

Blo- 246

127

**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**TESE DE LICENCIATURA**



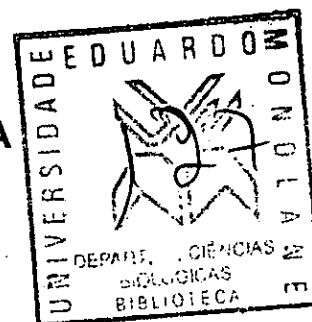
**PREVALÊNCIA DE PORTADORES DE IgM  
*antitoxoplasma gondii* EM DOENTES DE SIDA NO  
HOSPITAL DE DIA DO HCM**

**AUTOR: PAULO ARNALDO**

**MAPUTO, MARÇO DE 2005**

**UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE  
FACULDADE DE CIÊNCIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**TESE DE LICENCIATURA**



**PREVALÊNCIA DE PORTADORES DE IgM  
*antitoxoplasma gondii* EM DOENTES DE SIDA NO  
HOSPITAL DE DIA DO HCM**

**AUTOR: PAULO ARNALDO**

**SUPERVISOR: Dr. Ricardo Thompson**

**CO-SUPERVISOR: dr<sup>a</sup>. Sílvia Langa**

**MAPUTO, MARÇO DE 2005**

## **AGRADECIMENTOS**

Para escrever esta tese de licenciatura contei com o apoio dos meus supervisores, de vários colegas e amigos do curso.

O estímulo, as críticas e sugestões permitiram suplantar as limitações e dificuldades surgidas ao longo do trabalho possibilitando a realização do mesmo.

Assim sendo desejo expressar a minha especial gratidão ao Dr. Ricardo Thompson pelo apoio, paciência, acompanhamento e transmissão de conhecimentos durante a realização do trabalho.

Este agradecimento estende-se a dra Sílvia Langa pela sua co-supervisão e orientação do mesmo.

Aos meus colegas de curso e amigos em especial ao Dinis Mandlate, ao Crizolgo Salvador e a Evelina Chambo .

A Sónia Luís pelo grande apoio na colecta da amostra e trabalho no laboratório, ao Dr. Emílio, pela concecção do laboratório e apoio durante o trabalho no laboratório.

Ao Instituto Nacional de Saúde pelo apoio dado para que este trabalho se realizasse.

Ao Departamento de Microbiologia Serviço de Parasitologia da Faculdade de Medicina da Universidade Eduardo Mondlane na pessoa das doutoras Irene Langa, Irene Costa, Maria Emília, e Titos Buene.

Ao Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Eduardo Mondlane pelo apoio dado para que este trabalho se tornasse realizável.

Aos meus pais, irmãos, tios pelo apoio, carinho e compreensão dados durante a minha formação.

Os meus agradecimentos estendem-se também a todas pessoas que directa ou indirectamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## DEDICATÓRIA

*Ao meu saudoso pai*

*À minha querida mãe*

*A todos meus irmãos tios e cunhados pelo amor, carinho,  
dedicação, compreensão, apoio e incansáveis conselhos dados  
durante a minha formação.*

## DECLARAÇÃO DE HONRA

Eu, Paulo Arnaldo, declaro por minha honra serem verdadeiros todos os dados constantes no presente trabalho.

PAULO ARNALDO

17/06/05

## ABREVIATURAS

DNA- Disoxirribonucleic Ácid (Ácido Desoxirribonucleico).

DO- Densidade Óptica.

ELISA- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (Ensaio imunoenzimático ligado à enzima).

GATV- Gabinete de Aconselhamento e Testagem Voluntária.

HCM- Hospital Central de Maputo.

HDD- Hospital de DIA.

HIV- Human Immunodeficiency Virus (Vírus de Imunodeficiência Humana).

IgA- Imunoglobulina da classe A.

IgE- Imunoglobulina da classe E.

IgG- Imunoglobulina da classe G.

IgM- Imunoglobulina da classe M.

MISAU- Ministério da Saúde.

OMS- Organização Mundial de Saúde.

PCR- Polymerase Chain Reaction (Reacção de Polimerização em Cadeia).

RNA- Ribonucleic Ácid (Ácido Ribonucleico).

SIDA- Síndrome de imunodeficiência Adquirida.

SNC- Sistema Nervoso Central

TMB- 3,3',5,5' Tetrametilbenzidina.

## RESUMO

A Toxoplasmose é uma zoonose altamente disseminada, com taxas de prevalência variáveis nas diversas partes do mundo. O seu agente etiológico é um protozoário, o *Toxoplasma gondii*, que infecta com muita frequência a população humana de forma crónica assintomática. Entretanto em algumas situações pode se apresentar de forma grave, como em pacientes imunodeprimidos, principalmente doentes de SIDA, constituindo se como principal causador de encefalite toxoplásmica.

O presente estudo foi realizado entre Novembro de 2003 a Janeiro de 2004, envolvendo pacientes com HIV/SIDA, de ambos sexos com idade compreendida entre 19 e 66 anos que recebiam tratamento no Hospital de Dia do HCM, com o objectivo de determinar a seroprevalência de infecções agudas causadas por *T. gondii*, através da pesquisa de imunoglobulinas da classe M (IgM). O método de Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima (ELISA) qualitativo, kit comercial "Toxoplasma gondii IgM  $\mu$ -capture ELISA" (T0XM-016) da IBL Immuno-Biological Laboratories® (Hamburgo, Alemanha), foi aplicado a 120 pacientes para determinar se eram positivos as IgM anti-*Toxoplasma gondii*. A prevalência de portadores de IgM observada foi de 6 (5%). Destes pacientes, 3 (2.5%) encontravam-se no segundo estágio clínico, 3 (2.5%) no terceiro estágio e nenhum do quarto estágio.

A Toxoplasmose aguda, evidenciada pela presença das IgM nos pacientes estudados, revela a importância da pesquisa de anticorpos anti*Toxoplasma gondii* em doentes de SIDA devido ao elevado risco do desenvolvimento de toxoplasmose cerebral durante o decurso da doença. A criação de condições para o diagnóstico desta parasitose em Moçambique e a inclusão de todos indivíduos seropositivos para o HIV no tratamento quimioprolático anti-*Toxoplasma gondii*, constituíram as principais recomendações neste trabalho.

ÍNDICE

1. Introdução .....	4
2. Objectivos .....	13
2.1. Geral:.....	13
2.2. Específicos:.....	13
3. Metodologia.....	14
3.1. Local de Estudo .....	14
3.2. População de Estudo.....	14
3.3. Tamanho da Amostra.....	15
3.4. Colheita e Conservação de Amostras .....	15
3.5. Teste serológico para a detenção de IgM.....	16
3.7. Critérios de validação e interpretação dos resultados do ensaio .....	19
3.8. Informatização e análise estatística dos dados .....	19
3.9. Considerações éticas.....	20
4. Limitações e enviesamentos.....	21
5. Resultados .....	22
5.1. Caracterização da População Estudada.....	22
5.2. Abundância de IgM anti <i>Toxoplasma gondii</i> .....	26
5.3. Prevalência de portadores de IgM anti <i>Toxoplasma gondii</i> .....	27
6. Discussão.....	30
7. Conclusões .....	34
8. Recômandações .....	35
9. Bibliografia .....	36
10. Anexos .....	44



## 1. INTRODUÇÃO

A Toxoplasmose é uma zoonose altamente disseminada, com taxas de prevalência variáveis nas diversas partes do mundo (Rey, 1991). O seu agente etiológico é um protozoário, o *Toxoplasma gondii* que infecta com muita frequência a população humana de forma crónica assintomática (Ferreira e Borges, 2002; Rey, 1991).

O *Toxoplasma gondii* é reconhecido como parasita de importância durante a gravidez, período em que a infecção pode comprometer severamente o feto, causando parto prematuro, morte neonatal, fetopatia generalizada severa e danos cerebrais irreversíveis especialmente se esta ocorrer durante o primeiro trimestre da gravidez (Spalding *et al.*, 2003; Liesenfeld *et al.*, 2001). Com a pandemia do SIDA, a toxoplasmose tornou-se uma das doenças oportunistas mais frequentes, sendo uma das principais causas de morte por complicações cerebrais no decurso da doença (Nissapatom *et al.*, 2004; Hernández-González *et al.*, 2002; Fechado *et al.*, 1997).

O *Toxoplasma gondii* é um protozoário intracelular obrigatório, pertencente ao Filo *Apicomplexa*, Classe *Sporozoa* (= *sporozoa*), Subclasse *Coccidia*, Ordem *Eucoccidiida* e à Família *Sarcocystidae* (Montoya e Liesenfeld, 2004; Rey, 1991). A infecção por este parasita é muito frequente em várias espécies de animais, mamíferos e aves. O gato (*Felis catus*) e alguns outros felídeos são os hospedeiros definitivos, sendo o Homem e os outros animais hospedeiros intermediários (Montoya e Liesenfeld, 2004; Carruthers, 2002). O seu ciclo de vida é facultativamente heteroxénico, constituído por duas fases distintas: Fase assexuada, que ocorre nos tecidos de vários hospedeiros, incluindo os gatos e outros felídeos e a fase sexuada que ocorre somente no epitélio intestinal dos hospedeiros definitivos (Montoya e Liesenfeld, 2004; Wyler, 1990).

O *Toxoplasma gondii* foi descoberto pela primeira vez em 1908, quase em simultâneo e independentemente por Splendor em coelhos (*Orytolagus cuniculus*) no Brasil (Rey, 1991), e por Nicolle & Mancaux no fígado e baço de um roedor do norte de África, (*Ctenodactyllus gondii*) (Tenter *et al.*, 2000; Cook, 1996). Os primeiros casos da infecção no Homem foram assinalados em 1923 por Jankū quando observou um quisto parasitário na retina duma criança com hidrocefalia e microftalmia (Tenter *et al.*, 2000).

Este parasita existe na natureza em três formas principais: taquizoítos, bradizoítos contidos em quistos teciduais e ooquistos que contêm esporozoítos. Todos os três estágios são infecciosos para ambos hospedeiros intermediários e definitivos (Tenter *et al.*, 2000).

- *Taquizoíto*: é a forma intracelular obrigatória que prolifera na fase aguda. É uma forma móvel, encontrada dentro do vacúolo citoplasmático (vacúolo parasitóforo) de várias células, como nos líquidos orgânicos, excreções, células hepáticas, pulmonares, nervosas, submucosas e musculares. Apresentam-se em forma de meia-lua, com uma das extremidades afilada e a outra arredondada, medindo cerca de 4-9 x 2-4 µm, com núcleo em posição mais ou menos central (Dubey, 1996).

- *Bradizoíto*: é muito parecido morfológicamente com o taquizoíto, configura componente parasitária que permanece no interior do quisto e multiplica-se lentamente, alcançando a quantidade de centenas a milhares, é encontrado em vários tecidos musculares esqueléticos, cardíacos, nervosos e retina, geralmente durante a fase crónica da infecção (Wyller, 1990).

