
Toxoplasmose Congênita: Uma Doença Negligenciada? Atual política de saúde pública brasileira

Congenital Toxoplasmosis: A Neglected Disease? – Current Brazilian public health policy

Toxoplasmose congênita : Une maladie négligée ? – Actuelle politique de santé publique brésilienne

Toxoplasmosis Congénita: ¿Una Enfermedad Desatendida? – La actual política de salud pública brasileña

Rogério S.Vaz, Patrícia Rauli, Rosiane Guetter Mello and Marco A. Cardoso



Publisher
Institut Veolia Environnement

Electronic version

URL: <http://factsreports.revues.org/1107>

ISSN: 1867-8521

Electronic reference

Rogério S.Vaz, Patrícia Rauli, Rosiane Guetter Mello and Marco A. Cardoso, « Toxoplasmose Congênita: Uma Doença Negligenciada? Atual política de saúde pública brasileira », *Field Actions Science Reports* [Online], Special Issue 3 | 2011, Online since 02 November 2011, connection on 30 September 2016. URL : <http://factsreports.revues.org/1107>

The text is a facsimile of the print edition.

Creative Commons Attribution 3.0 License

Toxoplasmose Congênita: Uma Doença Negligenciada? –Atual política de saúde pública brasileira

Rogério S.Vaz^{1,2}, Patrícia Rauli¹, Rosiane Guetter Mello^{1,2,3}, Marco A. Cardoso³

¹Faculdades Pequeno Príncipe

²Núcleo de Pesquisas Farmacêuticas e Biomédicas

³Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe

Resumo/Abstract. A toxoplasmose é uma doença cosmopolita causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii*. A infecção pode ser adquirida através da ingestão de carne crua ou mal cozida, leite não pasteurizado, transplante de órgãos, transfusão de sangue, pela placenta na transmissão vertical ou contato direto com fezes de felídeos infectados ou ainda pela ingestão de oocistos esporulados na água ou alimentos. Em indivíduos imunocompetentes é geralmente assintomática. Todavia, em pacientes com graus variados de imunocomprometimento e em gestantes pode causar seqüelas severas, chegando mesmo a ser fatal. Em gestantes o diagnóstico pré-natal deve ser o mais precoce possível, para que haja a intervenção de terapia protocolar para reduzir a parasitemia e evitar a infecção transplacentária. Apesar da alta prevalência de indivíduos infectados em todo o mundo (20-90%), em alguns países da União Européia, como a França e a Áustria, a incidência média de toxoplasmose fetal foi reduzida de 40% para 7%, isto através de programas direcionados. **No Brasil** a soroprevalência pode variar entre 40% a > 80% (Sul/Sudeste-Norte/Centro-Oeste/Nordeste), e estes dados refletem uma disparidade significativa entre políticas de saúde pública e recursos aplicados nas diferentes regiões do país e o IDH de cada uma. A falta de dados consistentes sobre soroprevalência por regiões com periodicidade são fatores que dificultam a compreensão e importância desta infecção e o planejamento específico de políticas e estratégias de saúde pública. Outro dado importante é a falta de obrigatoriedade dos Serviços de Hemoterapia em triar componentes sanguíneos para toxoplasmose, ao menos para pacientes imunocomprometido e gestantes, o mesmo aplica-se para transplantes de órgãos sólidos e não sólidos. No que tange a pesquisa básica e clínica, a toxoplasmose não é prioritária, se comparada a alocação de verbas e incentivos do governo para outras doenças tropicais como, por exemplo: Chagas, Leishmaniose, Dengue. Existem também poucos grupos de estudo no Brasil em área básica, para estudos de genômica e proteômica de cepas de *T. gondii*, para o design de novos métodos diagnósticos, drogas parasitocidas e de um modelo vacinal para humanos e animais. Neste artigo encontram-se revisados os aspectos históricos, taxonomia e epidemiológicos, métodos diagnósticos, tratamento, técnico-científicos do *Toxoplasma gondii* e da toxoplasmose no cenário brasileiro.

Palavras Chave. Toxoplasmose, *toxoplasma gondii*, epidemiologia, políticas de saúde pública.

1 Aspectos históricos da toxoplasmose

O *Toxoplasma gondii* foi descrito por Splendore em 1908 no **Brasil**, parasitando coelhos de laboratório e por Nicole Manceaux, no mesmo ano, em um roedor da espécie *Ctenodactylus gondii*, no Instituto Pasteur da Tunísia (Neves, 1994; Cimerman, 1999). Inicialmente foi chamado de “*Leishmania gondii*” por sua similaridade com protozoários do gênero *Leishmania* sp. A adequação da nomenclatura ocorreu em 1909 (Nicolle Manceaux, 1909). A primeira descrição de infecção humana por este parasito foi feita por

Jankü, em 1923, com o relato de um caso de uma criança falecida em Praga (Cimerman, 1999). Torres *et al.*, em 1927, descreveram no **Rio de Janeiro** a presença de microrganismos que identificaram como *Toxoplasma*, em cortes histológicos de cérebro, miocárdio e músculo esquelético de um recém nascido falecido no 29º dia de vida. Wolf Cohen, em 1937, foram os primeiros autores a descrever a infecção congênita no homem, relatando a ocorrência de toxoplasmose em recém nascido com encefalite, meningite e mielite.

Pinkerton & Weinman, em 1940, e Pinkerton & Henderson, em 1941, nos Estados Unidos, registraram a ocorrência da toxoplasmose em adultos, com o isolamento do parasito. Mas, somente após o desenvolvimento de um teste sorológico, o clássico teste do corante (dye test) de Sabin & Feldman,

desenvolvido em 1948, é que foi possível demonstrar a alta prevalência desta doença em todo mundo, o que contribuiu imensamente para o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose, possibilitando a realização de inquéritos epidemiológicos (Neves, 2000). Finalmente, Frenkel *et al.*, 1970 elucidou que os oocistos representam a fase sexuada do agente. Miller *et al.*, 1972, provaram que os únicos mamíferos capazes de suportar o ciclo sexuada intestinal do *T. gondii* e excretar os oocistos são os felinos, tanto domésticos quanto selvagens. Os estudos sobre essa doença são abundantes, sendo que, atualmente, a importância desta protozoose está claramente caracterizada (Villeneuve, 2003). Após uma densa revisão da literatura médica existente a respeito da toxoplasmose ela poderia ser dividida em quatro etapas no que se refere à evolução dos conhecimentos sobre o assunto: a primeira caracteriza-se pela descoberta do agente etiológico; a segunda pela descrição da infecção no homem; a terceira refere-se à introdução de reações sorológicas para diagnóstico e, enfim, a identificação do hospedeiro definitivo.

