sozioökonomischen Status waren seropositiv [9]. Weitere Hinweise sind, dass sich in öffentlichen Krankenhäusern mit 57,6% höhere Seroprävalenzen als in Privatkliniken (41,9%), die üblicherweise von der bessergestellten Schicht der Gesellschaft aufgesucht werden, finden [116].

Die Schwangeren, die in der vorliegenden Arbeit im staatlichen Universitätskrankenhaus behandelt wurden, entstammten ebenfalls sozial schwächeren Schichten der Bevölkerung mit einem geringen monatlichen Einkommen und einfachen Lebensverhältnissen, so dass die hohe Seroprävalenz den Erwartungen entsprach. Somit kann postuliert werden, dass sich in der untersuchten Population eine hohe Zahl von immunen Schwangeren findet. Die hohe Zahl von immunen Schwangeren weist auf

eine weite Verbreitung der Erreger in der Umwelt oder Nahrung hin, die Infektion scheint allerdings vorwiegend im Kindes- oder Jugendalter stattzufinden.

1.16 Welche Risikofaktoren bestehen für eine Infektion *T. gondii*?

Da sporulierte Oozysten sehr umweltresistent sind, können sie für lange Zeit im Erdboden oder auch im Wasser infektiös bleiben [1, 117]. Die Kontamination von Erdboden und Wasser durch Oozysten wird als ein wichtiger Risikofaktoren für eine Infektion mit *T. gondii* angesehen [30, 64, 65, 71, 74, 119, 120].

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie ergaben, dass interessanterweise auch der Verzehr von „Dimdim, einem Speiseeis, das semikommerziell aus Wasser, Früchten und Zucker hergestellt, in kleine Plastiktütchen gepackt und tiefgefroren wird, signifikant mit Seropositivität assoziiert war. Drei brasilianische Studien belegten bereits einen Zusammenhang zwischen dem Verzehr von „Dimdim“ und der Seroprävalenz von *T. gondii*. Unsere Arbeitsgruppe konnte in einer ländlichen Region ca. 40 km südöstlich von Fortaleza kürzlich bei schwangeren Frauen ebenfalls „Dimdim“ als signifikanten Risikofaktor für die Infektion mit *T. gondii* identifizieren [6]. Auch im Rahmen eines Toxoplasmosen-Ausbruchs in Paraná im Süden Brasiliens konnte sowohl kontaminiertes Trinkwasser als auch der Verzehr von Speiseeis, das zum Zeitpunkt des Ausbruchs aus Wasser hergestellt wurde, mit Seroprävalenz für *T. gondii* assoziiert werden [120]. Schließlich stellte sich auch in Rio de Janeiro das Trinken von ungefiltertem Wasser und der Verzehr von in Plastikbeuteln verpacktem Speiseeis als signifikantes Risiko für eine Infektion mit *T. gondii* heraus [9]. Interessanterweise war in unserer Studie das alleinige Trinken von nicht behandeltem Wasser nur in der Einzel-, nicht aber in der Multivariatenanalyse mit einem erhöhten Risiko für Seropositivität assoziiert, so dass die Herstellung von „Dimdim“ mit unbehandeltem Wasser die Assoziation mit Seropositivität erklären könnte. In Fortaleza wird Trinkwasser zu Teilen von der städtischen Wasserversorgung bezogen oder in Kombination mit Wasser aus tiefen Brunnen in die Haushalte eingespeist. Als Reservoir werden häufig Tanks benutzt. In einigen Gegenden, in den die Haushalte kein fließendes Wasser erhalten, werden ebenfalls Tanks und mit Wasser gefüllte Tonnen aufgestellt, aus denen dann die Allgemeinbevölkerung das Wasser bezieht. Da die Tonnen der unmittelbaren Umwelt

ausgesetzt sind, könnten von Katzen ausgeschiedene Oozysten das Wasser kontaminieren.

Weitere brasilianische und polnische Studien haben gezeigt, dass Wasser aus Brunnen oder Flüssen [12] und ungekochtes Wasser aus flachen Brunnen bei niedrigem Hygienestatus [121] signifikante Risikofaktoren für eine Infektion darstellten. Auch die Ausbrüche von Toxoplasmose in British Columbia und Indien, durch mit Oozysten kontaminiertem Wasser, weisen auf die Rolle von Oozysten bei der Infektion mit *T. gondii* hin [64, 65].

Neben der Kontamination des Wassers könnte auch mangelnde Hygiene bei der Zubereitung oder beim Verzehr des Eises zur Kontamination geführt haben. Mehrere Studien berichten darüber, dass mangelhafte Hände- oder Küchenhygiene ein signifikantes Risiko für die Infektion durch Oozysten darstellt. So konnten sowohl „schlechte Handhygiene“ als auch der „Verzehr von rohem Gemüse außerhalb des Hauses“ [72], als auch der Verzehr von ungewaschenem Gemüse und Früchten [44, 68] in europäischen Studien als Risikofaktoren identifiziert werden. Auch in brasilianischen Untersuchungen wurde ein erhöhtes Risiko für Seropositivität bei Verzehr von ungewaschenem Gemüse [69] als auch von selbst angepflanztem Gemüse [12] aufgezeigt. Die in der vorliegenden Studie identifizierten Risikofaktoren „Dimdim“ und „Gemüseverzehr mit nicht behandeltem Wasser“ könnten so auf eine nicht ausreichende Küchenhygiene zurückzuführen sein.

Es stellte sich heraus, dass auch häufiger Milchverzehr ein signifikantes Risiko für die Infektion darstellte. Die Mehrzahl der Frauen verwendete Milchpulver und Wasser zur Zubereitung der Milch. Ob es sich bei der Verwendung um behandeltes oder unbehandeltes Wasser handelte, erhöhte laut Auswertung das Risiko nicht. Eine Erklärung dafür könnte sein, dass auch behandeltes Wasser, wenn es nicht mit ausreichender Temperatur und Dauer erwärmt wird, bei Gebrauch noch mit Oozysten kontaminiert sein kann. Erst bei Erwärmung auf 60° C für mindestens eine Minute verlieren Oozysten ihre Infektiosität [122].

In der vorliegenden Studie war der Besitz von Hunden, nicht aber von Katzen signifikant mit Seropositivität assoziiert. Durch das Ausscheiden von Oozysten sind Katzen ein häufiger Überträger von *T. gondii*. Vor allem bei Katzenbesitz [32, 61, 72], aber auch bei Katzenkontakt [5, 60] wird in einigen Studien ein signifikant erhöhtes Risiko für Seroprävalenz festgestellt. Aber auch das Fehlen einer solchen Assoziation ist nicht selten [6, 71]. Daten aus Taiwan [76] und Brasilien [119] belegen, dass streunende

Katzen bei einer Durchseuchung von bis zu 87% [57, 59] ein Risiko für eine Infektion darstellen.

Der intensive Kontakt zu Hunden begünstigt vermutlich die Rolle als mechanischer Vektor der Transmission von *T. gondii* [23]. Frenkel berichtete, dass die Rate der Serokonversion bei Kindern mit Kontakt zu Hunden höher sei als die der Kinder mit Kontakt zu Katzen [123]. Die Seroprävalenz bei Hunden lag im Nordosten von Brasilien bei 45%, wobei Risikofaktoren das Alter der Hunde, das Leben mit Katzen zusammen im Haus und Straßenkontakt waren [124]. Laut einer Studie in Panama war das Verhalten von Hunden, insbesondere das „das sich in Kot Welzen oder Kotfressen“ ein Risikofaktor [63].

Eine Vielzahl von Studien identifizierte den Verzehr von rohem oder ungenügend gekochtem Fleisch als wichtigen Risikofaktor für die Infektion mit *T. gondii* [11, 29, 42, 44, 71, 73, 125]. In Europa und den USA werden Schweine, nicht aber Rinder, als größte Infektionsquelle für *T. gondii* betrachtet [126]. Obwohl Rinder im Vergleich zu anderen Nutztieren selten Zysten tragen [78, 127], stellte sich in der vorliegenden Studie der Verzehr von rohem oder ungenügend gekochtem Rindfleisch als signifikantes Risiko für die Infektion heraus. Die Seroprävalenz der Infektion bei Rindern wurde in Paraná mit 41,4% angegeben [83]. Baril et al. [72] und Cook et al. [71] identifizierten den Verzehr von rohem Rindfleisch ebenfalls als Infektionsquelle.

Noch häufiger als Rindfleisch wurde in der Bevölkerung Hühnchen gegessen. Auch der Verzehr von Hühnchenfleisch wurde in der multivariaten Analyse als signifikanter Risikofaktor für Seropositivität ermittelt. Die Prävalenz von *T. gondii* in freilebenden Hühnern liegt im Amazonasgebiet von Brasilien bei 66%. Hühner gelten, da sie vom Boden fressen, darüber hinaus als Bio-Indikatoren für das Vorkommen von Oozysten im Erdboden [81].

Eine weitere Infektionsquelle könnte in der Art der Zubereitung und des Kochens von Fleisch liegen. So zeigten mehrere Studien, dass mangelnde Hygiene im Umgang mit Fleisch, v.a. das Probieren von Fleisch während der Zubereitung [71, 125] oder ungenügendes Säubern von Messern nach Zubereitung von rohem Fleisch [68], zu einem erhöhten Risiko für eine Infektion führten. Einen signifikanten Schutz vor der Infektion wurde dem Waschen von Händen nach Zubereiten von rohem Fleisch zugeschrieben [125].

In vielen Studien wurde die Seropositivität mit steigendem Alter in Verbindung gebracht. So konnte auch in dieser Studie festgestellt werden, dass in der Einzelanalyse das zunehmende Alter signifikant mit der Infektion korreliert ist. Einige Studien aus Brasilien weisen aber auch darauf hin, dass es bereits in der Kindheit und Jugend zur Infektion kommt. In der vorliegenden Untersuchung wiesen Schwangere zwischen 12 und 15 Jahren die höchste Prävalenzrate mit 91,7% auf. Auch Rey et al. [5] fanden in Fortaleza bei Kindern im Alter von 2-9 Jahren eine Seroprävalenz von 40%, 10-19 Jahren von 60% und Schwangeren von 71,5%, deren Zunahme in den ersten zehn Lebensjahren am höchsten war. Laut einer Studie von Bahia-Oliveira wiesen im Südosten von Brasilien ca. 60% der 6-8-Jahre-alten Kinder Antikörper gegen *T. gondii* auf [25, 128]. Andere brasilianische Untersuchungen im Amazonasgebiet und im Süden des Landes geben höheres Alter als Risikofaktor für die Seropositivität an [10, 12]. Sowohl Studien aus Osteuropa [44, 45, 61, 129] als auch aus Bangladesh, Niger, Mexiko, Jordanien und den USA kamen zu demselben Ergebnis [30, 47, 52, 74, 89]. Interessanterweise waren v.a. solche Länder betroffen, bei denen ein größerer Teil der Bevölkerung einen niedrigeren sozioökonomischen Stand aufweist. Neben einem Monatseinkommens von weniger als einem Mindestlohn (ca. 80€) waren in der vorliegenden Studie auch das Wohnen in Häusern an nicht asphaltierten Straßen, Fußböden aus Erde signifikant mit Seropositivität assoziiert. Allen diesen Lebensumständen ist gemein, dass sie ein besseres Überleben von Oozysten in der Umwelt ermöglichen. Ein niedriger sozioökonomischer Status [9, 31], niedriges Bildungsniveau [11, 89, 90] und ein geringes Einkommen [11] wurden schon in früheren Studien aus Brasilien und Mexiko als Risikofaktoren identifiziert.

Es scheint, dass vor allem unter sozioökonomischen niedrigen Lebensbedingungen eine Ansteckung mit dem Erreger schon in der Kindheit und im frühen Erwachsenenalter erfolgt, was die hohe Seroprävalenz und die geringe Inzidenz der Erkrankung bei den Schwangeren erklären würde. Vor allem bei den jungen Frauen zwischen 12 und 15 Jahren war die Seroprävalenz mit 91,7% hoch. In den Altersspannen von 16-18, 19-25, 26-30, 31-44 Jahren kam es zu einem signifikanten Anstieg der Seroprävalenz von 63,5% auf 77%.

