

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**CURSO DE BIOMEDICINA**

**TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM BIOMEDICINA**

**Identificação de *Neospora caninum* por Reação de Imunofluorescência  
Indireta utilizando-se soropositividade para HIV como parâmetro de  
imunodeficiência em amostras de soros humanos do Hospital de Clínicas de  
Porto Alegre**

**Aluno:** Edelvan Nunes

**Nº do Cartão:** 00134649

**Orientador:** Prof.<sup>a</sup> Neusa Saltiél Stobbe

**Co-orientador:** Prof.<sup>o</sup> João Henrique Correia Kanan

**Porto Alegre**

**2011**

*Dedico este trabalho aos  
meus familiares,  
especialmente, aos meus pais,  
Aldair e Ivo, pelos valores  
que me passaram, por todo  
carinho e amor, que um filho  
poderia querer.*

## **Agradecimentos**

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado forças e me amparado não apenas na realização deste trabalho como também durante todo o tempo de faculdade.

Agradeço aos meus pais pelos conselhos e ensinamentos, além dos vários exemplos de superação que me deram durante sua vida. A minha mãe pelas cansativas noites em claro ao meu lado, não me deixando cochilar e sempre me dando ânimo para prosseguir, mesmo nos tempos de dificuldade. Ao meu pai, que onde quer que esteja, sei que continua me impulsionando a sempre me aprimorar e jamais me abater com as dificuldades que a vida me possa me impor.

A minha família e amigos, em geral, pelo carinho e compreensão pelas minhas ausências, durante longos períodos, além dos vários compromissos e viagens desmarcadas na última hora. Aos meus primos Vítor e Guilherme, pelas conversas sempre animadas e divertidas. Aos amigos: Anderson, Luisa e Leo pelas dicas e apoio que sempre vieram em boa hora, mesmo que a distância.

A minha orientadora prof<sup>a</sup> Neusa Saltiél Stobbe, pelo auxílio de todas as horas neste trabalho, sua solicitude e disposição no trabalho, além de sua já conhecida simpatia.

Ao meu co-orientador prof<sup>o</sup> João Henrique Correia Kanan, pelas inestimáveis contribuições e observações em meu trabalho, bem como seu notório bom humor.

A equipe do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), em especial ao prof<sup>o</sup> Thor e a Jaqueline, pela acessibilidade e interesse.

Ao pessoal da Unidade de Bioquímica e Imunoensaio do Serviço de Patologia Clínica, em especial a Marta que sempre esteve disponível pra me auxiliar, apesar de sua rotina intensa de trabalho.

Aos integrantes do Laboratório de Parasitologia, pela acolhida e auxílio nos momentos necessários. Aos colegas e amigos: Ana Maris, Dayane, Lua, Ismael, Eder, Vinícius, Mari Aline e Carolina.

A todos que participaram deste projeto, trazendo sua ajuda bem como suas contribuições e experiências adquiridas ao longo de suas vidas acadêmicas e pessoais.

O meu sincero agradecimento a todos. Muito obrigado!

## Índice geral

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Lista de Tabelas .....</b>                                   | <b>07</b> |
| <b>Lista de Figuras .....</b>                                   | <b>08</b> |
| <b>Introdução Geral .....</b>                                   | <b>09</b> |
| <b>Objetivos .....</b>  | <b>12</b> |
| <b>Artigo .....</b>   | <b>13</b> |
| <b>RESUMO .....</b>   | <b>14</b> |
| <b>ABSTRACT .....</b>   | <b>16</b> |
| <b>INTRODUÇÃO .....</b>   | <b>18</b> |
| <b>MÉTODOS .....</b>  | <b>20</b> |
| <b>RESULTADOS .....</b>   | <b>23</b> |
| <b>DISCUSSÃO .....</b>  | <b>25</b> |
| <b>CONCLUSÕES .....</b>   | <b>27</b> |
| <b>CONFLITOS DE INTERESSE .....</b>                             | <b>28</b> |
| <b>SUPORTE FINANCEIRO .....</b>                                 | <b>28</b> |
| <b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>                         | <b>29</b> |
| <b>Referencias Bibliográficas Adicionais .....</b>              | <b>32</b> |
| <b>Anexos .....</b>   | <b>33</b> |
| <b>I - Resultados das sorologias dos grupos estudados .....</b> | <b>33</b> |
| <b>Resultados Neospora Grupo Pacientes HIV Positivo .....</b>   | <b>33</b> |
| <b>Resultados Neospora Grupo Pacientes HIV Negativo .....</b>   | <b>35</b> |

**Resultado Neospora Grupo Doadores de Sangue HIV Negativo ..... 37**

**II - Normas para submissão de artigos na Revista da Sociedade Brasileira de  
Medicina Tropical ..... 38**

## Lista de Tabelas

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1:</b> Frequência de amostras de soro humano positivas e negativas para a presença de anticorpos IgG contra <i>Neospora caninum</i> , verificada pela reação de imunofluorescência indireta (diluição dos soros 1:25; cepa NC-1), segundo a condição de sororeagente para o vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV). Porto Alegre, 2011.<br>..... | 23 |
|---|----|

## Lista de Figuras

- Figura 1:** Ciclo Biológico de *Neospora caninum* ..... 10
- Figura 2:** Representação gráfica da análise do risco relativo de apresentar anticorpos contra *Neospora caninum* entre três grupos estudados, sendo: 01= pacientes HIV positivos X pacientes HIV negativos; 02 = pacientes HIV negativos X doadores de sangue HIV negativos; 03 = pacientes HIV positivos X doadores de sangue HIV negativos.. ..... 25



## **Introdução geral**

O *Neospora caninum* é um protozoário intracelular que foi descrito primeiramente em cães que apresentaram alterações neurológicas, na Noruega em 1984 (Bjerkås et al, 1984). Ele é conhecido como importante parasito de bovinos e cães domésticos, sendo também encontrados em outros animais como equinos, caprinos, ovinos, suínos, felinos e em alguns animais silvestres (Dubey, 2003; e Dubey et al, 2007).

Os hospedeiros definitivos conhecidos são cães domésticos, dingos e coiotes, nos quais se reproduz sexuadamente nas células intestinais. Ao final deste processo, formam-se oocistos que são eliminados nas fezes. Nas demais espécies animais até então identificadas como hospedeiras intermediárias, o parasito se reproduz por endodiogenia principalmente em células neurais e musculares, nas quais se formam cistos teciduais (Dubey, 2003 e King, 2010).

Assim como os demais protozoários do filo apicomplexa, os estágios móveis de *N. caninum* apresentam roptrias, organelas que se conectam ao pólo apical do parasita. Essas organelas podem variar em número e forma e contêm enzimas que são liberadas durante o processo de infecção celular. As proteínas que elas contêm são importantes na interação entre o hospedeiro e o parasita (Bradley et al, 2005).

Pouco se sabe sobre os mecanismos de disseminação e distribuição tecidual em animais naturalmente infectados. Os mecanismos de transmissão são a ingestão de oocistos presentes em vegetais, água e solo, a ingestão de cistos presentes em tecidos animais e a via transplacentária. A via placentária é a responsável pela transmissão do parasito, em diversos hospedeiros e em bovinos a rota vertical é a principal via de transmissão (Dubey, 2003).

As fontes de infecção conhecidas, são as mesmas para todos os hospedeiros em potencial, sejam eles intermediários ou definitivos. Trata-se de formas de infecção horizontal e vertical. As formas de transmissão horizontal consistem na ingestão de carnes, placenta e outros tecidos de animais

contaminados pelo parasito, bem como a ingestão de alimentos e água contaminados como no caso da grama para os ruminantes. A forma de transmissão vertical é a via placentária, na qual o feto é contaminado, diretamente, pela genitora. A transmissão em ruminantes ocorre, principalmente, pela ingestão de pasto contaminado por fezes com oocistos do parasito (Figura 1). Animais carnívoros, como canídeos são contaminados pela ingestão de carne contaminada. Humanos podem ser contaminados pelo consumo de carne e leite contaminados, além do contato e manipulação com animais que tenham o parasito.

