

# Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) no diagnóstico complementar da toxoplasmose congênita: uma revisão bibliográfica

## *Polymerase Chain Reaction (PCR) in the complementary diagnosis of congenital toxoplasmosis: a bibliographic review*

Brenda Caroline Berton<sup>1</sup>, Thaís Dalzochio<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Discente do Curso de Biomedicina no Centro Universitário CNEC de Bento Gonçalves. Bento Gonçalves, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Doutorado em Qualidade Ambiental pela Universidade Feevale - (Docente). Novo Hamburgo, RS, Brasil.

### Resumo

A toxoplasmose é uma doença de ampla distribuição geográfica, sendo um grave problema de saúde pública. A infecção primária durante a gravidez pode causar infecção congênita ao feto e gerar consequências graves. Neste contexto, a reação em cadeia da polimerase (PCR) é atualmente um dos métodos mais eficientes para investigação fetal em casos de suspeita de infecção. Portanto, o objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão bibliográfica sobre a toxoplasmose congênita e seu diagnóstico molecular através da PCR. Para tanto, foram pesquisados artigos publicados no período de janeiro de 2010 a abril de 2021 em diferentes bases de dados usando os descritores "Reação em Cadeia da Polimerase", "*Toxoplasma gondii*" e "Toxoplasmose congênita". A partir da pesquisa, foi possível verificar que a combinação de métodos sorológicos com a realização da PCR, principalmente no líquido amniótico, constitui uma importante ferramenta para o diagnóstico antenatal e pós-natal da toxoplasmose congênita. Além disso, a PCR em tempo real parece não apresentar melhores resultados em comparação à PCR convencional. Não obstante, estudos voltados à padronização da técnica visando melhor sensibilidade são necessários, uma vez que o diagnóstico da toxoplasmose gestacional/congênita permite a implementação do tratamento a fim de minimizar as consequências da infecção ao neonato.

**Palavras-chave:** Reação em Cadeia da Polimerase; Toxoplasma; Toxoplasmose Congênita; Técnicas de Diagnóstico Molecular

### Abstract

Toxoplasmosis is a disease of wide geographical distribution, being a serious public health concern. The primary infection during pregnancy may cause congenital infection of the infant and lead to serious consequences. In this context, the polymerase chain reaction (PCR) is currently one of the most efficient methods for fetal investigation in cases when infection is suspected. Therefore, the present study aimed to conduct a literature review on congenital toxoplasmosis and its molecular diagnosis by PCR. Thus, the research for papers published between January 2010 and April 2021 was conducted in different databases, using the terms "polymerase chain reaction", "*Toxoplasma gondii*" and "congenital toxoplasmosis". It was possible to verify that the combination of serological methods and PCR, mainly of the amniotic fluid, is a valuable tool the antenatal and post-natal diagnosis of congenital toxoplasmosis. Furthermore, real time PCR seems to have no better results in comparison to conventional PCR. Nevertheless, studies related to standardization of the technique aiming higher sensitivity are necessary since the diagnosis of gestational/congenital toxoplasmosis enables the treatment in order to minimize the consequences of the infection to the infant.

**Keywords:** Polymerase Chain Reaction; Toxoplasma; Toxoplasmosis, Congenital; Molecular Diagnostic Techniques

Correspondência

**Thaís Dalzochio**

Centro Universitário CNEC de Bento Gonçalves  
Rua Arlindo Franklin Barbosa, 460 - São Roque  
Bento Gonçalves - RS, CEP: 95700-000  
E-mail: tdalzochio@gmail.com

Recebido em 22/01/2021 | Aprovado em 23/09/2021 | DOI: 10.21877/2448-3877.202102096

## INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma doença de ampla distribuição geográfica, o que a torna um grave problema de saúde em vários países, sendo causada principalmente pela ingestão de oocistos do protozoário *Toxoplasma gondii* presentes na água, nos alimentos ou no solo contaminando com fezes felinas, ou de cistos presentes em carne crua ou mal cozida.<sup>(1-3)</sup> Quando a infecção ocorre durante a gravidez (transmissão vertical), há risco de infecção congênita, que pode causar lesões graves ao feto.<sup>(4)</sup> No entanto, aproximadamente 85% dos recém-nascidos com toxoplasmose congênita não apresentam sinais clínicos evidentes ao nascimento.<sup>(5)</sup> Quando presentes, as manifestações podem ser encefalite, icterícia, urticária e hepatoesplenomegalia, geralmente associada à coriorretinite, hidrocefalia e microcefalia, com altas taxas de morbidade e mortalidade.<sup>(1)</sup>

As incidências de toxoplasmose no Brasil estão entre as mais altas relatadas na literatura, não obstante a vigilância epidemiológica específica para esta doença ainda esteja em fase de estruturação.<sup>(6)</sup> Mundialmente, a soroprevalência da doença é variada, possivelmente em decorrência das diversidades étnicas e geográficas relacionadas às condições sanitárias, índices socioeconômicos e, ainda, de acordo com a idade e a população estudada. A prevalência da infecção latente varia entre 10% e 75% na população mundial, com base em estudos sorológicos.<sup>(7,8)</sup>

A prevalência da infecção congênita varia de 0,1 a 0,3 por mil nascidos vivos. A taxa de transmissão materno-fetal aumenta com a idade gestacional, de menos de 15% na 13ª semana de gestação para mais de 70% na 36ª semana.<sup>(4)</sup> Isto ocorre porque a barreira placentária é mais eficiente no primeiro semestre de gestação, permitindo a passagem do protozoário em menos de 10% das gestantes infectadas. Porém, a barreira placentária se torna mais permeável conforme a evolução da gestação.<sup>(9)</sup>

Caso exista a suspeita de infecção fetal, a amniocentese deve ser realizada para a identificação do DNA do parasito. Uma das técnicas que pode ser utilizada é a reação em cadeia da polimerase (PCR), um dos métodos mais eficientes para investigação fetal.<sup>(10)</sup> Neste contexto, é importante destacar que o tratamento precoce e adequado das mulheres infectadas durante a gravidez reduz as complicações, sequelas e óbitos, tornando evidente os benefícios da triagem pré-natal.<sup>(2,11)</sup> Portanto, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica acerca do diagnóstico da toxoplasmose gestacional/congênita com ênfase nos métodos moleculares.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizada uma revisão narrativa de caráter descritivo a partir de publicações em bases de dados *on-line*, relacionada à utilização da PCR no diagnóstico complementar da toxoplasmose congênita. A coleta de material foi baseada na busca de artigos científicos publicados no período de janeiro de 2010 a abril de 2021, nas bases de dados Biblioteca Virtual da Saúde (BVS), LILACS, PubMed (*National Library of Medicine*) e SciELO (*Scientific Electronic Library Online*). Na pesquisa foram utilizadas as seguintes palavras-chave: “reação em cadeia da polimerase”, “*Toxoplasma gondii*”, “toxoplasmose congênita”, bem como a combinação entre elas, nos idiomas português e inglês.

Inicialmente foram selecionadas 64 publicações através da leitura do título e resumo, abrangendo artigos originais, de revisão e comunicações breves. As referências listadas nos trabalhos selecionados, quando de livre acesso, também foram utilizadas como fonte de pesquisa. Foram incluídos artigos publicados no referido período, que priorizaram a utilização da técnica de PCR para o diagnóstico da toxoplasmose congênita. Foram excluídos da pesquisa monografias e resumos, bem como artigos publicados no período anterior ao ano 2010, que utilizaram outros métodos no diagnóstico da infecção, excluindo a PCR, ou ainda que demonstraram o uso do teste para detecção de outras doenças.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir dos critérios de inclusão e exclusão, 18 artigos foram elegíveis para integrar a presente pesquisa. Na Tabela 1, encontra-se a relação dos artigos publicados no período abrangido sobre o uso da PCR no diagnóstico da toxoplasmose congênita. Pode-se verificar que a maioria dos estudos foi do tipo retrospectivo, sendo que o número amostral variou de 12 a 1.386. No que concerne às técnicas para diagnóstico da toxoplasmose congênita, a PCR do líquido amniótico foi a mais utilizada, seguida da PCR do sangue materno e do neonato.

