



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ**  
**DEPARTAMENTO DE ENFERMAGEM**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM**

**MARINA RADUY BOTELHO**

**ANTICORPOS ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM PACIENTES RENAIIS, SOB  
TRATAMENTO DIALÍTICO E TRANSPLANTADO, E SUA ASSOCIAÇÃO COM  
ANTÍGENOS LEUCOCITÁRIOS HUMANOS**

Maringá  
2012

**MARINA RADUY BOTELHO**

**ANTICORPOS ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM PACIENTES RENAIIS, SOB  
TRATAMENTO DIALÍTICO E TRANSPLANTADO, E SUA ASSOCIAÇÃO COM  
ANTÍGENOS LEUCOCITÁRIOS HUMANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Estadual de Maringá, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Sueli Donizete Borelli

Maringá  
2012

**MARINA RADUY BOTELHO**

**ANTICORPOS ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM PACIENTES RENAIIS, SOB  
TRATAMENTO DIALÍTICO E TRANSPLANTADO, E SUA ASSOCIAÇÃO COM  
ANTÍGENOS LEUCOCITÁRIOS HUMANOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Enfermagem – Área de Concentração: O cuidado à saúde nos diferentes ciclos de vida.

Aprovado em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sueli Donizete Borelli  
Universidade Estadual de Maringá

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Paula Morais Fernandes  
Universidade de São Paulo

---

Prof. Dr. João Bedendo  
Universidade Estadual de Maringá

Dedico esse trabalho

*Ao meu pai que tanto sinto saudades e que me deixou grandes ensinamentos que serão levados para o resto da vida. A minha mãe pela paciência, dedicação e esforço para que eu chegasse até aqui e por estar sempre do meu lado apoiando todas as minhas escolhas.*

*Aos meus irmãos Maria Consuelo e Saulo que sempre estiveram presentes.*

*Ao meu noivo Marcos por estar do meu lado em todos os momentos, pela paciência, compreensão, incentivo e carinho do começo ao fim.*

*As minhas grandes AMIGAS, Fernanda e Paula, que tive o privilégio de escolhê-las como irmãs e descobrir o valor da verdadeira amizade.*

*Todos vocês foram essenciais e tiveram participação especial neste trabalho!*

## AGRADECIMENTOS

*A Deus,*

*Por me dar força e coragem para enfrentar todos os obstáculos enfrentados durante essa caminhada. Muito obrigada Senhor!*

*Ao meu herói, meu Pai,*

*Que tão cedo nos deixou, porém a sua alegria e o modo de viver permanece presente dentro do meu coração. A sua ausência nos causa profunda tristeza, mas o seu amor foi tão grande que o sentimos como se estivesse presente a todo o momento. Serei eternamente grata por tudo que fez por mim para que eu chegasse até aqui. Com todo o meu amor.*

*A minha querida mãe e amiga,*

*Que sempre esteve do meu lado, apoiando e respeitando todas as decisões e batalhando para que tudo desse certo no final. Serei eternamente grata por todo esforço dispensado, por todo carinho e paciência. Sem você não seria possível essa conquista. Muito obrigada por tudo!  
“Eu tenho tanto pra te falar, mas com palavras não sei dizer..... Como é grande o meu amor por você”*

*Aos meus irmãos Maria Consuelo e Saulo,*

*Pessoas especiais em minha vida e que sempre estiveram do meu lado durante toda a caminhada. Muito obrigada por fazerem parte de mim.*

*Ao meu noivo Marcos, pelo amor, carinho, incentivo e paciência quando não pude estar presente. Por estar sempre do meu lado em todas as decisões, me respeitando e me ouvindo. Você foi mais que especial durante a construção desse trabalho. Foi ao seu lado que aprendi como é fácil ser feliz.*

*Te amo muito!*

*As minhas avós, Luíza e Eurípia*

*Exemplos de vida, de mulheres e sinônimos de bondade e amor!  
Muito obrigada por todo apoio e torcida concedida.*

*As minhas queridas amigas Fernanda e Paula,*

*Pelo companheirismo, cumplicidade, respeito e amizade dedicada ao longo desses seis anos. Vocês foram essenciais para a construção desse trabalho. As levarei para o resto da minha vida em meu coração. Muito obrigada por me mostrarem o que é ter AMIGAS de verdade. Afinal....para sempre Jab's!*

*As amigas Angélica e Patrícia,*

*Pela parceria, amizade e por termos compartilhado bons momentos durante esses dois anos. Muito obrigada!*

*A professora orientadora Sueli,*

*Pela orientação, atenção, aprendizado e dedicação dispensada. Muito obrigada!*

*A todos os meus amigos do mestrado, em que juntos dividimos momentos de alegria, tristeza, dúvidas e medos, mas que no final conseguimos superar e alcançar o nosso objetivo. Em especial: Anelize, Ellen, Marcela e Kayna.*

*A Miria,  
Por me acolher com tanto carinho e pelos ensinamentos compartilhados.  
Muito obrigada!*

*A professora Edna,  
Pela contribuição e atenção concedida. Muito obrigada.*

*Aos membros da banca examinadora, pelas contribuições e disponibilidade em avaliar esse trabalho em todas as etapas de sua execução. Muito obrigada.*

*Aos funcionários do laboratório de Imunologia Básica,  
Pelos conhecimentos compartilhados e pela atenção dispensada.*

*Aos funcionários e enfermeiros do Hospital Santa Casa de Maringá e Clínica do Rim,  
Pela recepção, disposição e atenção dispensada. Muito obrigada*

*Aos docentes, colegas e funcionários do departamento de enfermagem da Universidade Estadual de Maringá que compartilharam sonhos, alegrias, dúvidas e aprendizados. Muito obrigada por terem participado da concretização desse sonho!*

*Aos colegas de trabalho do Hospital da Providência pela compreensão e incentivo. Muito obrigada!*

*A todos os pacientes que aceitaram participar desse estudo e foram responsáveis pela concretização desse trabalho e aqueles que por algum motivo não participaram. Muito obrigada!*

*A todos aqueles que direta ou indiretamente tiveram participação nesse trabalho, muito obrigada!*

*“Sonhe com o que você quiser. Vá para onde você queira ir.  
Seja o que você quer ser, porque você possui apenas uma vida  
e nela só temos uma chance de fazer aquilo que queremos.  
Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.  
Dificuldades para fazê-la forte.  
Tristeza para fazê-la humana.  
E esperança suficiente para fazê-la feliz!”  
(Clarisse Lispector)*

BOTELHO, M. R. *Anticorpos Anti-Toxoplasma gondii em pacientes sob tratamento dialítico e sua associação com antígenos leucocitários humanos*. 2012. 80f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2012.

## RESUMO

*Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) é um parasito intracelular obrigatório de ampla distribuição mundial infectando até um terço da população e grande diversidade de outras espécies. Diversas são as formas da apresentação desta parasitose, porém grande parte das infecções primárias por *T. gondii* são assintomáticas em decorrência de efetividade do sistema imunológico. Indivíduos imunocomprometidos, como pacientes em diálise e transplantados, tem sido alvo frequente de infecções oportunistas em que o quadro clínico é considerado grave com elevados índices de morbidade e mortalidade. A infecção está diretamente ligada à imunidade do indivíduo e o Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) está envolvido nessa função. Tais moléculas nos seres humanos são chamadas de Antígenos Leucocitários Humanos, ou sistema HLA, do inglês *Human Leucocyte Antigen*. Os genes HLA são os mais polimórficos de todos os genes dos mamíferos. A existência de centenas de alelos em todos os locos permite existir uma vasta variabilidade genotípica. Essa diversidade assim como o polimorfismo dos genes do sistema HLA juntamente com a participação na resposta imune, faz com que ele desempenhe papel de grande importância na patogenia de várias doenças, porém pouco se conhece sobre a correlação entre a tipagem HLA e toxoplasmose em indivíduos renais. O presente estudo teve como objetivo verificar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* (IgM e/ou IgG) e sua correlação com as especificidades HLA classe I (HLA-A e B) e classe II (HLA- DRB1) em pacientes renais em tratamento dialítico e transplantados). A população deste estudo foi composta por 203 pacientes em diálise, 53 transplantados renais e 73 voluntários saudáveis. Para a detecção e caracterização de anticorpos anti-*T. gondii* foi utilizado o método ELISA, aplicando-se o Ensaio Imunoenzimático de Micropartículas (MEIA) quantitativo (*Abbott Diagnostics AxSYM® SYSTEM Toxo IgG e IgM* para o *T. gondii*). Para a tipificação HLA foi utilizado o kit LABType® SSO One Lambda aliado à tecnologia Luminex. Entre os 256 pacientes, em diálise e transplantados, a soroprevalência para anticorpos IgG foi de 133,11% e para os anticorpos IgM foi de 0,99%. Entre os 203 pacientes em diálise, 68,96% foram soropositivos para anticorpos IgG enquanto entre os 53 transplantados, 64,15% foram positivos para esse anticorpo. Com relação ao anticorpo IgM, apenas 0,99% dos pacientes sob tratamento apresentaram positividade não encontrando nos pacientes transplantados. Ao analisar a tipagem HLA e associação com a toxoplasmose independente do grupo de pacientes, observou-se maior frequência de especificidades HLA classe II (DRB1\*17, DRB1\*07) sugerindo suscetibilidade para toxoplasmose.

**Palavras-chave:** Enfermagem. Toxoplasmose. Diálise renal. Antígenos HLA. Insuficiência renal crônica.

BOTELHO, M. R. *Anti-Toxoplasma gondii antibodies in patients on dialysis therapy and its association with human leukocyte antigens*. 2012. 80f. Dissertation (Master's Degree in Nursing) – Universidade Estadual de Maringá, 2012.

### ABSTRACT

*Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) is an obligate intracellular parasite of worldwide distribution infecting up to one third of the population and it has a great diversity of other species. There are several forms of presentation of this parasitosis, but most of the primary infections caused by *T.gondii* are asymptomatic due to immune system effectiveness. Immunocompromised individuals, such as patients on dialysis and the ones who received a transplant, have been a frequent target of opportunistic infections in which the clinical picture is considered severe with high morbidity and mortality indices. The infection is directly related to the immunity of the individual and the Major Histocompatibility Complex (MHC) is involved in this function. These molecules in human beings are called Human Leukocyte Antigens, or HLA system. The HLA genes are the most polymorphic of all mammal genes. The existence of hundreds of alleles in all loci allows the existence of a wide genotypic variability. This diversity as well as the polymorphisms of the HLA system genes together with the participation in the immune response, leads it to perform a major role in the pathogenesis of several diseases, however, little is known about the correlation between the HLA typing and toxoplasmosis in renal individuals. This study aimed to verify the prevalence of anti-*T.gondii* antibodies (IgM and / or IgG) and its correlation with the HLA class I (HLA-A and B) and class II specificities (HLA-DRB1) in patients on dialysis and who received a kidney transplant). This study population consisted of 203 patients on dialysis, 53 patients who receive a renal transplant and 73 healthy volunteers. For the detection and characterization of anti-*T.gondii* antibodies it was used the method ELISA, applying the quantitative Microparticle Enzyme Immunoassay (MEIA) (Abbott Diagnostics AxSYM® SYSTEM Toxo IgG and IgM antibodies to the *T.gondii*). For the HLA typing it was used the kit LABType® SSO One Lambda combined with the Luminex technology. Among the 256 patients on dialysis and who received a transplant, the seroprevalence of IgG antibodies was 133.11% and for IgM antibodies it was 0.99%. Among the 203 patients on dialysis, 68,96% were seropositive for IgG antibodies while among the 53 patients who received a transplant, 64,15% were positive for this antibody. Concerning the IgM antibody, only 0,99% of the patients undergoing treatment presented positivity, something which was not found in the patients who received a transplant. Analyzing the HLA typing and the association with the toxoplasmosis independently from the group of patients, we observed a higher frequency of the HLA class II specificities (DRB1\*17 e DRB1\*07) suggesting susceptibility to toxoplasmosis.