- *Ooquistos*: são formas de resistência que possuem uma parede bastante resistente às condições do meio ambiente. São formados exclusivamente nas células intestinais do gato e outros felídeos silvestres, são eliminados sob a forma não esporulada (imatura), junto com as fezes, esporulam no ambiente onde passam a conter dois esporoquistos, cada um com quatro esporozoítos (Neves, 1985).

A principal fonte de infecção por este parasita para os hospedeiros intermediários (Homem e os animais domésticos), é o gato (*Felis catus*) através dos ooquistos eliminados com as suas fezes (Montoya e Liesenfeld, 2004). Este contrai a infecção ao consumir carnes cruas com bradizoítos ou ratos e pássaros infectados (Dubey, 1996).

A transmissão da infecção para o Homem pode ocorrer através de diversas formas, sendo principais:

- A ingestão de ooquistos através de água contaminada, frutas ou vegetais contendo ooquistos em sua superfície.
- O consumo de alimentos de origem animal, especialmente de carnes cruas ou mal cozidas, contendo quistos viáveis do parasita.
- A transmissão transplacentar da mãe para o feto.
- As transfusões de sangue, transplantes de órgãos e acidentes de laboratório. (Ferreira e Borges, 2002; Nee e Joiner, 2000; Dubey, 1996).

A prevalência da infecção por *Toxoplasma gondii* varia de acordo com as áreas geográficas, condições climáticas, formas de transmissão, hábitos alimentares e higiénicos das populações e a sua incidência aumenta com a idade (Nee e Joiner, 2000; Bonametti *et al.*, 1997). Em estudos feitos na América Latina, Europa, Ásia e África a prevalência tem sido estimada entre 30 a 75% (Carruthers, 2002; Tenter *et al.*, 2000), enquanto nos EUA a prevalência estima-se entre 3 a 42% (Falus *et al.*, 2002).

Na África sub-Sahariana, a prevalência de infecções toxoplásmicas varia entre 5% a 17% na África do Sul, 44% na Namíbia, 26% em Angola (Joubert *et al.*, 1998), 40% a 70% na Tanzânia (Gilli *et al.*, 1992), 19% no Zimbábwe (Tenter *et al.*, 2000).

Em Moçambique, num estudo realizado numa Região rural da Província da Zambézia (centro do país), numa população geral, observou-se uma prevalência de IgG anti*Toxoplasma gondii* de 80% (Thompson, 2003, comunicação verbal).

A infecção primária por *Toxoplasma gondii* em indivíduos imunocompetentes é frequentemente benigna, pois o desenvolvimento rápido da imunidade humoral e celular restringe eficientemente a acção patogénica do parasita resultando na maioria dos casos numa forma clínica assintomática (Ferreira e Borges, 2002). Os sintomas mais frequentes incluem febre, mal-estar, prostração, cefaleia e dores musculares, além da ocorrência de linfadenopatia. Na maioria dos casos os sintomas são autolimitados e desaparecem dentro de uma semana sem necessitar de nenhum tratamento (Nee e Joiner, 2000).

A Toxoplasmose clínica não é muito frequente quando comparada com a taxa de infecção através de levantamentos serológicos, encontrando-se confinada a grupos de risco, como pacientes que se encontram sob terapia imunossupressora e particularmente doentes de SIDA que constituem o grupo mais susceptível a infecções severas por *Toxoplasma gondii* (Tenter *et al.*, 2000). Contudo, a incidência da doença nestes pacientes, encontra-se directamente correlacionada com a prevalência de exposição ao parasita na população infectada (Hernández-González *et al.*, 2002; Vilavedra *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 1988).

A maior parte de infecções severas nos doentes de SIDA e seropositivos para o *Toxoplasma gondii* é geralmente resultante da reactivação de infecções crónicas do que de infecções primárias (Méchain *et al.*, 2000; Khan *et al.*, 1999). Porém indivíduos imunodeprimidos e seronegativos para o *Toxoplasma gondii* também se encontram em risco de desenvolver doença por infecções toxoplásmicas (Nee e Joiner, 2000).

O recrudescimento da toxoplasmose crónica ocorre nos vários tecidos corporais, mas o local clinicamente mais importante é o sistema nervoso onde a replicação do parasita provoca a encefalite toxoplásmica, reconhecida como uma das doenças oportunistas mais comuns e fatais do sistema nervoso em doentes de SIDA, podendo também ocorrer infecções pulmonares e oculares (Carruthers, 2002; Ramírez *et al.*, 1997).

Cerca de 10% a 50% dos indivíduos HIV-positivos com anticorpos anti*Toxoplasma gondii* desenvolvem encefalite toxoplásmica em algum estágio da infecção por HIV, ocorrendo com maior incidência quando sua imunodepressão celular é mais intensa, geralmente quando a contagem das células T CD<sub>4</sub><sup>+</sup> for inferior a 100 cel/mm<sup>3</sup> (Sotolongo *et al.*, 2002; Khan *et al.*, 1999; Ramírez *et al.*, 1997). Estes pacientes usualmente desenvolvem uma grande variedade de sinais e sintomas neurológicos; sendo os mais frequentes as cefaleias, febres, distúrbios, ataques e hemiparesias (Nee e Joiner, 2000).

Estudos serológicos indicam que nos EUA entre 20% a 47% de doentes de SIDA com serologia positiva para o *Toxoplasma gondii* desenvolvem encefalite toxoplásmica (Falus *et al.* 2002; Ferreira e Borges, 2002, citando Luft e Remington, 1988).

Em alguns países africanos como Uganda e Etiópia a prevalência de infecções por *Toxoplasma gondii* é de 34% e 77%, respectivamente (Zumla *et al.*, 1991; Woldemichael *et al.*, 1998).

Na África sub-Sahariana em particular, onde a prevalência do HIV é a mais alta do mundo, a informação epidemiológica sobre a toxoplasmose em doentes de SIDA e na população em geral é limitada devido às dificuldades na realização de investigações médicas extensas sobre o assunto (Zumla *et al.*, 1991). No entanto estudos efectuados em pacientes com HIV/SIDA, a prevalência de IgG

anti*Toxoplasma gondii* relatada foi de 8% na Zâmbia e 55.5% no Quênia (Brindle *et al.*, 1991).

Em Moçambique num estudo recentemente realizado em doentes de SIDA que se encontravam sob tratamento no Hospital de Dia do Hospital Central de Maputo, foi encontrada uma prevalência de anticorpos IgG anti*Toxoplasma gondii* de 75.2% (Luís, S., 2004).

O tratamento da toxoplasmose é feito com base em agentes antitoxoplásmicos que inibem o crescimento do parasita através do bloqueio enzimático competitivo das vias metabólicas. A sulfadiazina e a pirimetamina administrados conjuntamente com o ácido folínico são os medicamentos mais comuns. Porém, devido à toxicidade dos medicamentos habitualmente utilizados, é recomendado o controle clínico e laboratorial periódicos durante o tratamento (Nee e Joiner, 2000). Nos doentes de SIDA a combinação da Perimetamina e Sulfadiazina ou Clindamicina tem sido usado como tratamento de primeira linha, sendo para este grupo de pacientes indicado tratamento por tempo indeterminado para evitar a reactivação da infecção (Nee e Joiner, 2000; Luft *et al.*, 1993).

As medidas preventivas contra a infecção por este parasita incluem principalmente o consumo de água potável, a não ingestão de carne crua ou mal cozida e evitar o contacto com as fezes de gatos.

O diagnóstico clínico da toxoplasmose é praticamente impossível uma vez que na maioria dos casos a infecção é assintomática ou apresenta sintomas indefinidos, sugerindo apenas a eventualidade da etiologia, estando deste modo, dependente da confirmação laboratorial (Bertozzi *et al.*, 1999; Rey, 1991). As técnicas parasitológicas e moleculares como a "Polymerase Chain Reaction" (PCR), constituem os principais métodos de diagnóstico, pela demonstração da presença de parasitas no organismo através do seu isolamento nos fluidos orgânicos do

paciente, ou pela demonstração dos seus componentes antigénicos ou segmentos do DNA e RNA , mas o uso destas técnicas nos países em desenvolvimento é limitado porque para além de serem morosas, requerem disponibilidade de animais vivos em laboratório e existência de laboratórios devidamente equipados, a sua realização em laboratórios de campo é de custo muito elevado (Cantos *et al.*, 2000; Chaves-Borgès *et al.*, 1999).

Devido à falta de laboratórios equipados para uso das técnicas parasitológicas e moleculares os métodos serológicos têm sido os mais usados para o diagnóstico da toxoplasmose. Estes são geralmente realizados para pesquisa de Imunoglobolinas das classes M (IgM), A (IgA), E (IgE) e G (IgG).

Os principais exames são a reacção de Sabin e Feldman (IgG), o teste de imunofluorescência (IgM e IgG), os testes imunoenzimáticos ELISA e ELFA (IgG, IgM, IgA e IgE), os testes de captura de IgM, as reacções de hemaglutinação, a reacção de fixação de complemento, os testes de avidéz de IgG e os testes de aglutinação diferencial, com objectivo de diagnosticar infecções agudas e avaliar exposições prévias ao parasita. (Rey, 1991; Ferreira e Ávila, 1996).

A pesquisa dos anticorpos específicos na toxoplasmose para além de ser usado para o diagnóstico da infecção, também pode ser usada para determinar o período em que a mesma ocorreu. A presença isolada de IgG demonstra apenas que houve a infecção e, portanto informa sobre a imunidade, porém níveis serológicos elevados de IgG sugerem infecção recente ou reactivação de infecção crónica (Prince e Wilson, 2001, Villena *et al.*, 1999). A pesquisa de IgM tem sido usada como diagnóstico complementar das IgG para determinar o estado da infecção uma vez que aparecem nos primeiros dias após a infecção e seus níveis declinam pouco tempo depois da infecção primária (Montoya e Liesenfield, 2004).

As IgM detectadas por testes clássicos de imonofluorescência e de hemaglutinação, tem sido utilizadas para determinar a ocorrência da toxoplasmose aguda. Porém, apresentam alta percentagem de falsos positivos e falsos negativos (Ferreira e Ávila, 1996). Por outro lado, os testes de captura de IgM actualmente utilizados são de maior sensibilidade quando comparados com os testes classicamente utilizados, uma vez que detectam IgM por períodos longos, o que reduz o valor de IgM como marcadores de infecções recentes ou agudas por *Toxoplasma gondii* (Lappalainen e Hedman , 2004).

De acordo com conhecimentos actuais, um título de IgM negativo exclui o diagnóstico de toxoplasmose aguda com menos de três semanas de duração, mas não exclui a possibilidade de infecções mais antigas (Rey, 1991, Morales e Garcia, 1997). Raramente um título baixo pode permanecer por um ano ou mais. Portanto um só título alto de IgM, ou uma série de dois ou mais destes com elevação de título (realizadas em amostras seriadas), permitem diagnosticar infecções recentemente adquiridas ou reactivação de infecção anterior. No caso de pacientes com imunodeficiência, não se sabe com que frequência pode haver elevações de IgM após a reactivação da toxoplasmose (Rey, 1991).