Nur bei 0,5% der Schwangeren waren gleichzeitig IgG- und IgM-Antikörper nachweisbar. Obwohl die Schwangeren mit IgG- und IgM-Nachweis aufgrund der kleinen Fallzahl nicht statistisch ausgewertet werden konnten, spiegeln das Alter,

zwischen 15 und 23 Jahre, und die Risikofaktoren die Ergebnisse in der Gesamtpopulation der IgG-positiven Schwangeren wieder.

1.17 Welche Präventionsprogramme sind geeignet, um die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* in der Region zu minimieren?

Wir errechneten eine Prävalenz der Toxoplasmose bei Schwangeren mit einem durchschnittlichen Alter von 25,2 Jahren in der MEAC von 68,6%. Viele der Infektionen haben somit schon in der Kindheit oder im jungen Erwachsenenalter stattgefunden. Die hohe Seroprävalenz bedeutet, dass die Mehrheit der Schwangeren zwar aufgrund des Antikörpernachweises als geschützt angesehen werden kann, weist aber gleichzeitig auch auf eine hohe Inzidenz der Infektion im Kindes- und Jugendlichenalter hin. Die Analyse der Risikofaktoren identifizierte vor allem Oozysten in Verbindung mit einem niedrigen sozioökonomischen Status als Hauptrisikofaktoren für eine Seropositivität. Prinzipiell können verschiedene Arten der Prävention unterschieden werden. Neben der gesundheitlichen Aufklärung durch Information kommen Screening-Verfahren bei Schwangeren und/oder Neugeborenen zum Einsatz. Welche Präventionsstrategie am besten umsetzbar ist, hängt u.a. auch von den regionalen Voraussetzungen ab. Gollub berichtete, dass gesundheitliche Aufklärung durch Ausgabe von Informationsmaterial in Polen und Kanada zu einem signifikanten Zuwachs des Wissens über Toxoplasmose und in Belgien sogar zu einer signifikanten Reduktion konnataler Toxoplasmose führten [36]. Die Serokonversionsrate sank von 1,43% bei schwangeren Frauen ohne Aufklärung in den Jahren 1979-82 auf 0,09% nach Prävention durch Gesundheitserziehung (1991-2001). Im Gegensatz dazu konnte in Frankreich trotz schriftlicher Aufklärung keine signifikante Veränderung im Risikoverhalten der Schwangeren festgestellt werden [36]. Weitere Möglichkeiten zur Vermeidung einer konnatalen Toxoplasmose sind pränatale Screening-Programme, die in Frankreich und Österreich mit Erfolg seit vielen Jahren praktiziert werden [33, 35]. Den Vorteilen, eine Toxoplasmose-Infektion der Mutter und das Risiko einer konnatalen Toxoplasmose frühzeitig zu erkennen und behandeln zu können, stehen Risiken für Schwangerschaftsabbruch durch falsch-positive Diagnostik, nicht gesicherte Effizienz der Therapiemaßnahmen und hohe Kosten entgegen [110]. In Dänemark und den Staaten New Hampshire und Massachusetts in den USA werden deshalb nicht

Schwangere, sondern alle Neugeborene auf Toxoplasmose-Antikörper untersucht [113-115]. Lebech gibt an, dass in Dänemark durch das Screenen auf Toxoplasma-spezifische IgM-Antikörper zwischen 70 und 80% der konnatalen Toxoplasmosefälle identifiziert wurden [113], auch wenn eine Minderheit von Neugeborenen durch das Fehlen von IgM-Antikörpern zum Zeitpunkt der Geburt nicht erfasst wurde [99]. Dieses Vorgehen wird auch in einer Studie von Gomez-Marin für Kolumbien propagiert, denn so könnten mit überschaubaren Kosten viele infizierte Neugeborene rechtzeitig erkannt, therapeutisch begleitet und Folgeschäden verhindert werden, unabhängig von pränatalen Untersuchungen der Mütter in der Schwangerschaft [130]. Das Neugeborenen-Screening wurde als Modellversuch in Porto Alegre in Süd-Brasilien eingeführt und vor allem Neugeborene, deren Mütter serologisch nicht auf Toxoplasmose untersucht worden waren oder keine Antikörper aufwiesen, profitierten von diesem Vorgehen [16]. Ein Modellversuch von Neugeborenen-Screening wäre auch für die MEAC als Universitätsklinik mit guter Laboranbindung eine denkbare Option.

In Brasilien wird vom Gesundheitsministerium die serologische Testung von Schwangeren auf Toxoplasmose empfohlen. Die Umsetzung hingegen erweist sich aus verschiedenen Gründen schwierig. Außer an Universitätskliniken, wo die Toxoplasmose-serologie Teil der pränatalen Untersuchungen ist, übernimmt das PSF (programa da saude de familia), das unentgeltliche, staatlich geförderte familienorientierte Gesundheitsprogramm, die Vorsorgeuntersuchungen in der Schwangerschaft. Da oft nicht-spezialisierte Ärzte die Sprechstunden des PSF leiten und die Compliance der Schwangeren teilweise fehlt, werden häufig notwendige Laboruntersuchungen und Aufklärungsgespräche nicht durchgeführt. Eine Studie aus den USA zeigte, dass Gynäkologen die primäre Prävention kompetenter betreiben als Internisten oder Allgemeinärzte [131]. In kleineren Städten außerhalb von Fortaleza bestehen zusätzlich nur mangelhaft ausgestattete Labore. Proben müssen demnach oft in das Zentrallabor des Bundesstaates Ceará, „LACEN“, nach Fortaleza geschickt werden. Die Verzögerung der Ergebnisse kann bis zu mehreren Wochen betragen. Insofern erscheint eine Präventionsstrategie mit pränatalem Screening und Neugeborenen-Screening nur schwer umsetzbar für den Nordosten Brasiliens. Primäre Prävention in Form von Gesundheitsaufklärung verbleibt somit als die praktikabelste Lösung für die Patientenklientel der vorliegenden Studie. Aufklärungskampagnen geschulter Mitarbeiter von Krankenhäusern und des PSF sind wichtig, weil sie gezielt über Infektionsquellen aufklären können. Damit primäre Prävention Erfolg hat, muß

sichergestellt sein, dass die gesamte Bevölkerung, v.a. Frauen im gebärfähigem Alter durch akkurate, praktische, einheitliche und klar verständliche Informationen erreicht werden [109]. Eine gute Möglichkeit wäre über das staatliche Fernsehen in Form von Informationsbeiträgen gegeben. Weiterhin wäre denkbar, Informationsbroschüren und Handzettel an Schwangere zu verteilen und Schulkindern im Rahmen der Sexualkunde Risiken und schützende Präventionsmaßnahmen zu vermitteln.

Zusammenfassend konnte die vorliegende Studie durch das große Patientenkollektiv einen ersten Überblick über die Prävalenz und Risikofaktoren der Infektion mit *T. gondii* geben. Da jedoch bei der Risikoanalyse durch die geringe Inzidenzrate während der Schwangerschaft keine statistisch relevanten Ergebnisse erhoben werden konnten, konnten nur IgG- positive Schwangere mit längerer zurückliegendem Infektionszeitpunkt ausgewertet werden. Hieraus ergibt sich bei der Interpretation der Risikofaktoren ein Problem im Hinblick auf die direkte zeitliche und kausale Korrelation eines Risikofaktors mit der Infektion.

5. Zusammenfassung

Die Infektion mit dem Protozoon *T. gondii* in der Schwangerschaft kann zu einer konnatalen Toxoplasmose mit schweren Schäden, v.a. im ZNS und Auge des Neugeborenen führen. Bekannte Risikofaktoren sind mit Oozysten kontaminierte Lebensmittel, oder Wasser und Erdboden, sowie der Konsum von zystenhaltigem rohem oder ungenügend gekochtem Fleisch. Durch gesundheitliche Aufklärung über Infektionsquellen kann primäre Prävention betrieben werden. Um geeignete Präventionsstrategien zu entwickeln, sind jedoch Kenntnisse über Prävalenz und Risikofaktoren der Infektion erforderlich.

In der vorliegenden Studie wurden Schwangere und Neugeborene einer geburtshilflichen Universitätsklinik in Nordost-Brasilien auf das Vorhandensein von IgG- und IgM-Antikörpern gegen *T. gondii* untersucht. Risikofaktoren wurden anhand eines standardisierten Fragebogens ermittelt. Die Prävalenz betrug 68,6% und stieg mit dem Alter signifikant an. IgM-Antikörper waren bei 0,5% der Schwangeren nachweisbar.

Signifikant mit erhöhten Risiken für eine Infektion assoziiert waren sozioökonomische Faktoren wie geringes Monatseinkommen und Faktoren, die auf eine Kontamination der Umwelt mit Oozysten hinweisen. Hauptrisiken stellten Nahrungsmittel, die mit unbehandeltem Wasser hergestellt wurden und Hundebesitz dar. Aber auch die zystenbedingte Transmission durch Verzehr von rohem oder nicht durchgekochtem Fleisch war signifikant mit einer Infektion assoziiert.

Mit dem Wissen um die hohen Prävalenzen und die große Infektionsgefahr in unserem Studiengebiet, sollten Präventionsmaßnahmen wie Aufklärung, Schutz vor Infektionsquellen vermitteln oder aber ein Screening von Müttern und/oder Neugeborenen entwickelt und umgesetzt werden.

6. Summary

Infection with the protozoon *T. gondii* in pregnancy may lead to intrauterine death and congenital toxoplasmosis with a wide spectrum of clinical diseases occurring in the infected newborn. Most frequent are cerebral sequelae and ocular disease. Known risk factors are food, water and soil contaminated with oocysts as well as the consumption of raw or undercooked meat containing tissue cysts. Primary prevention measures can be carried out in terms of health education about common sources of infection. In order to develop community based preventiv strategies the knowledge of prevalence and risk factors is crucial.

In the present study pregnant women and their newborns from a maternity university hospital in north-east Brazil were tested for IgG- and IgM- antibodies against *T. gondii*. Risk factors were assessed with the help of a standardized questionnaire. The prevalence was found to be 68,6% and increased significantly with age. IgM- antibodies were detectable in 0,5% of the pregnant women.

Increased risk of infection with *T. gondii* was significant associated with socio- economic factors like low monthly income and factors that indicate enviromental contamination with oocysts such as food preparation with untreated water and ownership of dogs. Also ingestion of raw or undercooked meat containing tissue cysts was significant associated with infection.

The knowledge of the high prevalence rate detected in this study as well as the risk factors found to be of mayer importance in our study area should facilitate the implementation of primary and secondary prevention measures such as education about sources of infection or the screening of mothers and/ or newborns, respectively, thus helping to reduce the overall toxoplasmosis infection rate.