Os melhores métodos para detecção precoce da infecção congênita são ELISA (IgG e IgM), teste de avididade de anticorpos IgG e PCR do líquido amniótico.<sup>(11)</sup> O diagnóstico da infecção materna é realizado atualmente pelo perfil sorológico da doença aguda, que exibe positividade para anticorpos IgM e IgG. Como os níveis de anticorpos IgM podem se manter positivos por um longo período (até 18 meses) após a infecção, outros métodos devem ser utilizados, como o

**Tabela 1**

Artigos publicados entre janeiro de 2010 e abril de 2021 sobre o uso da reação em cadeia da polimerase (PCR) no diagnóstico da toxoplasmose gestacional/congênita

| Tipo de estudo                                | Número amostral  | Técnica utilizada   | Referência |
|---|--|---|------------|
| Estudo prospectivo                            | 12 neonatos  | PCR do sangue periférico  | (12)       |
| Revisão da literatura                         | Não se aplica  | PCR do material placentário, inoculação de sangue fetal em camundongos, Elisa e cultura de células                                  | (13)       |
| Estudo transversal descritivo e retrospectivo | 98 gestantes e seus 99 recém-nascidos (um parto gemelar)                                   | IgM, IgG, avides de IgG, PCR do líquido amniótico   | (14)       |
| Estudo prospectivo                            | 146 gestantes  | Avides de IgG e PCR do líquido amniótico, sangue materno e do cordão umbilical  | (15)       |
| Estudo retrospectivo                          | 33 amostras de líquido amniótico   | PCR comercial aninhado, PCR convencional e PCR em tempo real  | (16)       |
| Estudo prospectivo                            | 23 neonatos com infecção congênita e 31 não infectados                                     | Avides de IgG e PCR convencional e em tempo real (sangue periférico)  | (17)       |
| Estudo retrospectivo                          | 488 gestantes  | PCR do líquido amniótico  | (18)       |
| Estudo retrospectivo                          | 1.386 gestantes com IgG positivo   | PCR do líquido amniótico  | (19)       |
| Estudo prospectivo                            | 487 gestantes e seus recém-nascidos (quando houve detecção de anticorpos IgG)              | IgM, IgG, PCR e avides de IgG (todos avaliados no sangue periférico)  | (20)       |
| Revisão da literatura (metanálise)            | 4.171 amostras   | PCR do líquido amniótico  | (21)       |
| Estudo retrospectivo                          | 346 gestantes com suspeita de infecção primária  | IgG, IgM, avides de IgG e PCR do líquido amniótico  | (22)       |
| Estudo prospectivo longitudinal               | 128 amostras clínicas (76 de líquido amniótico e 52 de placenta)                           | PCR, <i>kit</i> comercial <i>Toxoplasma</i> ELITe MGB (ELITech), <i>kit</i> comercial EXTRAblood e <i>kit</i> comercial QIA minikit | (2)        |
| Estudo retrospectivo                          | 65 pacientes com toxoplasmose congênita confirmada   | PCR do líquido amniótico  | (23)       |
| Estudo retrospectivo                          | 778 gestantes com avides baixa ou indeterminada de IgG no primeiro trimestre de gestação   | PCR em tempo real do líquido amniótico  | (24)       |
| Estudo de coorte prospectivo                  | 469 gestantes com IgG positivo e IgM positivo ou indefinido                                | PCR do líquido amniótico, sangue materno e do neonato   | (25)       |
| Estudo retrospectivo                          | 516 pacientes e 43 fetos/crianças com menos de 12 meses de vida com toxoplasmose congênita | PCR do líquido amniótico  | (26)       |
| Estudo observacional transversal              | 80 gestantes com toxoplasmose gestacional  | PCR de líquido amniótico e placenta e/ou inoculação em camundongo   | (9)        |
| Estudo prospectivo                            | 500 amostras de sangue materno e cordão umbilical  | IgG, IgM e PCR (se sorologia positiva)  | (27)       |