**Key words:** Nursing. Toxoplasmosis. Kidney dialysis. HLA Antigens. Chronic Kidney Disease.

BOTELHO, M. R. *Anticuerpos contra el Toxoplasma gondii en pacientes bajo tratamiento de diálisis y su asociación con antígenos leucocitarios humanos*. 2012. 80f. Disertación (Máster en Enfermería) – Universidad Estatal de Maringá, Maringá, 2012.

## RESUMEN

*Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) es un parásito intracelular obligatorio de amplia distribución mundial infectando hasta un tercio de la población y gran diversidad de otras especies. Hay varias formas de presentación de esta parasitosis, pero gran parte de las infecciones primarias por *T. gondii* son asintomáticas, debido a la eficacia del sistema inmunológico. Individuos inmunocomprometidos, como pacientes en diálisis y trasplantados, han sido blancos frecuentes de infecciones oportunistas en el que el cuadro clínico es considerado grave con elevados índices de morbilidad y mortalidad. La infección está directamente relacionada con la inmunidad del individuo y el Complejo Principal de Histocompatibilidad (CPH) está involucrado en esta función. Estas moléculas en los seres humanos son llamados Antígenos Leucocitarios Humanos o sistema HLA, del inglés *Human Leucocyte Antigen*. Los genes HLA son los más polimórficos de todos los genes de los mamíferos. La existencia de centenas de alelos en todos los locus permite que exista una amplia variabilidad genotípica. Esta diversidad así como el polimorfismo de los genes HLA juntamente con la participación en la respuesta inmune, hace con que él desempeñe un papel de gran importancia en la patogenia de varias enfermedades, pero poco se conoce acerca de la correlación entre el HLA y la toxoplasmosis en individuos renales. Este estudio tuvo como objetivo verificar la prevalencia de anticuerpos anti-*T.gondii* (IgM e/o IgG) y su correlación con las especificidades HLA clase I (HLA-A y B) y clase II (HLA-DRB1) en pacientes renales en tratamiento dialítico y trasplantados. La población de este estudio fue compuesta por 203 pacientes en diálisis, 53 trasplantados renales y 73 voluntarios sanos. Para la detección y caracterización de anticuerpos anti *T.gondii* fue utilizado el método ELISA, aplicándose el Ensayo Inmunoenzimático de Micropartículas (MEIA) cuantitativo (*Abbott Diagnostics AxSYM® SYSTEM Toxo IgG e IgM* para el *T. gondii*). Para la tipificación HLA fue utilizado el kit LABType® SSO One Lambda combinada con la tecnología Luminex Entre los 256 pacientes, en diálisis y trasplantados, la seroprevalencia para anticuerpos IgG fue de un 133,11% y para los anticuerpos IgM fue de un 0,99%. Entre los 203 pacientes en diálisis, 68,96% fueron seropositivos para anticuerpos IgG mientras que entre los 53 trasplantados, un 64,15% fue positivo para este anticuerpo. Con respecto al anticuerpo IgM, sólo el 0,99% de los pacientes bajo tratamiento presentaron positividad no encontrando en los pacientes trasplantados. Al analizar el tipaje HLA y asociación con la toxoplasmosis independiente del grupo de pacientes, se observó una mayor frecuencia de especificidades HLA clase II (DRB1\*17, DRB1\*07), sugiriendo susceptibilidad para toxoplasmosis.

**Palabras clave:** Enfermería. Toxoplasmosis. Diálisis Renal. Antígenos HLA. Insuficiencia renal crónica.

## APRESENTAÇÃO

Essa dissertação contempla anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em pacientes sob tratamento dialítico e sua associação com Antígenos Leucocitários Humanos.

Os resultados desse estudo estão apresentados em dois artigos científicos, os quais contemplam os objetivos específicos propostos no projeto de dissertação.

Assim, o primeiro artigo intitulado: “Soroprevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em pacientes em diálise e transplantados renais, teve por objetivo: verificar a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* e caracterizar a classe de anticorpos (IgM e/ou IgG) nos pacientes com Insuficiência Renal Crônica (IRC) sob tratamento dialítico e transplantados renais”.

O segundo artigo intitulado: “Estudo de associação entre moléculas HLA e a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em pacientes em diálise e transplantados renais, objetivou: investigar a associação entre moléculas HLA classe I (HLA-A e B) e classe II (HLA- DRB1) e a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* no soro de pacientes em diálise e transplantados renais”.

Ressalta-se que a dissertação está estruturada com introdução, objetivos, percurso metodológico, considerações finais e referências comuns a todo o estudo.

Os artigos serão submetidos a dois periódicos distintos, podendo ser eles:

- Artigo 1: Journal of Public Health
- Artigo 2: Progress in Transplantation

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido desoxirribonucléico)
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i> (Ácido Etilenodiamino tetra- acético)
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> (Ensaio Imunoenzimático Indireto)
IRC	Insuficiência Renal Crônica
MEIA	<i>Microparticle enzyme Immunoassay</i> (Método Imunoenzimático de Micropartículas)
TCLE	Termo de Consentimento Livre Esclarecido
UEM	Universidade Estadual de Maringá
<i>T.gondii</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
CPH	Complexo Principal de Histocompatibilidade
HLA	<i>Human Leucocyte Antigen</i> (Antígeno Leucocitário Humano)
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
AIDS	Acquired Immunodeficiency Syndrome (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida)
OMS	Organização Mundial da Saúde
COPEP	Comitê Permanente de Ética em Pesquisa
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
SSP	<i>Sequence specific primers</i> (Primers específicos de sequências)
SSOP	<i>Sequence specific oligonucleotide probes</i> (Sondas de oligonucleotídeos de sequência específica)
SNC	Sistema nervoso central
CMV	Citomegalovírus
HIV	<i>Human immunodeficiency virus</i> (Vírus da Imunodeficiência humana)

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	18
2.1. Geral.....	18
2.2. Específicos.....	18
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	19
3.1 Histórico da Toxoplasmose.....	19
3.2 Toxoplasmose.....	19
3.3 Morfologia.....	19
3.4 Ciclo biológico.....	22
3.5 Mecanismo de Transmissão.....	23
3.6 Epidemiologia.....	25
3.7 Complexo Principal de Histocompatibilidade.....	27
3.8 Antígenos Leucocitário Humano.....	28
3.9 Cuidado de Enfermagem com o paciente renal com toxoplasmose.....	30
3.10 Paciente Imunossuprimido.....	32
<b>4. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	32
4.1 Características do Estudo.....	32
4.2 Procedimentos.....	33
4.2.1 Coleta do material e estocagem.....	33
4.2.2 Detecção e características de anticorpos.....	33
4.2.3 Extração DNA.....	35
4.2.4 Tipificação HLA.....	35
4.3 Tratamento Estatístico.....	36
4.4 Aspectos Éticos da Pesquisa.....	36
<b>5. RESULTADOS</b> .....	37
<b>ARTIGOS</b> .....	37
5.1 Artigo 1: Soroprevalência de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> em pacientes em diálise e transplantados renais.....	38
5.2 Artigo 2: Estudo de associação entre moléculas HLA e toxoplasmose em pacientes em diálise e transplantados renais.....	51
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	64
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	65

<b>APÊNDICES</b> .....	73
APÊNDICE A – Instrumento de Coleta de Dados.....	74
APÊNDICE B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	75
<b>ANEXOS</b> .....	77
ANEXO A – Autorização do Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UEM.....	78
ANEXO B – Tabelas da Frequência alélica (HLA-A, HLA-B e HLA-DRB1) no grupo de pacientes em diálise e transplantados renais.....	79

## 1. INTRODUÇÃO

A toxoplasmose causada pelo *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) apresenta taxas de prevalência variáveis em diversas partes do globo, sendo considerada uma zoonose altamente disseminada e nesse sentido estima-se que mais de dois bilhões de pessoas estejam infectadas cronicamente, porém diferenças relacionadas a aspectos geográficos e atribuídas a fatores de risco podem variar entre as regiões, como tipo de alimentação, tratamento adequado da água e exposição ambiental (DUBEY; BEATTIE, 1988; SILVEIRA, 2002; BAHIA-OLIVEIRA; JONES; SILVA et al., 2003; BÓIA; CARVALHO-COSTA; SODRÉ et al., 2008).

O termo toxoplasmose, na maioria das vezes, é utilizado indistintamente para se referir tanto a infecção como a doença causada pelo agente. Porém, apenas a presença do protozoário caracteriza-se a infecção, já a doença é acompanhada de sinais e sintomas (REMINGTON; CAVANAUGH, 1965).

Em indivíduos imunocompetentes, na maioria das vezes, a toxoplasmose é assintomática, mas naqueles que apresentam sintomas, a manifestação mais comum é a adenomegalia. A linfadenite e linfocitose surgem na forma de quadro agudo que persistem durante dias ou semanas. Já em indivíduos imunocomprometidos pode ocorrer a reativação de cistos tissulares causando um quadro de evolução grave com as seguintes consequências: encefalite, corioretinite, pneumonia, infecção generalizada dos músculos estriados, entre outras doenças disseminativas. Entre esses indivíduos, incluem-se receptores de órgãos, em tratamento quimioterápicos, dialíticos e infectados pelo HIV (KAWAZOE, 2005).

Nos pacientes transplantados, a infecção pelo *T. gondii* ocorre quando o receptor soronegativo recebe um enxerto de um doador soropositivo ou também pela reagudização da infecção pregressa, tornando o receptor mais vulnerável a desenvolver a parasitose<sup>16</sup> (CARMO; SILVA; XAVIER et al., 2004). A imunodepressão causa um desequilíbrio entre o parasita e o hospedeiro ocasionando assim a infecção crônica devido à ruptura dos cistos causando a toxoplasmose. Tal ruptura dos cistos pode perdurar por tempo indefinido e quando associados ao tratamento imunossupressor, ainda que necessário, pode ser seguida por um recrudescimento da toxoplasmose (FRENKEL; BERMUDEZ, 2009). Já os pacientes sob tratamento dialítico tornam-se suscetíveis às infecções por vários motivos, entre eles, por necessitarem de hemocomponentes durante o tratamento ao desenvolverem anemias, pela realização de exames frequentes e pelo próprio sistema de hemodiálise (BARRETTI; DELGADO, 2007; BALDINI; DEFFUNE; SILVA et al., 2010). Durante a transfusão, pode ocorrer a produção de anticorpos anti-HLA causando nos indivíduos imunodeprimidos reação

febril não-hemolítica, insuficiência pulmonar aguda relacionada à transfusão e doença do enxerto-versus-hospedeiro associada à transfusão (CHOO, 2007). O diagnóstico da toxoplasmose pode ser sugerido pelas evidências clínicas e epidemiológicas que possam ser identificadas durante a realização da observação clínica do paciente. Porém em algumas situações não há nenhuma evidência que venham a possibilitar a formulação dessa hipótese. O diagnóstico laboratorial é muito importante uma vez que a doença se apresenta de forma assintomática (ANDRADE; TONELLI; ORÉFICE et al., 2000). Existem diversos testes imunológicos, porém o mais utilizado principalmente para o *screening* da doença em seres humanos é o Imunoensaio enzimático ou teste de ELISA (Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay) que possibilita a detecção de anticorpos anti *T.gondii* específicos, tanto IgM (Imunoglobulina M) que caracteriza a infecção aguda como IgG (Imunoglobulina G) que caracteriza a infecção crônica. Diferencia-se dos demais por ser um teste objetivo, com vantagens em sua automação, quantificação e apresenta maior sensibilidade ao comparar com os demais (BURATTINI, 2004). O teste de avididade de IgG também tem sido utilizado para auxiliar, junto com outros marcadores, na determinação das fases da infecção, em que a baixa avididade indica à fase aguda e alta a fase crônica da infecção (CAMARGO; SILVA; LESER et al., 1991).