7. Literaturverzeichnis

1. Dubey, J.P., Beattie, C.P, *Toxoplasmosis of animals and man*. ed. Florida: CRC Press., 1988.
2. Hall, S., Ryan, M., Buxton, D. in *The epidemiology of toxoplasma infection in Toxoplasmosis*. In Joynson, D.H.M., Wreghitt, T.G., Toxoplasmosis, Cambridge University Press, 2001. p. 58-124.
3. Spalding, S.M., Amendoiera, M.R., Klein, C.H., Ribeiro, L.C., *Serological screening and toxoplasmosis exposures factors among pregnant women in South of Brazil*. Rev Soc Bras Med Trop, 2005. **38**(2): p. 137-7.
4. Coelho, R.A., Kobayashi, M., Carvalho, L.B. Jr, *Prevalence of IgG antibodies specific to Toxoplasma gondii among blood donors in Recife, Northeast Brazil*. Med Trop Sao Paulo, 2003. **45**(4): p. 229-31.
5. Rey, L.C. and I.L. Ramalho, *Seroprevalence of toxoplasmosis in fortaleza, Ceara, brazil*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1999. **41**(3): p. 171-4.
6. Heukelbach, J., et al., *Waterborne toxoplasmosis, northeastern Brazil*. Emerg Infect Dis, 2007. **13**(2): p. 287-9.
7. Guimaraes, A.C., et al., *Regional variation in toxoplasmosis seronegativity in the Sao Paulo metropolitan region*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1993. **35**(6): p. 479-83.
8. Garcia, J.L., et al., *[Seroprevalence, epidemiology and ocular evaluation of human toxoplasmosis in the rural zone Jauguapita (Parana) Brazil]*. Rev Panam Salud Publica, 1999. **6**(3): p. 157-63.
9. Bahia-Oliveira, L.M., et al., *Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil*. Emerg Infect Dis, 2003. **9**(1): p. 55-62.
10. Varella, I.S., Wagner, M.B., et al, *Seroprevalence of toxoplasmosis in pregnant women*. J de Pediatria, 2003. **79**(1): p. 69-74.
11. Avelino, M.M., et al., *Risk factors for Toxoplasma gondii infection in women of childbearing age*. Braz J Infect Dis, 2004. **8**(2): p. 164-74.
12. Cavalcante, G.T., et al., *Seroprevalence of Toxoplasma gondii antibodies in humans from rural Western Amazon, Brazil*. J Parasitol, 2006. **92**(3): p. 647-9.

13. Neto, E.C., et al., *High prevalence of congenital toxoplasmosis in Brazil estimated in a 3-year prospective neonatal screening study*. Int J Epidemiol, 2000. **29**(5): p. 941-7.
14. Carvalheiro, C.G., et al., *Incidence of congenital toxoplasmosis estimated by neonatal screening: relevance of diagnostic confirmation in asymptomatic newborn infants*. Epidemiol Infect, 2005. **133**(3): p. 485-91.
15. Neto, E.C., et al., *Newborn screening for congenital infectious diseases*. Emerg Infect Dis, 2004. **10**(6): p. 1068-73.
16. Lago, E.G., et al., *Congenital toxoplasmosis: late pregnancy infections detected by neonatal screening and maternal serological testing at delivery*. Paediatr Perinat Epidemiol, 2007. **21**(6): p. 525-31.
17. Mozzatto, L. and R.S. Procianoy, *Incidence of congenital toxoplasmosis in southern Brazil: a prospective study*. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2003. **45**(3): p. 147-51.
18. Montoya, J.G. and O. Liesenfeld, *Toxoplasmosis*. Lancet, 2004. **363**(9425): p. 1965-76.
19. Remington, J., McLeod, R., Thulliez, P., Desmonts, G., *Toxoplasmosi*. In Remington, J., Klein, J.O., editors. Infectious diseases of the fetus and newborn Infant, 5th Edition Philadelphia: W.B. Saunders, 2001. p. 205-346.
20. Thulliez, P.D.O., *Maternal and foetal infection*. In Joynson, D.H.M., Wreghitt, T.G Toxoplasmosis, Cambridge University Press, 2001. p 193-213.
21. Dubey, J.P., N.L. Miller, and J.K. Frenkel, *The Toxoplasma gondii oocyst from cat feces*. J Exp Med, 1970. **132**(4): p. 636-62.
22. Dubey, J.P., D.S. Lindsay, and C.A. Speer, *Structures of Toxoplasma gondii tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts*. Clin Microbiol Rev, 1998. **11**(2): p. 267-99.
23. Tenter, A.M., A.R. Heckeroth, and L.M. Weiss, *Toxoplasma gondii: from animals to humans*. Int J Parasitol, 2000. **30**(12-13): p. 1217-58.
24. Lopez, A., et al., *Preventing congenital toxoplasmosis*. MMWR Recomm Rep, 2000. **49**(RR-2): p. 59-68.
25. Hill, D. and J.P. Dubey, *Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention*. Clin Microbiol Infect, 2002. **8**(10): p. 634-40.

26. Stray-Pedersen, B., Lorentzen- Styr A.M., *The prevalence of toxoplasma antibodies among 11,736 pregnant women in Norway*. Scand J Infect Dis, 1979. **11**(2): p. 159-65.
27. Jenum, P.A., et al., *Prevalence of Toxoplasma gondii specific immunoglobulin G antibodies among pregnant women in Norway*. Epidemiol Infect, 1998. **120**(1): p. 87-92.
28. Petersson, K., Stray- Pedersen, B., Malm G., Forsgren M., Evengard, B., *Seroprevalence of Toxoplasma gondii among pregnant women in Sweden*. Acta Obstet Gynecol Scand., 2000. **79**(10): p. 824-9.
29. Bobic, B., A. Nikolic, and O. Djurkovic-Djakovic, *[Identification of risk factors for infection with Toxoplasma gondii in Serbia as a basis of a program for prevention of congenital toxoplasmosis]*. Srp Arh Celok Lek, 2003. **131**(3-4): p. 162-7.
30. Jones, J., Kruszon- Moran, D., *Toxoplasma gondii Infection in the United States: Seroprevalence and Risk Factors*. American J Epidemiology, 2001. **154**(4): p. 357-365.
31. Velasco-Castrejon, O., et al., *[Seroepidemiology of toxoplasmosis in Mexico]*. Salud Publica Mex, 1992. **34**(2): p. 222-9.
32. Barbier, D., Ancelle, T., Martin- Bouyer, G., *Seroepidemiological survey of toxoplasmosis in La Guadeloupe, French West Indies*. Am J Trop Med Hyg, 1983. **32**(5): p. 935-42.
33. Jeannel, D., et al., *Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant women in the Paris area*. Int J Epidemiol., 1988. **17**(3): p. 595-602.
34. Nowakowska, D., et al., *Prevalence and estimated incidence of Toxoplasma infection among pregnant women in Poland: a decreasing trend in the younger population*. Clin Microbiol Infect, 2006. **12**(9): p. 913-7.
35. Thulliez, P., *Screening programme for congenital toxoplasmosis in France*. Scand J Infect Dis Suppl, 1992. **84**: p. 43-5.
36. Gollub, E.L., et al., *Effectiveness of health education on Toxoplasma-related knowledge, behaviour, and risk of seroconversion in pregnancy*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2007.
37. Jones, J.L., Kruszon-Moran, D., Sanders-Lewis, K., Wilson, M., *Toxoplasma gondii infection in the United States, decline from the prior decade*. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2007. **77**: p. 405-10.

38. Birgisdottir, A., et al., *Seroprevalence of Toxoplasma gondii in Sweden, Estonia and Iceland*. Scand J Infect Dis, 2006. **38**(8): p. 625-31.
39. Nash, J.Q., et al., *Risk factors for toxoplasmosis in pregnant women in Kent, United Kingdom*. Epidemiol Infect, 2005. **133**(3): p. 475-83.
40. Jenum, P.A., et al., *Incidence of Toxoplasma gondii Infection in 35.940 pregnant women in Norway and Pregnancy Outcome for Infected Women*. J Clin Microbiol, 1998(36): p. 10.
41. Diza, E., et al., *Seroprevalence of Toxoplasma gondii in northern Greece during the last 20 years*. Clin Microbiol Infect, 2005. **11**(9): p. 719-23.
42. Buffolano, W., et al., *Risk factors for recent toxoplasma infection in pregnant women in Naples*. Epidemiol Infect, 1996. **116**(3): p. 347-51.
43. RKL, R.-K.-I., *Toxoplasmoze*. Epidemiologisches Bulletin, 2007. **42**: p. 390-394.
44. Studenicova, C., G. Bencaiova, and R. Holkova, *Seroprevalence of Toxoplasma gondii antibodies in a healthy population from Slovakia*. Eur J Intern Med, 2006. **17**(7): p. 470-3.
45. Bobic, B., et al., *Risk factors for Toxoplasma infection in a reproductive age female population in the area of Belgrade, Yugoslavia*. Eur J Epidemiol, 1998. **14**(6): p. 605-10.
46. Sukthana, Y., et al., *Toxoplasma gondii antibody in Thai cats and their owners*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2003. **34**(4): p. 733-8.
47. Ashrafunnessa, K., S., Islam, M.N., Hug, T., *Seroprevalence of toxoplasma antibodies among the antenatal population in Bangladesh*. J Obstetrics and Gynaecology Res, 1998. **24**(2): p. 115-9.
48. Singh, S. and A.J. Pandit, *Incidence and prevalence of toxoplasmosis in Indian pregnant women: a prospective study*. Am J Reprod Immunol, 2004. **52**(4): p. 276-83.
49. Rai, S.K., et al., *Seroepidemiological study of Toxoplasma infection in central and western regions in Nepal*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 1996. **27**(3): p. 548-53.
50. Akoijam, B.S., et al., *Seroprevalence of toxoplasma infection among primigravid women attending antenatal clinic at a secondary level hospital in North India*. J Indian Med Assoc, 2002. **100**(10): p. 591-2, 594-6, 602.
51. Song, K.J., et al., *Seroprevalence of toxoplasmosis in Korean pregnant women*. Korean J Parasitol, 2005. **43**(2): p. 69-71.

52. Julvez, J.e.a., *Seroepidemiology of toxoplasmosis in Niamey, Niger*. *Med Trop*, 1996. **56**(1): p. 48-50.
53. Elnahas, A., et al., *Toxoplasmosis in pregnant Sudanese women*. *Saudi Med J*, 2003. **24**(8): p. 868-70.
54. Doehring, E., et al., *Toxoplasma gondii antibodies in pregnant women and their newborns in Dar es Salaam, Tanzania*. *Am J Trop Med Hyg*, 1995. **52**(6): p. 546-8.
55. Amendoeira, M.R., et al., *[Serological survey of Toxoplasma gondii infection in isolated Amerindians, Mato Grosso]*. *Rev Soc Bras Med Trop*, 2003. **36**(6): p. 671-6.
56. Sobral, C.A., et al., *Seroprevalence of infection with Toxoplasma gondii in indigenous Brazilian populations*. *Am J Trop Med Hyg*, 2005. **72**(1): p. 37-41.
57. Meireles, L.R., et al., *Toxoplasma gondii spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs*. *Trop Med Int Health*, 2004. **9**(8): p. 876-81.
58. Dubey, J.P., et al., *Toxoplasma gondii infections in cats from Parana, Brazil: seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic characterization of isolates*. *J Parasitol*, 2004. **90**(4): p. 721-6.
59. Cavalcante, G.T., et al., *Seroprevalence of Toxoplasma gondii antibodies in cats and pigs from rural Western Amazon, Brazil*. *J Parasitol*, 2006. **92**(4): p. 863-4.
60. Lopez-Castillo, C.A., J. Diaz-Ramirez, and J.E. Gomez-Marin, *[Risk factors for Toxoplasma gondii infection in pregnant women in Armenia, Colombia]*. *Rev Salud Publica (Bogota)*, 2005. **7**(2): p. 180-90.
61. Kolbekova, P., et al., *New and old risk-factors for Toxoplasma gondii infection: prospective cross-sectional study among military personnel in the Czech Republic*. *Clin Microbiol Infect*, 2007. **13**(10): p. 1012-7.
62. Dubey, J.P., *Toxoplasmosis - a waterborne zoonosis*. *Vet Parasitol*, 2004. **126**(1-2): p. 57-72.
63. Etheredge, G.D., et al., *The roles of cats and dogs in the transmission of Toxoplasma infection in Kuna and Embera children in eastern Panama*. *Rev Panam Salud Publica*, 2004. **16**(3): p. 176-86.
64. Bowie, W.R., et al., *Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team*. *Lancet*, 1997. **350**(9072): p. 173-7.

