

Toxoplasmosis Materno-fetal: Análisis Crítico de la Experiencia Francesa en Medidas de Prevención a Nivel Primario, Secundario y Terciario

Martine Wallon
Service de Parasitologie
Hôpital de la Croix-Rousse
69004 Lyon, France

Francia tiene un programa de prevención nacional de la toxoplasmosis congénita que se basa en el tamizaje serológico mensual de todas las madres no inmunizadas y que busca detectar todos los casos de seroconversión (1). Desde la época en que se inició, en los años 1970, ningún otro país ha adoptado un tal programa de tamizaje obligatorio en las mujeres embarazadas a excepción de la iniciación simultánea del programa de tamizaje prenatal trimestral en Austria. Entre los países desarrollados, las actitudes varían en cuanto la utilidad y las modalidades deseables de prevención de la toxoplasmosis congénita (2-9). Esta diversidad de posiciones frente al mismo problema lleva a interrogarse sobre la cuestión de la eficacia del programa de prevención francés. Existen tres niveles de prevención posibles en la toxoplasmosis, según el momento en que se desea intervenir con relación al período de contaminación del feto.

PREVENCIÓN PRIMARIA

Es la más satisfactoria, ya que tiene por objetivo evitar la infección del feto 1) evitando que su madre se infecte, o 2) si ella se ha infectado, evitando, por medio de un diagnóstico rápido y de un tratamiento dado a la madre, el paso transplacentario de este parásito. Esta prevención primaria es el objeto en Francia de cuatro series de medidas legales.

Identificación antes del embarazo de las mujeres seronegativas para la toxoplasmosis

Desde 1978, la serología de la toxoplasmosis es obligatoria en el marco de un examen prenupcial para todas las mujeres menores de 50 años y que no pueden probar que han sido inmunizadas. El objetivo de esta medida es doble: dar la tranquilidad a las mujeres ya inmunizadas (50 % de la población) e informar las mujeres no inmunizadas sobre los riesgos para el feto de una infección materna durante la gestación y los medios para protegerse. En la práctica, varios factores limitan la eficacia de estas medidas, notablemente la proporción creciente de embarazos fuera del matrimonio y la falta de conocimiento de las mujeres sobre el interés de esta serología, de la cual ellas ignoran el resultado y no poseen una copia escrita. Un esfuerzo de información queda por hacer entre los médicos y los laboratoristas, para buscar ocasiones suplementarias de prescribir las serologías antes del embarazo y para que expliquen los resultados en términos simples, dejando una prueba escrita y la recomendación de guardarla preciosamente.

Identificación al inicio del embarazo de las mujeres con riesgo de infección toxoplasmica

Ella es obligatoria desde 1985 antes del final del primer trimestre de embarazo (en el marco de la declaración de embarazo a la seguridad social), para todas las mujeres encinta que no pueden presentar la prueba escrita de su inmunidad. Su objetivo es de informar las mujeres con riesgo sobre las medidas de prevención que deben practicar. Su eficacia es limitada por el hecho de que las mujeres en embarazo esperan hasta el fin del tercer mes de gestación para consultar. La primera serología es por lo tanto, en general, efectuada tardíamente. Cuando esta serología es positiva y sobre todo cuando la IgM está presente, puede ser difícil afirmar que la inmunidad es anteconcepcional. Cuando la serología es negativa, los consejos de prevención son dados con retardo lo cual limita su eficacia. Es por lo tanto esencial promover que las mujeres en embarazo consulten lo más pronto posible, a los médicos a prescribir sin retardo una serología y a los laboratoristas a guardar en su seroteca todo suero tomado al inicio de embarazo (por ejemplo, al realizar una prueba de beta HCG).