Novos marcadores serológicos de infecção aguda (IgA, IgE e o teste de avidéz de IgG), foram sugeridos com vista a encontrar maior precisão na determinação do estado da infecção (Prince e Wilson, 2001; Bertozzi *et al*, 1999). As IgA e IgE aparecem precocemente após a infecção, atingindo um nível máximo em aproximadamente dois meses após a infecção e declinam rapidamente, tendo utilidade complementar no diagnóstico em indivíduos com IgM positiva, pois permanecem circulantes por um período inferior ao de IgM, auxiliando a diferenciação entre infecção recente e crónica (Bertozzi *et al*, 1999).



O teste de avidéz de IgG baseia-se na diferença da força de união entre antígenos e anticorpos em infecções agudas e crónicas. A presença de IgG de alta avidéz (60%) é indicativa de que a infecção ocorreu há mais de quatro meses enquanto que a presença de IgG de baixa avidéz (30%), sugere infecção recente ou aguda (Prince e Wilson, 2001). Contudo, é preciso ressaltar que a imunodeficiência tem sido descrita como uma situação que leva a produção de anticorpos de baixa avidéz.

*Conclusão*

Em Moçambique, não é feito o rastreio serológico para esta parasitose nos doentes de SIDA. Perante a ameaça que esta parasitose oportunista de alta morbilidade e mortalidade representa nestes pacientes, acredita-se que seja de grande importância conhecer a prevalência de doentes de SIDA em risco de desenvolver encefalite por este parasita. O objectivo do presente estudo foi realizar a investigação serológica de IgM para determinar a prevalência de infecções agudas por *Toxoplasma gondii* em doentes de SIDA no Hospital de dia do Hospital central de Maputo.

## 2. OBJECTIVOS

### 2.1. Geral:

Determinar a prevalência de infecções agudas causadas por *Toxoplasma gondii* em doentes de SIDA no Hospital de dia do Hospital Central de Maputo.

### 2.2. Específicos:

2.2.1. Determinar a prevalência e título de IgM anti*Toxoplasma gondii* no soro de pacientes com HIV/SIDA.

2.2.2. Comparar no grupo em estudo a prevalência de IgM anti*Toxoplasma gondii* nos quatro estágios de infecção sintomática por HIV.

### **3. METODOLOGIA**

#### **3.1. Local de Estudo**

O estudo foi realizado no período compreendido entre Novembro de 2003 e Janeiro de 2004, no Hospital de Dia do Hospital Central do Maputo, na cidade do Maputo. O Hospital de Dia é um local de atendimento especializado de doentes de SIDA em regime ambulatorio que presta serviço durante o dia, permitindo internamento de curta duração, assim como o necessário aconselhamento aos doentes e infectados por HIV/SIDA. Os Hospitais de Dia foram estabelecidos com o objectivo de permitir o descongestionamento das Enfermarias dos Hospitais por doentes de SIDA que necessitam de internamento e acompanhamento por longo período e para permitir o acompanhamento profilático e terapêutico especial de todos indivíduos HIV-positivos confirmados nos GATV's. Este Hospital também realiza serviços domiciliários gratuitos para doentes em estado mais avançado da doença com dificuldades de se deslocar ao hospital.

O Hospital de Dia do HCM atende cerca de 50 doentes de SIDA por dia, provenientes dos Centros de Saúde da periferia, GATV's e das enfermarias do mesmo Hospital.

#### **3.2. População de Estudo**

A população estudada foi constituída por doentes de SIDA, ambulatorios e adultos de ambos sexos com idade igual ou superior a 18 anos. O diagnóstico de infecção sintomático por HIV/SIDA e do estágio clínico da doença foi feito com base na presença das seguintes características: um ou mais achados cardinais, dois ou mais achados característicos e dois ou mais achados associados com dois resultados positivos para o teste HIV, de acordo com os critérios definidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) Arthag (1994), descrito no anexo II.

### 3.3. Tamanho da Amostra

O tamanho total da amostra foi de 120 pacientes. Calculado com base na fórmula estatística para a determinação do tamanho de amostra (Pearson e Turton, 1993). Desconhecida a prevalência desta parasitose em Moçambique nos pacientes com HIV/SIDA, assumiu-se que a probabilidade de um indivíduo estar infectado é a mesma de não estar infectado, ou seja de 50% tendo como margem de erro 9 %, com um nível de confiança de 95% .

#### Fórmula para o cálculo do tamanho de amostra

$$n = (Z^{\alpha/2})^2 \cdot p \cdot q / D^2$$

Onde:

$Z^{\alpha/2}$  – valor crítico pertencente ao nível de confiança de 95%

n- tamanho de amostra

p- percentagem esperada de infecções por *Toxoplasma gondii*

q- percentagem complementar (1- p)

D- erro máximo permitido

### 3.4. Colheita e Conservação de Amostras

Cada paciente incluído no estudo foi atribuído um código (em substituição do nome), registaram-se os dados demográficos e clínicos, segundo o inquérito em anexo V. A melhor forma de caracterização do estágio clínico da infecção por HIV é feita através da contagem das células T CD4<sup>+</sup> mas, no presente estudo esta foi feita com base na observação das infecções comuns em cada estágio clínico preenchida pelos médicos do Hospital e confirmada pelo investigador tendo como base os critérios definidos pela OMS (Arthag, 1994).

Foram colhidos aproximadamente 2.5ml de sangue por punção venosa para tubos de vancutainer estéreis com anticoagulante e, no fim da colheita as amostras foram imediatamente transportadas para o Laboratório.

Os tubos foram centrifugados (Midifriger. 7000600) a uma revolução de 2.800 rotações por minuto, por 5 minutos, para separar o soro das células sanguíneas. Os soros obtidos foram conservados a temperatura de -20° C em tubos de Eppendorf de 1.5ml até a sua testagem.

### 3.5. Teste serológico para a detenção de IgM

Todas as amostras foram diluídas na proporção de 1/100 e avaliadas pelo método de captura de IgM anti*Toxoplasma gondii*, utilizando o kit comercial "Toxoplasma gondii IgM  $\mu$ -capture ELISA" (TOXM-016) da ELISA-IBL Imuno-Biological Laboratories® (Hamburgo, Alemanha). Este teste possui uma especificidade 99% e uma sensibilidade de 96%.

### 3. 6. TESTE ELISA - *Toxoplasma gondii* IgM $\mu$ -capture ELISA

#### 3. 6. 1. Princípio da Técnica

O teste  $\mu$ -capture ELISA (Ensaio Imunoabsorvente Ligado à Enzima) é um método imunoenzimático qualitativo de detenção das IgM anti*Toxoplasma gondii* que é baseada na técnica clássica de ELISA. As cavidades de tiras de microtitulação são a fase sólida e estão recobertas por IgM anti-humanas. Na primeira etapa de incubação os anticorpos específicos presentes nas amostras ou controles ligam-se as IgM anti-humanas da fase sólida. No final da incubação, os componentes não ligados são retirados na etapa de lavagem. Para a segunda incubação o conjugado (antígeno de *Toxoplasma gondii*, peroxidase) é adicionado ligando-se especificamente as IgM capturadas, resultando na formação de imunocomplexos típicos. Depois de uma segunda etapa de lavagem para remover o excesso de conjugado, a solução TMB/Substrato é adicionada. Ocorre o desenvolvimento de coloração azul que muda para amarela depois da adição de ácido para a finalização da reacção.

### 3. 6. 2. Material Contido no Kit

- 1 placa – 12 microcavidades em tiras: Tiras com 8 cavidades recobertas com IgM anti-humanas, selados com folha de alumínio.
- Diluente de amostra (IgM): 1 frasco contém 110ml de tampão, pH 7.2±0.2, cor azul.
- Solução Stop: 1 frasco com 15ml de ácido sulfúrico 0.5 mol/l.
- Solução de Lavagem (20x conc): 1 frasco contém 60 ml de tampão de lavagem, pH 7.2±0.2.
- Conjugado (100x conc): 1 frasco contém 0.25ml de antígeno de *Toxoplasma gondii*, peroxidase.
- Aditivo do Conjugado (100x conc): 1 frasco contém 0.25ml de tampão aditivo.
- Diluente do conjugado: 1 frasco contém 20ml de tampão diluente do conjugado.
- Substrato TMB: 1 frasco com 15ml de 3,3', 5,5' – Tetrametilbenzidina (TMB).
- Soro de "cut off": 1 frasco com 3.0ml de solução de cor verde.
- Controle Positivo: 1 frasco com 1.8ml de solução de cor vermelha.
- Controle Negativo: 1 frasco com 1.8ml de solução de de cor amarela.
- 1 suporte de microcavidades.
- 2 folhas adesivas.
- 1 protocolo .

### 3. 6. 3. Material necessário não fornecido no Kit

- Leitor de ELISA para medição de absorvâncias a 450/620 nm
- Incubadora
- Equipamento manual ou automático para lavagem de microplacas
- Pipetas para a distribuição de volumes de 10 até 1000µl
- Água destilada ou desionizada
- Tubos descartáveis para a diluição de soros
- Cronómetro
- Agitador Vórtex.

### 3. 6. 4. Procedimento do Teste

- 1- Prepararam-se as amostras, a solução do conjugado e a solução de lavagem com reagentes contidos no kit.
  - A amostras foram diluídas na proporção de (1/100), misturando num tubo de Eppendorf 1ml de diluente com 10µl de soro agitando-se posteriormente com agitador Vórtex.
  - A solução do conjugado preparou-se misturando num tubo de falcon 12ml de diluente com 120µl de conjugado (antígeno de *Toxoplasma gondii*, peroxidase) e 120µl de aditivo, homogeneizando-se posteriormente.
  - A solução de lavagem foi preparada misturando-se numa proveta 60ml do líquido de lavagem com 1140ml de água destilada perfazendo um volume total de 1200ml.
  - A solução de substrato pronta para o uso não foi diluída e foi mantida fora do alcance da luz, segundo as recomendações do protocolo.
- 2- Para cada microplaca usaram-se as primeiras colunas para os quatro testes de controle.
- 3- Pipetaram-se 100µl dos controles e amostras para os respectivos poços da microplaca, 100µl de controle negativo para os poços B1 e C1, o controle positivo para os poços D1 e E1 e o calibrador "cutoff" para os poços F1 até H1. Deixou-se o poço A1 para o substrato branco (anexo VI).
- 4- Cobriu-se a placa com folha adesiva e incubou-se por uma hora a 37±1°C.
- 5- No fim da incubação retirou-se a folha adesiva e lavou-se a placa 5 vezes num lavador automático. Após a última lavagem inverteu-se a placa sobre um papel absorvente para retirar qualquer excesso de líquido remanescente.
- 6- De seguida adicionaram-se 100µl da solução de conjugado em todos os poços excepto no poço A1 reservado para o substrato branco.
- 7- Seguiu-se outra incubação a 37±1°C por uma hora, depois outra lavagem (5 vezes).
- 8- Adicionaram-se 100µl da solução de substrato (TMB) em todos os poços.

