

Follow-up post-natale in nati da madre con infezione certa da *Toxoplasma gondii*: considerazioni sul management prenatale

Postnatal follow-up of infants born to mothers with certain *Toxoplasma gondii* infection: evaluation of prenatal management

Paola Di Carlo¹, Angela Mazzola², Amelia Romano²,
Maria Gabriella Schimmenti², Paola Colicchia¹, Piero Bellipanni³,
Lucina Titone¹

¹Istituto di Patologia Infettiva e Virologia Università degli Studi, Palermo, Italy

²Divisione di Malattie Infettive, ARNAS Civico e Benfratelli, G. Di Cristina e M. Ascoli, Italy

³Unità Operativa di Ginecologia e Ostetricia, ARNAS Civico e Benfratelli, G. Di Cristina e M. Ascoli, Italy

■ INTRODUZIONE

Molteplici fattori influenzano il verificarsi di un'infezione primaria da *Toxoplasma gondii* (TG) in una donna gravida: l'incidenza dell'infezione nella comunità, la percentuale di donne suscettibili in età fertile e la frequenza di un possibile contatto con una fonte d'infezione [1]. In Europa i tassi di sieroconversione nelle donne in età fertile riportati in una review degli anni '90 sono compresi tra 2,4 e 16/1.000 [2]. Un recente studio europeo effettuato in sei grandi città, tra cui anche due grandi metropoli italiane, riporta una stima di casi di toxoplasmosi congenita pari a 1-10 casi ogni 10.000 nati [3]. In Sicilia non sono disponibili dati recenti né sull'incidenza della toxoplasmosi né sulla percentuale delle donne suscettibili.

La diagnosi di infezione congenita da TG è talora complessa e delicata. Ciò è spesso conseguenza dell'iter diagnostico eseguito dalla madre durante il periodo gravidico che in molti casi non giunge ad una diagnosi certa ma sospetta. Lo studio del neonato include sia indagini sierologiche sia anche una valutazione neurologica, oftalmologica, audiometrica nonché neurostrumentale. Non esistono protocolli

standardizzati che definiscano la durata del follow-up dei bambini. Di fatto, le osservazioni sierologiche e cliniche devono proseguire almeno fino all'anno di età e successivamente proseguire anche nel bambino asintomatico, per il possibile sviluppo tardivo di sequele. Qui di seguito analizziamo retrospettivamente i dati sul management di 54 gravide con infezione certa da TG e riportiamo i risultati preliminari di un nostro follow-up di 48 mesi condotto nei bambini nati da queste donne.

■ PAZIENTI E METODI

Disegno dello studio

Abbiamo retrospettivamente studiato 54 gravide che soddisfacevano i criteri per la definizione di infezione certa da TG e prospetticamente arruolato in un follow-up di 48 mesi i bambini nati da queste madri. Il campione pediatrico è stato seguito presso la Divisione Clinicizzata di Malattie Infettive dell'Ospedale G. Di Cristina di Palermo nel periodo compreso tra gennaio 1999 e luglio 2004.

I dati sul campione materno sono stati ottenuti attraverso intervista della paziente e/o presa

visione della cartella clinica ginecologica/ostetrica.

Le caratteristiche del campione madre/bambino sono state inserite in un database implementato su Access 2000 (Eureka). La scheda informatizzata della gravida prevedeva la raccolta di dati concernenti le caratteristiche demografiche, sierologia pregravidica e gravidica, diagnosi prenatale e terapia effettuata. La scheda del bambino conteneva le informazioni relative al follow-up condotto ad intervalli differenziati:

- caratteristiche cliniche e sierologiche alla nascita e al tempo 1-3-6-9-15-18-24-36 e 48 mesi;
- valutazione oftalmologica alla nascita e a 3, 6, 12, 18, 24, 36 e 48 mesi;
- potenziali evocati visivi ed uditivi a 6 e 12 mesi;
- controlli neurostrumentali (ecografia transfontanellare eventualmente supportata da TC e RM) alla nascita, 3 e 6 mesi.

Definizioni

In accordo con i criteri di Lebech e Joynson (4), l'infezione materna da TG è stata definita come certa in caso di:

1. documentata sieroconversione dopo il concepimento;
 2. documentata infezione nel neonato;
 3. coltura positiva per TG da sangue materno.
- La diagnosi prenatale di infezione congenita è stata documentata con la *polymerase chain reaction* (PCR) su liquido amniotico.