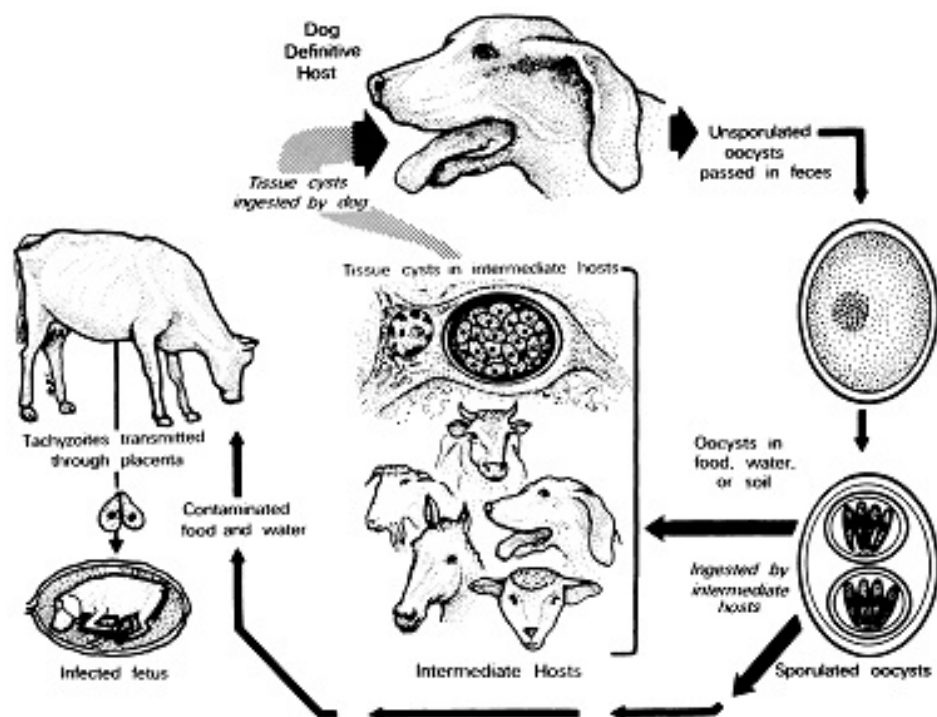


Figura 1: Ciclo biológico de *Neospora caninum* (Dubey, 1999).

Os protozoários *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* são muito próximos, pois existem semelhanças estruturais, genéticas e imunológicas. Além

disso, as doenças por eles desencadeadas apresentam traços comuns, como os quadros neurológicos e as patologias reprodutivas. A toxoplasmose é mais importante em ovinos e humanos e a neosporose em bovinos e caninos. Apesar das semelhanças, as duas espécies têm características antigênicas diferentes e podem ser distinguidas por métodos sorológicos e imunológicos (Hemphill et al, 1999; Barratt et al, 2010).

Quanto à infecção em humanos, desde que dois macacos rhesus foram experimentalmente infectados por *N. caninum* tem-se investigado o seu potencial zoonótico (Barr et al, 1994). O macaco rhesus alimenta-se de vegetais e pequenos animais, ou seja, ele é um animal onívoro como o ser humano. Ele apresenta grandes semelhanças genéticas com o ser humano, como demonstrado recentemente no sequenciamento de seu genoma. Entretanto, até o momento, não há evidências de neosporose em humanos. Porém, como existe proximidade filogenética entre *N. caninum* e *T. gondii* (Hemphill et al, 1999) e certa amplidão de hospedeiros potenciais, a chance de seres humanos contraírem a doença não pode ser descartada.

Como *N. caninum* é um parasita intracelular obrigatório, o seu crescimento é mediado por resposta imune celular. No estudo de Spekker et al, de 2009, verificou-se que o IFN- $\gamma$  desempenha papel fundamental no crescimento de *N. caninum* tanto em infecções naturais como experimentais, sendo o seu mediador. A enzima, degradadora de triptofano, indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO) é responsável pela inibição do crescimento do parasito, que é mediada pela ativação de IFN- $\gamma$  em fibroblastos bovinos e células epiteliais. Demonstrando que células bovinas e humanas tem o mesmo mecanismo efetor para o controle do crescimento de *N. caninum*.

Vários estudos foram feitos ao redor do mundo, com o intuito de determinar a soroprevalência de *N. caninum* em cães e outros animais domésticos, em gado de corte e leiteiro, animais silvestres e de zoológicos e também em seres humanos. Estes dados não são comparáveis entre si, pois fazem uso de diferentes metodologias sorológicas entre si, bem como de vários pontos de corte, porém indicam que muitas espécies de mamíferos são expostas ao parasito, mas até o

momento o parasito em si não foi encontrado em tecidos humanos, tão pouco identificado o seu DNA.

### **Objetivos**

Este trabalho teve como objetivos verificar a ocorrência e correlacionar a frequência de anticorpos contra *Neospora caninum* em pessoas soropositivas e soronegativas para o vírus da imunodeficiência adquirida.

## **Artigo**

Este artigo se refere ao estudo desenvolvido durante o estágio em pesquisa no Laboratório de Parasitologia do Instituto de Ciências Básicas da Saúde, desta universidade. Este estudo transcorreu durante o período de janeiro de 2011 à dezembro de 2011. Este artigo está formatado para ser submetido para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. As normas desta revista encontram-se no anexo.

**Identificação de *Neospora caninum* por Reação de Imunofluorescência Indireta utilizando-se soropositividade para HIV como parâmetro de imunodeficiência em amostras de soros humanos do Hospital de Clínicas de Porto Alegre**

**Aluno:** Edelman Nunes

**RESUMO**

**Introdução:** *Neospora caninum* é um protozoário intracelular cujos hospedeiros definitivos são cães domésticos, dingos e coiotes. Não há evidências de neosporose em humanos, mas a chance de humanos contraírem a doença não pode ser descartada. Este trabalho objetiva verificar e correlacionar a frequência de anticorpos contra *N. caninum* em pessoas soropositivas e soronegativas para o vírus da imunodeficiência adquirida. **Métodos:** As amostras utilizadas foram soros humanos, separados em grupos quanto a presença de anticorpos IgG para o HIV: um grupo de soropositivos para HIV com 310 amostras; outro de soronegativos para HIV, mas com outras possíveis patologias, composto por 248 amostras; e o terceiro grupo de doadores de sangue soro negativos para HIV e outras patologias, composto por 50 amostras. As amostras foram triadas pela reação de imunofluorescência indireta. **Resultados:** A análise estatística dos resultados mostrou, que a proporção de infectados por *N. caninum* é maior em pacientes portadores de HIV (92/310) que em doadores de sangue (9/50) e

pacientes não portadores de HIV (42/248) ( $\chi^2 = 11,1406 > \chi^2_{0,05;1} = 3,84$  e  $P=0,0008$ ). Comparando-se pacientes soronegativos para HIV e doadores de sangue, não houve aumento significativo na presença de anticorpos de para *N. caninum* (risco relativo = 0,9163; IC<sub>95%</sub> = [0,4718 a 1,7772];  $z = 0,0649$ ;  $p = 0,9483$ ). **Conclusões:** É possível haver associação entre a infecção por HIV e ocorrência de anticorpos para *N. caninum*, sustentando a continuidade do estudo para esclarecer o papel da infecção por *N. caninum* em indivíduos imunocomprometidos. O papel de outras patologias concomitantes também deve ser avaliado.

**Palavras-chaves:** *Neospora caninum*, anticorpos IgG, HIV, soro humano.

**Identification of *Neospora caninum* by indirect immunofluorescence reaction using HIV seropositivity as a parameter in samples immunodeficiency human sera from Hospital de Clinicas de Porto Alegre**

**Student:** Edelvan Nunes

**ABSTRACT**

**Introduction:** *Neospora caninum* is an intracellular protozoan whose definitive hosts are domestic dogs, dingoes and coyotes. No evidence of neosporosis in humans, but the chance of humans contracting the disease cannot be ruled out. This work aims to verify and correlate the frequency of antibodies against *N. caninum* in seropositive individuals and seronegative for human immunodeficiency virus. **Methods:** The samples used were human sera, separated into groups for the presence of IgG antibodies to HIV: a group of 310 HIV-seropositive samples, another HIV-negative, but with other possible conditions, consisting of 248 samples, and a third group of donors of blood serum negative for HIV and other diseases, composed of 50 samples. The samples were screened by indirect immunofluorescence. **Results:** Statistical analysis of results showed that the proportion of infected *N. caninum* is higher in patients with HIV (92/310) than in blood donors (9/50) and patients without HIV (42/248) ( $\chi^2 = 11,1406 > \chi^2_{0,05;1} = 3,84$  e  $P=0,0008$ ). Comparing HIV-negative patients and blood donors, there was no significant increase in the presence of antibodies to *N. caninum* (risk



Ratio = 0.9163, 95% CI [0.4718 to 1.7772],  $z = 0.0649$ ,  $p = 0.9483$ ).

**Conclusions:** There may be an association between HIV infection and occurrence of antibodies for *N. caninum*, maintaining the continuity of the study to clarify the role of infection by *N. caninum* infection in immunocompromised individuals. The role of other concomitant pathologies should also be evaluated.