Información de las mujeres con riesgo de infección toxoplásmica (seronegativas al inicio del embarazo)

La información de las mujeres con riesgo no ha sido objeto de recomendaciones precisas, con la excepción de la difusión en 1983 de una circular dirigida a los médicos en la cual se les solicitaba informar a las mujeres con riesgo de medidas de prevención. Este trabajo de educación se deja actualmente a la iniciativa y a la buena voluntad de los médicos y laboratoristas para quienes la responsabilidad está aún mal definida. Un estudio realizado en 1995 (10) permitió definir los tres factores principales de riesgo de contaminación en Francia: consumo de carne de oveja o de res mal cocida, higiene defectuosa de las manos y de los utensilios de cocina, consumo frecuente de legumbres fuera del domicilio. La eficacia de estas recomendaciones en términos de modificación del comportamiento y del riesgo de seroconversión es a la hora actual mal conocida (11,12).

Serología mensual a todas las mujeres no inmunizadas

Desde 1992 la vigilancia mensual de las mujeres seronegativas que hasta ese año no era sino una recomendación, se volvió obligatoria. Esta norma prevé un máximo de 7 serologías que deben efectuarse por dos técnicas, de las cuales una debe ser la para la detección de las IgM específicas. El análisis de esta vigilancia mensual hace aparecer varias limitaciones o dificultades:

Pruebas diagnósticas

- Ausencia de estandarización de las técnicas, la selección entre los numerosos estuches diagnósticos disponibles en el mercado es dejado a la libre decisión de los laboratoristas en los 5 000 laboratorios privados que efectúan las serologías,
- La sensibilidad, especificidad y valores predictivos imperfectos de todas esas pruebas,
- El carácter no obligatorio del control nacional de calidad.

Interpretación de los resultados

Se presentan errores frecuentes, principalmente en lo relacionado con el significado de la presencia de IgM, lo cual genera muchos casos de angustias injustificadas y de abortos inútiles (en Francia la interrupción legal puede realizarse durante las 12 primeras semanas

de embarazo). Un trabajo de información con los laboratorios sería deseable con el fin de limitar los efectos negativos del tamizaje.

Comportamiento de las mujeres con riesgo de infección toxoplásmica
El cambio frecuente de laboratorio y no respeto del ritmo de vigilancia mensual complican y retardan el diagnóstico de la seroconversión. No se prevé ninguna penalidad para las mujeres que no cumplen con esta legislación.

Ausencia de evaluación

En ausencia de un registro de las seroconversiones, el número exacto de estas no es conocido. Esta situación impide tener una evaluación en términos de eficacia o de rentabilidad de este programa de tamizaje, cuyo costo se estima en 40 millones de dólares por año solamente en la vigilancia serológica y en 500 millones de francos por año en 1995 por el diagnóstico y tratamiento de los casos detectados.

Se requieren de algunas medidas urgentes para mejorar la situación actual:

- Estandarizar las técnicas (métodos, nivel de positividad)
- Imponer un control de calidad a todos los laboratorios
- Formar los laboratoristas y los médicos (conducta que se debe tener en caso de seroconversión, anuncio a los padres del diagnóstico)
- Volver obligatorio para todas las mujeres no inmunizadas durante el embarazo la práctica de una serología el día del parto o en el postparto inmediato.
- Informar los pacientes con riesgo de la importancia de respetar el ritmo de las serologías y de realizarlos en el mismo laboratorio.
- Aumentar el número de centros de referencia y de consulta especializados.

Crear un registro de declaración para los laboratorios de los casos de seroconversión maternas y un sistema de seguimiento sistemático de los niños.

Tratamiento de las seroconversiones maternas

El tratamiento de la madre en caso de seroconversión es asimismo una medida de prevención primaria pues tiene por objetivo evitar el paso transplacentario del parásito. La espiramicina es el tratamiento de referencia en Francia, prescrita a la dosis de 9 millones de unida-