In accordo con la letteratura internazionale, la condizione di infezione congenita nel neonato è stata definita dalla persistenza del titolo delle IgG nei primi 12 mesi di vita.

Indagini microbiologiche

Per il dosaggio degli anticorpi anti-TG è stato utilizzato un kit qualitativo (ETI TOXOK-M reverse PLUS, Elisa, DiaSorin) per le IgM e quantitativo (AxSYS TOXO IgG, MEIA, AB-BOTT) per le IgG. Il dosaggio della IgG avidity è stato effettuato con metodo VIDAS (Bio-Mérieux).

Qui di seguito riportiamo il range dell'Avidity index della metodica utilizzata: <0,20: avidità bassa, tra 0,20 e 0,30: avidità intermedia; >0,30: avidità alta.

La ricerca di *T. gondii* su liquido amniotico è stata effettuata tramite PCR (*Toxoplasma gondii* First gene B1, Sungene; *Toxoplasma gondii* reazione di nested PCR gene B1 per conferma).

Analisi statistica

Abbiamo analizzato le variabili relative alle madri e ai bambini con MiniTab for Windows® release 13.1. Le variabili sono state testate per la normalità utilizzando il test di Anderson-Darling ed espresse come media e deviazione standard, se non altrimenti specificato. Per le misure di posizione sono stati utilizzati intervalli di confidenza al 95%. Le differenze tra i gruppi e la comparazione tra le medie dei gruppi sono state analizzate utilizzando il *t test*. Le differenze sono state considerate statisticamente significative in presenza di un valore di $p < 0,05$.

Terapia

Il protocollo terapeutico dei bambini è stato differenziato in relazione alle diverse situazioni cliniche e in accordo con i più accreditati consensus (5):

- nati da madre con diagnosi prenatale negativa, con dati clinici, strumentali e virologici negativi: Spiramicina alla dose di 100 mg/die in due dosi, fino a negativizzazione persistente di IgG specifiche passive;
- nati da madre senza diagnosi prenatale, con dati clinici e virologici non significativi: terapia combinata con Pirimetamina-Sulfadiazina alle rispettive dosi di 1mg/Kg/die e 100 mg/Kg/die in due dosi e Acido folinico per 4 settimane e successivamente Spiramicina fino a negativizzazione persistente delle IgG specifiche passive;
- neonati infetti asintomatici: cicli di 4 settimane di Pirimetamina-Sulfadiazina (dosi suddette) e Acido folinico alternati a cicli della stessa durata di Spiramicina fino all'età di 12 mesi;
- neonati infetti sintomatici: terapia continuativa con Pirimetamina-Sulfadiazina (dosi come sopra) e Acido folinico fino all'età di 6 mesi e poi alternata a 4 settimane di Spiramicina fino al 12° mese. Prednisone (1 mg/Kg/die) in presenza di lesioni retiniche.

■ RISULTATI

In Tabella 1 sono riportate le caratteristiche delle 54 gravide con infezione certa da TG. La fascia d'età maggiormente rappresentata è stata quella compresa tra i 28 ed i 35 anni (età media \pm DS: 27,44 \pm 6,83; range 15 ÷ 41 anni). La maggior parte del campione era costituito da pluriipare (76%). Nessuna gravida era HIV-

Tabella 1 - Caratteristiche delle 54 gravide con infezione certa da *Toxoplasma gondii*.

	N. (%)
Età	
15-20 anni	9 (17)
21-27 anni	17 (31)
28-35 anni	23 (43)
>35 anni	5 (9)
Pluripare	41 (76)
Struttura del management	
pubblica	33 (61)
privata	21 (39)
Epoca di infezione	
I trimestre	24 (45)
II trimestre	18 (33)
III trimestre	12 (22)
Diagnosi prenatale (tot. pz. = 25)	
PCR positiva	6 (24)
PCR negativa	19 (76)
Terapia (tot. pz. = 45)	
Spiramicina	43 (96)
Pirimetamina + Sulfadiazina	2 (4)

Tabella 2 - Caratteristiche dei 55 nati da madre con infezione certa da *Toxoplasma gondii*.