Nesse sentido, a infecção pode estar relacionada diretamente com a imunidade do indivíduo e com a participação de moléculas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH). Nos seres humanos essas moléculas são denominadas Antígenos Leucocitários Humanos (do inglês, *Human Leucocyte Antigens*) ou sistema HLA. Este sistema se destaca em situações como o transplante, onde a compatibilidade HLA entre doador e receptor é decisiva na evolução do enxerto transplantado. Outra função é de compreender a forma pelas quais as moléculas HLA participam da patogenia das doenças, podendo conferir suscetibilidade ou proteção no desenvolvimento de várias patologias (DONADI, 2000; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008).

Várias pesquisas relacionando as moléculas HLA têm sido desenvolvidas na área dos transplantes e nos estudos de associação com várias doenças (FERNANDES, 1999), entre elas estão: endócrinas auto-imunes (ALVES; MEYERB, VIEIRA et al., 2005; NAHAS; DEGHAIDE; DONADI et al., 2000), gastrointestinais (ALVES; VIEIRA; TORALLES et al., 2006), dermatológicas (ARNET, 1985; BIRAL; MAGALHÃES; WASTOWSKI et al., 2006; BELAZARIAN, 2008), psiquiátricas (GAUGHRAN, 2002; NUNES; BORELLI; MATSUO et al., 2005), oftalmológicas (ALVES et al., 2006), patologias auditivas (YEO, 2000; AMOR-DORADO; PACO; MARTIN et al., 2005), tuberculose (JOHN; MURUGESAN;

JEYASSELAN et al., 1995; HARFOUCH-HAMMOUD; DAHER, 2008), e renais (CRISPIM; MENDES-JUNIOR; WASTOWSKI et al., 2008).

Durante a revisão da literatura encontramos poucos estudos de associação entre genes HLA e a prevalência de anticorpos anti-toxoplasma em pacientes renais. Uma vez que a maioria desses pacientes possuem a tipagem HLA para fins de transplante achamos conveniente analisar primeiramente a prevalência de anticorpos anti-toxoplasmose nos pacientes renais da região e secundariamente a participação das especificidades HLA na resposta imune contra a toxoplasmose. Espera-se que os resultados venham contribuir, de alguma forma, para o melhor entendimento da infecção deste parasito e que a equipe multiprofissional e pacientes possam ser beneficiados.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

- Detectar a presença de anticorpos anti-*T.gondii* em pacientes renais e sua associação com Antígenos Leucocitários Humanos (HLA).

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Verificar a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* nos pacientes renais;
- Caracterizar a classe de anticorpos anti-*T. gondii* (IgM e/ou IgG) nos pacientes renais;
- Analisar a frequência das especificidades HLA nos pacientes renais;
- Estudar a associação entre as especificidades HLA e a presença de anticorpos anti-*T.gondii* nos pacientes renais.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Histórico da Toxoplasmose

Nicolle e Manceaux em 1908 na Tunísia, Norte da África observaram pela primeira vez o protozoário em células mononucleadas do fígado e baço de um roedor africano usado na pesquisa de leishmaniose no instituto Pasteur de Túnis conhecido como “gundi” (*Ctenodactylus gundii*) e no Brasil por Splendore, que vislumbrou e descreveu esse protozoário encontrado de formas recolhidas de coelhos mortos ou doentes. Sua descoberta oficial foi em 1909 por Nicolle e Manceaux em que estes descreveram o parasito e criaram o gênero *Toxoplasma* (do grego *toxon* = arco) e a espécie *T.gondii* (SPLENDORE, 1908; NICOLLE, MANCEAUX, 1909).

Somente a partir da década de 60 é que os estudos aprofundaram-se aumentando o conhecimento e sua distribuição geográfica através de testes sorológicos e do grande número de mamíferos e aves atingidos. Em 1965 foi descoberto por Hutchison que há nas fezes dos gatos uma forma resistente de *T.gondii* e que esta poderia permanecer no meio ambiente viável por até um ano. Em 1969 este mesmo pesquisador observou os estágios esquizogônicos e gametogônicos do parasita presente nas células epiteliais intestinais de gatos infectados (HUTCHISON; WORK, 1969). Foi descrito em 1970 o ciclo sexuado no epitélio intestinal de gatos que ocasionava oocistos parecidos ao do coccídio *Isospora* (HUTCHISON; DUNACHIE, SIIM et al., 1970; FRENKEL; DUBEY; MILLER et al., 1970).

#### 3.2 Toxoplasmose

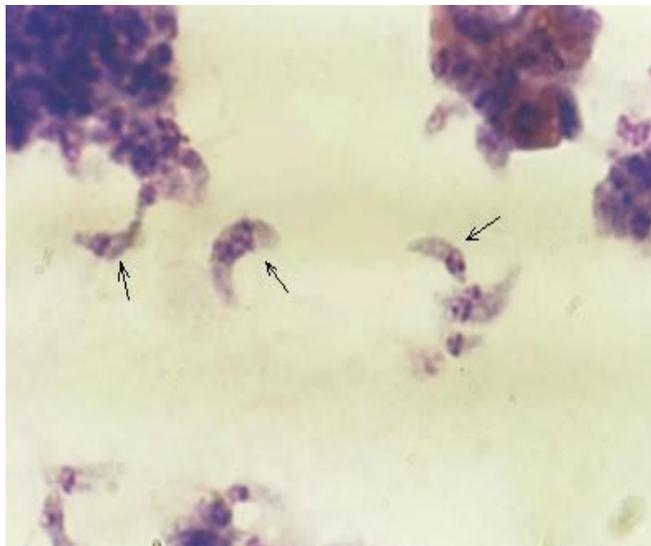
A toxoplasmose é uma doença infecciosa causada pelo *T. gondii*, protozoário parasita do homem, pertencente ao filo Apicomplexa, classe Sporozoa, subclasse Coccídia, ordem Eucoccidiida, subordem Eimeriina, família Sarcocystidae, subfamília Toxoplasmatinae, gênero *Toxoplasma* e espécie *gondii* (LAINSON, 1997).

#### 3.3 Morfologia

O *T. gondii* apresenta três diferentes estágios infectantes consoantes à fase de ciclo biológico em que se encontra: taquizoíto ou trofozoíto, oocisto contendo os esporozoítos e cisto contendo os bradizoítos (DUBEY; LINDSAY; SPEER, 1998).

### Taquizoíto

Forma encontrada durante a fase aguda da infecção ao invadir se proliferam em todas as células nucleadas de mamíferos e aves, sendo responsáveis pela sintomatologia. Apresenta a forma de arco, com uma das extremidades mais afilada e a outra arredondada, medindo cerca 4 a 8  $\mu\text{m}$  de comprimento por 2 a 4  $\mu\text{m}$  de largura com um núcleo mais ou menos em posição central (Figura 1). É uma forma móvel, de multiplicação rápida (tachis=rápido), por endodiogenia encontrado dentro do vacúolo citoplasmático de várias células, como nos líquidos orgânicos, células hepáticas, excreções, pulmonares, nervosas, submucosas e musculares. Considerada a forma menos resistente da parasita, no qual podem ser destruídos por condições ambientes adversas e pouco resistentes à ação do suco gástrico no qual são destruídos em pouco tempo (FRENKEL; DUBEY; MILLER et al., 1970; DUBEY; LINDSAY; SPEER et al., 1998).

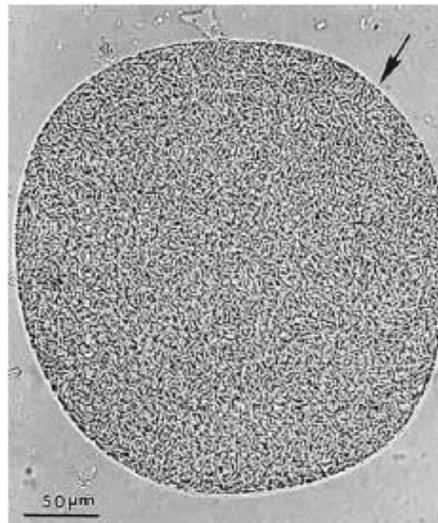


**Figura 1.** Taquizoítos de *T. gondii* (formas livres)  
(<http://ufrgs.br/para-site/imagensatlas/protozoa/Toxoplasma.htm>)

### Bradizoíto

São encontrados dentro do vacúolo parasitóforo dentro de uma célula em que a membrana forma a cápsula do cisto tecidual (Figura 2). Multiplicam-se lentamente (brady=lento) dentro do cisto, por endodiogenia ou endopoligemia. Sua parede é resistente e elástica, isolando os bradizoítos da ação dos mecanismos imunológicos do hospedeiro. O tamanho do cisto varia conforme a célula parasitada e do número de bradizoítos em seu interior, atingindo até 200 $\mu\text{m}$ . Geralmente essa forma é encontrada durante a fase crônica da

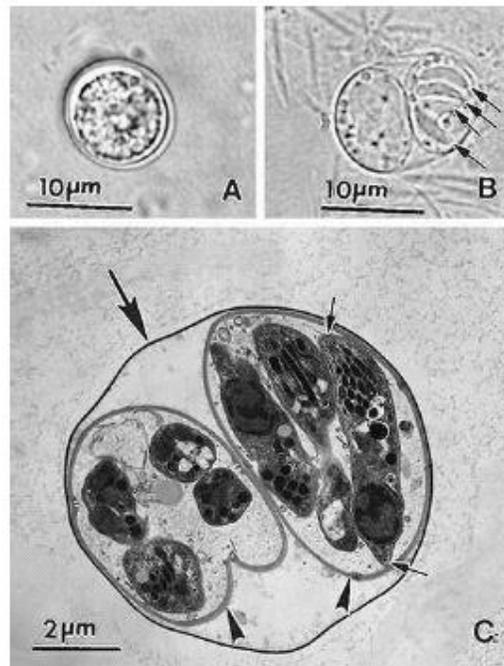
infecção em diversos tecidos (músculos esqueléticos e cardíacos, nervoso, retina) o qual pode permanecer por vários anos. Em geral, a reativação dessas infecções latentes se dá pelo comprometimento do sistema imunológico do hospedeiro, causada pela liberação de bradizoítas, e se transformam em taquizoítas, promovendo assim infecção aguda visivelmente em pacientes imunodeprimidos. Os bradizoítos são mais resistentes à tripsina e à pepsina ao comparar com os taquizoítas, podendo permanecer viáveis por muitos anos (REY, 1991; KAWAZOE, 2002).



**Figura 2.** Cisto Tecidual de *T.gondii* contendo bradizoítos em seu interior (DUBEY et al., 1998)

### **Oocistos**

São as formas de resistência por possuir parede dupla resistente às condições do meio ambiente. São produzidos nas células intestinais do hospedeiro definitivo, felídeos não imunes, e eliminados imaturos junto com as fezes. São esféricos, medindo cerca de 12,5 x 11,0 μm e após esporulação no meio ambiente, entre um e cinco dias, resultam na formação de dois esporocistos em seu interior, cada um com quatro esporocistos cada (Figura 3). Ao término desse período, tornam-se infectantes por 12 a 18 meses em solo quente e úmido, com novo formato, elipsóide medindo cerca de 11 μm por 13 μm. Tanto o hospedeiro definitivo como intermediário, podem infectar-se através da ingestão de oocistos, como na ingestão de cistos contendo bradizoítos (REY, 1991; KAWAZOE, 2005).