des por día, de manera continua hasta el parto. Su tolerancia es buena. La tasa de adherencia al tratamiento por las madres no ha sido estudiada pero se piensa que es satisfactoria en razón de la angustia generada en las madres que hacen una seroconversión. Sin embargo, existen dudas importantes sobre su eficacia. Ella ha sido estimada en un 60 % con base en datos de estudios descriptivos preliminares realizados antes de la iniciación del programa de control francés (13). Nunca se ha realizado una investigación aleatorizada y controlada con esta droga. Dada la dificultad de proceder a tal investigación en Francia, nosotros hemos intentado a través de varios estudios descriptivos de estimar la eficacia del tratamiento materno sobre el riesgo de transmisión materno-fetal. El primer estudio consistió en una revisión exhaustiva según las recomendaciones de la Colaboración Cochrane de los datos disponibles sobre la eficacia del tratamiento materno (cualquiera haya sido ese tratamiento) sobre la prevención de la infección fetal. Nosotros hemos hecho una revisión de los datos publicados y no publicados (14). Entre 2 500 artículos identificados en las bases de datos informatizadas o de expertos en el tema, sólo 9 respondieron a los tres criterios que nos habíamos fijado: seroconversión probada, tratamiento materno precisado y diagnóstico final del niño conocido. Sobre esos 9 estudios, 5 concluían que existía una eficacia del tratamiento pero todos fallaban en la validez por ausencia de aleatorización y estratificación en la fecha de contaminación materna de la cual se sabe que influye de manera importante en el riesgo de infección fetal (15). Dos otros estudios, que fueron realizados a partir de los datos de nuestro centro de Lyon, se encuentran próximos a aparecer publicados. Uno de ellos se basó sobre la hipótesis que si la espiramicina prevenía de manera eficaz la transmisión materno-fetal del *Toxoplasma*, debería existir entonces una mayor tasa de infección fetal cuando el tratamiento se comienza tarde que cuando se comienza más temprano. Estudiamos 550 seroconversiones con una estratificación sobre la fecha de contaminación materna. Las mujeres fueron clasificadas en tres grupos según si el tratamiento había comenzado en las 4 semanas que seguían la seroconversión, 5 a 8 semanas luego de la infección o más de 8 semanas luego de la infección. La comparación de los tres grupos no mostró aumento del riesgo de infección fetal cuando el tratamiento se inició tarde con respecto a un tratamiento precoz. Estos resultados no permiten concluir de una manera definitiva pero no son a favor de la eficacia del tratamiento. El otro estudio, multicéntrico, tuvo como objetivo comparar la tasa de toxoplasmosis congénita en cuatro poblaciones de paí-

ses o centros con políticas de prevención diferentes: 1) Francia, donde se realiza un seguimiento mensual y donde se puede tratar rápidamente las mujeres que hacen una seroconversión; 2) Austria, donde se realiza un seguimiento trimestral; 3) Dinamarca, donde se realiza la prueba de diagnóstico al nacimiento y donde, por lo tanto, ningún tratamiento se da durante el embarazo; 4) Holanda donde no hay una política sistemática de tamizaje para toxoplasmosis y donde las infecciones maternas se descubren de manera aleatoria. Los resultados fueron sorprendentes pues el riesgo de transmisión que se encontró en Dinamarca, en ausencia de todo tratamiento materno, fue más bajo que el observado en la población de mujeres de Lyon, quienes en su casi totalidad habían recibido un tratamiento prenatal. En Holanda, donde sólo el 50 % de las mujeres habían sido tratadas, el riesgo de transmisión parecía ser también más bajo pero la diferencia no fue del todo estadísticamente significativa. Ciertamente, es necesario tomar en cuenta las particularidades epidemiológicas y las metodologías locales para la discusión de esos resultados, pero el conjunto de datos no están a favor de un efecto importante del tratamiento materno sobre la prevención del riesgo de infección fetal. En conclusión: estudios recientes no han permitido confirmar la eficacia del tratamiento materno sobre la prevención del riesgo fetal y son necesarios otros estudios con el fin de demostrar si nuestra práctica actual tiene algún beneficio real.

PREVENCIÓN SEGUNDARIA

Ella tiene lugar durante el embarazo o al nacimiento, una vez que la contaminación del niño ha tenido lugar, para disminuir la gravedad de su infección y, de manera ideal, evitar la aparición de signos clínicos.

1. Durante el embarazo, ella se basa en el diagnóstico de la infección fetal y la administración a la madre de un tratamiento parasiticida destinado a tratar el feto *in utero*.