	N. (%)
Sesso	
Maschi	28 (51%)
Età gestazionale	
28-32 settimane	1 (2%)
33-37 settimane	8 (14%)
>37 settimane	46 (84%)
Parto	
Eutocico	32 (58%)
Cesareo	22 (40%)
Distocico	1 (2%)
Peso alla nascita	
< 2500 g	4 (7%)
> 2500 g	51 (93%)
SGA	4 (7%)
Apgar	
Apgar 1 minuto < 5	1 (2%)
Apgar 5 minuti < 7	0
Apgar 5 minuti >7	54 (98%)

positiva né presentava patologie degne di nota. Nel 45% del campione l'epoca di infezione era datata nel primo trimestre di gravidanza; per 25/54 (46%) gravide la diagnosi era prenatale. L'amniocentesi era stata eseguita nella maggior parte dei casi (92%) dopo la 19^a settimana di gestazione (range 17^a ÷ 33^a). L'indagine molecolare era positiva in 6/25 (24%) donne testate. Sono state trattate 45/54 donne con infezione certa; solo 2 avevano eseguito terapia combinata con pirimetamina e sulfadiazina.

Lo screening sierologico in epoca pregravidica era noto solo per 2/54 donne (4%).

La Tabella 2 mostra le caratteristiche dei 55 bambini arruolati. Nessun bambino ha presentato alla nascita alterazioni cliniche suggestive di infezione congenita da *T. gondii* anche se 7 (di cui 5 infetti) sono nati pretermine e 4 di questi erano SGA (*Small for Gestational Age*).

Il follow-up sierologico ha confermato l'infe-

zione congenita in 10 bambini (18%), escluso l'infezione in 30 bambini (55%), mentre i rimanenti 15 (27%) sono ancora in follow-up. Tra gli infetti, un bambino è nato da madre con infezione datata al 1° trimestre di gravidanza, tre al 2° trimestre e sei al 3° trimestre.

Il confronto tra il campione dei neonati infetti con quello dei non infetti, per quanto attiene le caratteristiche elencate nelle Tabelle 1 e 2, ha mostrato che la maggior parte dei neonati infetti sono nati da donne che non avevano eseguito una diagnosi prenatale ($p = 0,034$).

I dati relativi alle terapie eseguite dalle gravide con e senza diagnosi prenatale, nonché la diagnosi finale dei bambini sono illustrati in Figura 1. Tra le donne con diagnosi prenatale, quelle con PCR negativa hanno finora partorito tutti neonati non infetti mentre tra quelle con PCR positiva solo un bambino è risultato infetto.

Nel gruppo delle 29 donne che non hanno ese-

Figura 1 - Evoluzione dell'infezione da TG in gravidanza sulla base della diagnosi prenatale e della terapia. (Relazione tra terapia eseguita dalle madri con infezione certa da TG in gravidanza, risultato della diagnosi prenatale e diagnosi finale dei bambini).