**Figura 3.** Oocistos de *T. gondii*, formas excretadas nas fezes dos felídeos. (A) Oocistos não esporulados. (B) Oocistos esporulados com 2 esporocistos mostrando 4 esporozoítos no seu interior (setas). (C) Microscopia eletrônica de transmissão esporulação de oocisto (DUBEY et al., 1998).

### 3.4 Ciclo Biológico

O *T. gondii* apresenta um ciclo heteroxeno, no qual gatos domésticos ou outros felinos silvestres são hospedeiros definitivos por possuírem um ciclo coccidiano, apresentando uma fase sexuada dentro de um vacúolo parasitóforo do citoplasma nas células epiteliais com produção de oocistos e a fase assexuada extraintestinal ou tecidual, compostos por taquizoítos e bradizoítos, que ocorre tanto nos linfonodos como nos tecidos dos hospedeiros (felídeos, aves e mamíferos) com produção de cistos teciduais. Já o homem e outros animais são considerados hospedeiros intermediários, por apresentarem apenas ciclo assexuado (DUBEY, 1994; KAWAZOE, 2005).

A fase sexuada tem início através da ingestão de taquizoítos, oocístos e bradizoítos contidos nos cistos teciduais dos hospedeiros intermediários (ratos, pássaros, camundongos, entre outros) (WALLACE, 1973).

Pela ação das enzimas proteolíticas do suco gástrico os cistos rompem-se liberando bradizoítos em que estes penetram nas células enteroepiteliais reproduzindo-se assexuadamente (esquizogonia) com a produção de esquizontes. Estes por sua vez após várias gerações darão origem aos merozoítos (HUTCHISON; DUNACHIE; SIIM et al., 1971; FERGUSON; HUTCHISON; DUNACHIE et al., 1974) e iniciarão a fase sexuada

(gametogonia) originando macro e microgametócitos (masculinos e femininos) (FERGUSON; HUTCHISON; DUNACHIE et al., 1974; FERGUSON; HUTCHISON; SIIM et al., 1975). O zigoto terá origem após a fertilização originando o oocisto, sendo este lançado no lúmen intestinal e excretado nas fezes do animal (DUBEY; LINDSAY; SPEER et al., 1998).

Já a fase assexuada se inicia através da ingestão de oocistos maduros contendo esporocistos, taquizoítos eliminados no leite, como também cistos contendo bradizoítos encontrados na carne crua ou mal cozida. Os parasitas que sobrevivem as enzimas do trato digestivo passam pelo epitélio intestinal e invadem várias células do organismo. Seja qual for a forma infectante, sofrerá intensa multiplicação após passar pelo epitélio intestinal e formará um vacúolo citoplasmático (vacúolo parasitóforo) ao penetrar em diversos tipos de células, onde sofrerá divisões sucessivas por endodiogenia originando novos taquizoítos, que irão romper a célula parasitada liberando novos taquizoítos. Essa fase inicial da infecção-fase proliferativa caracteriza a fase aguda da doença (KAWAZOE, 2005). Durante a infecção aguda, o gato pode excretar até 100 milhões de oocistos por dia, e após cinco dias de exposição ao ar, ocorre esporulação do oocisto e produção de dois esporocistos, contendo quatro esporozoítos cada, sendo estes altamente infectantes, podem permanecer no meio ambiente por vários anos, podendo ser ingeridos tanto por animais como pelo ser humano (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

### 3.5 Mecanismos de transmissão

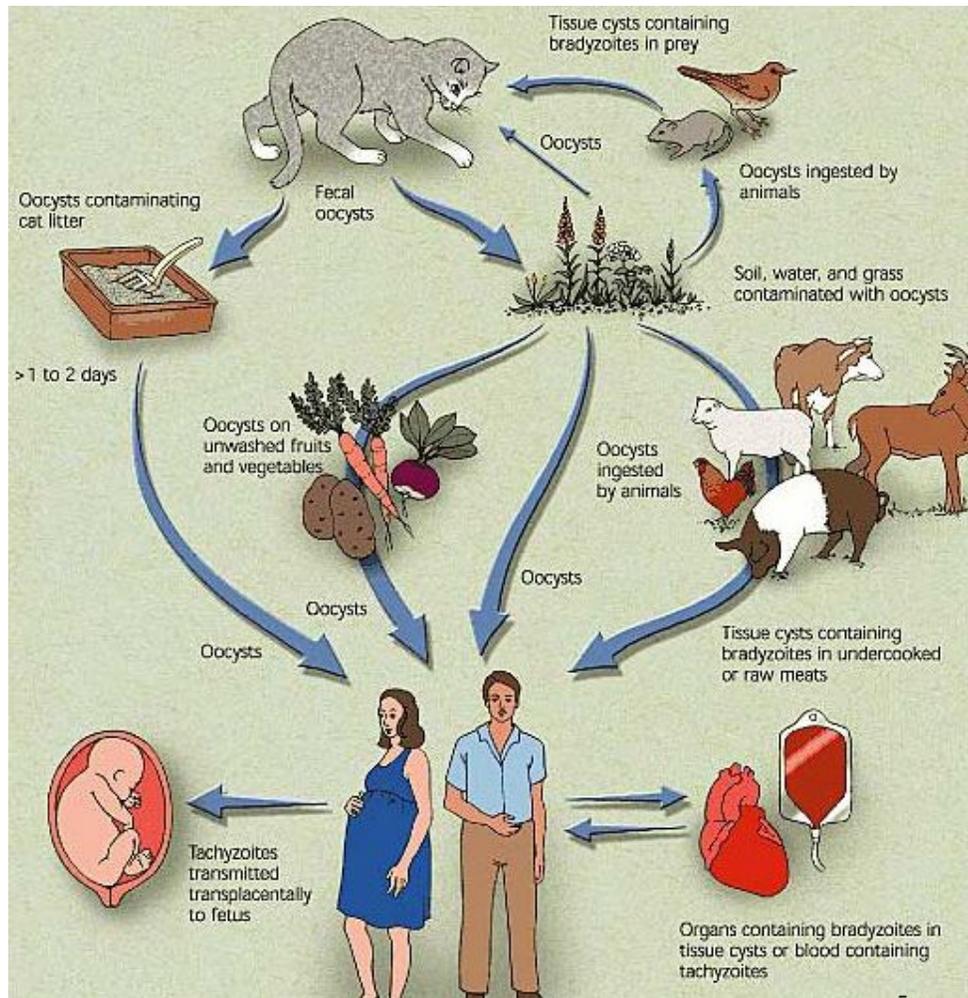
Grande parte da população humana e animal apresentam parasitismo pelo *T.gondii*. Testes sorológicos comprovaram que em diferentes regiões 40% a 70% de humanos adultos apresentam-se positivos para toxoplasmose. O índice de infecção na população humana tem sido relacionado com a combinação de padrões de vida e de cultura, a fatores climáticos e geográficos, situação sócio-econômica, hábitos alimentares e higiene (KAWAZOE, 2005).

O homem é o hospedeiro intermediário e pode se infectar de diversas formas conforme ilustrado na figura 4, entre elas: por via oral<sup>4</sup> (DUBEY; NAVARROI, SREEKUMAR et al., 2004), transplante de órgãos, transfusão sanguínea, acidentes laboratoriais<sup>5</sup> (DEROUIN; PELLOUX, 2008) e transmissão vertical (KAWAZOE, 2005). A infecção por via oral acontece através da ingestão de oocistos, uma forma resistente às condições do meio ambiente, que está presente em dejetos de felídeos, principalmente gatos. As fezes contaminadas com oocistos podem contaminar água, alimentos, solo, areia sendo que a disseminação pode ocorrer através de transportadores. A infecção ocorre também pela

ingestão de cistos contendo bradizoítas, forma infectante encontrada em vários tecidos geralmente na fase crônica da infecção, a partir de vegetais, água e alimentos de origem animal contaminados, especialmente carne crua ou mal cozida. Outra forma de infecção também se dá pela ingestão de taquizoítas, forma infectante encontrada durante a fase aguda da infecção, em leite contaminado (DUBEY; NAVARROI; SREEKUMAR et al., 2004; MONTOYA; LIESENFELD, 2004; KAWAZOE, 2005).

Outra forma de infecção é a toxoplasmose congênita decorrente da transmissão transplacentária do parasita em gestantes, as quais apresentam a infecção primária durante a gestação com disseminação dos taquizoítos. (DESMONTS; COUVREUR, 1974; VOGEL; KIRISTIS; MICHAEL, et al., 1996; KAWAZOE, 2005). Essa transmissão pode vir a ocorrer em qualquer período da gestação, sendo mais freqüente no final comparado ao início (HOHLFELD; DAFFOS; COSTA et al., 1994). A transfusão sanguínea também pode ser outro meio de transmissão da toxoplasmose nos indivíduos imunocomprometidos, entre eles pacientes sob tratamento dialítico, por apresentarem anemias frequentes, perda de sangue durante a coleta para exames rotineiros, procedimentos cirúrgicos, tornando-os mais suscetíveis as infecções (BARRETTI; DELGADO, 2007; ELHENCE, 2010; BALDINI-PERUCA; DEFFUNE; SILVA et al.; 2010). Pessoas que trabalham em laboratórios de pesquisa ou clínicos, bem como os profissionais de saúde também estão sujeitos a adquirir a toxoplasmose através de acidentes laboratoriais, e na maioria das vezes estes não se dão conta da gravidade do quadro e do tamanho do inoculo que foi introduzido (HERWALDT, 2001).

Os indivíduos transplantados tornam-se mais vulneráveis a desenvolver a parasitose devido a presença dos cistos do protozoário na vigência de tratamento imunossupressor por longo tempo, embora fundamental para a sobrevivência pode aumentar a probabilidade de infecção (CARMO; SILVA; XAVIER et al., 2004; FRENKEL; BERMUDEZ, 2006).



**Figura 4:** Mecanismos de Transmissão do *T. gondii*  
(Adaptado de [www.aafp.org/afp/20030515/2131.html](http://www.aafp.org/afp/20030515/2131.html))

Algumas medidas preventivas podem ser esquematizadas:

- evitar ingerir carne crua e mal passada;
- lavar bem as mãos antes e após manipular alimentos, gatos e terras;
- manter controle sobre os gatos de rua;
- limpar os locais onde os gatos defecam e desinfetá-los com água fervente (FRENKEL, BERMUDEZ, 2009).

### 3.6 Epidemiologia

A infecção pelo *T.gondii* constitui uma das zoonoses mais difundidas no mundo, com ampla distribuição mundial encontrada em diversos climas em todos os continentes (JAMRA, 1985; BEAMAN; McCABE; WONG et al., 1995; AMENDOEIRA; SOBRAL; TEVA et al.,

2003). A prevalência de anticorpos encontrada nos indivíduos varia de acordo com o aumento da idade em ambos os sexos, hábitos alimentares e higiene, fatores climáticos (LAINSON; LEÃO; CRESCENTE et al., 1997; SÁFADI, 2000; FRENKEL, 2009). Estima-se que grande parte da população mundial esteja contaminada pelo *T.gondii*, encontrando-se índices de até 90% em adultos (RAMIREZ; VARGAS; DURAN et al., 1998; BONILLA; CHAVEZ; MONSALVE et al., 2001; AMENDOEIRA; SOBRAL; TEVA et al., 2003) obtendo-se valores máximos após sessenta anos de idade (MELAMED, 1991). A prevalência da doença em regiões tropicais como Brasil, Colômbia e Venezuela é maior ao comparar com regiões frias, quentes e áridas (WALLACE, 1973; ORÉFICE E BAHIA-OLIVEIRA, 2005; KAWAZOE, 2005). Regiões com maior altitude têm menor prevalência comparada a regiões vizinhas ao nível do mar (WALLS; KAGAN, 1967).