1.1 Classificação

O *Toxoplasma gondii*, segundo Levine (1977, 1980) é um protozoário

Parasito pertencente ao

Filo Protozoa

Sub-filo Apicomplexa

Classe Sporozoa

Família Sarcocystidae

Sub-família Toxoplasmatinae

Gênero *Toxoplasma* (Nicolle & Manceaux, 1909)

Espécie *T. gondii* (Nicolle & Manceaux, 1909)

Desde a classificação proposta pela Sociedade de Protozoologistas (Levine *et al.*, 1980), não houve mudanças significativas quanto a compreensão das linhagens filogenéticas de eucariotas. Porém, com o advento da biologia molecular muito se tem estudado a respeito da variabilidade genética supra e infra-grupos. Adl *et al.*, 2005, propõem nova sistemática para os organismos eucariotas. Estes autores sugerem a organização em seis clusters filogenéticos principais: (1) Opisthokonta (animais, fungos, coanoflagelados e Mesomycetozoa); (2) Amoebozoa (amoebae, amoebae-flagelados); (3) Excavata (Euglenozoa, flagelados heterotróficos, Diplomonados); (4) Rhizaria (foraminífera); (5) Archaeplastida (plantas e algas) e Chromalveolata (Ciliados, Dinoflagelados e Apicomplexa). O *Toxoplasma gondii* fica no grupo Chromalveolata, subgrupos Alveolata: Apicomplexa: Coccidiasina.

2 Introdução

A toxoplasmose é uma infecção muito frequente na população humana sendo descritas taxas de prevalência, variável de 20 a 90% da população adulta mundial. A soroprevalência

varia conforme as regiões, sobretudo quando relacionadas a condições sanitárias e índices sócio-econômicos (Hill & Dubey, 2002; Spalding *et al.* 2003). A gravidade da infecção causada pelo *T. gondii* pode variar conforme a condição imunológica humoral e celular do indivíduo, indo de sintomas muito brandos (similar a uma gripe) ou ausentes, a formas clínicas exuberantes. As formas clínicas graves geralmente ocorrem em indivíduos imunocomprometidos e em gestantes. Indivíduos imunocomprometidos (HIV+, oncológicos, transplantados ou com imunodeficiências genéticas e diabetes), podem apresentar elevados índices de morbidade e mortalidade (Ho-Yen, 1992; Israelski & Remington, 1993; Lewden *et al.*, 2005; Khurana *et al.*, 2005). Em caso de infecção, nestes indivíduos, o parasito tem tropismo pelo sistema nervoso. A doença se manifesta mais frequentemente por quadros neurológicos e pode ser fatal em caso de atraso na instituição do tratamento. A transmissão transplacentária pode ocorrer por infecção primária ao longo dos três trimestres da gestação (Pelloux *et al.*, 2002; Remington *et al.*, 2001). Se a infecção é adquirida durante a gestação o parasito pode se alojar na placenta e aí se desenvolver pelo resto da gestação. Em um grande número de casos pode atingir o feto. A gravidade das lesões está relacionada à fase gestacional e consequências podem ser maiores quanto mais jovens forem os fetos, podendo ocorrer abortamento, nati-mortos ou hidrocefalia. Se a infecção for mais tardia poderá haver distúrbios visuais, auditivos ou retardamento mental. Métodos imunoenzimáticos permitem avaliar o perfil imune humoral da gestante e estabelecer o risco da infecção conforme a idade gestacional (IG) e possibilitam a inclusão da gestante em protocolos terapêuticos que visam inibir a parasitemia (Pinon, 2001; Remington, 2004). A combinação de drogas tóxicas antiparasitárias, como a pirimetamina e a espiramicina, nem sempre impede a transmissão, nem garante a eliminação total de taquizoítos (Peyron *et al.*, 2001; Binquet, 2004). Métodos moleculares, como a PCR qualitativa para o gene *BL* (que se encontra repetido 35 vezes no genoma do *T. gondii*) são utilizados para avaliar a eficácia do tratamento em amostras clínicas como: líquido amniótico, sangue de cordão, placenta, humor aquoso e em tecidos diversos infectados pelo *T. gondii* (Burg *et al.*, 1989; Grover *et al.*, 1990; Hohfeld *et al.*, 1994; Pelloux *et al.*, 1996; Jones *et al.*, 2000; Spalding *et al.*, 2002; Remington *et al.*, 2004). A persistência de parasitas em amostras biológicas de gestantes tratadas pode indicar a refratariedade do parasita as drogas, possivelmente por diferenças genéticas entre as cepas de *Toxoplasma gondii* isoladas (Ajzenberg *et al.*, 2002; Dardé *et al.*, 2004; Vaz, 2006; Vaz, 2010). A caracterização molecular das cepas de *Toxoplasma gondii*, por técnicas como: análises isoenzimáticas, polimorfismo de fragmentos de DNA por restrição enzimática (RFLP-PCR), sequenciamento automatizado, DNA polimórfico amplificado de forma randômica (RAPD), permite estabelecer uma relação entre o genótipo e virulência da cepa isolada, além da correlação das cepas e refratariedade às drogas utilizadas no tratamento da infecção (Sibley *et al.*, 1992; Dardé *et al.*, 1992; Cristina *et al.*, 1995; Guo *et al.*, 1995; Howe *et al.*, 1997; Dardé *et al.*, 2004). As linhagens clonais identificadas por estas técnicas são dos