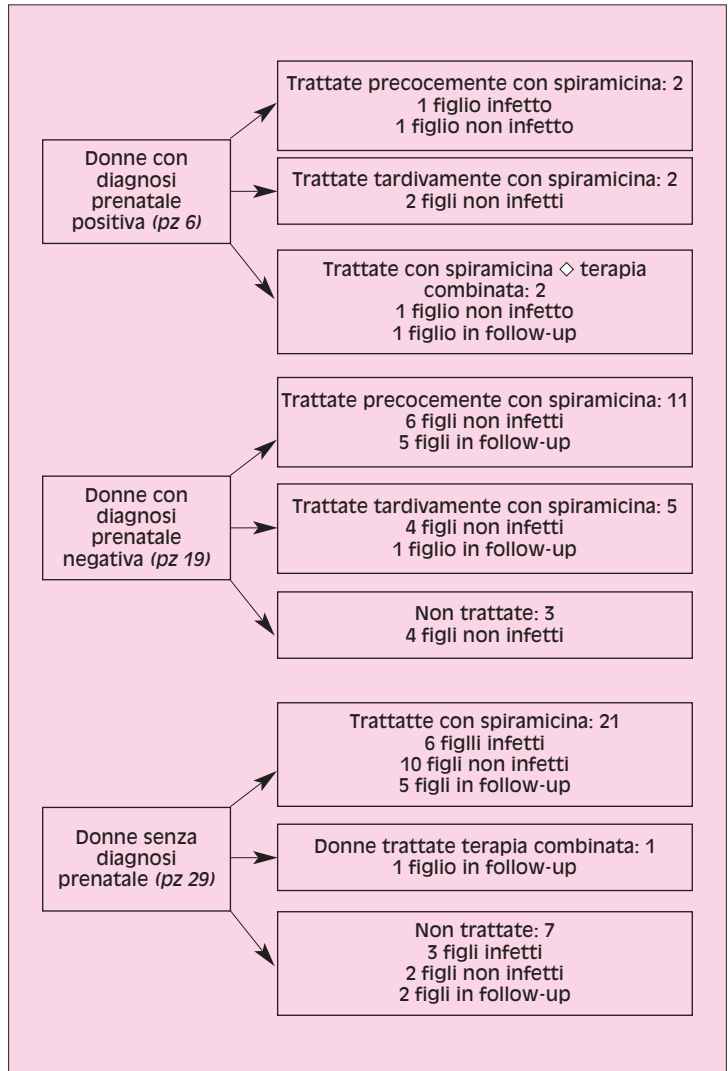
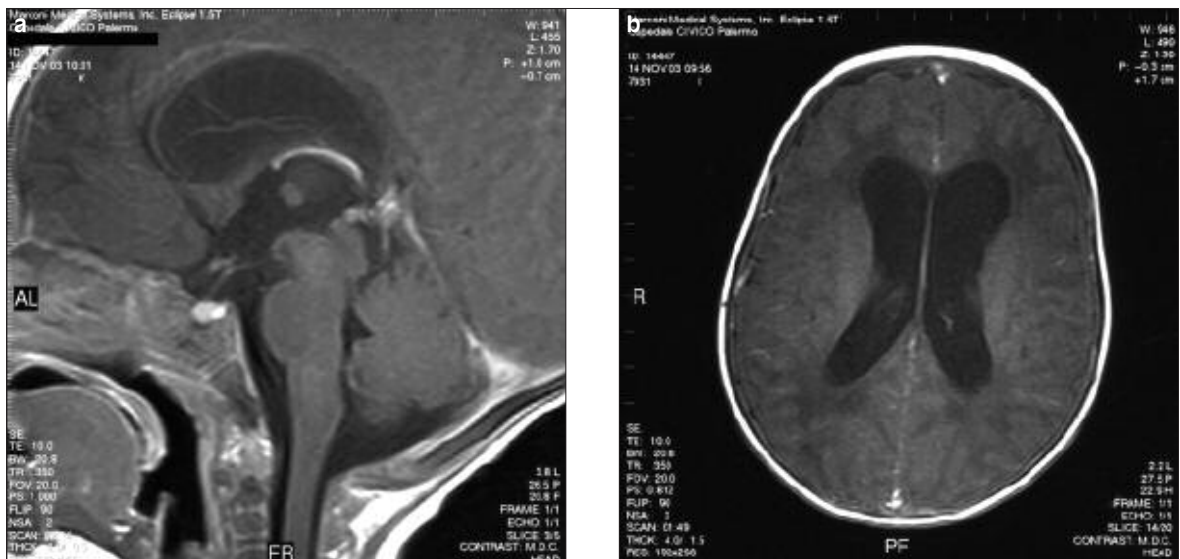


Figura 2 - Indagine eseguita in SE, FSE e FE. (Discreta dilatazione idrocefalica del sistema ventricolare sovratentoriale, di maggiore entità a livello dei corni frontali e temporali, con alterazione della dinamica liquorale al suo interno. Scarsa apprezzabilità degli spazi subaracnoidei cerebrali; nella norma il IV ventricolo e gli spazi costernali e subaracnoidei sottotentoriali. Netta riduzione di calibro dell'acquedotto di Silvio, che appare di aspetto stenotico. Aspetto assottigliato del corpo calloso).



guito diagnosi prenatale, 7 non hanno praticato alcuna terapia e tre di queste hanno dato alla luce bambini infetti mentre tra quelle sottoposte a terapia con sola Spiramicina, 6 hanno partorito bambini infetti, di cui tre con sequele.

Il follow-up strumentale ha permesso di individuare le tipiche lesioni da infezione congenita da *T. gondii* in 4 bambini infetti asintomatici: in un caso (infezione materna al 2° trimestre) il follow-up ha permesso di rilevare lesioni a carico del parenchima cerebrale, in 2 (infezione materna al 3° trimestre) corioretinite ed in 1 (infezione materna al 3° trimestre) corioretinite + idrocefalo (Figura 2).