No Brasil a incidência é variável devido às variações climáticas de cada região. Nos estados de Pernambuco, Ceará e Bahia foi encontrado na população urbana a prevalência de anticorpos de 64% a 79%, 22,8% e 71,5% (COELHO; KOBAYASHI; CARVALHO, 2003; REY, RAMALHO, 1999) respectivamente e na região de Belém o índice foi de 77% (BICHARA, 2001). A incidência da toxoplasmose encontrada em gestantes de Porto Alegre e São Paulo variou de 54,3 a 67,4% (KAWAZOE, 2005).

Há registros no Brasil que o índice de infecção aumenta com a idade e que crianças até 5 anos já apresentaram 42% de anticorpos contra o parasita, aumentando para 56% na faixa etária de 5 e 20 anos chegando a mais de 70% após os 20 anos (RICCIARDI; SABROZA; SANDOVAL et al., 1978). A prevalência também varia com localização geográfica, encontrando no Rio Grande do Sul a taxa de prevalência de 82%, em São Paulo 42% e no Paraná 66% (GARCIA; NAVARRO; OGAWA et al., 1999). Houve também maior prevalência em regiões onde o saneamento básico é deficiente somado a higiene precária. Um exemplo é a cidade ao norte do Rio de Janeiro, Campos dos Goyatacazes, que em um estudo revelou que 84% da população da classe socioeconômica baixa são soropositivos ao comparar com a classe média e alta que se encontrou 62% e 23% respectivamente. Observou-se também que o consumo de água não filtrada aumentou-se o risco na classe baixa, revelando a importância da transmissão de oocistos na água (BAHIA-OLIVEIRA; JONES; SILVA et al., 2003; MOURA; BAHIA-OLIVEIRA; WADA et al., 2006).

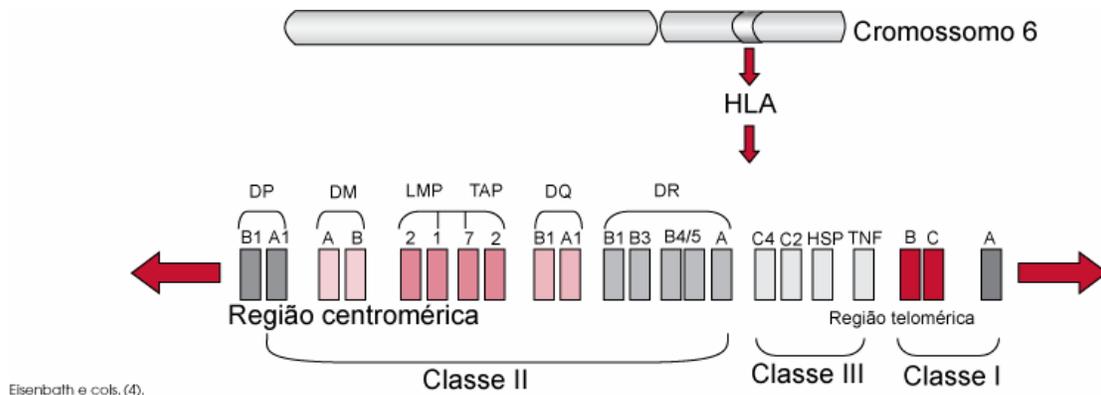
Regiões da América Latina, a soroprevalência atinge aproximadamente 80% da população adulta (FERREIRA, FORANDA, SCHUMAKER, 2003). Nos EUA a soroprevalência da toxoplasmose geral varia de 20,0% a 60,0% (ROTHOVA, 2003; JONES; FRANTZIDOU; SOULIOU et al., 2001) sendo similar ao encontrado no Reino Unido

(JOYNSON, 1992). Já na França a soroprevalência atinge 85% na idade adulta (DESMONT; COUVREUR, 1974). Na Holanda quase metade da população entre um e 79 anos já foram infectados pelo *T.gondii* durante a vida (KORTBEEK; MELKER; VELDHUIJZEN et al., 2004). Na Grécia, um estudo revelou que 24% da população era positiva para toxoplasma e a taxa de soroconversão anual girava em torno de 0,8% em 2004 (DIZA; FRANTZIDOU; SOULIOU et al., 2005). Em países como El Salvador, Taiti e França foi encontrado percentuais de infecção superiores a 70% em adultos com idade superior a 40 anos (FELDMAN, 1982).

### 3.7 Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH)

O Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH ou MHC, do inglês, *Major Histocompatibility Complex*) consiste em um conjunto de genes localizados no braço curto do cromossomo 6 humano. Este contém genes que codificam proteínas diversas e estão envolvidos com a imunidade do indivíduo e que são expressas na superfície de diferentes tipos celulares. Tais moléculas nos seres humanos são chamadas de Antígenos Leucocitários Humanos, ou sistema HLA, do inglês *Human Leucocyte Antigens* (PEAKMAN; VERGANI, 1999; ABBAS; LICHTMANN; PILLAI, 2008).

Tais moléculas são glicoproteínas altamente polimórficas (apresentam múltiplos alelos) e se diferenciam quanto a localização em tecidos e função. Didaticamente está dividido em três regiões: regiões de classe I (HLA-A, HLA -B e HLA-C), II (HLA-DR, HLA-DQ e HLA-DP) e III (figura 5). Os genes do CPH consistem em um conjunto de loci genético ligados, codificando proteínas envolvidas na apresentação de antígeno às células T. A combinação dos alelos do CPH de um único cromossomo é denominado haplótipo do CPH. Os genes do CPH possuem uma característica importante, que é sua expressão co-dominante: formas alélicas derivadas da mãe e do pai são expressas como proteínas da superfície celular (JANEWAY; TRAVERS; WALPORT et al., 2002).

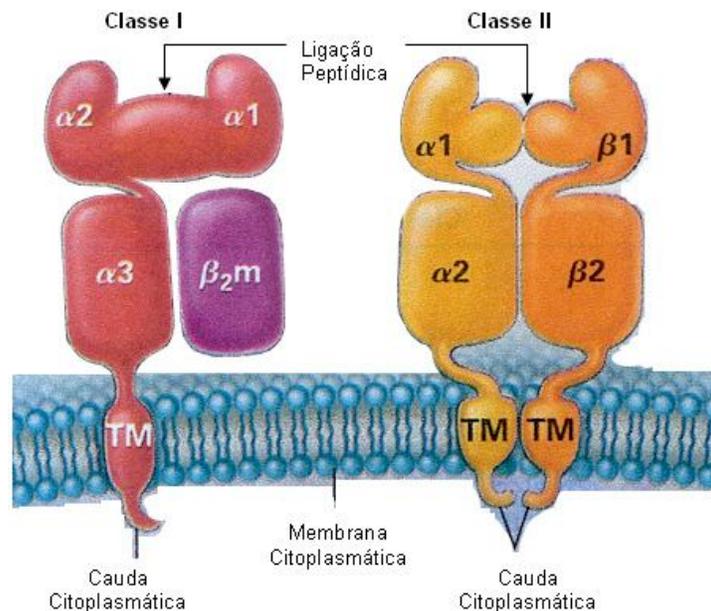


**Figura 5** – Estrutura gênica do CPH humano, identificando os genes HLA de classe I (HLA-A, B e C), de classe II (HLA-DR, DQ e DP) e os de classe III.

Vale ressaltar que as moléculas da classe I são fundamentais na destruição de células após serem infectadas por bactérias, vírus, e parasitas intracelulares e na rejeição de transplantes. Tais moléculas apresentam peptídeos às células T citotóxicas (CD8+) e estão localizadas na superfície de todas as células nucleadas do organismo (DONADI, 2000; KLEIN; SATO, 2000; TURNER, 2004). As moléculas de classe II localizadas na superfície de células estão diretamente relacionadas à resposta imune, com papel importante na apresentação de antígenos, início da resposta, na regulação da interação entre células imunocompetentes e a função de apresentar peptídeos às células T auxiliares (CD4+) (DONADI, 2000; FERNANDES; MACIEL; FOSS et al., 2003). A região classe III codifica moléculas como fatores de necrose tumoral, fator B do sistema complemento, proteínas C4, C2, proteína do choque térmico e enzimas 21-hidroxilase (PAMER; CRESSWELL, 1998; KLEIN; SATO, 2000; FERNANDES; MACIEL; FOSS et al., 2003; TURNER, 2004).

### 3.8 Antígenos Leucocitários Humanos (HLA)

São moléculas encontradas na superfície dos leucócitos e em quase todas as células dos tecidos de um indivíduo. Esse conjunto de moléculas constitui um sistema denominado Histocompatibilidade Figura 6.



**Figura 6** - Estrutura das moléculas HLA classe I e II. Adaptada de Klein e Sato, 2000.

Tais moléculas por estarem presentes nas células do organismo funcionam como aloantígenos, sendo considerado um potente marcador de sobrevivência em transplantes, estando relacionado ao processo de rejeição de enxertos. Quanto mais semelhantes forem os alelos HLA do doador e do receptor melhores são os resultados do transplante, seja de medula óssea ou de órgãos sólidos (KRENSKY; WEIS; CRABTREE et al., 1990; ERLICH; OPELZ; HANSEN, 2001). Mesmo com o uso de drogas imunossupressoras, que diminuem a possibilidade de rejeição, a histocompatibilidade é fundamental para que se tenha sucesso do transplante. (BICALHO; RUIZ; COSTA et al., 2002). A política nacional de transplante de órgãos e tecidos está fundamentada na legislação (Lei nº 9.434/97, Lei nº 10.211/01, Lei nº 8.080/90, Lei nº 8.142/90 (Sistema Nacional de Transplante do Ministério da Saúde – SNT, 2001).

A identificação das moléculas do sistema HLA pode ser por três diferentes métodos, são eles: sorológicos, celulares e de biologia molecular. O primeiro é o método da microlinfocitotoxicidade de Terasaki (TERASAKI; MCCLELLAND, 1964), em que a citotoxicidade mediada por anticorpos e dependente do complemento favorece a detecção de antígenos leucocitários, por isso a definição de antígenos e alelos HLA (DONADI, 2000). Um anticorpo anti-HLA conhecido é adicionado nesse método a linfócitos T ou a linfócitos B. Após ter ocorrido à reação antígenoanticorpo e a lise celular devido à incubação com o complemento, haverá uma reação positiva (DONADI, 2000).

O segundo método utiliza células com fenótipo conhecido para definir a especificidade HLA. Nesse método são colocadas em cultura junto aos linfócitos, 35 tipificações conhecidas, os linfócitos do paciente junto à tipificação a ser determinada. Caso houver a proliferação de linfócitos, conclui-se que há diferenças antigênicas entre os indivíduos (DONADI, 2000). E o terceiro método avalia o fragmento de DNA extraídos de células nucleadas e amplificados pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os métodos mais utilizados são o SSP (*sequence specific primers*), que utiliza reações de amplificação com par de iniciadores capazes de reconhecer alelos ou grupos de alelos, e o SSOP (*sequence specific oligonucleotide probes*), no qual o DNA amplificado é hibridizado com sondas de oligonucleotídeos para reconhecer os alelos ou grupos de alelos (DONADI, 2000).