- a. El diagnóstico antenatal se basa en dos elementos: La ecografía y el estudio del líquido amniótico. La ecografía verifica la ausencia de lesiones morfológicas, sobre todo neurológicas. Ella asegura el diagnóstico gravedad y permite determinar si hay o no indicación para la interrupción de embarazo en caso de lesiones. La investigación ecográfica se recomienda a partir de la semana 20-22 post-concepción, a un ritmo bimensual o mensual según los centros. La especificidad y el valor predictivo positivo de la ecografía fetal son juzgados como

buenas por todos los autores (cercano al 100 %). Sin embargo, su sensibilidad se conoce mal. La ausencia de una prueba diagnóstica de referencia hace su evaluación difícil. El examen al nacimiento permite verificar la ausencia de falsos positivos, pero no los falsos negativos, pues las lesiones pueden aparecer de manera diferida. La utilidad de la resonancia magnética (RM) aún no está bien definida. En el estado actual de nuestros conocimientos, ella es útil sobretudo para confirmar y precisar las lesiones encontradas en la ecografía. El estudio del líquido amniótico, el cual, si es positivo, justifica el reemplazo de la espiramicina por un tratamiento parasiticida. La búsqueda del *Toxoplasma* por PCR ha conocido un progreso considerable en los últimos 5 años. La sensibilidad y la especificidad varían según los protocolos y los centros. La necesidad de armonizar las técnicas y de un control de calidad externo ha sido declarado como una necesidad de acuerdo a los resultados de un estudio multicéntrico europeo (16). El riesgo de resultados falsamente negativos existe cualquiera sea el método utilizado. Según un estudio multicéntrico reciente llevado a cabo en París, Lyon y Marsella (resultados en proceso de publicación), el riesgo de falsos negativos, que se estima de manera global en 36 %, es más importante luego que la infección tuvo lugar al inicio y al final del embarazo. Este es cercano de 0% para las infecciones entre la semana 17 y la semana 21 post-concepcional. En caso de resultados negativos, es indispensable continuar el tratamiento y la vigilancia ecográfica. Si el resultado es positivo, un tratamiento parasiticida se justifica.

b. Tratamiento de la infección fetal *in utero*: Luego que el diagnóstico prenatal indica que existen signos de infección fetal o luego que este altamente probable debido a que la contaminación materna ha tenido lugar al final del embarazo, el tratamiento se refuerza por la administración de sulfamidas y de pirimetamina con la intención de limitar la gravedad de la infección. Existen divergencias sobre el tipo de tratamiento a utilizar y el ritmo de administración. Ciertos equipos utilizan la asociación sulfadoxina-pirimetamina (Falcidar®), otros prefieren utilizar la sulfadiazina (Adiazine®) y la pirimetamina (Malocide®). El tratamiento se administra en dosis y duración variables. Se necesita un suplemento de ácido fólico y una vigilancia hematológica y eventualmente renal, en razón de la nefrotoxicidad de la sulfadiazina. La tolerancia de este tratamiento por la madre y el feto es generalmente buena, pero en razón del riesgo de efectos secundarios graves, la mayor parte de los autores no lo recomiendan sino en

los casos de infección probada o fuertemente probable. Una utilización más amplia es hecha sin embargo por ciertos equipos austríacos, alemanes, suizos o noruegos que la recomiendan a partir del segundo trimestre de embarazo para el tratamiento de toda infección materna o si ningún diagnóstico prenatal es realizado. Varios estudios epidemiológicos han intentado determinar la eficacia de este tratamiento comparando la gravedad de la infección fetal en los hijos de madres tratados o no por las sulfamidas y la pirimetamina. En una población de 64 niños con toxoplasmosis congénita Foulon *et al.*, encontraron que aquellos que habían recibido un tratamiento *in utero* (espiramicina y/o sulfamidas/pirimetamina) tuvieron menos daños a la edad de un año que aquellos no tratados (17). En cambio, entre 181 niños con toxoplasmosis congénita y seguidos en nuestro centro en Lyon, nosotros no hemos encontrado una disminución significativa de la prevalencia de lesiones oculares a la edad de tres años (resultados en proceso de publicación). Otros estudios son entonces necesarios para determinar de manera precisa el beneficio de este tratamiento. Una evaluación a largo plazo es indispensable. Un registro de los casos de toxoplasmosis congénita facilitará este trabajo de evaluación. Un mejor conocimiento de la adherencia al tratamiento, para lo cual ningún dato es disponible es un pre-requisito indispensable a este trabajo.