**Keywords:** *Neospora caninum*, IgG antibodies, HIV, human serum.

## INTRODUÇÃO

*Neospora caninum* é um protozoário intracelular, e heteroxeno que foi descrito primeiramente em cães que apresentaram alterações neurológicas, na Noruega em 1984<sup>1</sup>, cujos hospedeiros definitivos conhecidos são cães, dingos e coiotes e os hospedeiros intermediários mais importantes são os bovinos, equinos, ovinos, caprinos, suínos, felinos e caninos inclusive<sup>2,3,4,5</sup>.

Desde que dois macacos *Rhesus* foram experimentalmente infectados por *N. caninum* tem-se investigado a sua ocorrência em seres humanos<sup>6</sup>. O modelo de infecção de primatas tem sido usado com sucesso, em produzir animais, experimentalmente, infectados. Segundo estudo realizado em macaco prego (*Cebus apella*) constatou-se que no estado de São Paulo, há uma soropositividade para *N. caninum* de 29,2% entre os animais de zoológicos<sup>7</sup>. Recentemente, foi feito, em 2009, um estudo no Egito buscando a soroprevalência de *T. gondii* e *N. caninum* em soros de: coelhos, bovinos e humanos. Este estudo teve 101 amostras de soro humano, todos de mulheres grávidas e revelou uma soroprevalência de 7,94% para presença de *N. caninum*<sup>8</sup>. Não se encontrou até o presente momento evidência de ligação entre infecção por *N. caninum* e mulheres que tiveram abortos espontâneos e repetidos<sup>9</sup>.

Pacientes imunocomprometidos podem ser alvos em potencial na busca por evidências de neosporose em humanos. Lobato et al. (2006) detectaram anticorpos IgG contra *N. caninum* em 38% de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e em 18% de pacientes com desordens neurológicas, em Uberlândia, Estado de Minas Gerais, sendo esse estudo

importante por sugerir a possibilidade da neosporose constituir parasitose oportunista em pacientes imunocomprometidos<sup>10</sup>. Na região sudoeste do Mato Grosso, foi realizado estudo para avaliar a frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em amostras de soros de bovinos leiteiros, de cães e de humanos que conviviam nas mesmas propriedades rurais amostradas, e a soropositividade foi de 10,5% para humanos<sup>11</sup>.

Na Inglaterra, um estudo feito com a população geral inglesa e uma população humana de alto risco para infecção por *N. caninum*, demonstrou que a infecção em humanos é incomum na Inglaterra<sup>12</sup>. Em um screening realizado na França, em amostras de indivíduos soronegativos e soropositivos para o HIV, nenhum dos indivíduos imunocompetentes apresentou anticorpos para *Neospora*, já no grupo de indivíduos de imunocomprometidos quatro foram positivos para presença de anticorpos de *Neospora*, sendo três deles positivos em altos títulos para *Toxoplasma gondii*, o que sugere reativação sorológica. Não foi encontrada evidência de infecção ou exposição de pessoas imunocompetentes ao *Neospora*, porém não pode ser descartada a chance de infecção por *Neospora* associada com infecção ou reativação por *Toxoplasma* nos indivíduos imunocomprometidos<sup>13</sup>.

Os estudos em humanos conduzidos no mundo têm amostras de fonte variadas, como de soros com HIV<sup>14</sup>, recém-nascidos<sup>10</sup>, mulheres com abortos espontâneos<sup>13</sup> e doadores de sangue, dentre outras. No caso de doadores de sangue, a soroprevalência ao redor do mundo tem girado em torno de 5% a 10%.

Na Alemanha, foi demonstrado que a densidade populacional humana tem uma correlação positiva com a densidade de cães. Sendo a densidade de cães um

fator de risco para a infecção, não é de surpreender que a densidade da população humana tenha o mesmo efeito. A proximidade com cidades ou vilarejos também contribui para um aumento no fator de risco para abortos associados com infecção por *N. caninum* em rebanhos localizados em suas cercanias, pois quanto maior o aglomerado populacional humano, maior é a densidade de cães e, portanto maior a chance de infecção<sup>15</sup>.

## MÉTODOS

As amostras utilizadas foram soros humanos coletados de pacientes hospitalizados e de doadores de sangue, no período de agosto de 2005 até setembro de 2011. As amostras foram obtidas junto a Unidade de Bioquímica e Imunoensaio do Serviço de Patologia Clínica e do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). Os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal do Rio Grande do Sul sob o número 2004266.

Pressupondo-se uma prevalência de 6,7% de anticorpos para *N. caninum* na população humana sadia, a amostragem mínima determinada por ZAR (1999) seria de 400 amostras por grupo<sup>16</sup>.

As amostras coletadas foram separadas em três grupos experimentais quanto a presença de anticorpos IgG contra o vírus HIV: o primeiro com 310 amostras de pessoas soropositivas para o vírus da Imunodeficiência Adquirida, o

segundo, com 248 amostras de pessoas soronegativa para o mesmo vírus, mas portadoras de outras patologias por se tratarem de pacientes hospitalares, e o terceiro grupo constituído por 50 amostras de doadores de sangue negativos para HIV-1 e HIV-2, além de outras patologias de interesse sorológico, triadas, rotineiramente, no HCPA, que são as seguintes: Vírus da Hepatite C (HCV), Vírus T-Linfotrófico Humano (HTLV), Vírus da Hepatite B (HBV) e Sífilis. Não foram disponibilizadas outras informações além da soropositividade ou soronegatividade para o HIV, portanto não se sabe se alguma das amostras estudadas apresenta alguma outra patologia de interesse sorológico, triada no HCPA.

A condição de soropositividade para o vírus HIV foi realizada e informada pelos laboratórios do HCPA onde as amostras foram obtidas. Nestes, utilizaram-se o teste de ELISA para triagem e o teste de imunofluorescência indireta para a confirmação daquele diagnóstico. O manuseio e o destino dos materiais utilizados seguiram as normas de biossegurança de nível 3<sup>17</sup>.

As amostras foram estocadas em eppendorfs com capacidades de 2 a 3 ml, congeladas em freezer a -20°C, evitando-se, ao máximo, congelamentos e descongelamentos desnecessários.

O uso da RIFI foi qualitativo sendo que a condição de soropositividade para *N. caninum* foi testada ao título mínimo de 25, utilizando-se globulina de carneiro anti-imunoglobulina humana classe G marcada pelo isotiocianato de fluoresceína. As amostras foram testadas frente ao antígeno de *N. caninum* cepa NC-1, constituído de taquizoítos cultivados em células Vero.

Os soros foram diluídos a 1:25 em tampão fosfato-salino (PBS). Os controles positivo e negativo utilizados foram amostras de soros humanos previamente triadas como positiva e negativa para presença de anticorpos contra *N. caninum* em experimento anterior.

As incubações dos soros frente ao antígeno, assim como do conjugado, foram feitas em câmara úmida por 30 a 40 minutos em estufa a 37°C.

As lavagens após as incubações foram feitas em jarra de Coplin, constituindo-se por três lavagens sucessivas de 5 minutos cada uma em PBS, mediante suave agitação. Após cada lavagem as lâminas eram secas em temperatura ambiente com o auxílio de secador e papel de filtro.

A montagem das lâminas para leitura foi feita aplicando-se uma ou duas gotas de glicerina tamponada entre as áreas reativas, com posterior sobreposição de lamínula. As lâminas foram analisadas em microscópio de fluorescência, no aumento de 40x.

Uma reação foi considerada positiva quando a fluorescência apresentava-se amarelo-esverdeada plena ao redor dos taquizoítos. Quando a fluorescência apresentava-se ausente ou apenas apical ou quando os parasitos exibiam coloração avermelhada considerava-se a reação é negativa.

A análise estatística foi efetuada com o programa estatístico BioEstat 5.0. A análise do  $\chi^2$  foi feita, por meio do BioEstat 5.0., bem como a obtenção do risco relativo.

## RESULTADOS

Os resultados dos testes sorológicos nos três grupos avaliados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1: Frequência de amostras de soro humano positivas e negativas para a presença de anticorpos IgG contra *Neospora caninum*, verificada pela reação de imunofluorescência indireta\*, segundo a condição de sororeagente para o vírus da Imunodeficiência Adquirida (HIV). Porto Alegre, 2011.

| Grupo                           | <i>Neospora</i><br>positivo | <i>Neospora</i><br>negativo | Total |
|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------|
| HIV positivo (paciente)         | 92                          | 218                         | 310   |
| HIV negativo (paciente)         | 42                          | 206                         | 248   |
| HIV negativo (doador de sangue) | 9                           | 41                          | 50    |
| Total                           | 143                         | 465                         | 608   |

\* Diluição dos soros 1:25; antígeno cepa NC-1.