O polimorfismo é uma das principais características dos genes do HLA, pois a acentuada variabilidade genotípica é devido a centenas de alelos encontrado em cada loco (TURNER, 2004). Essa diversidade assim como o polimorfismo dos genes do sistema HLA juntamente com a participação na resposta imune, faz com que ele desempenhe papel de grande importância na patogenia de várias doenças auto-imunes (FERNANDES; MACIEL; FOSS et al., 2003). No final dos anos 60, os primeiros estudos de associação foram realizados entre antígenos de histocompatibilidade e doenças, porém com resultados inconsistentes na avaliação de doenças como o linfoma de Hodgkin e a leucemia linfóide aguda (WALFORD; FINKELSTEIN; NEERHOUT, 1970). Já em meados dos anos 70, foi relatada uma associação do antígeno HLA-B27 com a espondilite anquilosante (SCHLOSSTEIN; TERASAKI; BLUESTONE et al., 1973). Após essa descoberta, estudiosos vêm buscando identificar associações entre os antígenos HLA e uma diversidade de doenças, visando relacionar as que conferem proteção ou suscetibilidade (DONADI, 2000).

### **3.9 Cuidados de enfermagem ao paciente renal com toxoplasmose**

Em seu cotidiano, o doente renal passa a conviver com mudanças bruscas, limitações e medo ao deparar-se com o novo tratamento de longa duração e com impactos relevantes sobre sua vida e de seus familiares que é a hemodiálise, como também com expectativa de melhorar a qualidade de vida com a possibilidade de submeter-se ao transplante renal. E paralelamente a preocupação diante dos cuidados após ter adquirido a toxoplasmose, seja após o transplante, como também pela reativação dos cistos. Nesse sentido mostra-se necessário o cuidado de enfermagem ao paciente com intuito de evitar complicações durante o tratamento,

mas também buscar conhecer as necessidades relacionadas ao aspecto físico e psicológico, tanto do portador como também de seus familiares (GULLO; LIMA; SILVA, 2000; DIAS; ARAÚJO; BARROSO, 2001).

Alguns autores (PERES; CIAMPONE, 2006) consideram o trabalho de enfermagem como instrumento do processo de trabalho em saúde e subdivide em outros processos de trabalho, como assistir/cuidar, gerenciar/administrar, pesquisar e ensinar. Entre os citados, o cuidar e gerenciar merece destaque no trabalho do enfermeiro.

A enfermagem ao atuar de maneira consciente previne e controla complicações exercendo de maneira eficiente seus deveres com a implementação da sistematização da assistência de enfermagem (SAE) na prática diária (SOUZA; MARTINO; LOPES, 2007). A SAE por sua vez permite uma organização do trabalho do enfermeiro a fim de beneficiar o relacionamento do profissional com o pacientes, assim como com os demais membros da equipe, fortalecendo o vínculo terapêutico. Nesse sentido, para que haja de maneira eficaz a sistematização da assistência, aplica-se o processo de enfermagem que se encontra dividido em cinco fases: coleta de dados, identificação do diagnóstico de enfermagem, elaboração do plano de ação junto a sua implementação e a observação da evolução do paciente (GARCIA; NÓBREGA, 2009).

A partir desse contexto a função do enfermeiro nesse setor é de atender às necessidades individuais do paciente, a fim de garantir um trabalho multidisciplinar com planejamento e melhor adaptação ao tratamento proporcionando melhor qualidade de vida, recuperação e reintegração do indivíduo no meio social (SOUZA; MARTINO; LOPES, 2007). Sua atuação tanto na prevenção como na progressão da doença se traduz na assistência prestada de forma assistemática, sem haver discriminações específicas de prevenção e da progressão, sendo esse um processo inseparável, mantendo-se atualizados e preparados a fim de promover cuidado com qualidade a partir de trocas de experiências com a equipe multiprofissional buscando planejamento e novas estratégias de assistência e introduzir ações através do ensino e pesquisa (TRAVAGIM; KUSUMOTA, 2009). Outra importante função do enfermeiro é de educador, além do compromisso profissional e ético. Este é considerado um dos grandes responsáveis pelo incentivo do auto-cuidado à saúde principalmente por estarem mais próximo ao paciente (PACHECO; SANTOS; BREGMAN, 2006).

### **3.10 Toxoplasmose no paciente imunossuprimido**

Os pacientes com determinadas patologias ou circunstâncias que levam à depressão da imunidade celular podem ser chamados de imunossuprimidos (DORA et al., 2009). Entre as situações referidas estão a aids, leucemia, linfomas, tratamento dialítico, transplante de órgãos ou uso prolongado de corticosteróides. Pelo fato dos cistos persistirem por um período indefinido, a ocorrência de imunossupressão pode ocasionar o surgimento da toxoplasmose.

O indivíduo imunocompetente pode ter todas as formas clínicas descritas porém a doença é fulminante e rapidamente letal caso o tratamento não seja iniciado a tempo no grupo dos pacientes imunodeprimidos. Ainda que alguns casos da doença sejam consequência de infecção primária nesses pacientes, o mais comum é representarem reativação de infecção crônica pelo *T.gondii* (FRENKEL; NELSON; ARIAS-STELLA, 1975).

Em pacientes com órgãos sólidos transplantados o risco de infecção relaciona-se com o uso terapêutico de drogas imunossupressoras a fim de prevenir a rejeição, decorrentes de alterações anatômicas relacionadas com o órgão transplantado como também dos procedimentos cirúrgicos. Cada órgão transplantado está associado com um tipo característico de complicações infecciosas. Um exemplo é o aumento da infecção de urina em transplantados renais, uma vez que deve ser instalada e mantida a profilaxia urinária antibacteriana. Os órgãos transplantados podem armazenar patógenos como *T.gondii*, citomegalovírus, HIV (vírus da imunodeficiência humana) entre outros (PEDROSO, 2009).

A toxoplasmose aguda sintomática é rara após o transplante renal, porém, a taxa de mortalidade e a gravidade aumentam quando não diagnosticada e tratada precocemente. Dessa forma, a reativação da infecção consequência da necessidade do uso das drogas imunossupressoras, se dá quando o mecanismo de imunidade celular é alterado, causando desequilíbrio entre o parasito e hospedeiro, possibilitando a reativação da infecção pela ruptura dos cistos, podendo ocasionar quadro severo de toxoplasmose (CUNHA; FERREIRA; RAMOS et al.,1994).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Caracterização do estudo**

A população dessa pesquisa envolveu 203 pacientes em tratamento dialítico e 53 transplantados renais, totalizando 256 indivíduos. Foram incluídos 73 voluntários saudáveis

doadores de sangue do Hemocentro Regional de Londrina como grupo controle, todos com os exames de triagem para doação de sangue não reagente para toxoplasmose, com idade entre 16 e 65 anos. A idade média dos 203 pacientes sob tratamento dialítico foi de 52,31 anos, sendo 129 (63,55%) do sexo masculino com média de idade de 52,6 anos variando de 18 a 83 anos e 74 (36,45%) do sexo feminino com média de idade de 51,78 anos variando de 18 a 84 anos. Dentre os 53 transplantados renais a idade média foi de 43,83 anos, sendo 32 pertencentes ao sexo masculino com a média de idade de 46,28 anos variando de 22 a 69 anos e 21 do sexo feminino com a média de idade de 40,1 anos com intervalo de 18 a 64 anos.

O período da coleta de dados ocorreu de janeiro a março de 2011. Os pacientes transplantados foram convidados a participar do estudo por meio das consultas de rotina. Os critérios de exclusão da pesquisa foram pacientes menores de 18 anos, os que encontraram dificuldade de compreensão, instabilidade clínica durante a coleta, além dos que se recusaram a participar da pesquisa. Foi aplicado um questionário com questões sócio-demográficas e relacionadas à saúde a fim de conhecer melhor o paciente (Apêndice A).

A sorologia para anticorpos anti- *T. gondii* IgG e IgM foi avaliada por ensaio de micropartícula por quimioluminescência quantitativo (Architect, Abbott laboratórios).

## **4.2 Procedimentos**

### **4.2.1 Coleta do material biológico e estocagem**

Amostra de 10 ml de sangue periférico foi obtida por punção venosa em tubos de coleta a vácuo estéril com anticoagulante EDTA. Após a separação o soro foi alíquotado e guardado em freezer -80<sup>0</sup>C até o momento do uso. Após descongelamento o soro foi centrifugado a 600xg por 10 minutos para eliminação de qualquer fibrina, glóbulos vermelhos ou outras partículas em suspensão. A detecção e caracterização de anticorpos anti-*T.gondii* bem como estudo do polimorfismo genético das moléculas HLA foram realizados no Laboratório de Imunogenética da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

### **4.2.2 Detecção e caracterização de anticorpos**

#### **Técnica Sorológica**

Para a determinação quantitativa de anticorpos anti-*T.gondii* da classe IgG e IgM no soro ou no plasma foi utilizada a técnica MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay). A

reação é realizada no analisador de imuno-ensaio, com acesso randômico e contínuo, AXSYM da empresa Abbott. (*Abbott Diagnostics AxSYM® SYSTEM Toxo IgG e IgM* para o *T. gondii*). As amostras usadas para pesquisa dos anticorpos da classe IgM são tratadas com tampão de neutralização do Fator Reumatóide (FR) para remover os anticorpos de interferência (se presentes) do complexo antígeno-anticorpo, evitando-se, assim, resultados falsamente positivos. No final da reação, o complexo imune ligado ao conjugado marcado com a fosfatase alcalina reage com o substrato. A quantidade de fluorescência é proporcional à concentração de anticorpos da amostra analisada (Manual de Instruções de Uso AxSYM-Abbott, 2000).

### **Princípios biológicos do procedimento**

A amostra e todos os AxSYM Toxo G/ Toxo M Reagentes, necessários para um teste, são pipetados pela agulha de Amostragem nos vários poços de um recipiente de reação (RR) no Centro de Amostragem. O RR é imediatamente transferido para o Centro de Processamento. A pipetagem é feita no Centro de Processamento. As reações ocorrem na seguinte sequência:

#### **Centro de Amostragem**

A agulha de Amostragem dilui amostra na Solução 4 (Diluyente de Linha) e dispensa uma alíquota da amostra diluída e as micropartículas revestidas de *T.gondii* formando um complexo antígeno-anticorpo.

#### **Centro de processamento**

- O diluyente de ensaio é adicionado à mistura da reação e uma alíquota do complexo antígeno-anticorpo é transferida para a célula matriz;
- As micropartículas ligam-se irreversivelmente à matriz de fibra de vidro;
- A célula matriz é lavada para remover os materiais não ligados;
- O conjugado anti-IgG/ anti-IgM humano: fosfatase alcalina é dispensado na célula matriz e se liga ao complexo antígeno-anticorpo;
- A célula matriz é lavada para remover os materiais não ligados;

- O substrato, 4-Metilumbeliferil fosfato, é adicionado à célula matriz e o produto fluorescente é determinado pelo conjunto óptico MEIA.

Para a interpretação dos resultados considerou-se IgG reagente (IgGR) quando os valores do AxSYM Toxo G foram superiores ou igual a 3 UI/mL, sendo um indicativo de infecção aguda ou passada ao parasita e IgG não reativo (IgGNR), quando resultados do AxSYM Toxo G foram inferiores a 2 UI/mL. Resultados AxSYM Toxo G iguais ou superiores a 2UI/mL e inferiores a 3UI/mL foram consideradas duvidosas (*grayzone*) podendo conter níveis baixos de IgG, devendo-se obter e testar uma segunda amostra. Amostras com Valores Index iguais ou superiores a 0,600 são consideradas reativas para anticorpo IgM, amostras com Valores Index inferiores ou iguais a 0,499 são consideradas não reativas para anticorpo IgM e amostras com Valores Index na faixa de 0,500 a 0,599 são consideradas duvidosas (*grayzone*), sendo necessária à repetição do ensaio. O protocolo dos testes e os cálculos dos valores de referência foram desenvolvidos segundo recomendações do fabricante (*Abbott AxSYM® SYSTEM – Toxo IgG e Toxo IgM, 2009 e 2006 respectivamente*).