- 9- Incubou-se durante exactamente 30min a temperatura ambiente (20 a 25°C) no escuro enquanto se desenvolvia uma cor azul nos poços contendo amostras reactivas.
- 10-Adicionaram-se 100µl da solução de ácido sulfúrico 0.5mol/l, (solução stop) em todos os poços para parar a reacção.
- 11- Após a adição da solução stop, procedeu-se a leitura das absorvâncias de cada poço da microplaca a 450/620nm no leitor de ELISA de marca Multiskan Ascent (V1.24 354-01695).

### **3.7. Critérios de Validação e Interpretação dos Resultados do Ensaio**

Segundo o fabricante do kit usado, para que o ensaio seja considerado válido é necessário que os seguintes resultados sejam alcançados:

Substrato branco : Valor da absorvância inferior a **0.100**.

Controle negativo: Abundância de IgM inferior ao Índice de Cutoff (COI) de **0.7**

Controle positivo : Abundância de IgM superior a **2.0 COI**.

Soro de "cutoff": Valor da absorvância de IgM entre **0.2 e 0.6** .

As amostras com o COI superior a **1.1 COI** foram consideradas positivas, negativas com o índice de "cutoff" inferior a **0.9 COI**, sendo as amostras com o COI entre **0.9 e 1.1 COI** consideradas duvidosas.

### **3.8. Informatização e Análise Estatística dos Dados**

Os dados referentes ao inquérito e análises clínicas para cada uma das variáveis em estudo foram introduzidos numa base de dados elaborada no programa Epi Info 2000 e analisados no mesmo.

Foram apresentados em forma de gráficos, tabelas e redacção. Foi feita a comparação dos resultados da prevalência de IgM específicos anti*Toxoplasma* correspondentes aos estágios clínicos da infecção sintomática por HIV e por sexo.



O teste *t-student* foi usado para a comparação das idades médias entre os sexos masculino e feminino (Bourke *et al.*, 1985).

O teste de  $X^2$  foi usado para a comparação das proporções de IgM por estágios clínicos e por sexo. Quando o número de observações fosse menor que 5 foi usado o teste exacto de Fisher (Kirkwood, 1997; Bourke *et al.*, 1985).

### 3.9. Considerações Éticas

O protocolo deste estudo foi submetido e aprovado pelo Comité Nacional de Bioética para a Saúde.

No início do estudo foi efectuado contacto com os responsáveis do local onde o mesmo se realizou, de modo a explicar a essência do trabalho e com a finalidade de estimular a participação e cooperação no estudo.

A participação dos pacientes no estudo foi voluntária e precedida de uma explicação do objectivo do estudo e procedimento após a colheita das amostras. Para tal foi lida uma folha de informação aos pacientes em que eram explicados os objectivos, procedimentos, riscos e benefícios, deveres dos investigadores e participantes do estudo. Foi dado tempo suficiente para o paciente decidir se pretendia ou não fazer parte do estudo, estando absolutamente livre de renunciar da sua decisão, sendo claro que a sua decisão não iria afectar de forma alguma os cuidados médicos que viesse a necessitar no futuro. Após o esclarecimento sobre os objectivos, procedimentos, riscos e benefícios do estudo, todos os pacientes assinaram o formulário de consentimento informado, de forma livre e esclarecida (anexos III e IV).

Os dados foram colhidos de forma não relacionada, isto é, os registos dos dados não incluíram a identificação dos indivíduos que participaram no estudo. Foi também clarificado que em caso de lhe ser diagnosticado a infecção cada paciente será informado pelo médico que o acompanha.

#### 4. LIMITAÇÕES E ENVIESAMENTOS

O estudo realizou-se usando uma única amostra de sangue de cada doente, facto que não permite avaliar com precisão o estado da infecção como seria se se realizasse com duas amostras pareadas como seria recomendável.

Com os resultados do presente trabalho não se pode afirmar de forma conclusiva que os pacientes reactivos encontram-se no estado de infecção agudo, devido à persistência em certos pacientes destes anticorpos por longo tempo, principalmente quando se usam testes serológicos de alta sensibilidade como é o caso do teste utilizado no presente trabalho.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Caracterização da População Estudada

As características sociais e clínicas relevantes da população estudada, foram o sexo, idade, estado civil, profissão, local de residência, ano de diagnóstico da infecção por HIV, estágio clínico e tratamento.

#### 5.1.1. Caracterização Social

Dos 120 doentes de SIDA, investigados 50 pacientes eram do sexo masculino correspondendo a 41,7% (IC 95%[32,7%-51,0%]) e 70 do sexo feminino, correspondente a 58,3% (IC 95%[49,05-67,3%]).

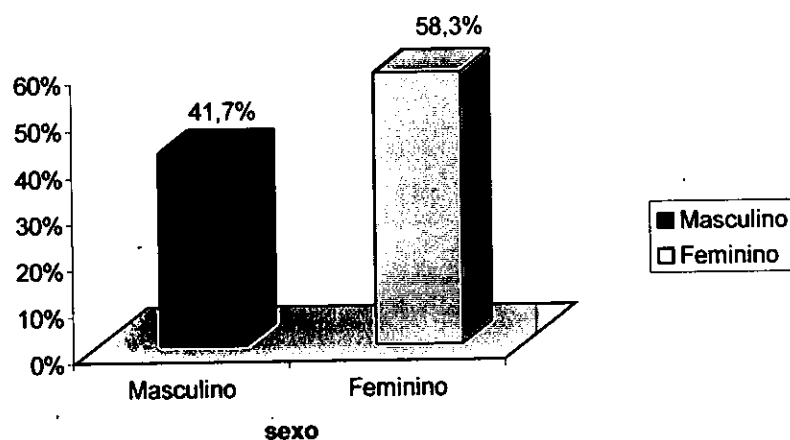


Figura 1. Distribuição dos pacientes de acordo com o sexo.

A idade média observada na amostra estudada foi de  $36.3 \pm 9.99$  anos, variando de 19 a 66 anos, sendo a moda de 32 anos. Os indivíduos do sexo masculino tinham uma idade média significativamente mais alta (39,7anos) que os indivíduos do sexo feminino (33,8 anos) ( $P=0.0012$ ) como apresentado na tabela 1.

Tabela 1. Idade média (anos) dos pacientes por sexo.

Sexo	Media	Desvio Padrão	Moda	Mínima	Máxima
Masculino (n=50)	39,7	10,1	37	24	66
Feminino (n=70)	33,8	9,23	23	19	63
Total	36,3	9,99	32	19	66

#### 5.1.1.1. Estado civil

Em relação ao estado civil dos pacientes estudados, constatou-se que a maior parte (43.3%) era solteira. Pode se observar que 62.% dos pacientes do sexo masculino eram casados e 51.4% do sexo feminino eram solteiros (Figura 2).

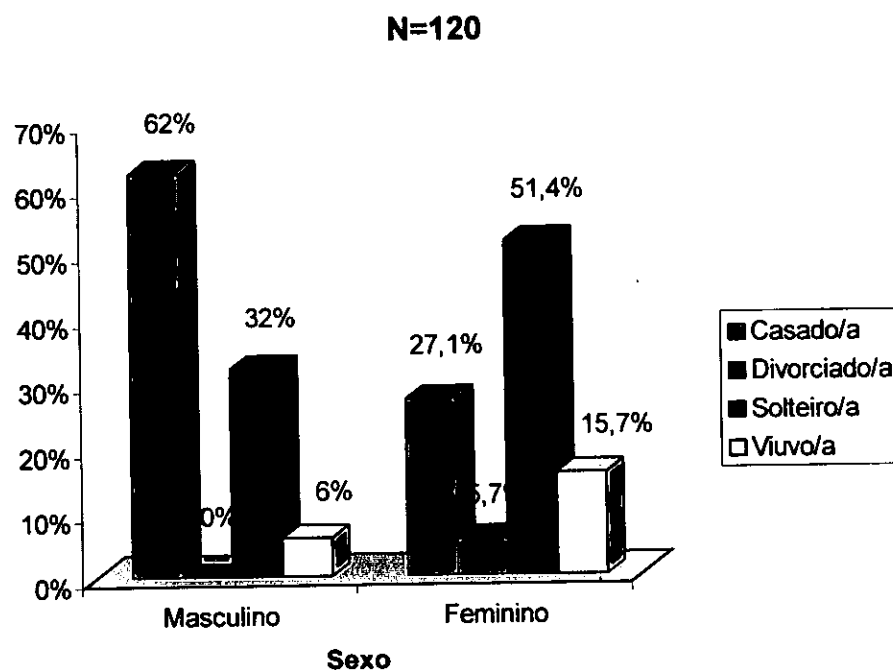


Figura 2: Distribuição dos pacientes de acordo com o estado civil.

### 5.1.1.2. Ocupação

Oitenta pacientes (66.7%), de ambos os sexos incluídos no estudo eram desempregados ou nunca tinham tido emprego. A percentagem de desempregados era maior no sexo feminino (87.1%), em relação ao sexo masculino era (38%).

### 5.1.1.3. Local de Residência

A maior parte dos pacientes (92.8%), era residente na cidade de Maputo e os restantes eram provenientes de zonas fora da cidade. De entre os pacientes residentes na Cidade de Maputo, 81.6% era proveniente na zona suburbana.

## 5.1.2. Caracterização Clínica

### 5.1.2.1. Ano de diagnóstico do HIV

O diagnóstico de seropositividade ao HIV nos pacientes incluídos neste estudo foi efectuado no período de 1996 a 2003, entre os quais 74.2% diagnosticados no ano de 2003, sendo notável que um número marcadamente menor de pacientes foi diagnosticado nos anos anteriores.

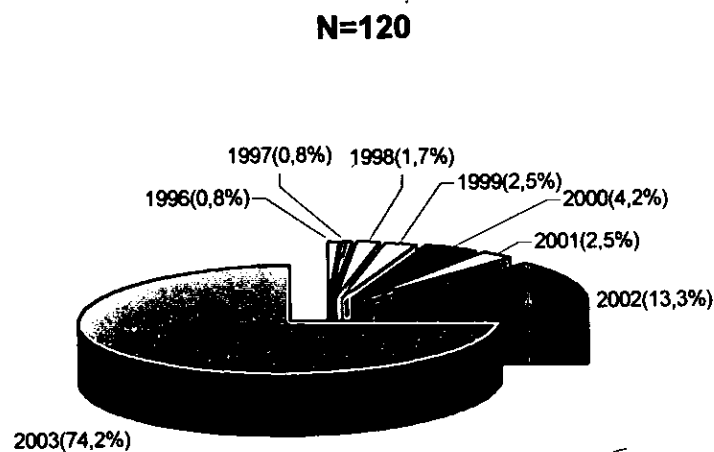


Figura 3: Distribuição dos pacientes por ano de diagnóstico de HIV

### 5.1.2.2. Estágio Clínico da infecção por HIV

A Figura 4 apresenta a percentagem de pacientes incluídos no estudo de acordo com o estágio clínico da infecção pelo HIV. Pode se observar que a maior parte se encontrava no estágio 2 e 3, não tendo sido encontrado nenhum paciente no primeiro estágio.