tipos: I, II e III, e estão relacionadas ao gene SAG2 do *T.gondii*, sendo encontradas em cepas isoladas em humanos e animais (Sibley *et al.*, 1992; Fuentes, 2001; Vaz, 2010). Filogeneticamente, os genótipos dos Tipos II e III pertencem ao mesmo grupo, contudo o genótipo do tipo II é mais prevalente em camundongos e em cepas mantidas em cultivo celular. O genótipo do tipo I, está mais associado a Toxoplasmose congênita (Fuentes *et al.*, 2001; Ajzenberg *et al.*, 2002; Vaz, 2010). **No Brasil**, existem estudos que demonstram variações da prevalência da Toxoplasmose na população adulta imunocompetente, e na população de gestantes, assim como da relação e comparação de métodos de diagnóstico diversos (imunológicos e parasitológicos), incluindo métodos de detecção do DNA do *T. gondii* em amostras clínicas diversas. Contudo, estes estudos são pontuais e não revelam uma consistência e periodicidade necessários para o estabelecimento de planejamento de políticas de saúde públicas para reverter índices de soroprevalência, fortemente associados a IDH por região, infra-estrutura sanitária. Também, são raros os grupos de pesquisa brasileiros que publicam artigos que tratam da relação entre genótipos isolados, drogas protocolares utilizadas e persistência de parasitos e severidade associada a infecções na gestação (Jaquier, 1995; Camargo *et al.*, 1996; Cantos, 2000; Lopez *et al.*, 2000; Coppens *et al.*, 2001; Spalding & Amendoeira, 2003). A provável causa desta situação, talvez seja a não priorização da Toxoplasmose em detrimento de outras doenças como: chagas, leishmaniose e dengue, que recebem verbas públicas de peso.

3 Epidemiologia da toxoplasmose congênita no Brasil

A prevalência da infecção pelo *T. gondii* pode variar muito entre diferentes países, diferentes regiões no mesmo país e diferentes grupos populacionais dentro da mesma região (Remington *et al.* 2001). Estas diferenças são relacionadas as características do parasita, como por exemplo, o alto poder de infectividade e coexistência pacífica com o hospedeiro, a capacidade de infectar milhares de espécies animais, incluído animais aquáticos, terrestres e aéreos, pode habitar as mais diversas regiões do globo em menor proporção nas áreas de clima muito frio, áridas e nas grandes altitudes. Outros fatores que interferem na epidemiologia do *T. gondii* são os hábitos alimentares e as características culturais.

A prevalência de toxoplasmose, em gestantes, no Brasil é muito variável. Este fato está correlacionado as diferenças climáticas, culturais, e, sobretudo socioeconômicas da população (Couto *et al.*, 2003; Vaz e Thomaz-Soccol, 2010). Recentemente, Neto e colaboradores (2010) realizaram uma estimativa da distribuição regional da toxoplasmose Congênita no Brasil a partir de resultados de triagem neonatal. Os resultados apontaram uma prevalência geral de toxoplasmose Congênita de 1/1.613, variando de 1/1547 a 1/495 em diferentes estados. De acordo com a tabela do trabalho acima citado (tabela-1) os estados mais acometidos são Pará, Rondônia, Mato Grosso e Maranhão. Já os estados de São Paulo, Paraná, Mato Grosso do Sul e alguns do nordeste apresentaram uma baixa prevalência. Estes estudos apontam a

necessidade de políticas de saúde e de educação voltadas à prevenção e ao controle da toxoplasmose Congênita no Brasil, respeitando as diferenças de cada estado.

Em alguns estados existem programas de saúde pública que visam a diminuição da mortalidade de mulheres e crianças durante o processo de gravidez e nascimento. Um exemplo é o Programa Mãe Curitiba, desenvolvido na cidade de Curitiba capital do estado do Paraná. Criado em 1999, no dia internacional da mulher, este Programa tem buscado melhorar o acesso e a qualidade do atendimento pré-natal, parto, puerpério, e atenção aos recém-nascidos nas unidades de saúde e maternidades. No que diz respeito a prevenção e tratamento das infecções maternas e congênicas o Mãe Curitibana apresenta um protocolo de atuação em relação a Toxoplasmose. Os casos suspeitos são submetidos à investigação sorológica e de acordo com os resultados são considerados: 1- Casos descartados (RN com títulos de IgG e IgM negativos); 2- Casos confirmados (Criança com ou sem manifestação clínica e/ou título de IgM positivo após uma semana de vida, título de IgG persistentemente elevada ou em ascensão, presença de *Toxoplasma gondii* em tecido placentário); 3- Casos em investigação (Crianças com títulos de IgG decrescente e IgM negativo aos 30 dias de vida, devem ser acompanhados até negatificação da sorologia).

O Brasil apresenta um programa pré-natal, do Ministério da Saúde, que prevê a realização do diagnóstico clínico-laboratorial das gestantes e filhos expostos ao risco de *T. gondii* a todas as usuárias que buscam atendimento. Porém existem muitas dificuldades relacionadas as partes técnicas e operacionais, bem como os problemas de interpretação do diagnóstico laboratorial. Desta forma ao conhecer a prevalência de gestantes susceptíveis à toxoplasmose nos vários estados brasileiros, e ao considerar os fatores de risco para cada região é possível implementar estratégias de controle eficazes.

4 Toxoplasmose-tratamento

Apesar da importância da toxoplasmose, ainda hoje há poucos tratamentos efetivos para esta doença sendo seu objetivo principal reduzir a taxa de replicação dos parasitas a fim de evitar danos mais extensos dos órgãos envolvidos. Desta forma, nota-se que a terapia medicamentosa contínua é essencial aos pacientes para garantir a prevenção de complicações severas. Medicamentos ideais para o tratamento da toxoplasmose devem ser efetivos, facilmente obtidos com um custo acessível e não manifestar toxicidade ou desenvolver reações de hipersensibilidade. Eles também não podem apresentar riscos de teratogenia ou má-formação, permitindo que mulheres grávidas possam utilizá-los devendo, também, estar disponíveis em apresentações parenterais para os pacientes impossibilitados de ingerir a medicação. Além disto, precisam ser efetivos contra todas as cepas de *T. gondii*, serem capazes de matar os taquizoítos e possuir alta penetração ocular e cerebral (Mui, *et al.*, 2008). No entanto, várias destas características ideais não são observadas comprometendo o tratamento da doença. Desde o início da década de 1990 o tratamento padrão permanece inalterado, focando apenas o metabolismo de nucleotídeos do parasita.