65. Palanisamy, M., et al., *Outbreak of ocular toxoplasmosis in Coimbatore, India*. Indian J Ophthalmol, 2006. **54**(2): p. 129-31.
66. Aramini, J.J., et al., *Potential contamination of drinking water with Toxoplasma gondii oocysts*. Epidemiol Infect, 1999. **122**(2): p. 305-15.
67. Kniel, K.E., Lindsay, D.S., Sumner, S.S., Hackney, C.R., Pierson, M.D., Dubey, J.P., *Examination of attachment and survival of Toxoplasma gondii oocysts on raspberries and blueberries*. J. Parasitol., 2002. **88**: p. 790-93.
68. Kapperud, G.e.a., *Risk Factors for Toxoplasma gondii Infection in Pregnancy*. American J Epidemiology, 1996. **144**(4): p. 405-412.
69. Hung, C.C., et al., *Serological screening and toxoplasmosis exposure factors among pregnant women in the Democratic Republic of Sao Tome and Principe*. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2007. **101**(2): p. 134-9.
70. Jones, J.L., et al., *Recently acquired Toxoplasma gondii infection, Brazil*. Emerg Infect Dis, 2006. **12**(4): p. 582-7.
71. Cook, A.J., et al., *Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study*. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. Bmj, 2000. **321**(7254): p. 142-7.
72. Baril, L.e.a., *Risk Factors for Toxoplasma Infection in Pregnancy: A Case-Control Study in France*. Scand J Infection Disease, 1999. **31**: p. 305-309.
73. Tekay, F. and E. Ozbek, *[The seroprevalence of Toxoplasma gondii in women from Sanliurfa, a province with a high raw meatball consumption]*. Turkiye Parazitol Derg, 2007. **31**(3): p. 176-9.
74. Jumaian, N.F., *Seroprevalence and risk factors for Toxoplasma infection in pregnant women in Jordan*. East Mediterr Health J, 2005. **11**(1-2): p. 45-51.
75. Choi, W.Y., et al., *Foodborne outbreaks of human toxoplasmosis*. J Infect Dis, 1997. **175**(5): p. 1280-2.
76. Fan, C.K., et al., *Toxoplasma gondii Infection: Relationship between Seroprevalence and Risk Factors among Inhabitants in Two Offshore Islands from Taiwan*. Acta Medica Okayama, 2001. **55**(5): p. 301-308.
77. Alvarado-Esquivel, C., et al., *Seroepidemiology of Toxoplasma gondii infection in pregnant women in a public hospital in northern Mexico*. BMC Infect Dis, 2006. **6**: p. 113.

78. Tenter, A.M.F., K., *Toxoplasmose: Eine lebensmittelübertragene Parasitose*. Bundesgesundheitsblatt- Gesundheitsforschung und Gesundheitsschutz, 2002. **45**: p. 549-555.
79. Bonametti, A.M., et al., [*Outbreak of acute toxoplasmosis transmitted thru the ingestion of ovine raw meat*]. Rev Soc Bras Med Trop, 1996. **30**(1): p. 21-5.
80. Dubey, J.P.J., J.L., *Toxoplasma gondii infection in humans and animals in the United States*. Int. Journal for Parasitology, noch im Druck: p. 1-65.
81. Dubey, J.P., et al., *Characterization of Toxoplasma gondii isolates in free-range chickens from Amazon, Brazil*. J Parasitol, 2006. **92**(1): p. 36-40.
82. Da Silva, D.S., Bahia- Oliveira, L.M.G., *Prevalence of Toxoplasma gondii in Chickens From an Area in Southern Brazil Highly Endemic to Humans*. J Parasitol, 2003. **89**(2): p. 394-396.
83. Daguer, H.e.a., *Seroprevalence of anti- Toxoplasma gondii antibodies in cattle and slaughterhouse workers in the region of Pato Branco, Paraná, Brazil*. Ciencia Rural, 2004. **34**(4): p. 1133-37.
84. Kotula, A.W., Dubey, J.P., *Effect of freezing on infectivity of Toxoplasma gondii tissue cysts in pork*. J Food Prot, 1991. **54**: p. 687-90.
85. Dubey, J.P., et al., *Prevalence of viable Toxoplasma gondii in beef, chicken, and pork from retail meat stores in the United States: risk assessment to consumers*. J Parasitol, 2005. **91**(5): p. 1082-93.
86. Dubey, J.P., et al., *Effect of high temperature on infectivity of Toxoplasma gondii tissue cysts in pork*. J Parasitol, 1990. **76**(2): p. 201-4.
87. Sacks, J.J., et al., *Toxoplasmosis infection associated with eating undercooked venison*. Am J Epidemiol, 1983. **118**(6): p. 832-8.
88. McDonald, J.C., et al., *An outbreak of toxoplasmosis in pregnant women in northern Quebec*. J Infect Dis, 1990. **161**(4): p. 769-74.
89. Alvarado-Esquivel, C., et al., *Seroepidemiology of infection with Toxoplasma gondii in healthy blood donors of Durango, Mexico*. BMC Infect Dis, 2007. **7**: p. 75.
90. de Amorim Garcia, C.A., et al., *Socioeconomic conditions as determining factors in the prevalence of systemic and ocular toxoplasmosis in Northeastern Brazil*. Ophthalmic Epidemiol, 2004. **11**(4): p. 301-17.
91. Ho-Yen, D.O., in Joynton, D.H.M., Wreghitt, T.G., *Toxoplasmosis*. Infection in the immunocompetent. 2001: Cambridge University Press. 125-146.

92. Montoya, J.G. and J.S. Remington, *Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis*. Clin Infect Dis, 1996. **23**(2): p. 277-82.
93. Couvreur, J., *Infections in neonates and infants*. In Joynson, D.H.M., Wreghitt, T.G. Toxoplasmosis, Cambridge University Press, 2001. p 254-276.
94. Daffos, F., Forestier, F., Capella- Pavlosky, M., Thulliez, P., Aufrant, C., Valenti, D., Cox, W.L., *Prenatal management of 746 pregnancies at risk for congenital toxoplasmosis*. N Engl J Med, 1988. **318**(5): p. 271-5.
95. Hohlfeld, P., et al., *Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reaction test on amniotic fluid*. N Engl J Med, 1994. **331**(11): p. 695-9.
96. Chatterton, J.M.W., In: Ho-Yen Do, Joss, A.W.L., editors, *Human toxoplasmosis*. Oxford University Press, 1992. p 144-83.
97. McLeod, R., Boyer, K., et al. in: Ambroise- Thomas,P., Petersen, E., editors, *Management of and outcome for the newborn infant with congenital toxoplasmosis*. In: Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control, Paris: Springer Verlag, 2000. p 189-213.
98. Minkoff, H., Remington, J.S., Holman, S., Ramirez, R., Goodwin, S., Landesman, S., *Vertical transmission of Toxoplasma by human immunodeficiency virus infected women*. Am. J. Obstet. Gynecol, 1997. **176**: p. 555-59.
99. Montoya, J.G. and F. Rosso, *Diagnosis and management of toxoplasmosis*. Clin Perinatol, 2005. **32**(3): p. 705-26.
100. Hohlfeld, P., Biedermann, K., Extermann, P., Gyr, T., *Toxoplasmosis in pregnancy: prevention, prenatal diagnosis and treatment*. Schweiz Med Wochenschr Suppl, 1995. **65**: p. 62-9.
101. De Lucena Feitosa, F.E., Studart Sampaio, Z., *Toxoplasmose*, in *Manual de tratamento de toxoplasmose*: Fortaleza. p. 1-3.
102. Decoster, A., et al., *Platelia-Toxo IgA, a new kit for early diagnosis of congenital toxoplasmosis by detection of anti-P30 immunoglobulin A antibodies*. J Clin Microbiol, 1991. **29**(10): p. 2291-5.
103. Peckham, C.S. and S. Logan, *Screening for toxoplasmosis during pregnancy*. Arch Dis Child, 1993. **68**(1 Spec No): p. 3-5.
104. Hall, S.M., *Congenital toxoplasmosis*. Bmj, 1992. **305**(6848): p. 291-7.

105. Breugelmans, M., A. Naessens, and W. Foulon, *Prevention of toxoplasmosis during pregnancy--an epidemiologic survey over 22 consecutive years*. J Perinat Med, 2004. **32**(3): p. 211-4.
106. Pawlowski, Z.S., et al., *Impact of health education on knowledge and prevention behavior for congenital toxoplasmosis: the experience in Poznan, Poland*. Health Educ Res, 2001. **16**(4): p. 493-502.
107. Carter, A.O., et al., *The effectiveness of a prenatal education programme for the prevention of congenital toxoplasmosis*. Epidemiol Infect, 1989. **103**(3): p. 539-45.
108. Wallon, M., et al., *Congenital toxoplasmosis, evaluation of the prevention policy*. Presse Med, 1994. **23**(32): p. 1467-70.
109. Newton, L.H., Hall, S.M., *A survey of health education material for the primary prevention of congenital toxoplasmosis*. Commun Dis Rep CDR Rev, 1995. **5**(2): p. R21-7.
110. Gilbert, R.E., Peckham, C.S.in Joynson, D.H.M., Wreghitt, T.G, *Prenatal screening for toxoplasma infection in Toxoplasmosis*. 2001: p. 214-240.
111. Aspöck, H. and A. Pollak, *Prevention of prenatal toxoplasmosis by serological screening of pregnant women in Austria*. Scand J Infect Dis Suppl, 1992. **84**: p. 32-7.
112. Dubey, J.P., Jones, J.L., *Toxoplasma gondii infection in humans and animals in the United States*. Int. Journal for Parasitology, noch im Druck: p. 1-65.
113. Lebech, M., et al., *Feasibility of neonatal screening for toxoplasma infection in the absence of prenatal treatment. Danish Congenital Toxoplasmosis Study Group*. Lancet, 1999. **353**(9167): p. 1834-7.
114. Jara, M., Hsu, H.W., Eaton, R.B., Demaria, A.Jr, *Epidemiology of congenital toxoplasmosis identified by population- based newborn screening in Massachusetts*. Pediatr Infect Dis, 2001. **20**(12): p. 1132-35.
115. Eaton, R.B., Lynfield, H.-W., Hsu, Grady, G.F. *Newborn screening for congenital toxoplasma infection*. In Joynson, D.H.M., Wreghitt, T.G, Toxoplasmosis. Cambridge University Press, 2001. p 241-53.
116. Rodrigues Silva Segundo, G., et al., *A Comparative Study of Congenital Toxoplasmosis between Public and Private Hospitals from Uberlandia, MG, Brazil*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004. **99**(1): p. 13-17.

117. Ambroise-Thomas, P., Petersen, E., *Congenital toxoplasmosis: scientific background, clinical management and control*. ed. B. Springer, Heidelberg, New York, Tokyo, 2000.
118. Kravetz, J.D. and D.G. Federman, *Toxoplasmosis in pregnancy*. Am J Med, 2005. **118**(3): p. 212-6.
119. Coutinho, S.G., R. Lobo, and G. Dutra, *Isolation of Toxoplasma from the soil during an outbreak of toxoplasmosis in a rural area in Brazil*. J Parasitol, 1982. **68**(5): p. 866-8.
120. de Moura, L., et al., *Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene*. Emerg Infect Dis, 2006. **12**(2): p. 326-9.
121. Sroka, J., A. Wojcik-Fatla, and J. Dutkiewicz, *Occurrence of Toxoplasma gondii in water from wells located on farms*. Ann Agric Environ Med, 2006. **13**(1): p. 169-75.
122. Dubey, J.P., *Toxoplasma gondii oocyst survival under defined temperatures*. J Parasitol, 1998. **84**(4): p. 862-5.
123. Frenkel, J.K., et al., *Transmission of Toxoplasma gondii in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of children, cats, rodents, birds, and soil*. Am J Trop Med Hyg, 1995. **53**(5): p. 458-68.
124. Azevedo, S.S., et al., *Seroepidemiology of Toxoplasma gondii and Neospora caninum in dogs from the state of Paraiba, Northeast region of Brazil*. Res Vet Sci, 2005. **79**(1): p. 51-6.
125. Paul, M., *[Potential risk factors for Toxoplasma gondii infection in cases with recently acquired toxoplasmosis]*. Przegl Epidemiol, 1998. **52**(4): p. 447-54.
126. Dubey, J.P., *Toxoplasmosis*. J Am Vet Med Assoc, 1994. **205**(11): p. 1593-8.
127. Dubey, J.P., *A review of toxoplasmosis in cattle*. Vet Parasitol, 1986. **22**(3-4): p. 177-202.
128. Bahia-Oliveira, L.M.G., Wilken de Abreu, A.M., Azevedo- Silva, J. et al., *Toxoplasmosis in southeastern Brazil: an alarming situation of highly endemic acquired and congenital infection*. Int J Parasitol, 2001. **31**: p. 133-6.
129. Ertug, S., et al., *Seroprevalence and risk factors for toxoplasma infection among pregnant women in Aydin province, Turkey*. BMC Public Health, 2005. **5**(1): p. 66.
130. Gomez-Marin, J.E. and A. delaTorre, *Positive benefit of postnatal treatment in congenital toxoplasmosis*. Arch Dis Child, 2007. **92**(1): p. 88-9.