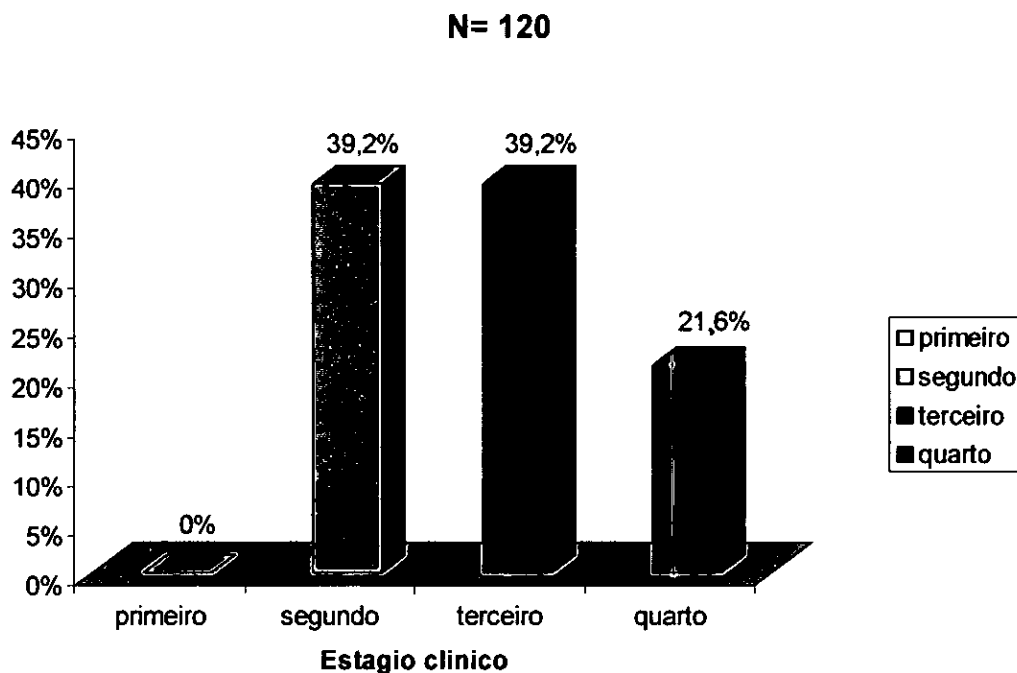


Figura 4: Distribuição dos pacientes segundo o estágio clínico

### 5.1.2.3 Quimioprofilaxia e Tratamento Antiretroviral

Os resultados do presente estudo, mostram que todos os pacientes regularmente acompanhados no Hospital de Dia do Hospital Central de Maputo recebiam tratamento quimioprolático (cotrimoxazol), e nenhum paciente relatou ter recebido tratamento específico para prevenção da toxoplasmose. A percentagem de pacientes que para além do tratamento quimioprolático, também faziam tratamento com antiretrovirais (ARVs) é de 3.3%, como está representado na figura 5.

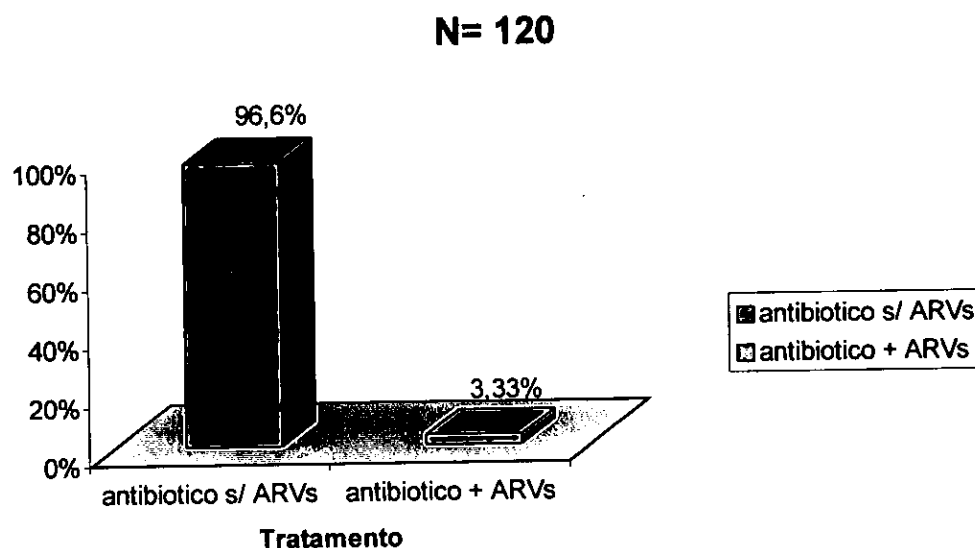


Figura 5: Distribuição dos pacientes de acordo com o tratamento

## 5. 2. Abundância de IgM anti*Toxoplasma gondii*.

### 5.2.1. Determinação dos “Índices de Cutoff” (COI).

A abundância de IgM nas amostras de cada participante, foi estimada aplicando a equação abaixo apresentada para o cálculo do cutoff index “índice de cutoff” (COI). O valor das densidades ópticas (DO) de cada amostra foi comparado com a média da DO do soro de “cutoff” (triplicado em cada placa). Foram consideradas positivas todas amostras com uma DO superior à média da DO do soro de “cutoff”. A mesma equação foi aplicada para a validação dos controles (negativo e positivo).

#### Equação de cálculo da abundância de IgM

$$\text{Abundância de IgM anti } T.gondii = \frac{\text{média da DO de cada um dos controles (negativo e positivo) ou da amostra}}{\text{média da DO do "cutoff"}}$$

A tabela 2 apresenta as DO dos controles (negativo e positivo), do soro de “cutoff” e do substrato branco em cada uma das três placas de teste.

**Tabela 2:** Densidades ópticas dos controles por placa

Densidades ópticas			
Controles	Placa I	Placa II	Placa III
Substrato branco	0,008	0,009	0,014
Controle negativo	0,048	0,053	0,058
Controle positivo	0,928	1,171	1,163
Soro de "cutoff"	0,200	0,211	0,226

Aplicando os critérios de positividade referidos anteriormente, verificou-se que a abundância de IgM nas amostras positivas variou entre 1,12 e 2,1 COI (Média= 1.57; DP= 0.35).

### 5. 3. Prevalência de portadores de IgM anti*Toxoplasma gondii*

A prevalência de portadores de IgM foi calculada com base no número das amostras positivas por total das amostras testadas. Das 120 amostras testadas 6 foram positivas, correspondente a 5 % (IC 95% [1.9% - 10.6%]). Destas, observou-se que cinco (5) amostras também eram positivas para o teste de IgG, resultado obtidos em um estudo realizado aos mesmos pacientes. Três destas apresentaram IgG em concentrações elevadas (tabela 3).

**Tabela 3:** Abundância de IgM e a concentração de IgG UI/ml das amostras reactivas.

Amostras	Abundância de IgM (teste de IgM)	Concentração de IgG (*)
1	1,34 COI	290,6 UI/ml
2	2,10 COI	223,35UI/ml
3	1,38 COI	109,57 UI/ml
4	1,77 COI	Negativo
5	1,72 COI	54,76 UI/ml
6	1,12 COI	43,34UI/ml

(\*) Dados retirados do trabalho sobre "Prevalência da toxoplasmose em doentes com HIV/SIDA no Hospital de Dia do HCM" (Luís, S., 2004).



Para verificar se nas amostras positivas a presença de IgM específicas anti*Toxoplasma gondii* estava associada ao estágio clínico de infecção sintomática pelo HIV, foi feita a comparação da prevalência dos portadores das IgM por estágio clínico. As IgM foram detectadas em 2.5% pacientes do estágio 2 e 2.5% do estágio 3, não tendo sido detectadas em nenhum paciente do estágio 4 (figura 5). A diferença entre os estágios clínicos 2 e 3 em relação ao 4 é estatisticamente significativa ( $P < 0.0001$ ).

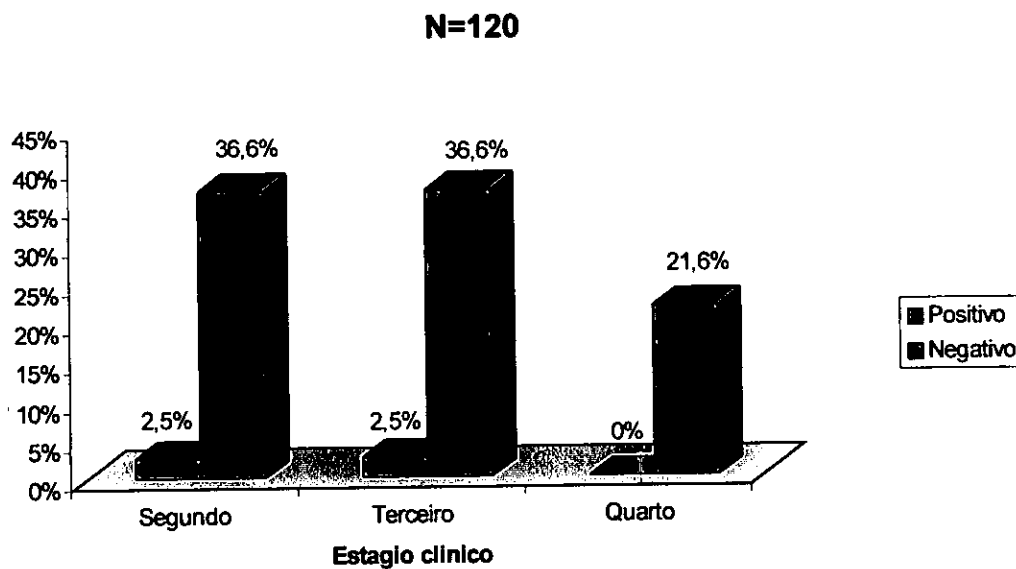


Figura 5: Prevalência de IgM anti*Toxoplasma gondii* por estágio clínico.

Visto que maior parte dos pacientes recebia tratamento quimioprolático com base em cotrimoxazol sem tratamento por antiretroviral a comparação da prevalência de portadores de IgM nestes dois grupos não é possível, além de que não foram diagnosticados anticorpos IgM em nenhum dos poucos pacientes que faziam tratamento por antiretrovirais neste estudo.

Em relação ao sexo, a prevalência de portadores de IgM foi mais alta nos indivíduos do sexo masculino 8% (Tabela 4). Contudo, esta diferença não é estatisticamente significativa ( $P = 0.3944$ ).

Tabela 4. Prevalência de IgM por sexo.

Sexo	n	Percentagem	I.C.
Masculino	50	8%	[2,2 - 19,2]
Feminino	70	2,6%	[0,3 - 9,9]
Total	120	5%	[1,9 - 10,6]

## 6. DISCUSSÃO

O presente estudo, reporta a primeira avaliação serológica da prevalência de portadores de IgM específicas anti*Toxoplasma gondii* em doentes de SIDA em Moçambique.