Tabela 1. Prevalência de toxoplasmose congênita em cada estado do Brasil a partir de um screening em neonatos que passaram por triagem no período de setembro/1995 à julho/2009.

ESTADO	População total por estado	Número de amostras	Número de positivos	Número de neonatos testados para cada caso positivo	Número de positivos a cada 10.000 neonatos testados
Pará (PA)	7.065.573	14.835	30	495	20
Rondônia (RO)	1.453.756	2.021	4	505	20
Mato Grosso (MT)	2.854.652	9.875	19	520	19
Maranhão (MA)	6.118.995	4.033	6	672	15
Espírito Santo (ES)	3.351.669	4.158	6	693	14
Sergipe (SE)	1.939.426	829	1	829	12
Santa Catarina (SC)	5.866.252	20.517	21	977	10
Bahia (BA)	14.080.654	22.659	22	1.030	10
Roraima (RR)	395.725	2.124	2	1.062	9
Piauí (PI)	3.032.421	6.409	6	1.068	9
Amapá (AP)	587.311	1.086	1	1.086	9
Tocantins (TO)	1.243.627	1.109	1	1.109	9
Rio Grande do Sul (RS)	10.582.840	280.962	200	1.405	7
Goiás (GO)	5.647.035	14.804	10	1.480	7
Minas Gerais (MS)	19.273.506	61.661	38	1.623	6
Ceará (CE)	8.185.286	20.788	11	1.890	5
Distrito Federal (DF)	2.455.903	11.420	6	1.903	5
Pernambuco (PE)	8.485.386	64.915	28	2.318	4
Paraíba (PB)	3.641.395	26.264	11	2.388	4
Paraná (PR)	10.284.503	32.318	12	2.693	4
Rio de Janeiro (RJ)	15.420.375	65.585	23	2.852	4
Alagoas (AL)	3.037.103	18.105	6	3.018	3
São Paulo (SP)	39.827.570	94.712	29	3.266	3
Rio Grande do Norte (RN)	3.013.740	5.442	1	5.442	2
Mato Grosso do sul (MG)	2.265.274	10.894	2	5.447	2
Amazonas (AM)	3.221.939	2.402	0	-	-
Acre (AC)	655.387	237	0	-	-
Total	183.987.303	800.164	496	1.613	6

Fonte: Neto *et al.*, 2010.

A terapia consiste em uma combinação sinérgica de pirimetamina e sulfadiazina, medicamentos que causam o bloqueio da síntese e redução do nível de ácido fólico nos taquizoítos através da inibição da diidrofolato redutase e diidropteroato sintase, respectivamente (Martins-Duarte, *et al.*, 2009; Boothroyd, 2009). No entanto, a eficácia desta terapia é limitada sendo que aproximadamente 50% dos pacientes não respondem ao tratamento (Safarjalani, *et al.*, 2010). Além disto, os medicamentos empregados atuam apenas nas formas taquizoítas, não afetando os cistos teciduais o que possibilita a recorrência da doença após o tratamento (Martins-Duarte, *et al.*, 2011). Observa-se ainda que a prolongada exposição ao regime medicamentoso vigente está comumente associado a várias reações adversas, principalmente em pacientes portadores de SIDA, incluindo supressão de medula óssea e citopenia geradas pela pirimetamida (Martins-Duarte, *et al.*, 2010) e ocorrência de reações de hipersensibilidade a sulfadiazina como manifestações alérgicas cutâneas (Maubon, *et al.*, 2010) leucopenia, trombocitopenia e febre (Jiang, *et al.*, 2008) além de cálculos renais, hepato e nefro-toxicidades (Mui, *et al.*, 2005). Em geral, ácido fólico é adicionado a estes tratamentos para reduzir o risco de supressão da medula óssea (Montoya e Liesenfeld, 2004). Outras limitações desta terapêutica incluem ainda baixa tolerabilidade, o grande número de comprimidos necessários para o tratamento, a indisponibilidade dos medicamentos em alguns países, o alto custo dos mesmos e a ausência de uma apresentação endovenosa destes compostos (Béraud, *et al.*, 2009). Tendo em vista todas estas dificuldades, terapias alternativas foram desenvolvidas estando disponíveis algumas combinações medicamentosas para substituição do modelo terapêutico clássico. Dentro deste contexto, uma terapia alternativa é a combinação de clindamicina e pirimetamida, que possui eficácia similar a combinação com sulfadiazina, estando também associada a vários efeitos colaterais (Martins-Duarte, *et al.*, 2010).

Antibióticos como cotrimoxazol e clindamicina têm sido usados como uma segunda opção de tratamento (Fung e Kirschenbaum, 1996) além de outros medicamentos, como espiramicina e atovaquona, empregados com sucesso limitado particularmente no tratamento em longo prazo de pacientes portadores de toxoplasmose (Safarjalani, *et al.*, 2008). Outras drogas, como daspona, trimetoprim, pentamidina e azitromicina, também apresentaram atividade anti *T. gondii* sendo utilizadas na clínica apesar dos seus efeitos colaterais (Jiang, *et al.*, 2008). Diante disto, percebe-se que a busca por novas drogas para o tratamento da toxoplasmose revela-se extremamente importante tendo-se em vista que o arsenal terapêutico disponível permanece deficiente. Nos últimos anos, uma nova proposta terapêutica utilizando cotrimoxazol tem se mostrado promissora e mais eficiente no tratamento e profilaxia da encefalite, linfadenite e infecções oculares causadas pelo *T. gondii* (Alavi e Alavi, 2010). O cotrimoxazol (trimetoprim/sulfametoxazol) apresenta-se como um medicamento de custo acessível, amplamente disponível em países em desenvolvimento, possui apresentações na forma parenteral e elevada taxa de difusão para o sistema nervoso central além de ser mais bem tolerado que a terapia clássica empregando pirimetamina/sulfadiazina (Béraud, *et al.*, 2009).