131. Kravetz, J.D. and D.G. Federman, *Prevention of toxoplasmosis in pregnancy: knowledge of risk factors*. Infect Dis Obstet Gynecol, 2005. **13**(3): p. 161-5.

8. Anhang

1.18 Der Fragebogen auf portugiesisch

Toxoplasmose em gestantes em Fortaleza/ CE

DATA: ___/___/___

INDNUMBER:

1. Nome:
2. Data de Nascimento: ___/___/___
3. Escolaridade: (0: Analfabeto; 1: 1° grau; 2: 2° grau; 3: superior)
4. Trabalho: (0:não; 1: sim)
5. Quantas pessoas moram na sua casa?
6. Renda familiar: (1: <1/2 SM ; 2: ½-1 SM; 3: 1-2 SM; 4: 2-5 SM; 5: > 5 SM)
7. Moradia/tipo de casa: (1: taipa; 2: tijolo)
8. Tipo de piso em casa: (1: areia; 2: barro batido; 3: azulejo/cimento/cerâmica)
9. Tipo de rua: (1: areia; 2: calçada; 3: asphaltada)
10. Energia electrica: (0: não; 1: sim)
11. Abastecimento de água: (1: lago/rio; 2: poço superficial; 3: cacimba; 4. CAGECE)
12. Toma banho a onde?: (1: lago/rio; 2: cuia; 3: chuveiro)
13. Água para beber: (0: sem tratamento; 1: fervida; 2: filtro com troca regular de velas; 3: filtro; 4: água mineral)
14. Destino de dejetos: (1: mato; 2: fossa ; 3: esgoto)

Animais em casa

15. Gatos: (0: não; 1: sim; 2: contato)
 - a) se for sim, quantos:
 - b) defeca em casa: (0: não; 1: sim)
16. Cachorros: (0: não; 1: sim; 2: contato)
 - a) se for sim, quantos:
17. Galinha: (0: não; 1: sim; 2: contato)
18. Porco: (0: não; 1: sim; 2: contato)
 - a) se for sim: em pocilga (0: não; 1: sim)

19. Outros:
20. Trabalho:
- a) contato com terra: (0: não; 1: sim)
- b) contato com carne crua: (0: não; 1: sim)

Habitos alimentares

21. Ovos:
- a) consumo: (0: não; 1: sim)
- b) procedência: industrializado: (0: não; 1: sim)
- c) tipo de preparação: cru: (0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
- cozido:(0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
- frito: (0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
22. Leite:
- a) consumo:(0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
- b) procedência: industrializado: (0: não; 1: sim)
- c) se não for industrializado: ferve: (0: não; 1: sim)
- d) se for industrializado: leite em pó: (0: não; 1: sim: com água)
- e) se for com água: (0: sem tratamento; 1: fervida; 2:filtro com troca regular de velas; 3: filtro; 4: água mineral)
23. Queijo:
- a) consumo: (0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
- b) procedência: industrializado:(0: não; 1: sim)
24. Sorvete/ Picolé:
- a) consumo: (0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
- b) procedência: industrializado: (0: não; 1: sim)
25. Dimdim:
- a) consumo: (0: não; 1: sim)
- b) frequência: (< 1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))

26. Carne:
1. Gado:
 - a) consumo:(0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
 - b) procedência: industrializado: (0: não; 1: sim)
 - c) tipo de preparação: (1: crua; 2: mal passada; 3: bem passada)
 2. Frango:
 - a) consumo:(0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
 - b) procedência: industrializado:(0: não; 1: sim)
 - c) tipo de preparação: (1: crua; 2: mal passada; 3: bem passada)
 3. Porco:
 - a) consumo: (0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
 - b) procedência: industrializado: (0: não; 1: sim)
 - c) tipo de preparação: (1: crua; 2: mal passada; 3: bem passada)
 4. Carneiro:
 - a) consumo: (0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
 - b) procedência: industrializado: (0: não; 1: sim)
 - c) tipo de preparação. (1: crua; 2: mal passada; 3: bem passada)
27. Verduras cruas:
- a) consumo: (0: não; 1: sim: <1x/ 1-2x/ >2x por semana (1-3))
 - b) procedência: industrializado: (0: não; 1: sim)
 - c) lavar com água: (0: sem tratamento; 1: fervida; 2: filtro com troca regular de velas; 3: filtro; 4: água mineral)
28. Prova carne crua/ mal cozida durante o cozimento: (0: não; 1: sim)

1.19 Der Fragebogen auf deutsch

Toxoplasmosose bei Schwangeren in Fortaleza/ CE

DATUM: ___/___/___

ID.NUMMER:

1. Name:
2. Geburtsdatum: ___/___/___
3. Schule: (0: Analfabeto; 1: 1° grau; 2: 2° grau; 3: superior)
4. Beruf: (0:não; 1: sim)
5. Wie viele Menschen wohnen im Ihrem Haus?
6. Monatliches Einkommen: (1: <1/2 SM ; 2: ½-1 SM; 3: 1-2 SM;
4: 2-5 SM; 5: > 5 SM)
7. Behausung: (1: Lehm; 2: Backstein)
8. Art des Fußbodens: (1: Sand; 2: Erde; 3: Fliesen/ Zement/ Keramik)
9. Straßenart: (1: Sand; 2: Steine; 3: Asphalt)
10. Elektrisches Licht: (0: nein; 1: ja)
11. Wasserversorgung: (1: See/ Fluß; 2: Brunnen; 3: Handwerkerbrunnen;
4. städtische Versorgung)
12. Wo wird geduscht?: (1: See/ Fluß; 2: Zuber; 3: Dusche)
13. Behandlung des Wassers vor dem Trinken: (0: ohne Behandlung; 1: gekocht;
2: Filter älter als sechs Monate; 3: neuer Filter; 4: Mineralwasser)
14. Sanitäre Anlage: (1: Wald; 2: Grube ; 3: Kanalisation)

Züchten Sie Tiere?

15. Katzen: (0: nein; 1: ja; 2: Kontakt)
 - a) Wenn ja, wie viele?:
 - b) Lassen die Tiere ihren Kot im Haus?: (0: nein; 1: ja)
16. Hunde: (0: nein; 1: ja; 2: Kontakt)
Wenn ja, wie viele?:
17. Hühner: (0: nein; 1: ja; 2: Kontakt)
18. Schweine: (0: nein; 1: ja; 2: Kontakt)
Wenn ja, Stall? (0: nein; 1: ja)
19. Andere Tiere:

20. Gartenarbeit/ Hausarbeit:

- a) Kontakt mit Erde: (0: nein; 1: ja)
- b) Kontakt mit rohem Fleisch: (0: nein; 1: ja)

Ernährungsgewohnheiten

21. Eier:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja)
- c) Herkunft Supermarkt: (0: não; 1: sim)
- c) Vorbereitung: roh: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche
(1-3))
gekocht: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche
(1-3))
gebraten: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche
(1-3))

22. Milch:

- a) Verzehr:(0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt: (0: nein; 1: ja)
- c) Wenn nicht aus dem Supermarkt: gekocht: (0: nein; 1: ja)
- d) Wenn aus dem Supermarkt: Pulvermilch: (0: nein; 1: ja: mit Wasser)
- e) Wenn mit Wasser zubereitet: Wasser: (0: ohne Behandlung; 1: gekocht;
2:Filter älter als sechs Monate; 3: neuer Filer; 4: Mineralwasser)

23. Käse:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein; 1: ja)

24. Milcheis:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein; 1: ja)

25. Dimdim:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein; 1: ja)

26. Fleisch:

- 1. Rind:
 - a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))

- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein; 1: ja)
- c) Art der Zubereitung: (1: roh; 2: blutig/ nicht ganz durch; 3: gut gekocht/ gebraten)

2. Huhn:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein; 1: ja)
- c) Art der Zubereitung: (1: roh; 2: blutig/ nicht ganz durch; 3: gut gekocht/ gebraten)

3. Schwein:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein; 1: ja)
- c) Art der Zubereitung: (1: roh; 2: blutig/ nicht ganz durch; 3: gut gekocht/ gebraten)

4. Schaf:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein; 1: ja)
- c) Art der Zubereitung: (1: roh; 2: blutig/ nicht ganz durch; 3: gut gekocht/ gebraten)

27. Rohes Gemüse:

- a) Verzehr: (0: nein; 1: ja: <1x/ 1-2x/ >2x pro Woche (1-3))
- b) Herkunft Supermarkt:(0: nein/ selbst angepflanzt; 1: ja)
- c) Waschen mit Wasser: (0: ohne Behandlung; 1: gekocht; 2: Filter älter als sechs Monate; 3: neuer Filer; 4: Mineralwasser)

28. Probieren Sie rohes oder schlecht durchgebratenes/ gekochtes Fleisch während des Kochens? (0: nein; 1: ja)

1.20 Antrag an die Ethikkommission auf portugiesisch

Maternidade Escola Assis Chateaubriand, Universidade Federal do Ceará

**Departamento de Saúde Comunitária, Faculdade de Medicina,
Universidade Federal do Ceará**

**Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina,
Universidade Federal do Ceará**

Fundação de Educação e Saúde Mandacaru, Fortaleza (CE)

**Prevalência, incidência e fatores de risco de toxoplasmose materna e
congênita em um hospital de referência em Fortaleza, Nordeste do Brasil**

Janeiro 2004

Introdução

Aproximadamente um terço da população mundial já foi exposta ao parasita protozoário *Toxoplasma gondii* (1;2). A infecção em adultos geralmente é assintomática; porém, a transmissão vertical durante a gravidez pode levar a conseqüências deletérias para o concepto, como hidrocefalia, retardo mental e cegueira (1;3).

A infecção por *T. gondii* normalmente é adquirida por via oral, pela ingestão de oocistos contidos nas fezes de gatos ou cistos em carne crua ou mal-passada (1;4). Fatores de risco para a infecção por *T. gondii* não estão completamente compreendidos, e pouco se sabe a respeito da epidemiologia da doença no Brasil (1;2).

Estratégias para a prevenção de toxoplasmose congênita são geralmente pouco efetivas, a menos que as fontes de infecção mais importantes sejam conhecidas (4;5). Recentemente, a água contaminada com oocistos foi identificada como um importante foco de infecção em várias localidades, incluindo Campos de Goytacazes, no Rio de Janeiro (6-8).

A soroprevalência da toxoplasmose varia entre países e áreas geográficas diferentes dentro de um mesmo país, variando de 0 a 100% (1;2). Essas variações são geralmente causadas por fatores culturais e ambientais, como as diferenças em relação ao consumo e preparo de alimentos e contaminação do solo por oocistos de gatos.

Na América Latina, a soroprevalência de anticorpos IgG é geralmente alta e varia de 51 a 72% (1;2). Em um estudo em ambulatórios de pré-natal e maternidades em Fortaleza, 72% das gestantes e parturientes apresentaram anticorpos IgG contra *T. gondii* (9). Em estudo populacional em mulheres grávidas no Município de Cascavel (Estado do Ceará) foi encontrada uma prevalência de 60% por nosso grupo de pesquisa (Heukelbach et al., manuscrito em preparação).