A prevalência de portadores de IgM neste estudo foi de 5%. Esta prevalência é similar à relatada em investigações seroepidemiológicas realizadas em outros Países, Dorouin *et al.* (1991) na França; Roca *et al.* (1996), em Espanha e Wanachiwanawin *et al.* (2001) na Tailândia encontraram prevalências de portadores de IgM anti*Toxoplasma gondii* de 4.8%, 3% e 4.5%, respectivamente. Prevalências relativamente menores foram encontradas por Dorouin *et al.*, 1996 na França, 0,61%, e Ramiréz *et al.*, 1997, 1%, enquanto Sykora *et al.* (1992) não encontraram nenhum paciente com IgM em 67 pacientes testados.

A reactivação de infecções crónicas por *Toxoplasma gondii* é geralmente acompanhada pela elevação das concentrações de IgG e IgM, com base no conceito de que os taquizoítos libertados através da rotura dos quistos teciduais são capazes de induzir a resposta imune primária, no entanto não é sabido até que nível há elevação da concentração de IgM nestes doentes (Méchain *et al.*, 2000). Segundo Lappalainen e Hedman, (2004); Suzuki *et al.*, (2001), a tendência de persistência de IgM por muito tempo após infecção primária, observada em certos pacientes, dificulta a sua interpretação. O presente estudo não permite concluir se se trata de infecções primárias ou de reactivação de infecções crónicas.

No presente estudo, foi assumido que o resultado positivo resultante de uma única medição de IgM em um indivíduo como indicativo da ocorrência de uma infecção aguda. No entanto, alguns estudos relatam que nos pacientes com HIV/SIDA, um teste realizado em uma única amostra não é suficiente para definir a ocorrência duma infecção aguda, porque na maior parte dos casos, o

seu perfil serológico é semelhante ao encontrado na população geral (Mechain *et al.*, 2000; Sykora *et al.*, 1992; Rey, 1991).

A combinação dos resultados do teste de detecção na mesma amostra de IgG e IgM ou de IgM em duas amostras seriadas com diluições sucessivas têm sido usados para melhor definir o diagnóstico (Montoya e Remington, 2000; citado por Subauste C., 2004). Em estudos realizados envolvendo doentes de SIDA, Garly *et al.* (1997), Zufferey *et al.* (1993), baseados em uma única amostra, observaram que os pacientes estudados eram reactivos para o teste de IgM com níveis de IgG elevado cujo diagnóstico era de Toxoplasmose aguda.

As amostras usadas neste estudo tinham anteriormente sido testadas para IgG. Nos seis pacientes detectados como portadores de IgM no presente estudo, maior parte (5) são portadores de IgG anti*Toxoplasma gondii*, dos quais três em concentrações elevadas (Luís, S., 2004). Segundo Villena *et al.* (1999), a detecção de IgG anti-*Toxoplasma gondii* em concentrações elevadas é sugestiva da ocorrência de uma infecção recentemente adquirida ou a reactivação de infecção crónica. Assim, a detecção simultânea de IgG em todos os pacientes reactivos ao teste de IgM parece indicar que os mesmos estavam na fase aguda da infecção toxoplásmica.

Maior parte dos portadores de IgM estava nos estágios clínicos precoces da infecção pelo HIV. Este resultado pode dever-se a um enviesamento de selecção inerente a este estudo, já que a maior parte dos pacientes que frequentam o Hospital de Dia, encontram-se no 2 e 3 estágios clínicos da infecção pelo HIV, estágios em que os seus sistemas imunes estão ainda relativamente funcionais e capazes de uma resposta imune para controlar a infecção por *Toxoplasma gondii*. Assim, pacientes nos estágios clínicos mais avançados estão sub-representados neste estudo, sendo de crer que os que estavam nos estágios mais avançados não estivessem mais em condições de se deslocar ao Hospital de Dia, recebendo alternativamente tratamento domiciliário.

Dos pacientes incluídos neste estudo a maioria foi diagnosticada como estando infectado pelo HIV no ano de 2003, sendo maior parte nos estágios 2 e 3. Este facto sugere que o diagnóstico da infecção pelo HIV tem frequentemente lugar somente após o aparecimento de sinais e sintomas, fase em que o tempo de sobrevivência é limitado. Por isso, só uma reduzida proporção dos que foram diagnosticados em anos anteriores ainda frequenta o Hospital de Dia e portanto foi incluído na amostra.

A proporção de pacientes que faziam tratamento por antiretrovirais era muito baixa porque no Hospital de Dia este tratamento não incluía todos doentes em qualquer estágio, sendo feito apenas em pacientes que estavam em estágio da doença mais avançado, geralmente indivíduos com contagem de células TCD4<sup>+</sup> inferior a 200 cel/mm<sup>3</sup> (Cruz, V. 2004, comunicação verbal). Isto acontece não só devido ao alto custo na aquisição do medicamento, mas também para evitar incumprimentos no tratamento devido à interrupção da medicação em alguns pacientes que iniciam o tratamento em estágios iniciais da infecção por HIV.

Cotrimoxazol é um fármaco frequentemente usado para o tratamento profilático de doenças oportunistas do SIDA, sendo eficaz na prevenção de toxoplasmose na maioria dos casos. Apesar de não eliminar por completo a infecção toxoplásmica, evita a reactivação de infecções crónicas que são frequentes e geralmente fatais nos doentes de SIDA (Dourin *et al* 2000). Portanto o facto de os pacientes que fizeram parte deste estudo estarem submetidos a este tratamento pode constituir um contributo importante na prevenção da reactivação de infecções toxoplásmicas latentes nestes doentes.

A caracterização social dos indivíduos incluídos neste estudo demonstra que maior parte dos doentes de SIDA sob tratamento no Hospital de Dia do Hospital Central de Maputo é do sexo feminino. Esta constatação deve se

provavelmente, entre outros factores, ao facto de as mulheres serem mais vulneráveis a infecção pelo vírus do HIV do que os homens (MISAU, 1999).

O facto de a maior parte dos pacientes estudados ser residente nas zonas suburbanas da Cidade de Maputo onde as condições de higiene são precárias, sugere que o risco de aquisição de infecções por *Toxoplasma gondii* nestes indivíduos seja maior, já que tais condições parecem jogar papel preponderante na disseminação da infecção em Humanos (Díaz-Suárez, et al. 2003).

Os resultados no presente estudo, quando relatados em simultâneo com os resultados obtidos por Luís, S., 2004, demonstram que a toxoplasmose é uma das infecções mais prevalentes em doentes de SIDA em Moçambique. O facto de 5% dos pacientes em estágios 2 e 3 da infecção por HIV terem sido diagnosticados como portadores de IgM anti*Toxoplasma gondii* terem infecção aguda, sugere que em estágios mais avançados a prevalência possa ser ainda maior devido à sua imunodepressão profunda.

Mais estudos são necessários neste e em outros grupos de pacientes em risco de desenvolver infecções severas por este parasita. Por outro lado mostrou-se que a pesquisa de anticorpos anti*Toxoplasma gondii* através da técnica de ELISA pode dar um contributo importante na identificação de doentes de SIDA com infecções latentes por *Toxoplasma gondii*, sendo uma técnica de simples execução, financeiramente mais acessível, alcançando resultados similares aos obtidos por outras técnicas cuja utilização requer laboratórios bem equipados.

É de realçar que apesar deste método ter fornecido resultados compatíveis de infecção aguda é sempre necessário que estes sejam confirmados pelo diagnóstico clínico e testes de detecção de antígeno.

## 7. CONCLUSÕES

Segundo os resultados obtidos no presente estudo conclui-se :

- A prevalência de portadores de IgM específica anti*Toxoplasma gondii* em doentes de SIDA no Hospital de DIA do Hospital Central de Maputo é baixa e é semelhante à situação observada nos outros países.
- A prevalência de IgM específica anti*Toxoplasma gondii* nos pacientes em estágios clínicos 2 e 3 de infecção por HIV foi mais elevada que em pacientes no estágio 4.
- A detecção de IgM específicas anti*Toxoplasma gondii* quando complementado com a detecção de IgG é indicativo de infecção aguda.

## 8. RECOMENDAÇÕES

- ✓ Criar condições para que o diagnóstico laboratorial da toxoplasmose seja feito nas unidades sanitárias de referência para permitir que as suspeitas clínicas possam ter uma confirmação diagnóstica laboratorial.
- ✓ A determinação de anticorpos anti*Toxoplasma gondii* seja recomendado como teste de rotina em todos pacientes com HIV para detectar infecções latentes por *Toxoplasma gondii*.
- ✓ Realizar em doentes de SIDA a pesquisa de IgG como primeiro teste e periodicamente o teste de IgM a fim de acompanhar a evolução da infecção.
- ✓ Promover orientações educativas sobre as fontes e as formas de transmissão bem como as práticas de prevenção da toxoplasmose, tais como consumir sempre carne bem cozida, lavar as mãos depois das actividades que envolvam contacto com o solo e após contacto com gatos, principalmente em indivíduos com HIV/SIDA.
- ✓ Assegurar que o tratamento quimioprolifático e antiretroviral seja feito em todos pacientes com HIV e seropositivos para o *Toxoplasma gondii* para prevenir a toxoplasmose cerebral associada ao SIDA e outras parasitoses oportunistas.
- ✓ Efectuar mais estudos para melhor avaliar os factores de risco da infecção por *Toxoplasma gondii* nos diferentes pontos do país.



## 9. BIBLIOGRAFIA

- Ahrtag. (1994). Boletim Internacional Sobre Prevenção e Cuidados do Sida. Acção Sida. Editora Escolar. n° 20. p. 1-12.
- Bertozi, L. C., L. A. Suzuki & C. L. Rossi. (1999). Serological diagnosis of toxoplasmosis: usefulness of IgA detection and IgG avidity determination in a patient with a persistent IgA antibody response to *Toxoplasma gondii*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*. S. Paulo. Vol. 41. N° 3.
- Bonnametti, A. M., Passos. Joselina de Nascimento. Koga da Silva, E. M. E Bortoliero, A. L. (1997). Surto da Toxoplasmose Aguda Transmitida através da ingestão de carne crua de gado ovino. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 30(1): 21-25.
- Bourke, G. J., Daly, L. E., McGilvray, J. (1985). Interpretation and uses of Medical Statistics. Third Edition. Blackwell Scientific publication. pp.330.
- Brindle, R., R. Holliman, C. Gilks, P. Waiyaki. (1991). *Toxoplasma* antibodies in HIV- Positive patients from Nairobi. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 85, 750-751.
- Cantos, G. A., M. D. Prando.,M.V. Siqueira.,R.M.Texeira. (2000).Toxoplasmose ocorrência de anticorpos anti*Toxoplasma gondii* e diagnóstico. *Ver.Ass.Med.Brasil*, 46(4).335-41.
- Carruthers, V. B. (2001). Host cell invasion by the opportunistic pathogen *Toxoplasma gondii*. *Acta Tropica*. 81: 111-122.