No Brasil observa-se que o modelo de tratamento medicamentoso clássico ainda permanece inalterado empregando a combinação de sulfadiazina, pirimetamina e ácido fólico, alternadamente com espiramicina, tanto em pacientes pediátricos quanto em gestantes (Higa, *et al.*, 2010; Sáfiadi, *et al.*, 2003). Os regimes terapêuticos usados variam conforme os níveis iniciais de IgM sendo que, em geral, mulheres soropositivas (IgM+/IgG-) são tratadas mais frequentemente (Castilho-Pellosso, *et al.*, 2007). Contudo, estudos recentes empregando caracterização genética demonstram que as cepas de *T. gondii* encontradas em certas áreas do Brasil são atípicas, correspondendo majoritariamente ao subtipo I e não aos subtipos II e III observados na Europa e em muitos países anglofônicos do Hemisfério Norte (Vaz, 2006; Vaz, 2010; Vaz e Thomaz-Soccol, 2010). Além disto, mostram-se geneticamente polimórficas e associadas a quadros mais severos da doença em humanos (Mui, *et al.*, 2008). Portanto, estudos adicionais envolvendo a genômica funcional e proteômica do parasita são necessários para o desenvolvimento de novas drogas, uma vacina viável e segura e métodos diagnósticos mais específicos.

5 Discussão

Até o presente momento, não existe de forma consistente no Brasil um programa oficial sobre Toxoplasmose Congênita (TC) em rede nacional para avaliar e acompanhar as gestantes em triagem pré-natal, ao longo dos trimestres gestacionais, assistência no parto e acompanhamento no pós-parto da gestante e do recém-nato, a exemplo de casos isolados como o Programa Mãe Curitiba-Estado do Paraná. Recentemente o Governo do Estado de São Paulo implementou o Programa Mãe Paulistana, para gestantes da cidade de São Paulo, seguindo o modelo do Mãe Curitiba que este ano completa 12 anos, e que obteve uma redução da soroprevalência associada a TC de 53% (dados de coleta 2004–2006) para < 45% (dados recentes). O Governo Federal e o Ministério da Saúde pretendem replicar estes modelos de sucesso para outras capitais, e em médio prazo para a rede pública em todos os estados do país. Mesmo assim, para que novas políticas de saúde pública possam ser efetivadas de forma mais eficaz, seria necessário a coleta de dados de soroprevalência de todas as regiões do país de forma contínua, mês a mês, ano a ano, e desta forma observar a evolução da toxoplasmose no país como um todo e definindo estratégias específicas por regiões com diferentes aspectos socioeconômicos e de infra-estrutura sanitária e de IDH. De maneira geral, não é conhecido (de forma exata) no país o número de gestantes susceptíveis com potencial de soro conversão ao longo dos trimestres gestacionais, e mesmo em relação aos abortos registrados, e qual o percentual associado a toxoplasmose. Em termos de pesquisas científicas em área básica e clínica, o país dispõe de grupos isolados e com linhas de pesquisas específicas por área. Em área de pesquisa básica e inovação tecnológica, a situação é a mesma. Contudo, no Congresso do centenário do *Toxoplasma gondii*-TOXO-100 (Búzios-RJ-setembro de 2008), promovido pelas sociedades brasileira, francesa, européia e norte-americana de Parasitologia, foi observado que as cepas de *T. gondii* brasileiras e sul-americanas eram muito

distintas das cepas norte-americanas e européias, onde no Brasil a cepa mais prevalente e associada a Toxoplasmose Congênita é a do tipo-I, e com características mais agressivas se comparado as cepas do hemisfério norte. Outro aspecto pouco evidenciado, não somente no Brasil, mais no mundo de maneira geral, é a questão da triagem de bolsas sanguíneas para toxoplasmose, ao menos para pacientes imunocomprometidos e em casos de transplantes (Vaz *et al.*, 2008). Não há lei no Brasil que obrigue os centros de Hemoterapia a triar hemocomponentes para esta finalidade, este fato pode abrir perspectivas para infecções justamente em pacientes com fragilidade imune, e tampouco existem estudos nacionais que demonstrem este fato. Para a definição de prevalência de linhagens de cepas de *T. gondii* no Brasil, seria necessária a coleta de amostras clínicas das diversas regiões do país para a caracterização molecular e também para averiguar se ocorrem variações intragenotípicas. Estes dados seriam de grande valia para o desenvolvimento de novas ferramentas diagnósticas, uma vez que a maioria dos métodos, em uso em todo território nacional, é de origem de países da Europa e da América do Norte, e construídos a partir de cepas regionais, e também para possibilitar o desenvolvimento de novas drogas mais eficazes do que as drogas protocolares em uso corrente, as quais não são eficazes em diversas situações clínicas. Também, haveria a possibilidade de novos modelos vacinais, tanto para humanos, quanto para animais. De forma geral, a compreensão em diversos níveis desta infecção parasitária e do parasita no Brasil, abre inúmeras perspectivas de reavaliação do nosso sistema de saúde, da correta dimensão dos grupos de pesquisa e suas abrangências em todo território nacional, e dos potenciais biotecnológicos relacionados. A compreensão desta infecção de forma mais ampla, permitiria saber qual impacto causa na saúde humana e animal no país e quais medidas específicas poderiam ser implementadas em termos de saúde pública, de modo a reverter o atual cenário..