Il trattamento dei bambini è stato differente in relazione alle diverse situazioni cliniche; dei 10 bambini infetti, 6 sono stati trattati con cicli di spiramicina e terapia combinata, 2 con un solo ciclo di terapia combinata e successivamente con spiramicina, 2 con terapia combinata alternata con trimetoprim-sulfametossazolo in seguito ad intolleranza farmacologica.

■ DISCUSSIONE

Il trattamento delle gravide con infezione toxoplasmica certa, anche se non sempre efficace nel prevenire la trasmissione fetale dell'infezione sembrerebbe, comunque, in grado di migliorare l'*outcome* del bambino infetto, specie se iniziato precocemente [6]. L'analisi delle cartelle ostetriche delle gravide ha mostrato una complessiva eterogeneità del percorso diagnostico-terapeutico effettuato dalle donne con infezione certa da TG. Tale eterogeneità è stata indipendente dal tipo di struttura di riferimento (pubblica e/o privata). Solo due gravide avevano effettuato uno screening preconcezionale, il che dimostra che tale pratica nel nostro territorio è ancora poco diffusa. La conoscenza dello stato sierologico, infatti, semplificherebbe il management delle infezioni in gravidanza, soprattutto nella regione Sicilia ove viene gratuitamente offerto uno screening infettivologico gravidico alle donne sieronegative. A ciò si aggiunga l'osservazione che nel nostro studio la maggior parte delle madri apparteneva ad una classe d'età compresa tra 28 e 35 anni, a conferma che molte donne mantengono una condizione di sieronegatività per il TG per molti anni.

L'infezione fetale viene oggi accertata tramite la ricerca del genoma del TG sul liquido am-

niotico. Nel corso degli anni il valore della diagnosi prenatale è stato più volte sottolineato da numerosi studi internazionali e, nel tempo, le tecniche di esecuzione si sono sempre più perfezionate [7-9]. L'analisi del nostro campione mostra che la PCR ha avuto una sensibilità del 100% ed una specificità del 76%, con un valore predittivo positivo (VPP) di 0,2 ed un valore predittivo negativo (VPN) di 1. Sebbene non sia possibile trarre delle adeguate valutazioni a causa dell'esiguo numero di gravide sottoposte a diagnosi prenatale, è pur vero che i risultati sono, comunque, affiancati dal follow-up dei bambini. In particolare, il dato materno si correla con la diagnosi finale e l'*outcome* dei neonati soprattutto nelle gravide con PCR negativa, mentre in cinque casi la diagnosi prenatale positiva è stata poi seguita da una diagnosi finale di assenza di infezione nel bambino. La discordanza tra VPP e VPN è probabilmente, in questo caso, imputabile alla differente esperienza dei numerosi centri che praticano diagnosi prenatale nel nostro territorio. Pertanto, come sottolineato dal gruppo di studio brasiliano, il risultato della PCR deve sempre accompagnarsi alla valutazione clinico-sierologica del neonato almeno fino al primo anno di vita [10].

Secondo i protocolli internazionali, di fronte ad una positività in PCR sul liquido amniotico, l'atteggiamento più opportuno, allo scopo di praticare una terapia in utero, sembra essere costituito dall'uso di una terapia combinata con farmaci che passino la barriera placentare e che abbiano una buona cinetica nel parenchima fetale [11]. Gli schemi terapeutici riportati nei nostri risultati ed adottati durante la gravidanza, mostrano una evidente variabilità, spesso senza un razionale standardizzato. In particolare, nove dei dieci bambini infetti sono nati da donne prive di diagnosi prenatale, che in 3 casi non hanno eseguito alcuna terapia e che nei restanti hanno assunto solo spiramicina.

Dieci donne con infezione certa non sono state sottoposte ad alcuna terapia specifica: l'analisi retrospettiva dello studio non ha permesso di evincere se ciò sia dipeso dalla bassa compliance delle gravide anche se la maggior parte del nostro campione è costituito da donne di basso livello socio-culturale e, pertanto, in futuro gli autori si prefiggono di condurre una più attenta analisi delle caratteristiche epidemiologiche del campione.