Chaves-Borges, F. A. , M. A. Sousa., D. A. O., Silva., L. H. Kasper., J. R. Mineo. (1999). Detection of *Toxoplasma gondii* soluble antigens SAG-1 (p30), Antibody and Immune Complex in the Cerebrospinal fluid of HIV positive or negative individuals. *Revista do Instituto de Medicina Tropical. S. Paulo.* 41 (6): 329-338.

Cook, G. C. (1996). Manson's Tropical Diseases. Twentieth Edition. pp. 1246-1254. W.B. Sanders Campanhy.Ltd. London.

Cruz, V. (2004). Informação verbal. Hospital de Dia do Hospital Central de Maputo.

Díaz-Suarez, o.; M. J. Estevez; M. Garcia, R. Cheng; J. Araujo; M. Garcia. (2003). Seroepidemiologia de la Toxoplasmosis en una comunidad indígena de la Sierra de Perija, Estado Zulia Venezuela. *Rev. Med Chile.* 131: 1003-1010

Dorouin, F., P. Thulliez, Y. J. Garin. (1991). Value and limitation of toxoplasmosis serology in HIV patients. *Pathological Biology.* 39 (4): 255-9.

Dorouin, F., C. Leport, S. Pueyo, P. Morlat, B. Letrillart, G. Chene, J.L. Ecobichon, B. Luft, J. Aubertin, R. Hafner, J.L. Vilde, R, Salamon. (1996). Predictive value of *Toxoplasma gondii* antibody titers on the occurrence of toxoplasmic encephalitis in HIV-infected patients. *Pathological Biology* 10(13): 1521-7.

Dourin, F.; E. Jacqz- aigrain ; P. Thulliez ; J. Couvreur and C. Leport. (2000). Cotrimoxazole for Prenatal Treatment of Congenital Toxoplasmosis. *Parasitology today.* Vol. 16. No 6. pp. 254-256.

Dubey, J. P. (1996). Strategies to reduce transmission to *Toxoplasma gondii* to animals and human. *Veterinary Parasitology.* 64: (65-70).

Dubey, J. P., D. S. Lindsay, C.A. Speer. (1998). Structure of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites and Sporozoites and Biology and Development of tissue Cysts. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 11. N° 2. p.267-299.

Falus, O, A. L French, E. C. Seaberg, P. C. Tien, D. H.Watts, Minkoff, Howard; E. Piessens, A. Kovacs, K. Anastos and M. H. Cohen, (2002). Prevalence and Predictors of *Toxoplasma* Seropositivity in Woman with and Risk of Human Immunodeficiency Virus Infection. *Clinical Infection Diseases*. 35: 1414-1417.

Fechado, A., L. Fonseca, L.Fonte. E. Alberti., R. C. F. Badera. (1997). *Toxoplasma gondii* Antigenuria in Patients with Acquired Immune Deficiency Syndrome. *Memória do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol. 92(5): 589-593.

Ferreira, M. S., A. S Borges. (2002). Some Aspects of Protozoan Infection in Immunocompromised patients – A Review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. Vol. 97(4): 443-457.

Ferreira, A. W., S. M. Ávila. (1996). Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e auto-Imunes. p.2-173. Rio de Janeiro. Editora Guanabara Koogan S.A.

Garly, M. I.; E. Petersen; C. Pederson; J. D. Lundgren; J.Gerstoff. (1997). Toxoplasmosis In Danish AIDS patients. *Scand J. Infect. Dis*. 29 (6): 597-600.

Gille, E., A. Bjorkman., I. Rooth., I. Ljungstrom., E. Linder. (1992). Low seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in Tanzanian village. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 86, 263-265.

Hernández-González, E., F. Zamora. , J. Barnés. J.E. Bender. , F. Rodríguez-Delgado. , J. C. Millán- Marcelo. (2002). Manifestaciones clínicas de la toxoplasmosis cerebral en pacientes cubanos con SIDA. Revista de Neurología. 34 ( 7): 618-621.

Joubert. J. J., A. C. Evans. , L. Fernández. , A. D. Steele. (1998).*Toxoplasma gondii*. It's Seroprevalence in África. Poster Sessions/ Parasitology International. 471(suppl). 283-389.

Khan, I. A., W. R. Green., L. H. Kasper., K. A. Green., J. D. Schwartzman. (1999). Immune CD8<sup>+</sup> T Cells Prevent Reactivation of *Toxoplasma gondii* Infection in the Immunocompromised Host. Infection and Immunity. Vol. 67, N<sup>o</sup> 11. p 5869-5876.

Kirkwood, B. R. (1998). Essentials of Medical Statistics. 234 pp. London. Blackwell Science Ltd.

Lappalainen, M., K. Hedman. (2004). Serodiagnosis of toxoplasmosis. The impact of measurement of IgG avidity. Ann ist Super Sanità. 40(1):81-88.

Liesenfield, O., Montoya, J. G., Tathineli, N. J., Davis, M., Browen Jr, B. W., Cobb, K. L., Parsonnet, J. and Remington, J. S. (2001). Confirmatory serologic testing for acute toxoplasmosis and rate of induced abortion among women report to have positive *toxoplasma* immunoglobulin M antibody titers. American Journal of Obstetric and Gynecology. 184-140-5.

Luft, B. J., R. Hafner, A. H. Korzun, C. Leport, D. Antoniskis, E. M. Bosler, D. D. Bourland, R. Uttamchandani, J. Fuhrer, J. Jacobson, P Morlat, Jean-Louis Vilde, J. S. Remington. (1993). Toxoplasmic Encephalitis in patients with the Acquired immunodeficiency Syndrome. Clinical infectious Diseases.15: 211-222.

Luís, S. P. B., (2004). Prevalência da toxoplasmose em doentes de SIDA no Hospital de Dia do Hospital central de Maputo. Tese de Licenciatura. Universidade Pedagógica de Maputo. 40pp.

Méchain, B., Garin, Y. Jean-Francois. F, Robert-Gangneux., J.Dupony-Camet & F. Derouin. (2000). Lack of Utility Specific Immunoglobulin G antibody avidity for serodiagnosis of reactivated Toxoplasmosis in immunocompromised patients. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*. Vol.7. No. 4. p.703-705.

MISAU (1999). Plano Estratégico Nacional de Combate à DTS/HIV/SIDA. 45pp.

Montoya, J.G., O. Liesenfeld. (2004). Toxoplasmosis. *The Lancet*, Vol. 363.1965-76.

Morales,T. de Jesús González y J. R. M. García. (1997). Toxoplasmosis Congénita. *Revista Cubana de Obstetricia e Ginecología*; 23 (1): 7-12.

Nee, P. F., K.A. Joiner. (2000). Toxoplasmosis. *Current treatment options in infections Diseases*, 2:249-258.

Neves, D.P. (1985). Parasitologia Humana. 6ªedição. Livraria Atheneu.R.Janeiro. 445pp.

Nissapatorn, V., C. Lee, K. F. Quek, C. L. Leong, R. Mahmud And K. A. Abdullah. (2004). Toxoplasmosis in HIV/AIDS Patients: A Current Situation. *Japan. Journal of Infectious Diseases*, 57, 160-165.

Pearson, J. C. G., A Turton. (1993). Statistical Methods in environmental Health. First edition. 184 pp. London. Chapman & Hall. pp.1246-1254. London. W.B. Sowders.

Prince, H.E., M Wilson. (2001). Simplified Assay for Measuring *Toxoplasma gondii* Immunoglobulin G Avidity. American Society of Microbiology. Vol. 8. N° 5. p. 904-908.

Ramírez, Maria de la Luz Galván, V. V. Alvarado., G. V. Gutiérrez., O. J. González., C. G. Cosio, M. V. Sandoval. (1997). Prevalence of IgG and IgM anti-*Toxoplasma* antibodies in Patients with HIV and acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Revista da.Sociedade.Brasileira de Medicina Tropical, Vol. 30. nº 6.

Rey, L. (1991). Parasitologia . p. 96-105. Rio de Janeiro.Editora Guanabara Koogan.

Roca, B., A. Saez-Royuela., C. Teruel., J. Uso., E. Simon. (1996) Anti-*toxoplasma gondii* serology status of the HIV infected patients of Castellon. International AIDS Society (IAS). 11:39.

Sotolongo, P. C., Carrillo, P.C. & Carrello, L. C.C. (2002). *Toxoplasmosis cerebral durante la infección por el virus de inmunodeficiencia humana*. Revista Cubana de Medicina. 41(5).

Spalding, S. M.,M. R. R. Amendoeira., L.C Ribeiro., C. Silveira., A. P. Garcia., L. Camilo-Couro. (2003)\_Estudo prospectivo de gestantes e seus bebes com risco de transmissão de *Toxoplasmosis Congénita* em município do Rio Grande do Sul. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. vol. 36. nº 4.

Subauste, C. S. (2004). *Toxoplasmosis and HIV*. HIV In Site Knowledge Base Chapter. University of Cincinnati College of Medicine.

Suzuki, Y., Israelski, D. M., Dannemann. B. R., Stepic-Biek. P., Thulliez. P. And Remington. J. S. (1988). Diagnosis of Toxoplasmic Encephalitis in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome by Using a New Serologic Method. American Society of Microbiology. p. 2541-2543.

Suzuki, L.A., Rocha, R. J., Rossi, C. L. (2001). Evaluation of serological markers for the immunodiagnosis of acute acquired toxoplasmosis. Journal of Medical Microbiology. 50 (1): 62-70.

Sykora, J. M, Zastera, M. Stankova. (1992) Toxoplasmic antibodies in sera of HIV- infected persons. Folia parasitol (Praha). 39(2): 177-80.

Tenter A., Heckeroth A. R., Louis M. W., (2000). *Toxoplasma gondii*: from animals to human. International Journal for Parasitology 30: 1217-1258.

Thompson, R. (2003). Informação verbal. Instituto Nacional de Saúde.

Villavedra, M., C. Rampoldi., H. Carol., A. Baz., J.J. Battistoni., A. Nieto. (2001). Identification of Circulating antigens, including an Immunoglobulin binding protein, from *Toxoplasma gondii* tissue cyst and tachyzoits in murine Toxoplasmosis. International Journal of parasitology. 31(2001) 21-28.

Villena, I., D. Aubert, V. Brodard, C. Quereux, B. Leroux, D. Dupovy, G. Remy, F. Foudrinier, C. Chemia, J. E. Gomez-Marin and J. M. Pinon. (1999). Detection of Specific Immunoglobulin E during Maternal, fetal and congenital toxoplasmosis. Journal of clinical Microbiology. p. 3487-3490.

Wanachiwanawin D, R. Sutthent, K. Chokephaibulkit, V. Mahakittikun, J. Ongrotchanakun, N. Monkong. (2001). *Toxoplasma gondii* antibodies in HIV and non-HIV infected Thai pregnant women. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 19(4): 291-3.

Woldemichael, T., A. L. Fontanet, T. Sahlu, H. Gilis, T. Messele, T. F. Rinke de Wit, H. Yenenh, R. A. Coutinho, T. Van Gool. (1998). Evaluation of the Eiken latex agglutination test for anti-*Toxoplasma* antibodies and seroprevalence of *Toxoplasma* infection among factory workers in Addis Ababa, Ethiopia. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 92, 401-403.