Foi utilizado o teste de  $\chi^2$  de associação e o valor obtido para ele foi de 11,1406 sendo o seu valor crítico para um nível de significância de 0,05 em 1 grau de liberdade igual a 3,84 e um valor-p de 0,0008. A meta-análise, efetuada nas amostras coletadas no HCPA, mostrou o seguinte: a diferença expressa em termos de Qui-quadrado é estatisticamente muito significativa ( $p = 0,0008$ ), ou seja, a

proporção de indivíduos infectados por *N. caninum* é maior nos portadores de HIV que a dos indivíduos não portadores de HIV.

Quando a análise do risco relativo é feita em conjunto com os três grupos estudados (Figura 2), o valor do risco relativo combinado é de 1,5482 em um intervalo de confiança de 95% que varia de 1,0551 a 2,2690; este valor foi confirmado por meio de teste z como significativo ( $z = 3,3444$ ;  $p = 0,0008$ ). Estes dados mostram que há aumento na frequência de amostras com presença de anticorpos anti-*Neospora caninum*, nas amostras de soro positivas para HIV, quando se comparam elas com as amostras de soro negativas para HIV.

Ao comparar os resultados entre pacientes e doadores de sangue, ambos os soronegativos para HIV, verificou-se um risco relativo de 0,9163 em um intervalo de confiança de 95% que varia de 0,4718 a 1,7772; este valor foi confirmado por meio de teste z como não-significativo ( $z = 0,0649$ ;  $p = 0,9483$ ).

O aumento na presença de anticorpos anti-*Neospora caninum*, nas amostras de pacientes do HCPA soro positivos para HIV em relação às amostras de pacientes do HCPA soro negativos para HIV demonstrou um risco relativo de 1,7426 em um intervalo de confiança de 95% que varia de 1,1995 a 2,5284; este valor foi confirmado por meio de teste z como significativo ( $z = 3,3821$ ;  $p = 0,0007$ ).

O aumento na presença de anticorpos de anti-*Neospora caninum*, nas amostras de pacientes do HCPA soro positivos para HIV em relação às amostras de doadores de sangue soro negativos para HIV, revelou um risco relativo de 1,5967 em um intervalo de confiança de 95% que varia de 0,8563 a 2,9736; este



valor foi confirmado por meio de teste z como significativo ( $z = 1,4656$ ;  $p = 0,1428$ ).

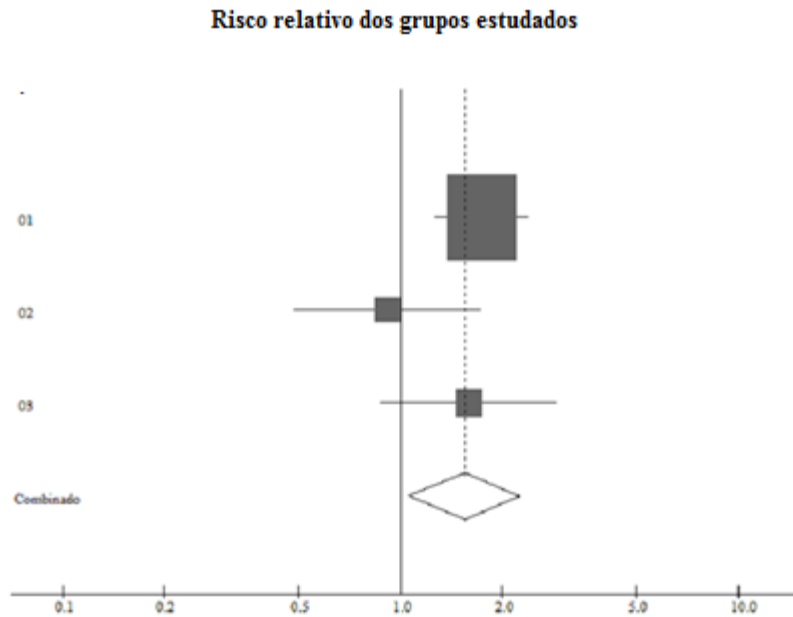


Figura 2: Representação gráfica da análise do risco relativo de apresentar anticorpos contra *Neospora caninum* entre três grupos estudados, sendo: 01= pacientes HIV positivos X pacientes HIV negativos; 02 = pacientes HIV negativos X doadores de sangue HIV negativos; 03 = pacientes HIV positivos X doadores de sangue HIV negativos.

## DISCUSSÃO

Pelos resultados encontrados na análise estatística, se comprova que ocorre um aumento na presença de *N. caninum* entre portadores de HIV. No entanto, deve-se levar em conta que este é um estudo em andamento cujo total de amostras por grupo analisadas não foi o mínimo preconizado pelo cálculo amostral. Pode-se, contudo, afirmar de que há um indicativo que o HIV possa aumentar a taxa de

infecção por *N. caninum*, por deixar o indivíduo afetado mais predisposto a se contaminar por patógenos oportunistas.

Não se deve ignorar também que os soros identificados como positivos para o HIV, também podem ser positivos para outros patógenos. As amostras provenientes da Unidade de Bioquímica e Imunoensaio do Serviço de Patologia Clínica do HCPA foram fornecidas sob a condição de anonimato obrigatório, ou seja, não foram fornecidos quaisquer dados que as identificassem a não serem suas datas de coleta e sua sorologia positiva para HIV, seja HIV-1 ou HIV-2.

Indivíduos acometidos pelo HIV são naturalmente predispostos a terem infecções oportunistas, e isso corrobora um aumento da frequência do aparecimento de *N. caninum* neles. O que se deve ter em mente é que esse aumento pode ter sido potencializado por outras patologias, que podem ser concomitantes nos indivíduos analisados. Patógenos como o HTLV, podem levar inclusive à ocorrência de resultados falso-positivos para o HIV, mesmo com todas as precauções tomadas na rotina de diagnósticos.

O HTLV é um retrovírus em que poucos de seus portadores apresentam sintomas clínicos, porém podem apresentar Linfoma de células T e também a Paraparesia Espástica Tropical, que é uma doença neurológica causada pela desmielinização de neurônios motores periféricos na medula espinhal. Contudo, o mais importante é que o HTLV é associado à imunossupressão, podendo contribuir para um aumento na taxa de infecção por protozoários como o *N. caninum*<sup>18</sup>.

Segundo estudo de Lobato et al, de 2006, pode haver relação entre infecção ou exposição a *N. caninum* e infecção oportunista e concomitante nos indivíduos soropositivos para HIV, por *T. gondii*, bem como indivíduos com transtornos neurológicos. No trabalho acima referido, o foco foi comparar a influência em indivíduos positivos e negativos para *T. gondii*. A soropositividade em recém-nascidos e indivíduos saudáveis foi, significativamente, menor se comparados aos indivíduos com HIV e transtornos neurológicos. A soropositividade para *N. caninum* foi significativamente associada à soropositividade para *T. gondii* em indivíduos infectados pelo HIV e com transtornos psicológicos<sup>8</sup>.

## **CONCLUSÕES**

Ficou evidente uma possível associação entre a infecção por HIV e a ocorrência de anticorpos contra *N. caninum*, nos resultados obtidos, sustentando a continuidade do estudo para se elucidar o papel da infecção por *N. caninum* em indivíduos imunocomprometidos. O papel de outras patologias que podem ocorrer concomitantemente também deve ser avaliado, como o caso do HTLV, devido ao seu papel no imunocomprometimento do indivíduo afetado. Outros modelos de imunocomprometimento também podem ser explorados, como no caso de indivíduos submetidos à quimioterapia.

## **CONFLITOS DE INTERESSE**

Os autores declaram que não existiu qualquer tipo de conflito de interesse, durante o desenrolar deste estudo.