Referências

- Adl, S. M.; Simpson, A. G. B.; Farmer, M. A.; Andersen, R. A.; Anderson, O. R.; Barta, J. R.; Bowser, S. S.; Brugerolle, G.; Fensome, R. A.; Fredericq, S.; James, T. Y.; Karpov, S.; Krugens, P.; Krug, J.; Lane, C. E.; Lewis, L. A.; Lodge, J.; Lynn, D. H.; Mann, D. G.; McCourt, R. M.; Mendoza, L.; Moestrup, O.; Mozley-Standridge, S. E.; Nerad, T. A.; Shearer, C. A.; Smirnov, A. V.; Spiegel, F. W. and Taylor, M. F. J. R. The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. *J Eukaryot Microbiol.* v. 52, n. 5, p. 399-451, 2005.
- Ajzenberg, D.; Cogné, N.; Paris, L.; Bessièrès, M. H.; Thulliez, P.; Filisetti, D.; Pelloux, H.; Marty P.; Dardé, M. L. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* Isolates Associated with Human Congenital Toxoplasmosis, and Correlation with Clinical Findings. *J Infect Dis.* v. 186, n. 5, p. 684-689, 2002.
- Binquet, C.; Wallon, M.; Metral, P.; Gadreau, M.; Quantin, C.; Peyron, F. Toxoplasmosis seroconversion in pregnant women. The differing attitudes in France. *Presse Med.* v. 33, n. 12, p. 775-779, 2004.
- Boothroyd, J. C. (2009) *Toxoplasma gondii*: 25 years and 25 major advances for the Field. *Int J Parasitol.* July 1; 39(8): 935-946.
- Burg, J. I.; Grover, G. M.; Pouletty, P. *et al.* Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii* by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* v. 8, n. 27, p. 1787-1792, 1989.
- Camargo, M. E. Toxoplasmosis. In: Ferreira A. W., Ávila S. L. M. (eds) *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes*, Ed Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 165-174, 1996.
- Cantos, G. A. A.; Prando, M. D.; Siqueira, M. V.; Teixeira, R. M. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. *Rev da Assoc Med Bras.* v. 46, n. 4, p. 335-341, 2000.
- Castilho-Pelloso, M.; Falavigna, D. L. M.; Falavigna-Guilherme, A. L. (2007) Suspected acute toxoplasmosis in pregnant women. *Rev Saúde Pública.*, 41(1):27-34.
- Cimerman B. & Cimerman S., *Parasitologia Humana e seus Fundamentos Gerais*, Ed. Atheneu, São Paulo, 375 p, 1999.
- Coppens, I.; Joiner, K. A. Parasite-host cell interactions in toxoplasmosis: new avenues for intervention? *Expert Rev Mol Med.* Cambridge University Press (CUP), v. 15, 2001.
- Cristina, N.; Dardé, M. L.; Boudin, C.; Tavernier, G.; Pestre-Alexandre, M. And Ambroise-Thomas, P. A DNA fingerprinting method for individual characterization of *Toxoplasma gondii* strains: combination with isoenzymatic characters for determination of linkage groups. *Parasitol.* v. 81, n. 1, p. 32-33, 1995.
- Couto, J. F. C.; Melo, R. N.; Rodrigues, M. V.; LEITE, J. M. (2003) Diagnóstico pré-natal e tratamento da toxoplasmose na gestação. *Femina*, v. 31, n. 1, p. 85-90.
- Dardé, M. L., Bouteille, and M. Pestre-Alexandre. Isoenzyme analysis of 35 *Toxoplasma gondii* isolates and the biological and epidemiological implications. *J Parasitol.* v. 78, n. 5, p. 786-794, 1992.
- Dardé M. L. Genetic analysis of the diversity in *Toxoplasma gondii*. *Ann Ist Super Sanita.* v. 40, n. 1, p. 57-63, 2004.
- Frenkel, J. K.; Dubey, J. P. & Miller, N. L. (1970). *Toxoplasma gondii* in cats: Fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science.* v. 167, n. 919, p. 893-896, 1970.
- Fuentes, I.; Rubio, J. M.; Ramirez, C. and Alvar, J. Genotypic Characterization of *Toxoplasma gondii* Strains Associated with Human Toxoplasmosis in Spain: Direct Analysis from Clinical Samples. *J Clin Microbiol.* v. 39, n. 4, p. 1566-1570, 2001.