Wyler, D. J. (1990). Modern Parasite Biology. *Cellular Immunological and Molecular Aspects.* p.184-199. Freeman and Company.

Zufferey, J.; A. Sugar P. Rudaz; J. Bille; M.P. Glauser; J. P. Chave. (1993). Prevalence of latent toxoplasmosis and serological diagnosis of active infection in HIV-positive patients. *Eur J. Clin. Microbiol Infect Dis.* 12(8):591-5.

Zumla, A., D. Savva, R. B. Wheeler, S. K. Hira, N.P. Luo, P. Kaleebu, S. K. Sempala, J. D. Johnson. R. Holliman. (1991). *Toxoplasma* Serology in Zambian and Ugandan patients infected with the human immunodeficiency virus. *Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 85, 227-229.



## 10. ANEXOS

## ANEXO I

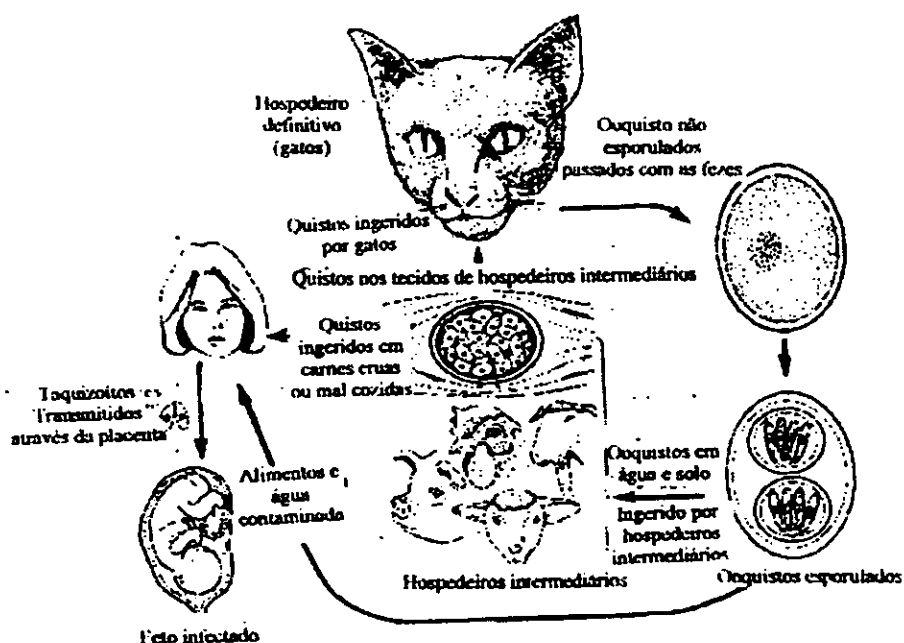


Fig. 1: Ciclo de vida do *Toxoplasma gondii*

Os gatos (*Felis catus*), hospedeiros definitivos do *Toxoplasma gondii*, infectam-se ao ingerir oocistos esporulados ou (mais frequentemente) animais infectados. Os oocistos são infecciosos para maior parte dos mamíferos e aves. O *Toxoplasma* pode ser transmitido para hospedeiros intermediários através de oocistos, pelo carnivorismo, ou transplacentalmente (Dubey *et al.*, 1998).

## ANEXO II

Critérios de infecção sintomática por HIV (Ahrtag, 1994)

Uma pessoa tem infecção sintomática por HIV se nela se encontrarem:

- Um ou mais achados *cardinais*,
- Dois ou mais achados *característicos*,
- Um achado *característico* e dois ou mais achados *associados*
- Três ou mais achados *associados* juntamente com quaisquer *factores de risco*
- Dois achados *associados* com um resultado *positivo* nos testes HIV,

**Achados associados** (se não houver nenhuma outra causa óbvia de imunossupressão)

1. Perda de peso recente e ou inexplicada de mais de 10% de peso corporal
2. Febre (contínua ou intermitente) há mais de um mês,
3. Diarreia (contínua ou intermitente) há mais de um mês,
4. Tosse há mais de um mês,
5. Linfadenopatia generalizada, etc.

### **Achados cardinais**

1. Retinite por citomegalovirus
2. Pneumonia por *Pneumocysts carinii*
3. Sarcoma de kaposi
4. Candidíase esofágica
5. Encefalite por *Toxoplasma gondii*

**Achados característicos** (se não há nenhuma outra causa óbvia de imunossupressão, tal como a malnutrição)

1. Estomatite (doente que não está a tomar antibióticos)
2. Leucoplasia pilosa
3. Meningite criptocócica
4. Tuberculose miliar e extrapulmonar
5. Prurido marcado, etc.

## ANEXO III

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA (SERVIÇO DE PARASITOLOGIA)

### **Prevalência de anticorpos IgM específicas anti*Toxoplasma gondii* em pacientes com HIV/SIDA**

Boletim de informação para o consentimento informado dos participantes

Para melhor compreender a frequência de doentes de SIDA com toxoplasmose. Pretende-se com este estudo saber qual é a prevalência de infecções agudas nestes pacientes. Para atingir este objectivo precisaremos fazer algumas perguntas (inquérito) e colher amostras de sangue em pacientes que aceitarem participar do estudo para diagnóstico laboratorial. Fazem parte do estudo, investigadores do Departamento de Ciências Biológicas da Faculdade de Ciências e do Departamento de Parasitologia de sangue do Instituto nacional de Saúde. A toxoplasmose é uma doença que ocorre em seres humanos assim como em várias espécies de animais .

A doença ocorre sem registo de sintomas marcados em indivíduos com as defesas do organismo funcionais por toda a vida. Por isso muitas pessoas podem estar infectadas por este parasita causador da doença sem apresentar sintomas ou sinais.

Nessas mesmas pessoas, quando as defesas do organismo enfraquecem por diversas causas incluindo a SIDA podem desenvolver a doença por reactivação da infecção crónica com sintomas graves. Nestes indivíduos os principais sintomas da doença são resultantes de complicações neurológicas que podem resultar em lesões no cérebro.

Por essa razão a toxoplasmose , sendo uma das doenças oportunistas do SIDA é cada vez mais importante na saúde pública devido à disseminação do HIV/SIDA.

Sabendo com antecedência se o indivíduo está infectado pelo parasita permite seguir e recomendar medidas profiláticas e tratamento para estes doentes a fim de diminuir o risco de complicações cerebrais sérias.

Pelo de a frequência com que a toxoplasmose ocorre em Moçambique não ser conhecida, pretende-se realizar um estudo em indivíduos com SIDA para saber a percentagem de pacientes com SIDA activamente infectada, informação que vai permitir a tomada de medidas concretas para o controle da doença e evitar toxoplasmose cerebral.

Para este estudo pretendemos envolver pessoas com mais de 18 anos de idade. Caso queira participar no presente estudo será colhida uma amostra de 2.5 ml de sangue retirada da veia.

Por participar no estudo ficará a saber se está ou não infectado por este parasita. Os resultados das análises laboratoriais serão encaminhadas para o médico da unidade sanitária onde está a ser atendido que decidirá pelo tratamento mais adequado e se responsabilizará pelo mesmo.

Todo o material usado para a colheita da amostra estará devidamente esterilizado pelo que você não corre nenhum risco de ser contaminado por uma outra doença.

Para garantir a confidencialidade o seu nome não será usado na análise dos resultados e não constará na elaboração do relatório final do trabalho, sendo este substituído por um código que só o médico que está a tratar poderá conhecer. O médico irá informá-lo dos resultados das análises laboratoriais.

Os membros da equipa do estudo estarão sempre disponíveis para dar qualquer informação que necessite acerca do estudo, a qualquer momento.

A sua participação no estudo é absolutamente voluntária estando livre de renunciar dela, decisão que não irá de forma alguma afectar os cuidados médicos que venha a necessitar no futuro.

Se aceitar participar neste estudo lhe será pedido que assine um documento no qual declara que entendeu a informação que leu ou lhe foi lida e que consente em participar no estudo.

**ANEXO IV**

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA (SERVIÇO DE PARASITOLOGIA)

**Prevalência de anticorpos IgM específicas anti*Toxoplasma gondii* em pacientes com HIV/SIDA**

Nome do paciente: .....Número de estudo: .....

Confirmando que me foi lido/li o Boletim de Informação para consentimento informado e compreendi o seu conteúdo. Tive a oportunidade de colocar questões relacionadas com o estudo.

Estou ciente de que será colhida amostra de sangue venoso. Estou ciente que no acto de colheita da amostra de sangue poderei sentir alguma dor local que passará depois de algum tempo.

Estou ciente de que a minha informação pessoal será mantida confidencial e só será utilizada para fins do estudo.

Estou ciente de que pelo facto de participar no estudo se me for diagnosticada infecção toxoplásmica e eventualmente encefalite a responsabilidade do tratamento será da equipa clínica da unidade sanitária onde estou a ser tratado.

Estou ciente de que não sou obrigado/a a participar no estudo e que posso abandonar o mesmo a qualquer momento e que tal não terá interferência nos cuidados médicos a receber no futuro.

Assinatura ou impressão digital do paciente: .....

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Li o acima mencionado ao paciente ..... num idioma que ele/ela entende. Entendo que ele/ela concordou com a sua participação neste estudo.

Assinatura ..... do ..... Investigador:

.....

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Confirmo que testemunhei a leitura do Boletim de Informação ao paciente

Assinatura da testemunha: .....

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**ANEXO V**

UNIVERSIDADE EDUARDO MONDLANE  
FACULDADE DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA (SERVIÇO DE PARASITOLOGIA)

**Prevalência de anticorpos IgM específicas anti*Toxoplasma gondii* em pacientes com HIV/SIDA**

FICHA DE COLHEITA DE DADOS

**A) Informação Sobre Os Inquiridos**

1. Inquérito n.º:          2. Data:   /   / 2004
3. NID:            4. Naturalidade (provincia):
5. Residência, (Bairro):
6. Idade:   anos      7. Sexo: M  F
8. Profissão:
9. Estado civil : Casado/a  Solteiro/a  Viuvo/a  Divorciado/a
10. Ano de diagnóstico de HIV :
11. Estágio Clínico 1º  2º  3º  4º
12. Tratamento com antibióticos \*SIM  NÃO
- \* Há quanto tempo   Meses
13. Tratamento com anti-retrovirais \*SIM  NÃO
- \* Há quanto tempo   Meses
14. Amostra n.º:

**B) Análises Laboratoriais**

**RESULTADOS**

15. Teste de ELISA

	DO1	DO2
IgM		

Data:   /   / 2004

Investigador:



## ANEXO VI

### Disposição dos controlos na placa

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S. B											
B	C. P											
C	C. P											
D	C. N											
E	C. N											
F	S.cutoff											
G	S.cutoff											
H	S.cutoff											

S. B. - Substrato branco

C. P. -Controle positivo

C.N. -Controle negativo

S. Cutoff- soro de "cutoff"