teste de avides de IgG, que resulta em baixa avides (<30%) para os casos cuja infecção ocorreu nas últimas 12 semanas e alta avides (>60%) para aqueles ocorridos há mais de 12 semanas.<sup>(28)</sup> Nos casos de infecção materna aguda ou nos casos de exames sorológicos com alta suspeita de infecção adquirida durante a gestação, deve-se fazer a amniocentese e a PCR – exame que apresenta boa acurácia e que se tornou procedimento de escolha no diagnóstico da infecção fetal.<sup>(14)</sup> Em um estudo realizado com 12 neonatos, a toxoplasmose congênita foi confirmada em 50% destes pela PCR positiva para o *T. gondii* no sangue periférico coletado até 15 dias após o nascimento.<sup>(12)</sup> Cabe ressaltar que em um dos

neonatos a PCR positiva foi o primeiro exame que confirmou o diagnóstico de toxoplasmose congênita, o que permitiu o início do tratamento antiparasitário a fim de minimizar as consequências da doença.

A sensibilidade e especificidade dos testes usados para a investigação da infecção fetal tem sido relatada na literatura. Em estudo realizado em Israel com fetos e/ou crianças com menos de 12 meses de vida com toxoplasmose congênita, a sensibilidade da PCR juntamente com o teste de IgM foi de 93%.<sup>(26)</sup> Em outro estudo, conduzido com neonatos infectados e não infectados, a sensibilidade geral da PCR convencional e em tempo real foi de 82,6%.<sup>(17)</sup> Achados de outro estudo

comparativo incluem sensibilidades de 81% para PCR do material placentário, 58% para inoculação em camundongos e 15% para cultura celular.<sup>(13)</sup> Por outro lado, uma sensibilidade inferior, correspondendo a 54%, mas especificidade superior (de 100%) foi relatada em um estudo realizado na França. A sensibilidade variou de 33% a 68% quando o diagnóstico antenatal foi positivo e negativo ou ausente, respectivamente. Os autores relacionaram tais diferenças na sensibilidade ao tratamento antenatal dos casos diagnosticados.<sup>(18)</sup>

Alguns estudos têm evidenciado a importância de combinar os resultados do teste de avididade de IgG no sangue materno e PCR do líquido amniótico e sangue do neonato para o diagnóstico de toxoplasmose gestacional/congênita. Entre eles, um estudo realizado no Japão relatou PCR positiva do líquido amniótico da amniocentese pré-natal ou no parto, ou no sangue do neonato. Mais de 50% dos casos investigados (7/12) foram diagnosticados como tendo toxoplasmose congênita, e tinham baixa avididade de IgG.<sup>(25)</sup> Outro estudo, realizado com 346 gestantes sob suspeita de infecção primária pelo *T. gondii*, mostrou que a PCR do líquido amniótico foi negativa em apenas um dos 15 neonatos infectados com o protozoário.<sup>(22)</sup> Os autores relacionam os resultados da PCR negativa à falha do teste, erradicação do parasito pelo tratamento antes da amniocentese e transmissão placentária tardia resultando na transmissão do protozoário após a amniocentese. Ademais, outro estudo evidenciou a transmissão vertical da toxoplasmose em 28% (7/25) das pacientes com anticorpos IgM positivo, através da realização da PCR e testes sorológicos nos recém-nascidos.<sup>(20)</sup>

Apesar de a técnica de PCR ter sido utilizada como exame complementar para diagnóstico confirmatório da infecção congênita, existem algumas inconsistências na literatura. Em estudo realizado em um hospital público do Rio de Janeiro, a PCR apresentou resultado negativo nas sete gestantes em que foi realizada, sendo inconclusiva para avaliação da sua eficácia.<sup>(14)</sup> A PCR também foi negativa quando usada para triagem da toxoplasmose congênita/gestacional em pacientes cuja sorologia foi positiva para anticorpos IgG e IgM.<sup>(27)</sup> Em outro estudo retrospectivo realizado na Itália com 778 pacientes no primeiro trimestre de gestação, com avididade de IgG baixa ou indeterminada, a PCR do líquido amniótico foi positiva em apenas duas, sendo que, destas, o diagnóstico de toxoplasmose congênita foi confirmado em uma. Isso pode ter ocorrido porque as pacientes estavam em tratamento.<sup>(24)</sup> Em outro estudo, a PCR foi positiva no líquido amniótico em apenas 6,2% (9/146) das pacientes com IgG com baixa avididade.<sup>(15)</sup>