#### **4.2.3 Extração DNA**

Foi realizada a extração de DNA a partir de amostras contendo 10 mL de sangue periférico, os quais foram coletados por punção venosa com tubos de vácuo e anticoagulante EDTA e centrifugada a 2500 rpm, durante 10 minutos, a fim de se obter a camada leucocitária. O DNA foi extraído desta camada pelo reagente EZ-DNA, seguindo as instruções do fabricante (Biological Industries, Kibbutz Beit, Haemek).

#### **4.2.4 Tipificação HLA**

Para a tipificação HLA classe I (HLA-A e -B) e classe II (HLA-DRB1) foi utilizado o kit LABType® SSO One Lambda aliado à tecnologia Luminex. Esse método de PCR utiliza *primers* biotinizados. O material amplificado passa por um processo de desnaturação e posterior hibridização com sondas ligadas a microesferas (*beads*) que fazem parte do sistema multianalítico Luminex. Cada *bead* é marcada com uma determinada fluorescência e possui uma sonda de oligonucleotídeo correspondente a um alelo HLA, ou a um grupo de alelos HLA. Após a etapa de hibridização as sondas que hibridizaram com o DNA são marcadas com uma solução SAPE (estreptavidina conjugada com ficoeritrina). O citômetro de fluxo

LABScan® 100 é capaz de reconhecer a fluorescência da *bead* e da SAPE ligada à sonda. Os dados gerados pelo aparelho foram analisados no software HLA Fusion para a determinação da tipagem HLA.

Todos os pacientes foram tipados com relação às moléculas de HLA classe I (A, B) e classe II (DRB1).

### **4.3 Tratamento estatístico**

Os dados coletados geraram um banco de dados informatizado sendo realizada estatística descritiva e o teste exato de fisher - software STATISTICA 7.0.

Para análise estatística dos dados os pacientes foram divididos em positivos e negativos para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG e anti-*Toxoplasma gondii* IgM. Foi quantificado o número de vezes que um determinado alelo apareceu (n) e a frequência relativa. O valor de p foi calculado pelo Teste Exato de Fisher (P-valor), para os valores de p abaixo de 0,05, foi calculado o valor de p por meio da correção de Bonferroni (Pc-valor). Quando o valor de p era menor que 0,05, foi calculado o *odds ratio* (OR) e o Intervalo de Confiança (IC = 95%).

A análise dos dados foi realizada utilizando-se os métodos de proporções, frequências simples, teste exato de Fisher e qui-quadrado.

### **4.4 Aspectos éticos da pesquisa**

Os sujeitos foram orientados no que tange aos objetivos da pesquisa, esclarecidos quanto ao anonimato e sobre dúvidas, para posterior assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias (Apêndice B). Obedeceu-se e respeitaram-se os aspectos éticos apresentados pela Resolução 196 de 10 de outubro de 1996 pelo Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde que disciplina as pesquisas com Seres Humanos (BRASIL, 2010). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COPEP) da UEM, com o parecer nº 725/2010 (Anexo A).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 ARTIGO 1

#### **SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM PACIENTES EM DIÁLISE E TRANSPLANTADOS RENAI**

Marina Raduy Botelho<sup>1</sup>

Waldir Veríssimo da Silva Júnior<sup>2</sup>

Miria Ramos<sup>3</sup>

Edna Maria Vissoci Reiche<sup>4</sup>

Sueli Donizete Borelli<sup>5</sup>

#### **RESUMO**

A toxoplasmose é considerada uma zoonose de distribuição universal, esta apresenta alta soroprevalência mundial alcançando até 90% da população. Pacientes imunodeprimidos tornam-se suscetíveis a diversas infecções. O presente estudo teve como objetivo verificar a prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e caracterizar a classe de anticorpos dos pacientes sob tratamento dialítico e transplantados renais. Participaram do estudo 256 pacientes, sendo 203 em diálise e 53 transplantados renais, e como controles, 73 indivíduos considerados saudáveis. A coleta de dados ocorreu de janeiro a abril de 2011. O método utilizado para detecção e caracterização de anticorpos foi o ELISA quantitativo (ensaio imunoenzimático de micropartículas (MEIA-Abbott AxSYM® SYSTEM). Anticorpos Anti-*T.gondii* IgG estiveram presentes em (140) 68,96% dos 203 pacientes em hemodiálise e (34) 64,15% dos 53 transplantados renais. Anticorpos Anti-*T.gondii* IgM foram detectados em 2 (0,99%) pacientes sob tratamento dialítico. Não houve diferença estatisticamente significativa para a presença de anticorpos IgG entre os grupos de pacientes transfundidos (131) e não transfundidos (72). Pacientes em diálise e transplantados renais apresentaram maior prevalência de anticorpos IgG ao comparar com grupo controle. A prevalência de anticorpos IgM foi a mesma ao comparar indivíduos em diálise e transplantados renais com o grupo controle. Não houve diferença entre indivíduos transfundidos e não transfundidos ao relacionar com anticorpos IgG e IgM.

**Palavras-chave:** Enfermagem. Toxoplasmose. Diálise renal

---

<sup>1</sup> Enfermeira. Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Endereço para correspondência: Rua Renê Camargo de Azambuja, 379, apt°202, Centro, Apucarana, Paraná, Brasil. Telefone: 43-3034-2008. E mail: raduybotelho@gmail.com

<sup>2</sup> Estatístico. Mestre em estatística. Docente do departamento de estatística da Universidade Estadual de Maringá.

<sup>3</sup> Farmacêutica Bioquímica do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina (DAB)/Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (Lepac) da Universidade Estadual de Maringá.

<sup>4</sup> Farmacêutica. Doutora em Medicina e Ciências da saúde. Docente do departamento de Ciências patológicas da Universidade Estadual de Londrina. UEL.

<sup>5</sup> Farmacêutica bioquímica. Doutora em Imunologia. Docente do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Estadual de Maringá.

## INTRODUÇÃO

*Toxoplasma gondii* (*T.gondii*) é um protozoário intracelular, caracterizado por parasitar diversos tecidos de mamíferos e aves (BASTIEN, 2002). Geralmente, a infecção por *T. gondii* em indivíduos adultos ou em crianças imunocompetentes apresenta-se de forma autolimitada e assintomática. Quando sintomática, pode apresentar linfadenopatia, mialgia, sensação de fadiga, cefaléia, febre, artralgia e anorexia. Mais raramente, pode ocorrer exantema generalizado, e na vida adulta, pode apresentar retinocoroidite como consequência de toxoplasmose congênita apresentando-se de forma assintomática no momento do nascimento. Em indivíduos imunocomprometidos distúrbios oculares e neurológicos são encontrados com frequência provavelmente pela reativação, nos diferentes órgãos, das formas latentes dos cistos contendo bradizoítos podendo ocasionar quadros de gravidade variável, capazes de provocar a morte (FRENKEL; BERMUDEZ, 2009). O gato, assim como outros felídeos são os únicos hospedeiros definitivos do *T.gondii* (GARCIA; NAVARRO; OGAWA et al., 1999). O homem é o hospedeiro intermediário e pode se infectar por via oral (DUBEY; NAVARRO; SREEKUMAR et al., 2004), transplante de órgãos, transfusão sanguínea, acidentes laboratoriais (DEROUIN; PELLOUX, 2008) e transmissão vertical (KAWAZOE, 2005). A infecção por via oral acontece através da ingestão de oocistos, uma forma resistente às condições do meio ambiente, que está presente em dejetos de felídeos. As fezes contaminadas com oocistos podem contaminar água, alimentos, solo, areia sendo que a disseminação pode ocorrer através de transportadores como moscas e baratas. A infecção ocorre também pela ingestão de cistos contendo bradizoítas, forma infectante encontrada em vários tecidos geralmente na fase crônica da infecção, a partir de vegetais, água e alimentos de origem animal contaminados, especialmente carne crua ou mal cozida. Outra forma de infecção também se dá pela ingestão de taquizoítas, forma infectante encontrada durante a fase aguda da infecção, em leite contaminado (KAWAZOE, 2005).

Sabe-se que a transmissão através da água é importante fonte de contaminação relatada desde o final da década de 70 quando grupos de soldados se infectaram, no canal do Panamá, ao tomar água do mesmo riacho (BENESON; TAKAFUJI; LEMON et al., 1982). Há ainda registros na literatura de outras epidemias, entre elas uma ocorrida na Ilha Vitória, na Columbia Britânica, Canadá (BOWIE; KING; WERKER et al., 1997). O primeiro surto comprovado no Brasil ocorreu na cidade de Santa Isabel do Ivaí – PR, em 2001, onde oocistos foram liberados pelos filhotes de gatas em um dos reservatórios que abastece a cidade. Neste episódio dentre os casos de infecção, 7 gestantes soroconverteram sendo que 6 tiveram filhos

infectados, uma apresentou anomalia congênita e uma teve aborto espontâneo. Tal constatação legitimou a vulnerabilidade dos sistemas de abastecimento de água para a contaminação por protozoários, colocando a vigilância sanitária em estado de alerta, uma vez que esta pode ser um veículo de disseminação da doença (BRASIL, 2002).

Considerada uma zoonose de distribuição universal, esta apresenta alta soroprevalência mundial alcançando até 90% da população (PARSLOW; STITES; TERR et al., 2003). Assim, nas últimas décadas, a soroprevalência no Brasil tem variado de 50,0 a 83,0%, sendo as áreas de maiores concentração dos casos nos estados do Pará, Rio Grande do Sul e Rio Grande do Norte e menores em Minas Gerais, Mato Grosso e Bahia aumentando de acordo com a exposição a fatores de risco, baixo nível sociocultural, idade, consumo de água não tratada e hábitos alimentares (OREFICE; BAHIA-OLIVEIRA, 2005).

A toxoplasmose apresenta-se de diversas formas no indivíduo, porém grande parte das infecções primárias são assintomáticas em indivíduos imunocompetentes (FRANCISCO; SOUZA; GENNARI et al., 2006). Entretanto, em pacientes imunodeprimidos, a toxoplasmose pode se apresentar de forma grave, podendo ocorrer à reativação da infecção latente podendo evoluir a óbito (FERREIRA; BORGES, 2002, WEISS; DUBEY, 2009).

Em pacientes transplantados, a infecção pelo *T. gondii* ocorre quando o receptor soronegativo recebe um enxerto de um doador soropositivo ou também pela reagudização da infecção pregressa, tornando o receptor mais vulnerável a desenvolver a parasitose (CARMO; SILVA; XAVIER et al., 2004). A presença dos cistos do protozoário na vigência de tratamento imunossupressor por longo tempo, embora fundamental para a sobrevivência dos pacientes transplantados, aumenta a probabilidade de infecção (FRENKEL; BERMUDEZ, 2009).

O diagnóstico laboratorial da toxoplasmose baseia-se na detecção de anticorpos de diferentes classes de imunoglobulinas M e G (IgM-IgG) específicas anti-*T. gondii*. A imunoglobulina M (IgM) pode aparecer na primeira ou na segunda semana após a infecção e alcança seu pico em seis a oito semanas. Posteriormente, ao início da infecção, pode ocorrer um declínio na presença das imunoglobulinas que perdura por quatro a seis meses (considerada aguda ou recente). Títulos baixos de IgM podem ainda ocorrer por mais 12 meses sendo considerados níveis residuais. A IgG, por sua vez, é encontrada em baixos níveis desde o início da parasitose e persiste por toda a vida, equivalendo a fase crônica ou latente da doença (CANTOS; PRANDO; SIQUEIRA et al., 2000).