## **SUPORTE FINANCEIRO**

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bjerckås, I; Mohn, SF; Presthus, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd* (1984) 70:271-274.
2. Hemphill, A; Fuchs, N; Sonda, S; Hehl, A. The antigenic composition of *Neospora caninum*. *International Journal for Parasitology* Vol. 29 (1999). p.1175-1188.
3. Dubey, John P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* . 2003 Jun.; 41 (2):138.
4. Sarwat Al-Qassab, E; Reichel, MP; Ellis, JT. On the Biological and Genetic Diversity in *Neospora caninum*. *Diversity* (2010) 2, 411-438.
5. King, JS; Slapeta, J; Jenkins, DJ; Al-Qassab, SE; Ellis, JT; Windsor, PA. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*. 2010 Jul.; 40(8):945-50. Epub 2010 Feb 10.
6. Barr, BC; Conrad, PA; Sverlow, KW; Tarantal, AF; Hendrickx, AG. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. *Lab. Invest.* (1994). 71: 236–242.
7. Bouer, A; Werther, K; Machado, RZ; Nakaghi Higa, AC; Epiphonio, S; Catão-Dias, JL. Detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in experimentally and naturally infected non-human primates by Indirect Fluorescence Assay (IFA) and indirect ELISA. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 26-31, jan.-mar. 2010.
8. Ibrahim, HM; Huang, P; Salem, TA; Talaat, RM; Nasr, MI; Xuan, X; Nishikawa, Y. Short Report: Prevalence of *Neospora caninum* and

- Toxoplasma gondii Antibodies in Northern Egypt. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80(2), 2009, pp. 263–267.
9. Petersen, E; Lebech, M; Jensen, L; Lind, P; Rask, M; Bagger, P; Björkman, C; et al. Neospora caninum infection and repeated abortions in humans. *Emerg Infect Dis.* 1999 Mar-Apr; 5 (2):278-80.
  10. Lobato, J; Silva, DAO; Mineo, TWP; Amaral, JDHF; Silva Segundo, GR; Costa-Cruz, JM; Ferreira, MS; et al. Detection of Immunoglobulin G Antibodies to Neospora caninum in Humans: High Seropositivity Rates in Patients Who Are Infected by Human Immunodeficiency Virus or Have Neurological Disorders. *Clin. Vaccine. Immunol.* 2006, 13(1):84. 84-89.
  11. Benetti, AH; Schein, FB; dos Santos, TR; Toniollo, GH; da Costa, AJ; Mineo, JR; Lobato, J; et al. Inquiry of antibodies anti-Neospora caninum in dairy cattle, dogs and rural workers of the south-west region of Mato Grosso State. *Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal.* Dez. 2009. Vol. 18, supl. 1, p. 29-33.
  12. McCann, CM; Vyse, AJ; Salmon, RL; Thomas, D; Williams, DJL; McGarry, JW; Pebody, R; Trees, AJ. Lack of Serologic Evidence of Neospora caninum in Humans, England. *Emerging Infectious Diseases.* Vol. 14, No. 6, June 2008. p. 978-980.
  13. Robert-Gangneux, F; Klein, F. Serologic screening for Neospora caninum, France. *Emerg. Infect. Dis.* 15 (6): 987-988. 2009, 6 Jun.
  14. Karasek, G; Benatti, CP; Filippon, PG; de Araujo, FAP; Gennari, SM; Bernardi, ML; Kanan, JHC; Stobbe, NS. Ocorrência de anticorpos para Neospora caninum e Toxoplasma gondii em pessoas soropositivas para o vírus da imunodeficiência humana. In: XX Congresso Brasileiro de

- Parasitologia. Recife. 2007. Revista de Patologia Tropical, V. 36, Supl. 2 – jul./set. 2007. Páginas 632-633.
15. Dubey, JP; Schares, G; Ortega-Mora, LM. Epidemiology and Control of Neosporosis and Neospora caninum. Clinical Microbiology Reviews. Vol. 20 (2). Apr. 2007, p. 323–367.
  16. Tranas, J; Heinzen, RA; Weiss, LM; MCallister, MM. Serological Evidence of Human Infection with the Protozoan Neospora caninum. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. Vol. 6 (5). Sept. 1999, p. 765–767.
  17. Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 4a. ed. U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, 1999. 250p.
  18. Kirk, PDW; Witkover, A; Courtney, A; Lewin, AM; Wait, R; Stumpf, MPH; Richardson, S; et al. Plasma proteome analysis in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. Retrovirology. 2011. 8:81.

## Referências Bibliográficas Adicionais

Barr, BC; Conrad, PA; Sverlow, KW; Tarantal, AF; Hendrickx, AG. Experimental fetal and transplacental *Neospora* infection in the nonhuman primate. *Lab. Invest.* (1994). 71: 236–242.

Barratt, JLN; Harkness, J; Marriott, D; Ellis, JT; Stark, D. Importance of Nonenteric Protozoan Infections in Immunocompromised People. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 23, (4). Oct. 2010, p. 795–836.

Bjerkås, I; Mohn, SF; Presthus, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. *Z. Parasitenkd* (1984) 70:271-274.

Bradley, PJ; Ward, C; Cheng, SJ; Alexander, DL; Collier, S; Coombs, GH; Dunn, JD; et al. Proteomic Analysis of Rhoptry Organelles Reveals Many Novel Constituents for Host-Parasite Interactions in *Toxoplasma gondii*. *J. Biol. Chem.* 2005. October 7, 280 (40): 34245–34258.

Dubey, JP. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. *Veterinary Parasitology* (1999). 84: 349–367.

Dubey, JP. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.* . 2003 Jun.; 41 (2):138.

Dubey, JP; Schares, G; Ortega-Mora, LM. Epidemiology and Control of Neosporosis and *Neospora caninum*. *Clinical Microbiology Reviews*. Vol. 20 (2). Apr. 2007, p. 323–367.

King, JS; Slapeta, J; Jenkins, DJ; Al-Qassab, SE; Ellis, JT; Windsor, PA. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.* . 2010 Jul.; 40(8):945-50. Epub 2010 Feb 10.

The Rhesus Macaque Genome Sequencing and Analysis Consortium. *Science* (2007). 316: 222.



## Anexos

### I - Resultados das sorologias dos grupos estudados:

#### Resultados Neospora Grupo Pacientes HIV Positivo

| IgG ao  |           | IgG ao  |          | IgG ao  |           | IgG ao  |           |
|---------|-----------|---------|----------|---------|-----------|---------|-----------|
| Amostra | Título 25 | Amostra | Título25 | Amostra | Título 25 | Amostra | Título 25 |
| HPP1    | NEG       | HPP79   | NEG      | HPP157  | NEG       | HPP235  | NEG       |
| HPP2    | NEG       | HPP80   | POS      | HPP158  | NEG       | HPP236  | POS       |
| HPP3    | NEG       | HPP81   | NEG      | HPP159  | NEG       | HPP237  | NEG       |
| HPP4    | NEG       | HPP82   | NEG      | HPP160  | NEG       | HPP238  | NEG       |
| HPP5    | NEG       | HPP83   | POS      | HPP161  | NEG       | HPP239  | NEG       |
| HPP6    | NEG       | HPP84   | POS      | HPP162  | NEG       | HPP240  | NEG       |
| HPP7    | NEG       | HPP85   | NEG      | HPP163  | POS       | HPP241  | POS       |
| HPP8    | POS       | HPP86   | NEG      | HPP164  | POS       | HPP242  | NEG       |
| HPP9    | NEG       | HPP87   | NEG      | HPP165  | NEG       | HPP243  | NEG       |
| HPP10   | NEG       | HPP88   | NEG      | HPP166  | POS       | HPP244  | NEG       |
| HPP11   | NEG       | HPP89   | POS      | HPP167  | NEG       | HPP245  | POS       |
| HPP12   | POS       | HPP90   | NEG      | HPP168  | NEG       | HPP246  | POS       |
| HPP13   | POS       | HPP91   | NEG      | HPP169  | POS       | HPP247  | POS       |
| HPP14   | POS       | HPP92   | NEG      | HPP170  | POS       | HPP248  | POS       |
| HPP15   | NEG       | HPP93   | NEG      | HPP171  | NEG       | HPP249  | NEG       |
| HPP16   | NEG       | HPP94   | POS      | HPP172  | POS       | HPP250  | POS       |
| HPP17   | POS       | HPP95   | NEG      | HPP173  | POS       | HPP251  | NEG       |
| HPP18   | NEG       | HPP96   | NEG      | HPP174  | NEG       | HPP252  | POS       |
| HPP19   | NEG       | HPP97   | NEG      | HPP175  | POS       | HPP253  | NEG       |
| HPP20   | NEG       | HPP98   | NEG      | HPP176  | NEG       | HPP254  | NEG       |
| HPP21   | NEG       | HPP99   | NEG      | HPP177  | NEG       | HPP255  | NEPG      |
| HPP22   | POS       | HPP100  | NEG      | HPP178  | NEG       | HPP256  | NEG       |
| HPP23   | POS       | HPP101  | POS      | HPP179  | NEG       | HPP257  | POS       |
| HPP24   | POS       | HPP102  | NEG      | HPP180  | NEG       | HPP258  | POS       |
| HPP25   | NEG       | HPP103  | POS      | HPP181  | NEG       | HPP259  | NEG       |
| HPP26   | NEG       | HPP104  | POS      | HPP182  | NEG       | HPP260  | NEG       |
| HPP27   | NEG       | HPP105  | NEG      | HPP183  | NEG       | HPP261  | NEG       |
| HPP28   | NEG       | HPP106  | NEG      | HPP184  | POS       | HPP262  | NEG       |
| HPP29   | POS       | HPP107  | NEG      | HPP185  | NEG       | HPP263  | NEG       |
| HPP30   | NEG       | HPP108  | NEG      | HPP186  | POS       | HPP264  | NEG       |
| HPP31   | NEG       | HPP109  | NEG      | HPP187  | POS       | HPP265  | NEG       |
| HPP32   | NEG       | HPP110  | NEG      | HPP188  | NEG       | HPP266  | POS       |
| HPP33   | NEG       | HPP111  | NEG      | HPP189  | POS       | HPP267  | NEG       |