- Grover, C. M.; Thulliez, P.; Remington, J. S.; Boothroyd, J. C.. Rapid prenatal diagnosis of congenital *Toxoplasma* infection by using polymerase chain reaction and amniotic fluid. *J Clin Microbiol.* v. 28, n. 10, p. 2297-2301, 1990.
- Guillaume, B.; Sandrine, P. F.; Adeline, F.; Sylvie, A.; Bernard, L.; Didier, S.; Cabié, A. (2009) Cotrimoxazole for Treatment of Cerebral Toxoplasmosis. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80(4), p. 583-587.
- Higa, L. T.; Araújo, L. T.; Tsuneto, L.; Castilho-Pelloso, M.; Garcia, J. L.; Santana, R. G.; Falavigna-Guilherme, A. L. (2010) A prospective study of *Toxoplasma*-positive pregnant women in southern Brazil: a health alert. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 104, p. 400-405.
- Hohlfeld, P.; Daffos, F.; Costa, J. M.; Thulliez, P.; Forestier, F.; Vidaud, M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase chain reaction test on amniotic fluid. *N Engl J Med.* v. 331, n. 11, p. 695-699, 1994.
- Howe, D. K.; Sibley, L. D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. *J Infect Dis.* v. 172, n. 6, p. 1561-1566, 1995.
- Hill, D.; Dubey, J. P. *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. *Clin Microbiol Infect.* v. 8, p. 634-640, 2002.
- Horatio, B. F.; Kirschenbaum, H. A. (1996) Treatment Regimens for Patients with Toxoplasmic Encephalitis. *Clinical Therapeutics.* VOL. 18, NO. 6, p.1037-1056.
- Ho-Yen, D. O.; Joss A. W.; Balfour, A. H.; Smyth, E. T.; Baird, D.; Chatterton, J. M. Use of the polymerase chain reaction to detect *Toxoplasma gondii* in human blood samples. *J Clin Pathol.* v. 45, n. 10, p. 910-913, 1992.
- Israelski, D. M. & Remington, J. S. Toxoplasmosis in patients with cancer. *Clin Infect Dis.* 1993, v. 17, n. 2, p. 423-435, 1993.
- Jacquier, P.; Nadal, D.; Zuber, P.; Eckert, J. The status of infection with *Toxoplasma gondii* in the Swiss population: contribution of a seroepidemiologic study from the Zurich canton. *Schweiz Med Wochenschr Suppl.* v. 65, n. 23S-28S, 1995.
- Jankú, J. Pathogenes a patologická anatomie taknazvaného vi-nozeného kolohome zluté skrný v oku normálne velikém a mikrophthalmickém s nálezem parazitu v sítnici. *Cas Lék Ces.* v. 62, p. 1021-1027, 1054-1059, 1081-1085, 1111-1115, 1138-1144, 1923.
- Jiang, J. H.; Jim, C. M.; Kim, Y. C.; Kim, H. S.; Park, W. C.; Park, H. (2008) Anti-toxoplasmosis Effects of Oleuropein Isolated from *Fraxinus rhychophylla*. *Biol. Pharm. Bull.* 31(12), p. 2273-2276.
- Jones, C. D.; Okhravi, N.; Adamson, P.; Tasker, S. and Susan Lightman. Comparison of PCR Detection Methods for B1, P30, and 18S rDNA Genes of *T. gondii* in Aqueous Humor. *Invest Ophthal & Vis Science.* v. 41, n. 3, 2000.
- Guo, Z. G. and Johnson, A. M. Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* strain by random amplified polymorphic DNA polymerase chain reaction. *Parasitol.* v. 111, (parte 2), p. 127-132, 1995.
- Khurana, S.; Dubey, M. L.; Malla N. Association of Parasitic Infections and Cancers. *Ind J Med Microbiol.* v. 23, n. 2, p. 74-79, 2005.
- Levine, N. D. Some corrections of coccidian (Apicomplexa: Protozoa) nomenclature. *J Parasitol.* v. 66, n. 5, p. 830-834, 1980.
- Lewden, C.; Salmon, D.; Morlat, P.; Bévilaqua, S.; Jouglu, E.; Bonnet, F.; Héripert, L.; Costagliola, D.; May, T.; Chêne, G. and the Mortality 2000 study group. Causes of death among human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults in the era of potent antiretroviral therapy: emerging role of hepatitis and cancers, persistent role of AIDS. *Intl J Epidemiol.* v. 34, n. 1, p. 121-130, 2005.
- Lopez, A; Dietz VJ; Wilson M; Navin TR; Jones J.L. Preventing Congenital Toxoplasmosis. *M M W R-Recommendations and Reports.* v. 49, (RR02), p. 57-75, 2000.
- Martins-Duarte, E. S.; Jones, S. M.; Gilbert, I. H.; Atella, G. C.; Souza, W.; Vommaro, R. C. (2009) Thiolactomycin analogues as potential anti-*Toxoplasma gondii* agents. *Parasitology International* 58, p.411-415.
- Martins-Duarte, E. S.; Lemgruber, L.; Souza, W.; Vommaro, R. C. (2010) *Toxoplasma gondii*: Fluconazole and itraconazole activity against toxoplasmosis in a murine model. *Experimental Parasitology* 124, P. 466-469.
- Martins-Duarte, E. S.; Lemgruber, L.; Lorente, S. O.; Gros, L.; Magaraci, F.; Ian H. Gilbert, Wanderley de Souzaa, Rossiane C. Vommaroa. (2011) Evaluation of three novel azasterols against *Toxoplasma gondii*. *Veterinary Parasitology* 177 p.157-161.
- Maubon, D.; Bougdour, A.; Wong, W.; Brenier-Pinchart, M-P.; Curt, A.; Hakimi, M-A.; Pelloux, M. (2010) Activity of the histone deacetylase inhibitor fr235222 on *Toxoplasma gondii*: inhibition of stage conversion of the parasite cyst form and study of new Derivative Compounds Antimicrobial Agents And Chemotherapy, Nov., p. 4843-4850.
- Miller, N. L.; Frenkel J. K.; Dubey, J. P. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J Parasitol.* v. 58, n. 5, p. 928-937, 1972.
- Montoya, J. G.; Liesenfeld, O. (2004) Toxoplasmosis. *Lancet*, v.363: p. 1965-76.
- Mui, E. J.; Jacobus, D.; Milhous, W. K.; Schiehsler, G.; Hsu, H.; Roberts, C'W.; Kirisits, M. J.; McLeod, R. (2005) Triazine Inhibits *Toxoplasma gondii* Tachyzoites In Vitro and In Vivo. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, aug. p. 3463-3467.
- Mui, E. J.; Schiehsler, G. A.; Milhous, W. K.; Hsu, H.; Roberts, C. W.; Kirisits, M.; Muench, S.; Rice, D.; Dubey, J. P.; Joseph, W.; Fowble, Pradipsinh K. Rathod, Sherry F. Queener, Susan R. Liu, David P. Jacobus, Rima McLeod. (2008) Novel Triazine JPC-2067-B Inhibits *Toxoplasma gondii* In Vitro and In Vivo. *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases*, vol. 2, Issue 3, p. 1-13.
- Neto, C. N.; Amorim, F.; Lago, E. G. (2010) Estimation of the regional distribution of congenital toxoplasmosis in Brazil from the results of neonatal screening. *Sci. Med*, vol. 20, n.1, p. 64-70.
- Neves, J. M.; Nascimento, L. B.; Ramos, J. G. L.; Martins-Costa, S. H. Toxoplasmose na gestação. *Rev Bras Ginecol Obstet.* v. 16, n. 6, p. 197-202, 1994.
- Neves, D. P.; Melo, A. L.; Genaro, O. & Linardi, P. M. *Parasitologia Humana*. 10a. Ed.: Ed. Atheneu, São Paulo, p. 428, 2000.
- Nicole, C.; Manceaux, L. Sur une infection a corps de leishman (ou organismevoisins) du gondii: C.R. Acad Sci. n. 147, p. 763-766, 1908.
- Nicole C, Manceaux L. Sur un protozoaire nouveau du gondii. *Acad Sci.* n. 147, p.763-766, 1909.
- Pelloux, H.; Fricker-Hidalgo, H.; Pons, J. C.; Bost-Brut, C.; Brenier-Pinchart, M. P.; Jouk, P. S.; Ambroise-Thomas, P. Congenital toxoplasmosis: prevention in the pregnant woman and management of the neonate. *Arch Pediatr.* v. 9, n. 2, p. 206-212, 2002.
- Pelloux, H.; Weiss J.; Simon, J.; Muet, F.; Fricker-Hidalgo, H.; Goultier-Fleuret, A.; Ambroise Thomas, P. A new set of primers for the detection of *Toxoplasma gondii* in amniotic fluid using polymerase chain reaction. *FEMS Microbiol Lett.* v. 138, n.1, p. 11-15, 1996
- Peyron, F.; Wallon, M. Options for the pharmacotherapy of toxoplasmosis Turing pregnancy. *Expert Opin Pharmacother.* v. 2, n. 8, p. 1269-1274, 2001.