Ainda nesse contexto, os resultados de uma metanálise acerca da realização da PCR em líquido amniótico reforçam que estudos sobre ensaios de PCR para toxoplasmose fetal são geralmente suscetíveis a vieses.<sup>(21)</sup> A falta de padronização da PCR para *Toxoplasma* devido à diversidade de métodos desenvolvidos em laboratório representa um obstáculo para o diagnóstico da toxoplasmose congênita. No Brasil, além da falta de padronização dos testes, a falta de obrigatoriedade em triar componentes sanguíneos para toxoplasmose em gestantes é um grave problema enfrentado no Sistema Único de Saúde. Ademais, existem poucos grupos de estudo no Brasil em área básica, para realização de pesquisas em genômica e proteômica de cepas de *T. gondii*, para o design de novos métodos diagnósticos, drogas parasiticidas e de um modelo vacinal para humanos e animais.<sup>(1,2,14)</sup>

No entanto, uma PCR positiva usando líquido amniótico ou sangue do cordão umbilical confirma a toxoplasmose congênita, constituindo o teste biológico mais informativo para o diagnóstico da doença no pré-natal. Ressalta-se que as mulheres grávidas devem ter um acompanhamento sorológico mensal, direcionando para a amniocentese e PCR quando uma infecção primária for documentada.<sup>(2)</sup>

Outro aspecto que deve ser destacado refere-se ao tipo de PCR. A PCR em tempo real é uma metodologia rápida, sensível e quantitativa de detecção do *T. gondii* em amostras clínicas. Este método pode ser usado para estimar a concentração de parasitos no fluido corporal e, no caso de líquido amniótico, é capaz de contribuir precocemente para o prognóstico da toxoplasmose congênita.<sup>(29)</sup> No entanto, cabe ressaltar que há relatos na literatura de pacientes IgM-negativos com PCR positiva, o que pode implicar falsa positividade ou ocorrência de parasitemia na fase crônica da doença.<sup>(16)</sup>

Os três tipos de PCR (*nested*, convencional e em tempo real) foram testados em um estudo. Dentre os achados, observou-se que a PCR em tempo real não foi mais sensível que a convencional. Ambas apresentaram sensibilidade de 88% e especificidade de 100%, ao passo que a *nested*-PCR (*kit* comercial) apresentou sensibilidade menor que 50%, demonstrando que os padrões dos kits comerciais não devem se basear no DNA pré-extraído, mas devem ter como objetivo avaliar o desempenho do método de extração e da própria PCR.<sup>(16)</sup> Similarmente, a PCR em tempo real também não apresentou melhor sensibilidade em comparação à convencional em outro estudo realizado com neonatos com infecção congênita e não infectados.<sup>(17)</sup> Desta forma, mais estudos são necessários para explorar o potencial dessa técnica no diagnóstico da toxoplasmose.

## CONCLUSÃO

A otimização de um rastreamento para a toxoplasmose depende de fatores como o investimento na prevenção primária nas mulheres soronegativas, antes e durante a gravidez, rastreamento mensal da mulher soronegativa, diagnóstico acurado de infecção fetal e terapêutica adequada para cada caso, estudo evolutivo do recém-nascido infectado até prova de que não está infectado e estudo evolutivo correto nas crianças com infecção comprovada. Com estas ações, a prevenção primária, secundária e o diagnóstico e tratamento da toxoplasmose congênita estariam completos.