2. Al nacimiento, se realiza la evaluación del neonato y se decide el tratamiento

a. Evaluación neonatal: A pesar de la posibilidad que existe en Francia de detectar *in utero* los fetos infectados, la evaluación neonatal se hace indispensable. Su objetivo es identificar los casos no reconocidos por el diagnóstico prenatal o aquellos que no lo han tenido, de confirmar los casos encontrados *in utero* y de examinar la severidad de la infección (existencia de estigmas clínicos de la infección). Esto debe responder a las mismas exigencias que el diagnóstico prenatal. De manera ideal, debería permitir distinguir, de manera fiable, el 75 % de los niños sanos que no requieren tratamiento o seguimiento – y de lo cual los padres pueden tener seguridad –, y el 25 % de los niños infectados que requieren un tratamiento rápido y una vigilancia de por vida. La sensibilidad ha sido tradicionalmente privilegiada con relación a la especificidad, a pesar de las consecuencias importantes de los resultados falsamente positivos (inquietud inútil de los padres y tratamientos potencialmente peligrosos de niños sanos). El seguimiento postnatal sistemático de todos los niños permite recti-

ficar los diagnósticos erróneos. Desde el inicio del programa de prevención, la mayor parte (90 %) de las infecciones que se encuentran son subclínicas al nacimiento lo que aumenta la dificultad de reconocer los niños sanos de aquellos que están infectados. La búsqueda sistemática de signos clínicos y paraclínicos es sin embargo importante. Todo niño con sospecha de toxoplasmosis congénita debe por lo tanto someterse a un examen clínico y neurológico, a exámenes radiológicos, a un examen de fondo de ojo y a exámenes de laboratorio generales. Los exámenes de laboratorio tienen una importancia primordial en razón de la grande proporción de infecciones subclínicas al nacimiento. Las pruebas disponibles son específicas pero poco sensibles, de donde la necesidad de asociar varias de ellas con el fin de aumentar la sensibilidad y reducir el número de niños contaminados que escapan a un diagnóstico precoz. El número de pruebas disponibles aumenta periódicamente lo que lleva a aumentar los costos. Es necesario examinar cada cierto tiempo la necesidad de efectuar ciertas pruebas o asociaciones de ellas y suprimir aquellas que son inútiles. Así por ejemplo nosotros hemos encontrado que la serología y el análisis citoquímico periódico del líquido cefalorraquídeo no son necesarios (18). Al contrario la utilización en paralelo de la detección de las IgM y las IgA está justificada (19). El Western blot y el ELIFA frecuentemente se utilizan de rutina pero su costo elevado requiere determinar con precisión sus indicaciones. Cualquiera sea la técnica utilizada ninguna permite identificar la totalidad de los niños infectados desde el nacimiento. Por lo tanto en nuestra experiencia, 10% de los niños son identificados sólo por un seguimiento obligatorio durante el primer año de vida. Este seguimiento queda como el único medio fiable para establecer o excluir formalmente el diagnóstico de toxoplasmosis congénita para los hijos de madres con seroconversión durante el embarazo.

b. Tratamiento neonatal: Existe consenso sobre la necesidad de tratar inmediatamente -idealmente al nacimiento- los niños infectados. Pero, de otro lado, no existe acuerdo sobre el tipo de tratamiento que se debe utilizar (asociación pirimetamina/ sulfadoxina o pirimetamina y sulfadiazina), ni sobre las dosis y ritmo de dosificación. Ningún trabajo ha permitido comparar la eficacia de los numerosos protocolos utilizados. La misma incertidumbre existe en cuanto a los parámetros de vigilancia necesarios para los efectos adversos (hematológicos o renales según el tipo de tratamiento) y a la adherencia al tratamiento.