- Pinkerton, H.; Weinman, D. Toxoplasmosis infection in man. Arch Pathol. v. 30, p. 374-392, 1940.
- Pinkerton, H.; Henderson, R. G. Adult toxoplasmosis. A previously unrecognized disease entry simulating the typhus-spotted fever group. J Am Assoc. 1941, 116:807-814. Apud: Amato Neto, V. Medeiros, E. A. S., Levi, G. C., Duarte, M. I. S. Toxoplasmose. 4a. Ed. São Paulo, Savier, p. 154, 1995.
- Pinon, J. M.; Dumon, H.; Chemla, C.; Franck, J.; Petersen, E.; Lebech, M.; Zufferey, J.; Bessieres, M.-H.; Marty, P.; Holliman, R.; Johnson, J.; Luyasu, V.; Lecolier, B.; Guy, E.; Joynson, D. H. M.; Decoster, A.; Enders, G.; Pelloux, H. and Candolfi, E. Strategy for Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis: Evaluation of Methods Comparing Mothers and Newborns and Standard Methods for Postnatal Detection of Immunoglobulin G, M, and A Antibodies. J Clin Microb. v. 39, n. 6, p. 2267-2271, 2001.
- Remington, S. J.; McLeod, R.; Thulliez, P.; Desmonts, G. (2001) Toxoplasmosis. In: Remington, J. S.; Klein, J. O. editors. Infectious diseases of the fetus and newborn infant. Philadelphia, WB Saunders Company, p. 205-346.
- Remington, J. S.; Thulliez, P.; Montoya, J. G. Recent Developments for Diagnosis of Toxoplasmosis. J Clin Microbiol. v. 42, n. 3, p. 941-945, 2004.
- Sabin, A. B.; Feldman, H. A. Dyes as microchemical Indications of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (Toxoplasma). Science. v. 108, p. 660-663, 1948.
- Sáfadi, M. A. P.; Berezin, E. N.; Farhat, C. K.; Carvalho, E. S. (2003) Clinical Presentation and Follow Up of Children With Congenital Toxoplasmosis in Brazil. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, 7(5), p. 325-331.
- Safarjalania, O. N. A.; Reem H. Raisa, Young Ah Kimb, Chung K. Chub, Fardos N. M. Naguiba, and Mahmoud H. el Kounia. (2008) 7-Deaza-6-benzylthioinosine analogues as subversive substrate of *Toxoplasma gondii* adenosine kinase: Activities and selective toxicities. Biochem Pharmacol. October 15; 76(8): 958-966.
- Safarjalani, O. N. A.; Reem H. Rais, Young Ah Kim, Chung K. Chu, Fardos N. M. Naguib, Mahmoud H. el Kouni. (2010) Carbocyclic 6-benzylthioinosine analogues as subversive substrates of *T. gondii* adenosine kinase: Biological activities and selective toxicities. Biochemical Pharmacology 80, p. 955-963.
- Seyed, M.; Leila A. (2010) Treatment of toxoplasmic lymphadenitis with co-trimoxazole. International Journal of Infectious Diseases, v. 14, p. 67-69.
- Sibley, L. D.; LeBlanc, A. J.; Pflerferkorn, E. R.; Boothroyd, J. C. Generation of a restriction fragment length polymorphism linkage map for *Toxoplasma gondii*. Genetics. v. 132, n. 4, p. 1003-1015, 1992.
- Sibley, L. D. and Boothroyd, J. C. Virulent strains of *Toxoplasma gondii* comprise a single clonal lineage. Nature. v. 359, p. 82-85, 1992.
- Spalding, S. M.; Amendoeira, M. R. R.; Coelho, J. M. C.; Angel, S. O. Otimização da reação em Cadeia da Polimerase para Detecção de *Toxoplasma gondii* em Sangue Venoso e Placenta de Gestantes. J Bras Patol Med Lab. v. 38, n. 2, p. 105-110, 2002.
- Spalding, S. M.; Amendoeira, M. R. R.; Ribeiro, L. C.; Silveira, C.; Garcia, A. P. E Camillo-Coura, L. Estudo prospectivo de gestantes e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. Rev da Soc Bras de Med Trop. v. 36, n. 4, p. 483-491, 2003.
- Torres, C. M. Sur une nouvelle maladie de l'homme, caractérisée par la présence d'une parasite intracellulaire, très proche de *Toxoplasma* et de l'Encephalitozoon, dans le tissu musculaire cardiaque, les muscles du squelette, le tissu cellulaire sous-cutané et le tissu nerveux. C R Soc Biol. v. 97, p. 1778-1781, 1927.
- Vaz, R. S. Diagnóstico sorológico, isolamento e caracterização molecular de *Toxoplasma gondii* (Nicole & Manceaux, 1909) em mulheres gestantes atendidas pelo serviço público na cidade de Curitiba. (SERODIAGNOSTIC, ISOLATION AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Toxoplasma gondii* IN PREGNANT WOMEN ATTENDED BY PUBLIC HEALTH SERVICES IN THE CITY OF CURITIBA. http://www.ppgbiotec.ufpr.br/tes_teses.php Tese: Doutorado-Universidade Federal do Paraná. Setor Tecnológico. Pósgraduação em Processos Biotecnológicos. 2006
- Vaz *et al.* Technical evaluation of serological screening tests for anti-*Toxoplasma gondii* Antibodies to prevent unnecessary transfusion risks. Rev Bras Hematol Hemoter. 2008; 30(4): 277-280
- Vaz, R. S. Relevance of genotype-I in congenital toxoplasmosis in Brazil: Analysis of *Toxoplasma gondii* surface antigen 2 gene (SAG2). 14th International Congress of Immunology-ICI-2010 KOBE JAPAN. 2010^a-A-3905-ICI.
- Vaz *et al.*, 2010. Serological prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in pregnant women from Southern Brazil. Parasitol Res (2010) 106:661-665.
- Villeneuve, A. Les zoonoses parasitaires. L'infection chez les animaux et chez les hommes. Les Presses de L'Université de Montréal, Québec, 499 p., 2003.
- Wolf, A.; Cowen, D. Granulomatous encephalomyelitis due to an encephalitozoon (encephalitozoic encephalomyelitis). A new protozoan disease of man. Bull Neurol Inst NY. v. 6, p. 306-371, 1937.