Diversos estudos nacionais e internacionais demonstraram a importância da utilização da PCR para o diagnóstico confirmatório da toxoplasmose congênita. O pré-natal é muito importante no acompanhamento de uma gestante com toxoplasmose aguda, pois melhora consideravelmente o prognóstico de latentes infectados. A triagem materna para a detecção precoce da toxoplasmose é uma importante ferramenta que permite a adoção de medidas profiláticas e/ou terapêuticas, reduzindo a taxa de transmissão vertical e danos ao desenvolvimento do feto. A PCR constitui-se de um instrumento valioso, no entanto o diagnóstico da toxoplasmose ainda é baseado na sorologia.

Apesar de muitos estudos terem utilizado a PCR para o diagnóstico confirmatório da toxoplasmose gestacional/congênita nos últimos anos, a comparação de seus resultados está sujeita a vieses em virtude da prevalência da toxoplasmose na população amostrada, do período da coleta de amostras, realização de tratamento pela gestante, do tipo da amostra e técnica de PCR utilizada. Não obstante, as técnicas moleculares se encontram em constante avaliação, e sendo assim, apesar de ser ainda cedo para determinar uma técnica padrão-ouro diferente da sorologia, a PCR é um método promissor que pode complementar os resultados sorológicos e nortear a conduta clínica.

## REFERÊNCIAS

1. Figueiro-Filho EA, Lopes AHA, Senefonte FRA, Júnior VGS, Botelho CA, Figueiredo MS, et al. Toxoplasmose aguda: estudo da frequência, taxa de transmissão vertical e relação entre os testes diagnósticos materno-fetais em gestantes em estado da Região Centro-Oeste do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2005;27(8):442-9.
2. Robert-Gangneux F, Brenier-Pinchart MP, Yera H, Belaz S, Varlet-Marie E, Bastien P. Evaluation of *Toxoplasma* ELITE MGB realtime PCR assay for diagnosis of toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2017;55:1369-76.
3. Moraes CL, Mendonça CR, Arruda JT, Melo NC, Tacon FSA, Amaral WN. Infecção congênita – diagnóstico e tratamento materno-fetal. *Res Society Development* 2020;9(8): e137984965.
4. Wallon M, Franck J, Thulliez P, Huisoud C, Peyron F, Garcia-Meric P, et al. Accuracy of real-time polymerase chain reaction for *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid. *Obstet Gynecol.* 2010;115:727-33.
5. Foulon W, Naessens A, Ho-Yen D. Prevention of congenital toxoplasmosis. *J Perinat Med.* 2000;28:337-45.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de Notificação e Investigação: Toxoplasmose gestacional e congênita [recurso eletrônico]/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 31 p.
7. Jones JMD, Lopez AMHS, Wilson MMS. Congenital toxoplasmosis. *Am Family Physician* 2003;67:2131-8.
8. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Atenção à Saúde do Recém-Nascido: Guia para os Profissionais de Saúde. 2a ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde; 2014.
9. Lahmar I, Lachkhem A, Babba O, Slama D, Trabelsi A, Passebosc-Faure K, Dardé ML, Babba H. First isolation and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* strains from human congenital toxoplasmosis cases in Monastir, Tunisia. *Scientific Reports* 2020;10:1963.
10. Remington JS, McLeod R, Thulliez P, Desmonts G. Toxoplasmosis infectious disease of the fetus and newborn infant. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2006.
11. Wallon M, Peyron F, Cornu C, Vinault S, Abrahamowicz M, Kopp CB, et al. Congenital toxoplasma infection: monthly prenatal screening decreases transmission rate and improves clinical outcome at age 3 years. *Clin Infect Dis Soc Am.* 2013;56:1223-31.
12. Stekers Y, Ribot J, Albaba S, Issert E, Bastien P, Pratlong F. Diagnosis of congenital toxoplasmosis by polymerase chain reaction on neonatal peripheral blood. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;71(2):174-6.
13. Rashad AG. Polymerase chain reaction in the diagnosis of congenital toxoplasmosis: More than two decades of development and evaluation. *Parasitol Res.* 2011;108(3):505-12.
14. Pessanha TM, Carvalho M, Pone MVS, Júnior SCG. Abordagem diagnóstica e terapêutica da toxoplasmose em gestantes e as repercussões no recém-nascido. *Rev Paul Pediatr.* 2011;29(3):341-7.
15. Yamada H, Nishikawa A, Yamamoto T, Mizue Y, Yamada T, Morizane M, Tairaku S, Nishihira J. Prospective study of congenital toxoplasmosis screening with use of IgG avidity and multiplex nested PCR methods. *J Clin Microbiol.* 2011;49(7):2552-6.
16. Morelle C, Varlet-Marie E, Brenier-Pinchart MP, Cassaing S, Pelloux H, Bastien P, et al. Comparative assessment of a commercial kit and two laboratory-developed PCR assays for molecular diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2012;50(12):3977-82.
17. Torres E, Rivera R, Cardona N, Sanchez V, Lara F, Gómez-Marin JE. Evaluation of IgG anti-*Toxoplasma* avidity and polymerase chain reaction in the postnatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Pediatr Infect Dis J.* 2013;32(6):693-5.
18. Filisetti D, Year H, Villard O, Escande B, Wafo E, Houfflin-Debarge V, Delhaes L, Bastien P. Contribution of neonatal amniotic fluid testing to diagnosis of congenital toxoplasmosis. *J Clin Microbiol.* 2015;53(5):1719-21.
19. Prusa AR, Kasper DC, Pollak A, Olischar M, Gleiss A, Hayde M. Amniocentesis for the detection of congenital toxoplasmosis: results from the nationwide Austrian prenatal screening program. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(2):191e1-8.
20. Silva MG, Vinaud MC, Castro AM. Prevalence of toxoplasmosis in pregnant women and vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in patients from basic units of health from Gurupi, Tocantins, Brazil, from 2012 to 2014. *Plos One* 2015;10(11):e0141700.
21. Azevedo CTO, Brasil PE, Guida L, Moreira MEL. Performance of polymerase chain reaction analysis of the amniotic fluid of pregnant women for diagnosis of congenital toxoplasmosis: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2016;11(4):e0149938.