L'alta percentuale di bambini infetti, di cui la

metà con gravi sequele, osservati nelle donne con infezione al terzo trimestre di gravidanza riapre la questione sul tipo di trattamento da instaurare in questa epoca della gravidanza ove la diagnosi è priva del supporto della PCR. Gli autori suggeriscono che l'elevato rischio di trasmissione può giustificare un trattamento con terapia combinata, alla luce delle numerose segnalazioni presenti in letteratura anche in assenza di diagnosi prenatale.

Nonostante l'ampio numero di studi realizzati nelle ultime tre decadi (molti dei quali sostenuti dall'European Research Network on Congenital Toxoplasmosis, istituito nel 1993) ancora oggi non è noto quanto il trattamento delle donne con toxoplasmosi in gravidanza possa realmente ridurre le possibilità di contagio del bambino [12]. La disponibilità di un trattamento dovrebbe, comunque, invitare ad una migliore gestione della gravida con infezione da TG e ad una adeguata applicazione dell'iter diagnostico. Gli autori segnalano, infatti, che un inadeguato management della gravida con infezione da TG possa comportare gravi conseguenze sul prodotto del concepimento; nel campione osservato, il 40% dei

bambini infetti ha mostrato gravi sequele anche in assenza di un quadro clinico evocativo in epoca precoce. Per tale motivo, un follow-up a lungo termine è indicato per i nati da gravide con infezione certa. Purtroppo, nel nostro territorio permane una grossa quota di nati da madre con infezione sospetta il che determina sia un aggravio di spese sanitarie che una mancanza di omogeneità nell'approccio al neonato.

Comunque, è ancora necessaria un'adeguata valutazione degli effetti dei programmi di screening, considerando anche il rapporto costo/beneficio e ricordando, altresì, che le conseguenze della toxoplasmosi congenita devono essere ricercate a lungo termine.

I nostri risultati sottolineano, quindi, da una parte l'opportunità di implementare lo screening pregravidico e dall'altra l'esistenza, in atto, di una scarsa correlazione tra i test diagnostici prenatali disponibili e l'outcome dei bambini.

Key words: Congenital infection, pregnancy outcome, *Toxoplasma gondii*, treatment.

RIASSUNTO

Obiettivi: Il management plurispecialistico dell'infezione da *Toxoplasma gondii* (TG) in epoca pre- e post-natale può complicare, in assenza della messa in opera di adeguati protocolli diagnostico-terapeutici, una valutazione precoce dei neonati nati da madre con infezione certa. Ciò determina la necessità di un follow-up clinico-sierologico della durata di almeno 12 mesi per la diagnosi di infezione congenita e di una osservazione più prolungata nel tempo per la valutazione di eventuali sequele.

Qui di seguito gli autori riportano i risultati di un'analisi retrospettiva in 54 gravide con infezione certa da *T. gondii* e i dati di un follow-up di 48 mesi nei nati da queste madri al fine di comparare il management prenatale con l'outcome postnatale.

Pazienti e metodi: Abbiamo arruolato tutti i nati da madre con sieroconversione per TG afferiti presso il P.O. pediatrico G. Di Cristina, ARNAS, nel periodo compreso tra il 1999 ed il 2004. Il campione pediatrico è stato inserito in un follow-up della durata di 48 mesi, i dati del campione materno sono stati retrospettivamente analizzati.

Risultati: In 24 (45%) donne è stato possibile datare l'infezione al I trimestre di gravidanza, in 18 (33%) al II e in 12 (22%) al III trimestre. La percentuale di trasmissione dell'infezione dalle madri ai figli è stata del 17,2%. 25/54 gravide hanno eseguito amniocentesi per la diagnosi prenatale con PCR positiva in un terzo dei casi. 9/54 gravide non hanno praticato terapia e solo 3/54 riferiscono una terapia combinata. 10/55 bambini (18%) sono risultati infetti e 9 di questi sono nati da madri che non avevano praticato né amniocentesi né terapia specifica per TG. Nessun bambino alla nascita presentava segni clinici caratteristici di infezione da TG e solo il follow-up strumentale ha permesso di evidenziare le tipiche lesioni da TG.

Conclusioni: Il nostro studio conferma la difficoltà di applicare protocolli diagnostico-terapeutici standardizzati nelle gravide con infezione da TG nel nostro territorio. Il decorso spesso asintomatico dell'infezione congenita da TG conferma la necessità di un follow-up non solo sierologico ma anche strumentale per identificare le tipiche lesioni e le sequele tardive.