No entanto, os casos de doença clínica são menos freqüentes. Nestes, a forma mais grave é a encontrada em crianças recém-nascidas, sendo caracterizada por encefalite, icterícia, urticária e hepatomegalia, geralmente associada com coriorretinite, hidrocefalia e microcefalia, com altas taxas de morbidade e mortalidade (1). As gestantes na fase aguda da doença podem abortar o concepto ou apresentarem trabalho de parto prematuro. Sabe-se que 40-50% dos fetos infectados vão a óbito (1).

A Toxoplasmose é uma zoonose e a infecção é muito freqüente em várias espécies de animais: mamíferos (principalmente carneiro, cabra e porco) e aves (2). O gato e outros

felídeos são os hospedeiros definitivos ou completos, e o homem e os outros animais são os hospedeiros intermediários ou incompletos. A infecção pelo *T. gondii* constitui uma das zoonoses mais difundidas no mundo. Em todos os países, grande parte da população humana e animal (mais de 300 espécies de animais entre mamíferos e aves – domésticos ou silvestres) apresentam parasitismo pelo *T. gondii* (1;2).

O diagnóstico da infecção em mulheres grávidas é feito a partir da detecção dos anticorpos IgG e IgM e da baixa avidéz dos anticorpos IgG, enquanto que em recém-nascidos anticorpos IgG, IgM e IgA são usados para a confirmação do diagnóstico (1). O exame de PCR do líquido amniótico e do sangue do recém-nascido têm sido apontados como ferramentas para diagnóstico mais preciso (10).

A espiramicina é administrada em mulheres grávidas cuja sorologia não permite excluir a possibilidade de uma infecção aguda. A terapia antiparasitária (pirimetamina, sulfadiazina) é administrada em mulheres grávidas cujo feto está infectado. Esse tratamento é seguido de tratamento do recém-nascido ao longo do primeiro ano de vida.

Uma vez que a contaminação oral com o parasita por meio de fezes de gato, carne mal cozida ou crua ou água é um fator comportamental, medidas de controle da toxoplasmose aguda na gravidez podem ser eficazes através da educação em saúde. Porém, para poder desenvolver métodos estratégicos de prevenção, tanto a prevalência da doença em mulheres grávidas, quanto os fatores de risco para infecção, têm que ser determinados.

Para prevenir infecção, podem ser adotadas duas estratégias, além da comportamental, em relação aos fatores já conhecidos. Fatores de risco próprios para a nossa população têm que ser determinados para que se possam implementar medidas de controle com informações adequadas. Outra estratégia seria o desenvolvimento de fluxogramas para um diagnóstico apropriado de infecção aguda e de infecção latente.

Objetivo geral

Descrever a epidemiologia da infecção com *T. gondii* em mulheres grávidas e nos recém-nascidos em um hospital de referência em Fortaleza e prevenir sintomatologia nos recém-nascidos.

Objetivos específicos

1. Determinar a prevalência da infecção por *T. gondii* em mulheres grávidas
2. Determinar a incidência da toxoplasmose congênita e a taxa de transmissão vertical
3. Determinar os fatores de risco de infecção aguda por *T. gondii* em mulheres grávidas
4. Descrever a sintomatologia clínica dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita e oferecer tratamento adequado
5. Estabelecer fluxograma para o diagnóstico apropriado de infecção aguda e infecção latente em mulheres grávidas

Material e Métodos

Local e população de estudo

Todas as parturientes admitidas na Maternidade-Escola Assis Chateaubriand (MEAC) no período de 1° de fevereiro a 30 de abril de 2005 maiores de 18 anos e domiciliados na grande Fortaleza. A MEAC é um centro de referência ginecológico e obstétrico terciário da Universidade Federal do Ceará. Mensalmente, ocorrem cerca de 300 a 500 partos.

Critérios de inclusão:

- Ser parturiente na época de estudo na MEAC (parto vaginal e abdominal)
- Ter pelo menos 18 anos de idade
- Ter assinado consenso escrito pós-informação
- Ser residente na área Grande Fortaleza

Critérios de exclusão:

- Situações que incapacitem a parturiente de decidir sobre os seus próprios atos (doença mental, inconsciência, emergência etc.)
- Parturientes com conceito natimorto

Tamanho da amostra

Para detectar uma odds ratio de dois para sorologia positiva (IgM) com intervalo de confiança de 95% e poder de 80% e nas condições do estudo estimadas, serão necessárias 814 participantes. Levando em consideração a não participação e margem

de segurança, estima-se que o número de parturientes suficiente poderá ser recrutado no período de três meses na MEAC.

Desenho do estudo

Será aplicado um estudo de desenho misto transversal e longitudinal. No estudo transversal, as participantes serão interrogadas usando um questionário estruturado e serão realizados testes sorológicos para toxoplasmose nas mães e nos recém-nascidos. No estudo longitudinal, os recém-nascidos serão acompanhados por especialistas e tratados especificamente. Uma visão geral do desenho de estudo está descrita na Figura 1 (anexo).

1. Aplicação de questionário

Para identificação de fatores de risco para a infecção por *T. gondii*, será aplicado um questionário estruturado pré-testado na sala de pré-parto contendo perguntas a respeito de variáveis sócio-econômicas e demográficas (abastecimento de água, presença de animais em casa, hábitos alimentares). O modelo do questionário encontra-se em anexo.

2. Coleta de sangue materno

Após aplicação do questionário e consento escrito pós-informação, será colhida uma amostra de sangue materno, que será centrifugado, separado o soro, e este então congelado a -20°C (na MEAC). O soro congelado será então transportado de três em três dias para o Laboratório Clementino Fraga onde será analisado para a determinação de anticorpos anti-toxoplasma IgG e IgM através de testes de ELISA.

3. Coleta de sangue do cordão umbilical no pós-parto

Após clampeamento do cordão umbilical no pós-parto, será coletado sangue do cordão umbilical (face fetal da placenta, constituído por sangue fetal), que será centrifugado e o soro armazenado a -20°C (na MEAC) até que o resultado da sorologia materna esteja disponível. O sangue fetal será analisado no caso de sorologia materna com título de anticorpos IgG >300 UI/ml e/ou presença de anticorpos IgM, o que indica uma possível infecção fetal. O sangue fetal será guardado para posterior exame de PCR em caso de resultados discrepantes.

4. Seguimento

Todas as participantes do estudo serão informadas sobre o resultado dos exames por escrito. Nos casos de infecção congênita (presença de IgG e IgM e/ou IgA no sangue fetal) ou nos casos em que a infecção não puder ser excluída (*presença de anticorpos IgG > 300 UI/ml e/ou anticorpos IgM no sangue materno e/ou presença de IgG no sangue fetal*), a participante do estudo será visitada domiciliarmente por um dos pesquisadores, informada a respeito do resultado dos exames e agendada para uma consulta de seguimento do recém-nascido na MEAC. Será fornecido vale-transporte para a participante e acompanhante. O recém-nascido poderá então ser acompanhado através de exame clínico, oftalmoscopia e ultrassonografia transfontanelar.

Os recém-nascidos infectados receberão tratamento antiparasitário durante o primeiro ano de vida (combinação de pirimetamina, sulfadiazina e ácido fólico, de acordo com as recomendações do Ministério da Saúde). Os recém-nascidos nos quais a infecção não puder ser excluída serão acompanhados sorologicamente aos 3, 6 e 12 meses de vida, e adequadamente tratados caso seja detectada infecção (vide esquema).

Análise de Dados

Todos os dados serão computados por meio do programa Epi-Info, versão 6.04d e analisados pelos programas Epi-Info e STATA (versão 7). A análise de dados será realizada pelos integrantes do grupo de estudo.

Riscos e benefícios

Os resultados trarão informações de grande valor para a Saúde Pública. Além do conhecimento sobre a prevalência de toxoplasmose congênita em nosso meio, serão definidos os seus principais fatores de risco, facilitando a elaboração de medidas de prevenção apropriadas, efetivas e eficientes. Será validado um fluxograma para a detecção de toxoplasmose congênita. Os recém-nascidos com infecção congênita serão diagnosticados e receberão tratamento adequado.

A retirada de sangue materno apresenta risco mínimo (sangramento, infecção secundária) e será realizada por um pesquisador experiente. A amostra de sangue fetal será colhida da face fetal da placenta, sem qualquer intervenção direta sobre o recém-nascido.

Qualquer acontecimento desvantajoso para a participante e/ou seu recém-nascido implicará na saída dos mesmos do estudo sem nenhuma desvantagem a respeito do

futuro acompanhamento clínico. O momento da aplicação do questionário (elaborado o mais sucinto possível), apesar de preferencialmente realizado na sala de pré-parto, poderá ser aplicado na enfermaria pós-parto, caso seja avaliado o momento inadequado devido às particularidade da situação.

Todas as participantes receberão o resultado dos exames por escrito, e todas as participantes em que seja diagnosticada infecção recente ou resultado inconclusivo serão visitadas domiciliarmente para adequado seguimento de seus recém-nascidos.

Considerações éticas

O estudo será conduzido de acordo com os três princípios éticos básicos: respeito pela pessoa, benefício para o paciente e justiça.

Todas as informações serão mantidas em sigilo e trabalhadas de forma conjunta e aleatória, após coleta. Os nomes dos pacientes não aparecerão em publicações nem serão acessíveis a terceiros. Já firmada a relevância da pesquisa para o Estado, observa-se que inexistem danos ou prejuízos a nenhuma das partes envolvidas.

Consentimento pós-informação escrito será obtido de todas as participantes do estudo (modelo em anexo). Qualquer participante poderá sair do estudo a qualquer momento sem nenhuma desvantagem. Os dados serão manuseados sob sigilo.

Publicação de resultados

Os resultados da pesquisa - favoráveis ou não favoráveis - serão de conhecimento público, sendo apresentados em congressos nacionais e internacionais, além de publicados em jornais indexados nacionais e internacionais.

O estudo é parte de dissertação de duas estudantes de Medicina (S.S. e N.B.).

Cronograma

O estudo terá uma duração total de 18 meses, iniciando em janeiro de 2005. A coleta de dados será realizada no período de 1º de fevereiro a 30 de abril de 2005. O seguimento dos recém-nascidos ocorrerá até maio de 2006.

Mes/ Ano	01/ 2005	02/ 2005	03/ 2005	04/ 2005	05/2005 - 04/2006	06/ 2006	07/ 2006
Atividades preparatórias	x						
Coleta de dados (questionários, coleta de sangue, exame ELISA)		x	x	x			
Envio de resultados por correio e visitas domiciliares		x	x	x	X(05/05)		
Exame, tratamento e seguimento de recém-nascidos		x	x	x	x		
Entrada em banco de dados e análise					X(6/05-11/05)	x	x
Elaboração de publicação científica					X(12/05)	x	x

* treinamento do pessoal, pré-teste da metodologia, pré-teste das fichas, esclarecimento ético etc. Financiamento e orçamento

O estudo será financiado pela Fundação de Educação e Saúde Mandacaru, Fortaleza. A infra-estrutura necessária para coleta de dados e medicamentos serão fornecidos pela MEAC. Nenhum pesquisador será remunerado.

Os exames de acompanhamento dos recém-nascidos serão realizados na MEAC, além do fornecimento da infra-estrutura, medicação e acompanhamento.

O Laboratório Clementino Fraga fornecerá a infra-estrutura para a detecção de anticorpos anti-toxoplasma.

	Valor
Kits para ELISA e material de consumo do laboratório	R\$ 6.000
Vacutainer BD + material para coleta de sangue	R\$ 2000
Material de consumo de escritório (1)	R\$ 900
Xerox	R\$ 500
Remuneração para auxiliar de pesquisa	R\$ 600
Vale-transporte para exames de seguimento	R\$ 500
Selos para correio	R\$ 500
TOTAL	R\$ 11000

(1) cartuchos para impressora, papel, cartas e demais material de consumo de escritório.