| IgG ao  |           | IgG ao  |          | IgG ao  |           | IgG ao  |           |
|---------|-----------|---------|----------|---------|-----------|---------|-----------|
| Amostra | Título 25 | Amostra | Título25 | Amostra | Título 25 | Amostra | Título 25 |
| HPP34   | NEG       | HPP112  | POS      | HPP190  | POS       | HPP268  | NEG       |
| HPP35   | NEG       | HPP113  | POS      | HPP191  | NEG       | HPP269  | NEG       |
| HPP36   | NEG       | HPP114  | NEG      | HPP192  | NEG       | HPP270  | NEG       |
| HPP37   | NEG       | HPP115  | NEG      | HPP193  | NEG       | HPP271  | NEG       |
| HPP38   | NEG       | HPP116  | NEG      | HPP194  | POS       | HPP272  | POS       |
| HPP39   | NEG       | HPP117  | POS      | HPP195  | NEG       | HPP273  | NEG       |
| HPP40   | NEG       | HPP118  | NEG      | HPP196  | NEG       | HPP274  | NEG       |
| HPP41   | NEG       | HPP119  | NEG      | HPP197  | NEG       | HPP275  | POS       |
| HPP42   | NEG       | HPP120  | POS      | HPP198  | NEG       | HPP276  | POS       |
| HPP43   | NEG       | HPP121  | NEG      | HPP199  | POS       | HPP277  | NEG       |
| HPP44   | NEG       | HPP122  | NEG      | HPP200  | NEG       | HPP278  | POS       |
| HPP45   | NEG       | HPP123  | POS      | HPP201  | NEG       | HPP279  | NEG       |
| HPP46   | NEG       | HPP124  | NEG      | HPP202  | NEG       | HPP280  | POS       |
| HPP47   | NEG       | HPP125  | POS      | HPP203  | NEG       | HPP281  | POS       |
| HPP48   | POS       | HPP126  | NEG      | HPP204  | NEG       | HPP282  | NEG       |
| HPP49   | POS       | HPP127  | POS      | HPP205  | NEG       | HPP283  | NEG       |
| HPP50   | NEG       | HPP128  | POS      | HPP206  | NEG       | HPP284  | POS       |
| HPP51   | NEG       | HPP129  | NEG      | HPP207  | NEG       | HPP285  | NEG       |
| HPP52   | NEG       | HPP130  | NEG      | HPP208  | NEG       | HPP286  | NEG       |
| HPP53   | POS       | HPP131  | NEG      | HPP209  | POS       | HPP287  | NEG       |
| HPP54   | POS       | HPP132  | NEG      | HPP210  | POS       | HPP288  | NEG       |
| HPP55   | NEG       | HPP133  | NEG      | HPP211  | POS       | HPP289  | NEG       |
| HPP56   | POS       | HPP134  | NEG      | HPP212  | NEG       | HPP290  | NEG       |
| HPP57   | NEG       | HPP135  | POS      | HPP213  | POS       | HPP291  | NEG       |
| HPP58   | POS       | HPP136  | NEG      | HPP214  | NEG       | HPP292  | NEG       |
| HPP59   | NEG       | HPP137  | NEG      | HPP215  | NEG       | HPP293  | POS       |
| HPP60   | POS       | HPP138  | NEG      | HPP216  | POS       | HPP294  | NEG       |
| HPP61   | POS       | HPP139  | POS      | HPP217  | NEG       | HPP295  | NEG       |
| HPP62   | NEG       | HPP140  | NEG      | HPP218  | POS       | HPP296  | NEG       |
| HPP63   | NEG       | HPP141  | NEG      | HPP219  | POS       | HPP297  | POS       |
| HPP64   | POS       | HPP142  | NEG      | HPP220  | POS       | HPP298  | POS       |
| HPP65   | NEG       | HPP143  | NEG      | HPP221  | NEG       | HPP299  | NEG       |
| HPP66   | NEG       | HPP144  | NEG      | HPP222  | NEG       | HPP300  | POS       |
| HPP67   | NEG       | HPP145  | POS      | HPP223  | POS       | HPP301  | NEG       |
| HPP68   | NEG       | HPP146  | NEG      | HPP224  | POS       | HPP302  | NEG       |
| HPP69   | POS       | HPP147  | NEG      | HPP225  | POS       | HPP303  | NEG       |
| HPP70   | NEG       | HPP148  | NEG      | HPP226  | NEG       | HPP304  | NEG       |
| HPP71   | NEG       | HPP149  | NEG      | HPP227  | POS       | HPP305  | NEG       |

| IgG ao  |           | IgG ao  |          | IgG ao  |           | IgG ao  |           |
|---------|-----------|---------|----------|---------|-----------|---------|-----------|
| Amostra | Título 25 | Amostra | Título25 | Amostra | Título 25 | Amostra | Título 25 |
| HPP72   | NEG       | HPP150  | NEG      | HPP228  | POS       | HPP306  | POS       |
| HPP73   | NEG       | HPP151  | NEG      | HPP229  | NEG       | HPP307  | NEG       |
| HPP74   | POS       | HPP152  | NEG      | HPP230  | NEG       | HPP308  | NEG       |
| HPP75   | NEG       | HPP153  | NEG      | HPP231  | NEG       | HPP309  | NEG       |
| HPP76   | POS       | HPP154  | NEG      | HPP232  | NEG       | HPP310  | NEG       |
| HPP77   | POS       | HPP155  | NEG      | HPP233  | NEG       |         |           |
| HPP78   | NEG       | HPP156  | NEG      | HPP234  | NEG       |         |           |

Legenda: HPP=HIV PACIENTE POSITIVO, POS=POSITIVO, NEG=NEGATIVO.

### Resultados Neospora Grupo Pacientes HIV Negativo

| IgG ao  |           | IgG ao  |           | Amostr | IgG ao    |        | Amostr    | IgG ao |           |
|---------|-----------|---------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|--------|-----------|
| Amostra | Título 25 | Amostra | Título 25 | a      | Título 25 | a      | Título 25 |        | Título 25 |
| HPN1    | POS       | HPN63   | NEG       | HPN125 | POS       | HPN187 | NEG       |        |           |
| HPN2    | NEG       | HPN64   | NEG       | HPN126 | NEG       | HPN188 | NEG       |        |           |
| HPN3    | NEG       | HPN65   | NEG       | HPN127 | POS       | HPN189 | NEG       |        |           |
| HPN4    | NEG       | HPN66   | NEG       | HPN128 | NEG       | HPN190 | NEG       |        |           |
| HPN5    | NEG       | HPN67   | NEG       | HPN129 | NEG       | HPN191 | NEG       |        |           |
| HPN6    | NEG       | HPN68   | NEG       | HPN130 | NEG       | HPN192 | NEG       |        |           |
| HPN7    | NEG       | HPN69   | NEG       | HPN131 | NEG       | HPN193 | NEG       |        |           |
| HPN8    | NEG       | HPN70   | NEG       | HPN132 | NEG       | HPN194 | NEG       |        |           |
| HPN9    | NEG       | HPN71   | NEG       | HPN133 | NEG       | HPN195 | NEG       |        |           |
| HPN10   | POS       | HPN72   | NEG       | HPN134 | NEG       | HPN196 | NEG       |        |           |
| HPN11   | NEG       | HPN73   | NEG       | HPN135 | NEG       | HPN197 | NEG       |        |           |
| HPN12   | NEG       | HPN74   | NEG       | HPN136 | NEG       | HPN198 | NEG       |        |           |
| HPN13   | NEG       | HPN75   | NEG       | HPN137 | NEG       | HPN199 | NEG       |        |           |
| HPN14   | POS       | HPN76   | POS       | HPN138 | NEG       | HPN200 | NEG       |        |           |
| HPN15   | NEG       | HPN77   | POS       | HPN139 | NEG       | HPN201 | NEG       |        |           |
| HPN16   | NEG       | HPN78   | NEG       | HPN140 | POS       | HPN202 | NEG       |        |           |
| HPN17   | NEG       | HPN79   | NEG       | HPN141 | NEG       | HPN203 | NEG       |        |           |
| HPN18   | NEG       | HPN80   | NEG       | HPN142 | NEG       | HPN204 | POS       |        |           |
| HPN19   | NEG       | HPN81   | POS       | HPN143 | POS       | HPN205 | NEG       |        |           |
| HPN20   | NEG       | HPN82   | NEG       | HPN144 | NEG       | HPN206 | NEG       |        |           |
| HPN21   | NEG       | HPN83   | NEG       | HPN145 | POS       | HPN207 | NEG       |        |           |
| HPN22   | NEG       | HPN84   | NEG       | HPN146 | NEG       | HPN208 | NEG       |        |           |
| HPN23   | NEG       | HPN85   | NEG       | HPN147 | NEG       | HPN209 | NEG       |        |           |