SUMMARY

The clinical management of perinatal toxoplasmosis involves a gynaecologist during pregnancy and a neonatologist after delivery. Then, in the absence of a uniform approach, early evaluation of infected infants requires a thorough long-term follow-up also in asymptomatic children, who have to be observed for at least one year due to unpredictable sequelae in later life. We retrospectively analyzed pregnancy management of 54 women with certain infection from *Toxoplasma gondii* (TG) and prospectively enrolled their infants to compare prenatal management with postnatal clinical outcome. All mothers with seroconversion for TG infection were from the Palermo area and were retrospectively analyzed, whereas their newborns referred to G. Di Cristina Children Clinical Hospital between 1999-2004 were prospectively enrolled in a 48-month follow-up.

Timing of infection was dated for 24 women (45%) to the first trimester, 18 (33%) to the second and 12

(22%) to the third. The maternal-fetal transmission rate was 17.2%. Prenatal diagnosis from amniotic fluid was performed in 25/54 pregnant subjects and showed positive results in 6. Despite diagnosis of TG infection, 9 women were untreated and only 2 with positive amniocentesis received combined therapy. 10/55 enrolled infants were infected and half of them were preterm and/or SGA at birth. None showed peculiar signs of TG at birth but 4 had abnormalities during the follow-up. 9/10 infected children were born to mothers who had undergone neither amniocentesis nor combined therapy.

Conclusions: Our work confirms the difficulty of applying standardized therapeutic protocol for TG infection during pregnancy. The asymptomatic course of TG infection at birth confirms the importance of an instrumental long-term follow-up to identify typical TG lesion to prevent sequelae.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Remington, J.S., McLeod, R., Thulliez, P. & Desmonts, G. Toxoplasmosis In *Infectious diseases of the foetus and newborn infant* (Remington, J.S. & Klein, J.O.) ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 2001, 205-346.
- [2] Eskild A., Oxman A., Magnus P. et al. Screening for toxoplasmosis in pregnancy: what is the evidence of reducing a health problem? *J. Med. Screen*, 3, 4, 188-194, 1996.
- [3] Cook A.J.C., Gilbert R.E., Buffolano W. et al. Sources of toxoplasma infection in pregnant women: European multicentre case-control study. *Brit. Med. J.* 321, 142-147, 2000.
- [4] Lebech M., Joynson D.H., Seitz H.M. et al. Classification system and case definitions of *Toxoplasma gondii* infection in immunocompetent pregnant women and their congenitally infected offspring. European Research Network on Congenital Toxoplasmosis. *Eur. J. Microbiol. Infect. Dis.* 15, 10, 799-805, 1996.
- [5] Gussetti N. In Proceedings: *Consensus nazionale toxoplasmosi in gravidanza*, Padova 1998.
- [6] Guerina N.G., Hsu H.W., Meissner H.C. et al. Neonatal serologic screening and early treatment for congenital *Toxoplasma gondii* infection. *N. Engl. J. Med.* 330, 1858-1863, 1994.
- [7] Hohfeld P., Daffos F., Costa J., Thulliez P., Forestier F., Vidaud M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase chain reaction test on amniotic fluid. *N. Engl. J. Med.* 331, 695-699, 1994.
- [8] Foulon W., Pinon J.M., Stray-Pedersen B. et al. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis: a multicenter evaluation of different diagnostic parameters. *Am. J. Obst. Gynec.* 181, 843-847, 1999.
- [9] Daffos F., Desmonts G., Dalfos F., Forestier F., Capella-Pawlosky M., Thulliez P., Chartier M. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis. *Lancet*, 2, 1, 500-504, 1985.
- [10] Teixeira Vidigal P.V., Vasconcelos Santos D.V., Castro F.C., de Faria Couto J.C., de Almeida Vita R.W., Filho G.B. Prenatal toxoplasmosis diagnosis from amniotic fluid by PCR. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 35, 1-6, 2002.
- [11] Couvreur J., Desmonts G., Gesquiere A. et al. In utero treatment of toxoplasmic fetopathy with the combination pyrimethamine-sulfadiazine. *Fet. Diagn. Ther.*, 8, 1, 45-50, 1993.
- [12] Peyron F., Wallon M., Liou C., Garner P. *Treatments for toxoplasmosis in pregnancy* Cochrane Library, issue 1, 2004.