Grupo de Pesquisa e atribuições

- 1 Prof. Dr. Carlos Augusto Alencar Jr., Departamento de Saúde Materno-Infantil, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará: coordenação local, exame clínico, seguimento e tratamento dos recém-nascidos;
- 2 Dr. Francisco Edson Lucena, Maternidade-Escola Assis Chateaubriand (MEAC): coordenação local, exame clínico, seguimento e tratamento dos recém-nascidos;
- 3 Prof. Dr. Med. Oliver Liesenfeld, Departamento de Microbiologia e Imunologia da Infecção, Faculdade de Medicina Charité, Berlim, Alemanha: colaborador;
- 4 Prof. Dr. Jorg Heukelbach, Departamento de Saúde Comunitária, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará e Fundação de Educação e Saúde Mandacaru: desenho do estudo e análise bioestatística dos dados;
- 5 Prof. J. Ajax Nogueira Queiroz, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará e Fundação Mandacaru de Educação e Saúde: realização dos exames sorológicos e colaborador;
- 6 Dra. Fabíola Araújo Sales de Oliveira, Departamento de Saúde Comunitária, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará: colaboradora;
- 7 Nina Bartelheimer, estudante de Medicina, Departamento de Microbiologia e Imunologia da Infecção, Faculdade de Medicina Charité, Berlim, Alemanha: coleta de dados (aplicação de questionários, coleta de sangue, envio de resultados às participantes, visitas domiciliares e agendamento de consultas);
- 8 Susann Sroka, estudante de Medicina, Departamento de Microbiologia e Imunologia da Infecção, Faculdade de Medicina Charité, Berlim, Alemanha: coleta de dados (aplicação de questionários, coleta de sangue, envio de resultados às participantes, visitas domiciliares e agendamento de consultas);

Referências

- (1) Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet* 2004; **363**: 1965-76.
- (2) Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasitol* 2000; **30**: 1217-58.
- (3) Swisher CN, Boyer K, McLeod R. Congenital toxoplasmosis. The Toxoplasmosis Study Group. *Semin Pediatr Neurol* 1994; **1**: 4-25.
- (4) Cook AJ, Gilbert RE, Buffolano W et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *BMJ* 2000; **321**: 142-7.
- (5) Buffolano W, Gilbert RE, Holland FJ, Fratta D, Palumbo F, Ades AE. Risk factors for recent toxoplasma infection in pregnant women in Naples. *Epidemiol Infect* 1996; **116**: 347-51.
- (6) Bahia-Oliveira LM, Jones JL, Azevedo-Silva J, Alves CC, Orefice F, Addiss DG. Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil. *Emerg Infect Dis* 2003; **9**: 55-62.
- (7) Aramini JJ, Stephen C, Dubey JP, Engelstoff C, Schwantje H, Ribble CS. Potential contamination of drinking water with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Epidemiol Infect* 1999; **122**: 305-15.
- (8) Bowie WR, King AS, Werker DH et al. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water. The BC Toxoplasma Investigation Team. *Lancet* 1997; **350**: 173-7.
- (9) Rey LC, Ramalho IL. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceara, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1999; **41**: 171-4.
- (10) Hohlfeld P. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with polymerase-chain-reaction on amniotic fluid. *N Engl J Med* 1994; **331**: 695-9.

ANEXOS

Figura 1: Desenho do estudo incluindo os testes diagnósticos propostos para diagnosticar infecção por *Toxoplasma gondii*

A. Parturientes

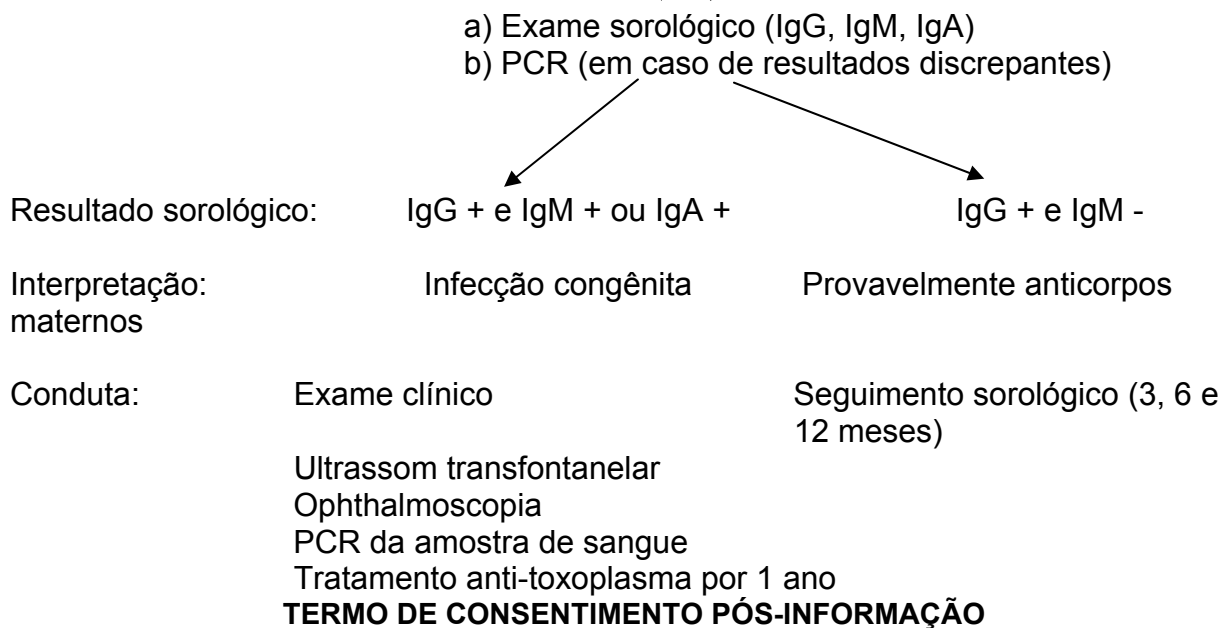
Rastreio de todas as parturientes admitidas na MEAC entre 1/1 e 30/4 de 2005.
Número esperado de participantes: 300 – 350/mês.

1. aplicação de questionário
2. coleta de sangue (10 ml)

Teste sorológico:	IgG		IgM
Resultado esperado:	60-70% positivos		<5% positivos
Risco de infecção aguda:	IgG >300 IU/ml e IgM negativo	ou	IgM positivo

B. Recém-nascidos

1. sangue do cordão umbilical (10 ml)
2. exame clínico



I. DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

Nome da participante: _____
Documento de identidade: _____ Sexo: M () F (X)
Data do nascimento: ____/____/____
Endereço: _____
Ponto de referência: _____
Bairro: _____ Cidade: _____
CEP: _____ Telefone: _____

II. DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA:

Prevalência, incidência e fatores de risco de toxoplasmose materna e congênita em um hospital de referência em Fortaleza, Nordeste do Brasil

Observação: A TOXOPLASMOSE é uma doença causada por um parasita (micróbio) que, quando contamina a gestante, pode atingir a criança ainda dentro do útero e causar sérias complicações como: abortamento, retardo mental e até cegueira. Para saber se a gestante ou a criança estão infectados, precisa-se fazer exame de sangue.

2. PESQUISADOR: Dr. Carlos Augusto Alencar Júnior

Profissão: Departamento de Saúde Materno-Infantil, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará

Inscrição no Conselho Regional de Medicina:

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

() SEM RISCO (x) RISCO MÍNIMO () RISCO BAIXO () RISCO MÉDIO () RISCO MAIOR (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 18 meses (desde a entrevista até o final do acompanhamento das crianças que nasceram com a infecção).

III. REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA, CONSIGNANDO:

1. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS DA PESQUISA:

- Saber quantas mulheres gestantes apresentam infecção recente da doença toxoplasmose e se as crianças foram afetadas pela doença.
- Conhecer o que pode ter causado a infecção na mulher (consumo de carne contaminada, presença de animais em casa etc.)
- Oferecer tratamento adequado para as crianças que nasceram com a infecção.

2. PROCEDIMENTOS QUE SERÃO UTILIZADOS E PROPÓSITOS, INCLUINDO A IDENTIFICAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS QUE SÃO EXPERIMENTAIS:

- Entrevista a respeito de condições de moradia, de hábitos alimentares, contato com animais e afins.
- Coleta de sangue para saber se a gestante tem infecção por toxoplasmose.
- Coleta de sangue do cordão umbilical após o parto (parte da placenta: não será retirado o sangue diretamente da criança), o que permite saber se a criança também apresenta infecção.

3. DESCONFORTOS E RISCOS ESPERADOS:

O risco é mínimo: somente o da coleta de sangue: dor local e, em casos raros, infecção secundária e hematoma.

4. BENEFÍCIOS QUE PODERÃO SER OBTIDOS:

- Saber se a criança apresenta infecção por toxoplasmose e oferecer pronto tratamento para amenizar ou evitar complicações (o principal é a cegueira).
- Saber quantas gestantes apresentam infecção para informar as autoridades responsáveis para poderem implementar medidas para diagnosticar (descobrir) a infecção nas gestantes.
- Descobrir o que pode ter causado a infecção (contato com animais, água contaminada etc.) para poder informar futuras gestantes e assim prevenir que futuras crianças nasçam contaminadas.

5. PROCEDIMENTOS ALTERNATIVOS QUE POSSAM SER VANTAJOSOS PARA O INDIVÍDUO:

Não existem procedimentos alternativos mais vantajosos a serem utilizados.

IV. ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA

1. acesso a qualquer tempo às informações sobre procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer eventuais dúvidas
2. liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem que isto traga prejuízo à continuidade da assistência
3. salvaguarda da confidencialidade, sigilo e privacidade das informações

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA PARA CONTATO EM CASOS DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS

Dr. Carlos Augusto Alencar Júnior
Maternidade-Escola Assis Chateaubriand (MEAC)
Rua Cel Nunes de Melo S/N
Rodolfo Teófilo
Fortaleza, CE 60833-830

VI. OBSERVAÇÕES COMPLEMENTARES

Cara gestante, a sua participação é de extrema importância para que se possa conhecer a dimensão e a gravidade da toxoplasmose no nosso meio. Também é muito importante para e para evitarmos ao máximo que crianças venham a nascer com problemas. Obrigado!

VII. CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente protocolo de pesquisa. Em caso de menor de idade, declaro que o mesmo foi devidamente esclarecido e aceita participar do presente protocolo de pesquisa sendo eu o responsável legal.

Fortaleza, de _____ de 20__.

Assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal (e do menor, quando for possível)

Dr. Carlos Augusto Alencar Júnior

1.21 Antrag an die Ethikkommission auf englisch

Title: prevalence, incidence and risk factors of maternal and congenital toxoplasmosis in a reference hospital in Fortaleza, Northeast-Brasil

1. Background:

Infection with the protozoan parasite *Toxoplasma gondii* is highly prevalent worldwide. Prevalences differ between geographic locations but approximately 1/3 of the worldwide population is infected with the parasite. The prevalence in pregnant women in the State of Ceará (Northeast Brazil) was determined to be higher than 60% by our research group (Heukelbach et al., in preparation) and by others (Rey et al.1999). Infection is usually acquired by ingestion of undercooked or raw meat or contact with cat feces (Cook et al., 2000; Montoya and Liesenfeld 2004). Recently, water has been found to be an important source of the parasite in southern regions of Brazil (Bahia-Oliveira et al. 2003). Primary infection during pregnancy may lead to congenital infection resulting in intrauterine death or severe sequelae for the fetus/newborn (Montoya and Liesenfeld 2004). Presumptive diagnosis is usually established by the detection of antibodies of IgG and IgM class and low avidity of IgG antibodies in pregnant women and/or the presence of IgG, IgM and/or IgM antibodies in their offspring (Montoya and Liesenfeld 2004). PCR of amniotic fluid and blood of the newborn have been described to improve the diagnosis (Hohlfeld et al. 1994).

In order to prevent infection, two strategies can be pursued. First, risk factors have to be analyzed to design appropriate information campaigns. Second, algorithms for the appropriate diagnosis of acute vs. latent infection in Northeast Brazil have to be established.