PREVENCIÓN TERCIARIA

Su objetivo es reducir el número y la gravedad de las secuelas a largo plazo en los niños con toxoplasmosis congénita. Esas secuelas son esencialmente oculares (20). Esta prevención se basa en un seguimiento estrecho en el ámbito clínico, neurológico y sobretodo ocular de los niños infectados. Se busca el tratamiento de todas las nuevas lesiones o sus recidivas. Nosotros recomendamos que ese seguimiento se realice de por vida, o al menos hasta la edad adulta.

Existen pocos datos sobre la eficacia a largo plazo de esas medidas. Datos recientes obtenidos sobre más de 300 niños seguidos en nuestro centro en Lyon y con edades entre 1 a 26 años, sugieren, que a pesar de nuestros esfuerzos, la prevalencia de lesiones de coriorretinitis en el largo plazo es vecina al 40 %. Se debe notar, sin embargo que ese riesgo es inferior a las estimaciones obtenidas en niños no tratados de 90% con lesiones a la edad de 20 años.

CONCLUSION

Francia posee el programa de prevención de toxoplasmosis congénita más completo de todos los países del mundo. Sin embargo, 25 años más tarde, y a pesar de esfuerzos importantes, subsisten numerosas dudas en cuanto a su eficacia y su interés.

Antes que nada será necesario evaluar la importancia real del problema de la toxoplasmosis en Francia. En realidad, no sabemos exactamente cuantas madres embarazadas se infectan cada año y cuál será su evolución a largo plazo, es decir qué consecuencias tiene la toxoplasmosis en la vida social y profesional de los niños infectados. De otra parte, nosotros no tenemos pruebas conclusivas de la eficacia de las pruebas diagnosticas y de los tratamientos que son dados de manera sistemática. La mayor parte de los autores están de acuerdo en reconocer que desde la iniciación del programa el número de niños afectados severamente al nacimiento ha disminuido. Pero no existe actualmente ningún dato sobre el beneficio exacto de las medidas que se toman, en particular de su capacidad de reducir en el largo plazo, la invalidez provocada por la toxoplasmosis. En esas condiciones no es posible juzgar la rentabilidad económica del programa. Cada año, se invierten recursos considerables sin poder determinar certeramente que ellos no serán mejor empleados en otras acciones.

Se requieren estudios complementarios de manera urgente. En razón de la cantidad de datos por recoger y de las prácticas diferentes por analizar, es imposible confiar esos proyectos de estudio a un sólo equipo. La creación de una red de estructuras regionales (universitarias o no) capaces de tomar a cargo cada una según sus competencias, el estudio de un punto particular sería deseable en Francia. Un observatorio nacional de la toxoplasmosis podría crearse cuyo papel principal sería de censar las competencias disponibles, organizar la atribución de proyectos y de verificar los avances de estos. Esos estudios deberían cubrir todas las áreas en las cuales faltamos en conocimientos: epidemiología, prevención, consecuencias psicológicas y económicas.