| IgG ao  |           | IgG ao  |          | IgG ao  |           | IgG ao  |           |
|---------|-----------|---------|----------|---------|-----------|---------|-----------|
| Amostra | Título 25 | Amostra | Título25 | Amostra | Título 25 | Amostra | Título 25 |
| HPN24   | NEG       | HPN86   | POS      | HPN148  | NEG       | HPN210  | NEG       |
| HPN25   | POS       | HPN87   | POS      | HPN149  | NEG       | HPN211  | POS       |
| HPN26   | NEG       | HPN88   | NEG      | HPN150  | NEG       | HPN212  | POS       |
| HPN27   | NEG       | HPN89   | POS      | HPN151  | NEG       | HPN213  | POS       |
| HPN28   | POS       | HPN90   | NEG      | HPN152  | NEG       | HPN214  | NEG       |
| HPN29   | POS       | HPN91   | NEG      | HPN153  | NEG       | HPN215  | POS       |
| HPN30   | NEG       | HPN92   | POS      | HPN154  | NEG       | HPN216  | NEG       |
| HPN31   | NEG       | HPN93   | NEG      | HPN155  | POS       | HPN217  | NEG       |
| HPN32   | NEG       | HPN94   | NEG      | HPN156  | NEG       | HPN218  | NEG       |
| HPN33   | NEG       | HPN95   | NEG      | HPN157  | POS       | HPN219  | NEG       |
| HPN34   | NEG       | HPN96   | NEG      | HPN158  | NEG       | HPN220  | NEG       |
| HPN35   | NEG       | HPN97   | NEG      | HPN159  | NEG       | HPN221  | POS       |
| HPN36   | POS       | HPN98   | NEG      | HPN160  | NEG       | HPN222  | NEG       |
| HPN37   | NEG       | HPN99   | NEG      | HPN161  | NEG       | HPN223  | NEG       |
| HPN38   | NEG       | HPN100  | NEG      | HPN162  | NEG       | HPN224  | POS       |
| HPN39   | NEG       | HPN101  | NEG      | HPN163  | NEG       | HPN225  | NEG       |
| HPN40   | NEG       | HPN102  | NEG      | HPN164  | NEG       | HPN226  | NEG       |
| HPN41   | POS       | HPN103  | NEG      | HPN165  | NEG       | HPN227  | NEG       |
| HPN42   | NEG       | HPN104  | NEG      | HPN166  | NEG       | HPN228  | POS       |
| HPN43   | NEG       | HPN105  | NEG      | HPN167  | NEG       | HPN229  | NEG       |
| HPN44   | NEG       | HPN106  | NEG      | HPN168  | POS       | HPN230  | POS       |
| HPN45   | NEG       | HPN107  | NEG      | HPN169  | NEG       | HPN231  | NEG       |
| HPN46   | POS       | HPN108  | NEG      | HPN170  | NEG       | HPN232  | POS       |
| HPN47   | NEG       | HPN109  | NEG      | HPN171  | NEG       | HPN233  | NEG       |
| HPN48   | NEG       | HPN110  | NEG      | HPN172  | POS       | HPN234  | NEG       |
| HPN49   | NEG       | HPN111  | NEG      | HPN173  | NEG       | HPN235  | NEG       |
| HPN50   | NEG       | HPN112  | NEG      | HPN174  | NEG       | HPN236  | NEG       |
| HPN51   | NEG       | HPN113  | NEG      | HPN175  | NEG       | HPN237  | NEG       |
| HPN52   | NEG       | HPN114  | NEG      | HPN176  | NEG       | HPN238  | NEG       |
| HPN53   | NEG       | HPN115  | POS      | HPN177  | NEG       | HPN239  | NEG       |
| HPN54   | NEG       | HPN116  | NEG      | HPN178  | NEG       | HPN240  | NEG       |
| HPN55   | NEG       | HPN117  | NEG      | HPN179  | NEG       | HPN241  | NEG       |
| HPN56   | POS       | HPN118  | NEG      | HPN180  | NEG       | HPN242  | POS       |
| HPN57   | NEG       | HPN119  | NEG      | HPN181  | NEG       | HPN243  | POS       |
| HPN58   | NEG       | HPN120  | NEG      | HPN182  | NEG       | HPN244  | NEG       |
| HPN59   | POS       | HPN121  | NEG      | HPN183  | NEG       | HPN245  | NEG       |
| HPN60   | NEG       | HPN122  | NEG      | HPN184  | NEG       | HPN246  | POS       |
| HPN61   | NEG       | HPN123  | NEG      | HPN185  | NEG       | HPN247  | NEG       |

| <b>IgG ao</b>            | <b>IgG ao</b>           | <b>Amostr</b> | <b>IgG ao</b>    | <b>Amostr</b> | <b>IgG ao</b>    |        |     |
|--------------------------|-------------------------|---------------|------------------|---------------|------------------|--------|-----|
| <b>Amostra Título 25</b> | <b>Amostra Título25</b> | <b>a</b>      | <b>Título 25</b> | <b>a</b>      | <b>Título 25</b> |        |     |
| HPN62                    | NEG                     | HPN124        | NEG              | HPN186        | NEG              | HPN248 | POS |

Legenda: HPN=HIV PACIENTE NEGATIVO, POS=POSITIVO, NEG=NEGATIVO.

### **Resultado Neospora Grupo Doadores de Sangue HIV Negativo**

| <b>Amostra</b> | <b>IgG ao Título 25</b> | <b>Amostra</b> | <b>IgG ao Título 25</b> | <b>Amostra</b> | <b>IgG ao Título 25</b> |
|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|----------------|-------------------------|
| HDN1           | NEG                     | HDN18          | NEG                     | HDN35          | NEG                     |
| HDN2           | NEG                     | HDN19          | NEG                     | HDN36          | NEG                     |
| HDN3           | NEG                     | HDN20          | NEG                     | HDN37          | NEG                     |
| HDN4           | NEG                     | HDN21          | POS                     | HDN38          | POS                     |
| HDN5           | POS                     | HDN22          | NEG                     | HDN39          | NEG                     |
| HDN6           | NEG                     | HDN23          | NEG                     | HDN40          | NEG                     |
| HDN7           | POS                     | HDN24          | POS                     | HDN41          | NEG                     |
| HDN8           | NEG                     | HDN25          | NEG                     | HDN42          | NEG                     |
| HDN9           | NEG                     | HDN26          | NEG                     | HDN43          | NEG                     |
| HDN10          | NEG                     | HDN27          | POS                     | HDN44          | NEG                     |
| HDN11          | NEG                     | HDN28          | POS                     | HDN45          | NEG                     |
| HDN12          | POS                     | HDN29          | NEG                     | HDN46          | NEG                     |
| HDN15          | NEG                     | HDN32          | POS                     | HDN49          | NEG                     |
| HDN16          | NEG                     | HDN33          | NEG                     | HDN50          | NEG                     |
| HDN17          | NEG                     | HDN34          | NEG                     |                |                         |

Legenda: HDN=HIV DOADOR NEGATIVO, POS=POSITIVO, NEG=NEGATIVO.

## **Normas para submissão de artigos na Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**

A Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é um periódico oficial da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, multidisciplinar, com acesso aberto, que publica pesquisas originais relacionadas a doenças tropicais, medicina preventiva, saúde pública, doenças infecciosas e assuntos relacionados. A preferência para publicação será dada a artigos que relatem pesquisas e observações originais. A revista possui um sistema de revisão por pares, para a aceitação de artigos, e sua periodicidade é bimestral. A Revista de Sociedade Brasileira de Medicina Tropical é publicada em Inglês, com o título dos artigos, resumo e palavras-chaves em Inglês e Português. A revista convida à publicação Artigos Originais, Editoriais, Artigos de Revisão, Comunicações Breves, Relatos de Casos, Relatórios Técnicos, Imagens em Doenças Infecciosas, Cartas ao Editor, Suplementos, Obituários, Notificações de Encontros, Cursos e Congressos.