2. General Objective:

To describe the epidemiology of infection with *Toxoplasma gondii* in pregnant women and their offspring in a reference hospital in Fortaleza and to prevent symptomatic infection in the newborns

3. Specific Objectives:

1. To determine the prevalence of infection with *Toxoplasma gondii* in pregnant women
2. To determine the incidence of congenital toxoplasmosis and the vertical transmission rate
3. To determine risk factors for acute infection with *Toxoplasma gondii* in pregnant women
4. To describe the clinical pathology in newborns with congenital toxoplasmosis and to perform specific treatment
5. Establish algorithms for the appropriate diagnosis of acute vs. latent infection in pregnant women

4. Study design:

To determine the prevalence and risk factors of infection with *Toxoplasma gondii*, all pregnant women giving birth at the Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC) in Fortaleza between February and April 2004 (vaginal birth and caesarian section) will be included in the study. For an overview of the study design, see Fig. 1.

All pregnant women will be informed about the design and objectives of the study. After informed written consent, a blood sample will be taken. Blood from all women giving birth during daytime will be drawn by German students. Blood from those women delivering at night will be drawn early in the morning by the German students or experienced nurses (informed about the study). Additionally, after delivery, a blood sample will be taken from the umbilical cord vein. Serum will be obtained by centrifugation and stored until serological results in the mother's serum become available.

In order to determine risk factors for infection with *Toxoplasma gondii* all study participants will be interviewed by German students using a standardized questionnaire (Fig. 2). The questionnaire includes questions regarding socioeconomic and demographic variables (housing, drinking water sources, animal contact, food habits).

Anti-*Toxoplasma gondii* IgG and IgM antibodies will be determined by ELISA at least twice weekly (Laboratório Clementino Fraga, Fortaleza). Results of these tests will be used to select the umbilical cord blood samples to be tested to diagnose congenital infection (see below). Cord blood samples of those women in whom IgG titers are > 300 IU/ml and/or IgM antibodies are present will be tested. This will ensure that a maximum number of women/newborns with possible infection during pregnancy (and thus at risk

of transmission of the parasite to the newborn) will be further tested. A separate cord blood sample will be stored for PCR to be performed in all cases with equivocal or discrepant results.

Risk factors will be determined using a nested case-control design.

All participants will be informed about the serological results in written. If maternal sera samples are IgM positive and/or if congenital toxoplasmosis has been diagnosed or cannot be ruled out, the respective study participants will be visited and informed about the results by trained experts. Newborns with possible congenital infection will be transferred again to the MEAC and will receive a thorough clinical exam, ophthalmoscopy, and cerebral ultrasound. Infected newborns will be given antiparasitic treatment with the combination of pyrimethamine plus sulfadiazine and folinic acid for the first year of life. Newborns in whom infection cannot be ruled out (all IgG-positive newborns) will be tested serologically at 3, 6, and 12 months after birth.

5. Risk/benefit analysis:

The risk for study participants is considered very low.

Results of the study will have a major impact for the Health Care System and the Maternidade Escola Assis Chateaubriand. The prevalence of infection with *Toxoplasma gondii* will be known, and risk factors associated with acquisition of *Toxoplasma gondii* will be defined. These information will help in designing future prevention strategies.

The results of serological and clinical examination will also be of value for the participants. All participants will be informed about the presence or absence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and thus will be enabled to perform prevention measures if necessary.

Blood will be taken from all participants. Since blood will be drawn by experienced investigators, this procedure represents a minimal risk (bleeding, secondary infection). Any unfortunate incident will lead to exclusion of the participant from the study without any further negative consequences related to future health care at the MEAC. Infected newborns will receive antiparasitic treatment and follow-up care by a physician during the first year of life without any costs.

6. Financing:

The German students will travel at their own cost. All additional support including laboratory material and transportation for participants will be covered by the Mandacaru

Foundation, Fortaleza, Brazil. Non-serological clinical exams including ophthalmoscopy and cerebral ultrasound will be covered by MEAC. Treatment and non-serological follow-up during the first year of life will also be granted by MEAC. The Clementino Fraga Laboratory will provide infrastructure and laboratory machinery for detection of antibodies against *Toxoplasma gondii*.

7. Ethical considerations

The study design does respect in all aspects the ethical principles. Study participants will give informed written consent and will not receive any harm throughout the study. In contrast, the study will provide benefits to all participants and the State. All participants may quit the study at any time without any consequences. Personal data of all participants will be handled with care will not be used in publications, and will not be provided to any third party.

8. Publication of results

Results of the present study will be made public – regardless of the result by presentation in national and international congresses, national and international journals.

The results will be part of the theses of Nina Bartelheimer and Susann Sroka, German students.

9. Time table

The study will be performed within 18 months in 2005/2006. Pregnant women will be included between February and April 2005, follow-up of newborns will last until May 2006.

Month/Year	January y 2005	February y 2005	March 2005	April 2005	May 2005 until April 2006	June 2006	July 2006
Preparation and ethical clearance	x						
Data collection		x	x	x			
Follow-up of newborns		x	x	x	x		
Data analysis					x	x	x
Preparation of publication							x

10. Research team

1. Prof. Dr. Med. Oliver Liesenfeld, Department of Medical Microbiology and Immunology of Infection, Charité Medical School, Berlin, Germany and Mandacaru Foundation: **collaborator**
2. Prof. Dr. Carlos Augusto Alencar Jr., Department of Gynecology and Obstetrics, Medical School, Federal University of Ceará, Brazil: **local coordination, clinical examination, follow-up and treatment**
3. Dr. Edson [nome complete], Department of Gynecology and Obstetrics, Medical School, Federal University of Ceará, Brazil: **local coordination, clinical examination, follow-up and treatment**
4. Prof. Dr. Jorg Heukelbach, Department of Community Health, Medical School, Federal University of Ceará, Brazil and Mandacaru Foundation: **local coordination, data analysis, biomedical/statistical analysis**

5. Prof. Dr. J. Ajax Nogueira Queiroz, Department of Pathology, Medical School, Federal University of Ceará, Brazil and Mandacaru Foundation: **performance of serological tests, consultant**
6. Dr. Fabíola Araújo Sales de Oliveira, Department of Public Health, Medical School, Federal University of Ceará, Brazil: **consultant**
7. Nina Bartelheimer, Medical student, Department of Medical Microbiology and Immunology of Infection, Charité Medical School, Berlin, Germany: **investigator, data collection (blood samples, questionnaires)**
8. Susann Sroka, Medical student, Department of Medical Microbiology and Immunology of Infection, Charité Medical School, Berlin, Germany: **investigator, data collection (blood samples, questionnaires)**

11. References

1. J. Heukelbach, V. Meyer-Cirkel, R. C. Sabóia Moura, M. Gomide, J.A. Nogueira Queiroz, P. Saweljew, O. Liesenfeld. Consumption of home-made sorbet but not of raw meat or cat contact as a risk factor for toxoplasma infection in pregnant women in Northeast-Brazil, in preparation
2. J.G. Montoya and O. Liesenfeld. Toxoplasmosis, Lancet 2004;363:1965-1976
3. Cook , B.M. J. et al., Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicenter case-control study . Br. Med. J. 2000;321:142-147
4. L.M. Bahia-Oliveira et al. Highly Endemic, waterborne toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. Emerging Infectious Diseases 2003;3:55-62
5. Rey LC, Ramalho IL. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceara, Brazil.
Rev Inst Med Trop Sao Paulo 1999; 41:171-174
6. P. Hohlfeld et al., Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with polymerase-chain-reaction on amniotic fluid
N. Engl. J. Med. 1994;331:695-699

Figure 1: Study design including proposed tests to diagnose infection with *Toxoplasma gondii*

A. Pregnant women

Screening of all pregnant women (100%) between Febr. 1 and April 30, 2005

Expected number of pregnant women

- 1. Blood sample (10 ml)
- 2. Questionnaire

Serological test:
Expected result:

IgG
60-70% pos.

IgM
<5% pos.

Patients at risk for congenital infection:

IgG >300 IU/ml
IgM negative

IgM positive

B. Newborns

- 1. Cord blood sample (10 ml)
- 2. Clinical exam

a) Serological testing (IgG, IgM, IgA) by ELISA/ISAGA
b) PCR (in cases of equivocal or discrepant results)

Serological result:

IgG pos. and IgM pos. or IgA **positive**

IgG pos. and IgM **negative**

**Interpretation:
maternal antibodies**

Congenital infection

most likely

- Clinical exam
- Ultrasound of the head at
- Eye exam/ophthalmology
- PCR from blood sample

Serological follow-up
3, 6, and 12 months

Treatment:

Anti-toxoplasma treatment for 1 year

No treatment

9. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. O. Liesenfeld für die umfangreiche Unterstützung und Betreuung während der gesamten Arbeit, der Hilfestellung bei der Auswertung, der schriftlichen Zusammenstellung und der Korrektur der Arbeit.

Ebenfalls großer Dank gilt meinem Betreuer in Brasilien Prof. Dr. J. Heukelbach für die Unterstützung, Organisation und Betreuung der Studie vor Ort und Hilfestellung bei der Auswertung der Ergebnisse.

Dank gilt auch dem DAAD, der es mir ermöglichte im Rahmen des UNIBRAL-Programms meine Doktorarbeit in Brasilien durchzuführen.

In Brasilien möchte ich weiterhin sehr danken:

Prof. Dr. Carlos Augusto Alencar Jr. und Dr. Francisco Edson Lucena für die Koordination der Untersuchung der Schwangeren und Betreuung der Studie in der MEAC

Dr. Fabíola Araújo Sales de Oliveira, für die Hilfestellung beim Antrag an die Ethikkommission

Prof. J. Ajax Nogueira Queiroz, für die Möglichkeit der Nutzung der Geräte im Labor der Pathologie der UFC

Dr. Heliane Ribeiro, für die Realisierung der serologischen Untersuchung im Labor der UFC

Liana Ariza, für die Betreuung bei der statistischen Auswertung sowie ihre persönliche Unterstützung und Freundschaft

Weiterhin danke ich allen Krankenschwestern und Ärzten der MEAC und besonderes allen Schwangeren, die eingewilligt haben an dieser Studie teilzunehmen, ohne die ich meine Arbeit nicht hätte durchführen können.

Valéria Santos, für die Hilfe bei der Organisation der Untersuchungsmaterialien

Meinen Arbeitskollegen Nina Bartelheimer und Andreas Winter für die Zusammenarbeit bei Organisation und Durchführung der Studie

10. Acknowledgements

I am very grateful to Prof. Dr, O. Liesenfeld for his commitment, comprehensive supervision and assistance throughout of the term of this thesis.

I am also grateful to Prof. Dr. J. Heukelbach for his assistance in Brazil, the organisation of this study and analysis of results.

I thank the DAAD to provide the opportunity to conduct the study under the UNIBRAL-programme.

In Brazil I especially thank:

Prof. Dr. Carlos Augusto Alencar Jr. And Dr. Francisco Edson Lucena for the coordination and supervision of the examination of the pregnant women

Dr. Fabíola Araújo Sales de Oliveira for her assistance to make the application to the commission of ethics

Prof. J. Ajax Nogueira Queiroz for the possibility to utilize the equipment in the laboratory of pathology

Dr. Heliane Ribeiro for her support and implementation of the serological analysis in the laboratory of the UFC

Liana Ariza to provide assistance with the analysis of results and for her friendship

Also I will thank all nurses and doctors of the MEAC, particularly all pregnant women who participated in this study.

Valéria Santos for the organisation of the material of examination

My colleagues Nina Bartelheimer and Andreas Winter for the collaboration at organisation and realisation of this study

11. Lebenslauf

"Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht."

12. Erklärung

Ich, Sroka, Susann erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: *„Prävalenz und Risikofaktoren der Toxoplasmose in der Schwangerschaft in Fortaleza/ Nordost – Brasilien“* selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Berlin, den 05.01.09

Susann Sroka