REFERENCIAS

1. Thulliez P. Screening programme for congenital toxoplasmosis in France. *Scand J Infect Dis* 1992; (suppl) 84:43-5.
2. Raeber PA, Biedermann K, Just M, Zuber P. Die Prävention der kongenitalen Toxoplasmose in Europa. *Schweiz Med Wochenschr* 1995; 125 (Suppl. 65):96S-102S.
3. Raeber PA. Faut-il introduire un programme de prévention de la toxoplasmose congénitale en Suisse ? *Schweiz Med Wochenschr* 1995; 125 (Suppl. 65):5S-9S.
4. Raeber PA, Berger R, Biederman K, Billo N, Extermann P, Hartmann D, Heimann P, Herzog C, Hohfeld P, Jacquier P, Kind C, Rhyner B, Vaudaux B, Wunderli W, Zuber P, Zufferey J. La prévention de la toxoplasmose congénitale en Suisse (Texte de consensus du Groupe de travail "Toxoplasmose congénitale" de l'Office fédéral de la santé publique). *Schweiz Med Wochenschr* 1995 ; 125 (Suppl. 65):113S-120S.
5. Royal College of Obstetricians and Gynaecologists: Prenatal screening for toxoplasmosis in the UK. Report of a Multidisciplinary Working Group. London April 1992. ISBN 0-90 2331-56-6
6. Conyn-van Spaendonck MAE, van Knapen F. Choice in preventive strategies: Experience with the prevention of congenital toxoplasmosis in the Netherlands. *Scand J Infect Dis* 1992; (suppl) 84:51-58
7. Lappalainen M, Sintonen H, Koskiniemi M, Hedman K, Hiilesmaa V, Ammala P, Teraamo K, Koskela P. Cost-benefit analysis of screening for toxoplasmosis during pregnancy. *Scand J Infect Dis* 1995; 27:265-272
8. Guerina NG, Hsu HW, Meissner C, Maguire JH, Lynfield R, Stechenberg B, Abrams I, Pasternak MS, Hoff R, Eaton RB, Grady GF and the New England regional toxoplasma working group. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N Eng J Med* 1994 ; 330:1858-1863
9. Angelici MC, Buffolano W, Grandolfo ME, Gramiccia M, Majori G. Il controllo della

- toxoplasmosi congenita in Italia : il progetto dell Istituto Superiore di Sanita. Ann Ist Super Sanita 1999 ; 35 :329-33.
10. Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carme B. Risk factors of Toxoplasma infection in pregnancy: A Case-Control Study in France. Scand J Infect Dis 1999; 31: 305-9.
 11. Carme B, Tirard-Fleury V. La toxoplasmose chez la femme enceinte en France: séroprévalence, taux de séroconversion et niveau de connaissance des mesures préventives. Tendances 1965-1995. Med Mal Infect 1996; 26:431-436
 12. Wallon M, Mallaret MR, Mojon M, Peyron F. Toxoplasmose congénitale, évaluation de la politique de prévention. Presse Med 1994; 23:1467-1470
 13. Desmonts G, Couvreur J. Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 378 pregnancies. N Eng J Med 1974; 290:1110-6.
 14. Wallon M, Liou, C, Garner P, and Peyron F. Congenital toxoplasmosis: what is the evidence that treatment in pregnancy prevents congenital disease? Brit Med J 1999; 318:1511-14.
 15. Dunn D, Wallon M, Peyron F, Petersen E, Peckham CS, Gilbert RE. Mother to child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. Lancet 1999; 353:1829-33.
 16. Guy EC, Pelloux H, Lappalainen M, Aspöck H, Haßl A, Melby KK, Hohlberg-Petersen M, Petersen E, Simon J, Ambroise-Thomas P. Interlaboratory comparison of Polymerase Chain Reaction for the detection of *Toxoplasma gondii* DNA added to samples of amniotic fluid. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996; 15:834-839
 17. Foulon W, Villena I, Stray-Pedersen B, Decoster A, Lappalainen M, Pinon JM, Jenum PA, Hedman K, Naessens A. Treatment of toxoplasmosis during pregnancy: A multicenter study of impact on fetal transmission and children's sequelae at age 1 year. Am J Obstet Gynecol 1999; 180:410-5.
 18. Wallon M, Caudi M, Bellini I, Girault V, Gay-Andrieu F, Peyron F. Value of Cerebrospinal Fluid Examination for the Diagnosis of Congenital Toxoplasmosis. Pediatr Infect Dis J 1998; 17:705-10.
 19. Wallon M, Dunn D, Slimani D, Girault V, Gay-Andrieu F, Peyron F. Diagnosis of congenital toxoplasmosis at birth: what is the value of IgM and IgA testing? Eur J Pediatr 1999; 158:645-9.
 20. Peyron F, Wallon M, Bernardoux C Long term follow-up of patients with congenital ocular toxoplasmosis. N Eng J Med 1996; 334:993-994