22. Findal G, Helbig A, Haugen G, Jenum PA, Pedersen BS. Management of suspected primary *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women in Norway: twenty years of experience of amniocentesis in a low-prevalence population. *BMC Pregnancy Childbirth* 2017;17:127.
23. Diesel AA, Zachia SA, Müller ALL, Perez AV, Uberti FAF, Magalhães JAA. Follow-up of toxoplasmosis during pregnancy: ten-year experience in a university hospital in Southern Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2019;41(9):539-47.
24. Tomasoni LR, Messina G, Genco F, Scudeller L, Prestia M, Spinoni V, Bonfanti C, Prefumo F, Castelli F, Meroni, V. Risk of congenital toxoplasmosis with low or indeterminate anti-*Toxoplasma* IgG avidity index in the first trimester of pregnancy: an observational retrospective study. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(6):761-e9.
25. Yamada H, Tanimura K, Deguchi M, Tairaku S, Morizane M, Uchida A, Ebina Y, Nishikawa A. A cohort study of maternal screening for congenital *Toxoplasma gondii* infection: 12 years' experience. *J Infect Chemother.* 2019;25(6):427-30.
26. Kahan Y, Avidar M, Gottesman BS, Riklis I, Dveyrin Z, Dalal I, Meir M, Glikman D, Bilavsky E, Sherman G, Shehadeh S, Tasher D. Characterization of congenital toxoplasmosis in Israel: a 17-year nationwide study experience. *Pediatr Infect Dis J.* 2020;39(6):553-9.
27. Al-Yami F, Dar FK, Yousef AI, Al-Qurouni BH, Al-Jamea LH, Rabaan AA, Quiambao JV, Arulanantham ZJ, Woodman A. A pilot study on screening for gestacional/congenital pregnant women at delivery in the Eastern Province of Saudi Arabia. *Saudi Pharmaceutical J.* 2021;29(4):343-50.
28. Montoya JG, Rosso F. Diagnosis and management of toxoplasmosis. *Clin Perinatol* 2005;32:705-26.
29. Lopez A, Dietz VJ, Wilson M, Navin TR, Jones JL. Preventing congenital toxoplasmosis. *MMWR Recomm Rep.* 2000;49:59-68.