Artigos Originais: devem relatar pesquisas originais que não tenham sido publicadas ou consideradas para publicação em outros periódicos. No caso de Ensaio Clínico, o manuscrito deve ser acompanhado pelo número e órgão de registro do ensaio clínico. Estes requisitos estão de acordo com BIREME/OPAS/OMS e o Comitê Internacional dos Editores de Revistas Médicas ([www.icmje.org](http://www.icmje.org)) e do Workshop ICTPR. O limite de palavras é de 3.500 (excluindo resumo e referências); resumo com até 250 palavras, estruturado com os tópicos Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões, contendo também em Português título, resumo e palavras-chaves. Um total de cinco ilustrações (tabelas e figuras) é permitido.

Linguagem Edição da Pré-Submissão: se a sua primeira língua não é o Inglês, para garantir que o conteúdo científico de seu manuscrito será compreendido pelos editores da revista e revisores, todos os manuscritos submetidos à Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical devem ser em Inglês. A escrita e os custos de edição de texto serão de responsabilidade dos autores. Para tornar o processo mais fácil e rápido, é altamente recomendável que os autores utilizem os serviços de uma empresa de edição semelhante ao American Journal Experts (AJE -

www.journalexperts.com), ou os Serviços de Oxford Journals Language (www.prof-edição.com) para a tradução para o idioma Inglês e / ou edição de texto.

É solicitado que os autores enviem, juntamente com sua submissão on-line, o certificado emitido pela empresa ou por um revisor nativo da língua inglesa com proficiência reconhecida como tradutor. É de escolha dos autores utilizar esses ou outros serviços, desde que quando da apresentação do manuscrito, enviem um certificado indicando que eles usaram os serviços de um tradutor oficial e / ou empresa de edição de texto da língua inglesa. A revisão / edição da Língua Inglesa, não garante que o manuscrito será aceito para publicação. A partir de 30 de setembro de 2011 a Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical aceitará apenas manuscritos submetidos seguido pelo certificado de revisão / edição da língua inglesa.

#### Formatação de Artigo Original

O manuscrito deve ser preparado usando software padrão de processamento de textos e deve ser impresso (fonte Times New Roman tamanho 12) com espaço duplo em todo o texto, legendas para as figuras e referências, margens com pelos menos 3 cm. O limite de palavras é de 3.500 com até cinco inserções (figuras e tabelas). O manuscrito deve ser dividido nas seguintes seções: Carta de envio, endereçada ao editor chefe, resumo estruturado, palavras-chaves, introdução, métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referências. Abreviações devem ser usadas com moderação.

Página de Título: deve incluir o nome dos autores na ordem direta e sem abreviações, graduações mais elevadas possuídas, afiliações com informação de contato (telefone, endereço e números de fax e e-mail para o autor correspondente e todos os co-autores e apoio financeiro. Os autores devem garantir que o manuscrito não foi previamente publicado ou não sendo considerado para publicação em outro periódico. Os autores são convidados a fornecer os nomes e informações de contato por três potenciais revisores imparciais.

Título: deve ser conciso, claro e o mais informativo possível, não deve conter abreviações e não deve exceder a 200 caracteres, incluindo espaços.

Título Corrente: com no máximo 70 caracteres.

Resumo Estruturado: deve condensar os resultados obtidos e as principais conclusões de tal forma que um leitor, não familiarizado com o assunto tratado no texto, consiga entender as implicações do artigo. O resumo não deve exceder 250 palavras (100 palavras no caso de comunicações breves) e abreviações devem ser evitadas. Deve ser subdividido em: Introdução, Métodos, Resultados e Conclusões.

Palavras-chaves: 3 a 6 itens devem ser listados em Inglês e Português, imediatamente abaixo do resumo estruturado.

Palavras-chaves: 3 a 6 itens devem ser listados imediatamente abaixo do resumo estruturado.

Introdução: deve ser curta e destacar os propósitos para o qual o estudo foi realizado. Apenas quando necessário citar estudos anteriores de relevância.

Métodos: devem ser suficientemente detalhados para que os leitores e revisores possam compreender precisamente o que foi feito e permitir que seja repetido por outros. Técnicas-padrões precisam apenas ser citadas.

Ética: em caso de experimentos em seres humanos, indicar se os procedimentos realizados estão em acordo com os padrões éticos do comitê de experimentação humana responsável (institucional, regional ou nacional) e com a Declaração de Helsinki de 1964, revisada em 1975, 1983, 1989, 1996 e 2000. Quando do relato de experimentos em animais, indicar se seguiu um guia do conselho nacional de pesquisa, ou qualquer lei sobre o cuidado e uso de animais em laboratório foram seguidas.

Resultados: devem ser um relato conciso e impessoal da nova informação. Evitar repetir no texto os dados apresentados em tabelas e ilustrações.

Discussão: deve relacionar-se diretamente com o estudo que está sendo relatado. Não incluir uma revisão geral sobre o assunto, evitando que se torne excessivamente longa.

Agradecimentos: devem ser curtos, concisos e restritos aqueles realmente necessários, e, no caso de órgãos de fomento não usar siglas.



Conflito de Interesse: todos os autores devem revelar qualquer tipo de conflito de interesse existente durante o desenvolvimento do estudo.

Suporte Financeiro: informar todos os tipos de fomento recebidos de agências de fomento ou demais órgãos ou instituições financiadoras da pesquisa.

Referências: devem ser numeradas consecutivamente, na medida em que aparecem no texto. Listar todos os autores quando houver até seis. Para sete ou mais, listar os seis primeiros, seguido por “et al”. Digitar a lista de referências com espaçamento duplo em folha separada e no final do manuscrito. Referências de comunicações pessoais, dados não publicados ou manuscritos “em preparação” ou “submetidos para publicação” não devem constar da lista de referência. Se essenciais, podem ser incorporados em local apropriado no texto, entre parênteses da seguinte forma: (AB Figueiredo: Comunicação Pessoal, 1980); (CD Dias, EF Oliveira: dados não publicados). Citações no texto devem ser feitas pelo respectivo número das referências, acima da palavra correspondente, separado por vírgula (Ex.: Mundo<sup>1,2,3</sup>; Vida<sup>30,42,44-50</sup>). As referências no fim do manuscrito devem estar de acordo com o sistema de requisitos uniformes utilizado para manuscritos enviados para periódicos biomédicos (Consulte: <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>). Os títulos dos periódicos devem ser abreviados de acordo com o estilo usado no “Index Medicus” (Consulte: <http://ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=journals&TabCmd=limits>).

Alguns exemplos de referências:

1. Russell FD, Coppel AL, Davenport AP. In vitro enzymatic processing of radiolabelled big ET-1 in human kidney as a food ingredient. *Biochem Pharmacol* 1998;55:697-701.
2. Porter RJ, Meldrum BS. Antiepileptic drugs. In: Katzung BG, editor. *Basic and clinical pharmacology*. 6th ed. Norwalk (CN): Appleton and Lange; 1995. p. 361-80.
3. Blenkinsopp A, Paxton P. *Symptoms in the pharmacy: a guide to the management of common illness*. 3rd ed. Oxford: Blackwell Science; 1998.

Figuras: devem preferencialmente ser submetidas em alta resolução no formato TIFF. As figuras devem ser colocadas em arquivos separados, nomeados apenas com o número das figuras (ex.: Figura 1; Figura 2). Certifique-se que as mesmas têm uma resolução mínima de 300dpi.

- Fotografias: devem ser enviadas com boa resolução (mínimo de 300dpi) no formato TIFF, preferencialmente, preparadas utilizando o Adobe Photoshop.

- Gráficos: criados usando Microsoft Word ou Excel, devem ser salvos com a extensão original (.doc ou .xls). Eles não devem ser copiados ou colados de um programa para o outro.

- Mapas e Ilustrações: devem ser vetorizadas (desenhados) profissionalmente utilizando os softwares CorelDraw ou Illustrator em alta resolução, e suas dimensões não devem ter mais que 21,5 x 28,0cm.

- Imagens: produzidas em software estatístico devem ser convertidas para o formato Excel ou PowerPoint. Caso não seja possível, converter o arquivo para o formato TIFF com resolução de 300dpi, e enviar juntamente com o arquivo no formato original.

Legendas: nas figuras, as legendas devem ser digitadas juntas com espaçamento duplo em uma folha separada e no final do manuscrito.

Ilustrações Coloridas: devem ser aprovadas pelos editores e as despesas extras para confecção de fotolitos coloridos serão de responsabilidade dos autores.

Tabelas: devem ser digitadas com espaçamento duplo, com um título curto e descritivo e submetido online em um arquivo separado. Legendas para cada tabela devem aparecer no rodapé da mesma página que a tabela. Todas as tabelas devem ter numeração arábica, citadas no texto, consecutivamente. Tabelas não devem ter linhas verticais, e linhas horizontais devem ser limitadas ao mínimo, com notas de rodapé logo abaixo. Tabelas devem ter no máximo 17 cm de largura.