Durante o tratamento dialítico, o indivíduo com IRC frequentemente necessita de transfusões sanguíneas pelo fato de desenvolver anemias devido (BARRETTI; DELGADO,

2007) a perda de sangue durante a coleta para exames rotineiros, no sistema de hemodiálise, procedimentos cirúrgicos tornando-se suscetíveis a diversas infecções (BALDINI-PERUCA; DEFFUNE; SILVA et al., 2010).

Diante desse cenário, ressalta-se a importância dos profissionais de enfermagem, que assistem de perto ao paciente, do início ao fim do tratamento, se manterem atualizados, aptos para promover atendimento e intervenção com qualidade e segurança ao paciente renal crônico, trocar experiências com a equipe multiprofissional na qual está inserido, além de planejar novas estratégias de assistência a esta população, como também implementar ações de que visem à qualidade do cuidado através do ensino e pesquisa.

Considerando que a transmissão da toxoplasmose pode se dar através de diversas formas e que a transfusão sanguínea é uma delas, e tendo em vista que é alta a soroprevalência deste parasita, na população mundial incluindo doadores de órgãos, propusemos este estudo para verificar a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii* e caracterizar a classe de anticorpos (IgM e/ou IgG) nestes pacientes.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se de um estudo analítico de caráter descritivo exploratório, desenvolvido com pacientes em tratamento dialítico e transplantados renais de dois hospitais de médio porte da cidade de Maringá, Paraná.

A pesquisa envolveu 203 pacientes em tratamento dialítico e 53 transplantados renais, totalizando 256 indivíduos. Foram incluídos 73 voluntários saudáveis, doadores de sangue do Hemocentro Regional de Londrina como grupo controle, todos com os exames de triagem para doação de sangue não reagente, com idade entre 16 e 65 anos. A sorologia para anticorpos anti-*T. gondii* IgG e IgM foi avaliada por ensaio de micropartícula por quimioluminescência quantitativo (Architect, Abbott laboratorios).

O período da coleta de dados ocorreu de janeiro a março de 2011. Os pacientes transplantados foram convidados a participar do estudo por meio das consultas de rotina.

Os critérios de exclusão da pesquisa foram pacientes menores de 18 anos, os que encontraram dificuldade de compreensão, instabilidade clínica durante a coleta, além dos que se recusaram a participar da pesquisa.

Utilizou-se, para a coleta de dados, um questionário sócio-demográfico (Apêndice A) para identificar o perfil dos entrevistados. Amostra de 10mL de sangue periférico foi obtida por punção venosa em tubos de coleta à vácuo estéril com anticoagulante EDTA. Após a separação o soro foi aliquotado e guardado em freezer -80<sup>0</sup>C até o momento do uso. Após

descongelamento o soro foi centrifugado a 600xg por 10 minutos para eliminação de qualquer fibrina, glóbulos vermelhos ou outras partículas em suspensão. Para a detecção e caracterização de anticorpos anti-*T.gondii* foi utilizado o método ELISA, aplicando-se o Ensaio Imunoenzimático de Micropartículas (MEIA) quantitativo (*Abbott Diagnostics AxSYM® SYSTEM Toxo IgG e IgM* para o *T. gondii*) no Laboratório de Imunologia Clínica da Universidade Estadual de Maringá.

Para a interpretação dos resultados considerou-se IgG reigente (IgGR) quando os valores do AxSYM Toxo G foram superiores ou igual a 3 UI/mL, sendo um indicativo de infecção aguda ou passada ao parasita e IgG não reativo (IgGNR), quando resultados do AxSYM Toxo G foram inferiores a 2 UI/mL. Resultados AxSYM Toxo G iguais ou superiores a 2UI/mL e inferiores a 3UI/mL foram consideradas duvidosas (*grayzone*) podendo conter níveis baixos de IgG, devendo-se obter e testar uma segunda amostra. Amostras com Valores Index iguais ou superiores a 0,600 são consideradas reativas para anticorpo IgM, amostras com Valores Index inferiores ou iguais a 0,499 são consideradas não reativas para anticorpo IgM e amostras com Valores Index na faixa de 0,500 a 0,599 são consideradas duvidosas (*grayzone*), sendo necessária a repetição do ensaio. O protocolo dos testes e os cálculos dos valores de referência foram desenvolvidos segundo recomendações do fabricante (*Abbott AxSYM® SYSTEM – Toxo IgG e Toxo IgM*, 2009 e 2006 respectivamente).

## **ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os dados coletados geraram um banco de dados informatizado sendo realizado o teste exato de Fisher e qui-quadrado utilizando o programa Statistica 7.0 para a análise dos resultados.

## **ASPECTOS ÉTICOS**

Os sujeitos participantes foram orientados quanto aos objetivos da pesquisa, esclarecidos quanto ao anonimato e as dúvidas, para posterior assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias (Apêndice B). Obedeceu-se e respeitaram-se os aspectos éticos apresentados pela Resolução 196 de 10 de outubro de 1996 pelo Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde que disciplina as pesquisas com Seres Humanos (BRASIL, 2010). Este estudo foi aprovado pelo do Comitê de Ética em Pesquisa (COPEP) da UEM, com o parecer nº 725/2010 (Anexo A).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da média de idade em anos, o DP, a distribuição dos indivíduos de acordo com a variável sexo, o tempo de diálise, tempo de pós transplante dos pacientes e do grupo controle, procedentes de dois hospitais de médio porte da cidade de Maringá, são mostrados na tabela 1.

**Tabela 1** – Média de idade em anos, desvio padrão (DP), distribuição dos indivíduos de acordo com a variável sexo, tempo de diálise, tempo de pós transplante dos pacientes e do grupo controle procedentes de dois hospitais de médio porte da cidade de Maringá, PR, 01/2011 a 03/2011.

Características		Pacientes		Grupo Controle
		Transplantados	Diálise	
Idade (Média em anos $\pm$ DP)	Feminino			
	+ Masculino	43,83 $\pm$ 12,27	52,31 $\pm$ 15,37	36,26 $\pm$ 11,9
Pacientes	Feminino	21 (39,62%)	74 (36,45%)	36 (49,32%)
	Masculino	32 (60,38%)	129 (63,55%)	37 (50,68%)
Tempo de transplante e Diálise (Média em meses $\pm$ DP)	Feminino	89,38 $\pm$ 50,08	54,12 $\pm$ 47,41	-
	Masculino	102,47 $\pm$ 55,82	46,65 $\pm$ 44,76	-

Os resultados mostraram que a média de idade dos 203 pacientes sob tratamento dialítico foi de 52,31 anos, sendo 129 (63,55%) do sexo masculino com média de idade de 52,6 anos (DP $\pm$ 15,64) variando de 18 a 83 anos e 74 (36,45%) do sexo feminino com média de idade de 51,78 anos (DP $\pm$ 14,98) variando de 18 a 84 anos. Dentre os 53 transplantados renais a idade média foi de 43,83 anos, sendo 32 pertencentes ao sexo masculino com a média de idade de 46,28 anos (DP $\pm$  12,72) variando de 22 a 69 anos e 21 do sexo feminino com a média de idade de 40,1 anos (DP $\pm$  10,8) com intervalo de 18 a 64 anos.

A idade média encontrada para o grupo controle foi de 36, 26 anos, variando de 16 a 65 anos, sendo 37 (50,68%) do sexo masculino e 36 (49,32%) do sexo feminino.

No presente estudo, encontrou-se em maior proporção o sexo masculino tanto nos pacientes transplantados assim como nos pacientes sob tratamento, e a média de idade encontrada é similar aos outros estudos já realizados com pacientes renais crônicos, podendo

ser atribuído aos fatores de riscos que são mais incidentes nesse sexo (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS - ABTO, 2007; CATTAI, ROCHA, NARDO JUNIOR et al., 2007).

A tabela 2 ilustra a frequência de anticorpos anti-*T.gondii* IgG nos indivíduos em diálise, transplantados renais e no grupo controle.

**Tabela 2-** Percentagem de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG em soros de pacientes dialíticos e transplantados renais procedentes de 2 hospitais de médio porte da cidade de Maringá, PR, 01/2011 a 03/2011.

Grupo	Porcentagem de Ac. Anti - <i>T.gondii</i> IgG		
	Reagente	Não reagente	Grayzone
Controle	31 (42,47%)	40 (54,79%)	2 (2,74%)
Diálise	140 (68,96%)	61 (30,05%)	2 (0,99%)
Transplantados	34 (64,15%)	19 (35,85%)	0 (0,00%)

Verificou-se que a prevalência de anticorpos IgG positivo encontrado nos pacientes em diálise foi de 68,96% sendo significativamente maior ao comparar com o grupo controle ( $p=0,000172$ ). Esse resultado pode ser atribuído por esses indivíduos virem apresentar o sistema imunológico comprometido devido a IRC, o que os torna mais suscetível a adquirir infecções (YAZAR; DEMIRTAS; YALÇIN et al., 2003). Porém ao comparar a positividade para anticorpos IgG dos indivíduos em diálise com os transplantados, observou-se que não houve diferença significativa ( $p=6,9$ ).

Não houve diferença estatisticamente significativa para o sexo nesses indivíduos em tratamento ao comparar com a positividade para anticorpos IgG, encontrando-se 68,99% para o sexo masculino e 68,92% para o sexo feminino ( $p>0,05$ ). Esse índice encontrado de soropositividade de toxoplasmose em pacientes em diálise se aproximou de outro estudo realizado com 255 pacientes em hemodiálise que descreve a soropositividade de 76,5% (OCAK; DURAN; ESKIOCAK et al., 2005), sendo superior ao encontrado no estudo realizado (YAZAR; DEMIRTAS; YALÇIN et al., 2003) que descreve a positividade em 56,06% entre os 173 indivíduos sob tratamento dialítico e inferior ao encontrado por (CARMO; SILVA; XAVIER et al., 2004) com indivíduos submetidos à terapia e candidatos a transplante renal, em que a porcentagem foi de 82,93% para 68 pacientes estudados.

Assim como nos pacientes em tratamento, os indivíduos transplantados também apresentaram em maior proporção anticorpos anti-*T.gondii* IgG encontrando-se 64,15% ao comparar com o grupo controle ( $p=0,0266$ ). Estudos realizados corroboram com o encontrado

(GHARAVI; JALALI; KHADEM VATAN et al., 2011, NISSAPATORN; LEONG, LEE et al., 2011). Vale ressaltar a importância de um acompanhamento após o transplante através de testes sorológicos, pois o desequilíbrio do sistema imunológico causado pelas drogas imunossupressoras pode levar a reativação da infecção através da ruptura dos cistos ocasionando um grave quadro de toxoplasmose (CARVALHO; SOARES, 2008). Embora sejam poucos os relatos encontrados na literatura de infecção pelo *T.gondii* após o transplante renal, ainda é alto o risco de mortalidade devido a esta infecção (MARTINA; CERVERA; ESFORZADO et al., 2011).

Foi analisado também o tempo médio de tratamento dialítico, encontrando-se 49,37 (0 a 252) meses para ambos os sexos, corroborando com outro estudo realizado com indivíduos em tratamento dialítico encontrando-se 47,4 (3 a 191) meses (SANTOS, 2005).

Este estudo buscou investigar também a relação entre o tempo de tratamento de diálise com a soropositividade para anticorpos anti-*T.gondii* IgG. Dos 140 pacientes com resultado positivo para anticorpos IgG foi encontrada a média de 50,0 meses de tratamento (DP±44,25) e dos 61 pacientes com resultado negativo, a média foi de 49,00 (DP±49,70). Através do teste t para amostras independentes obtivemos p-valor igual a 0,8850 ( $p>0,05$ ), sendo o tempo médio de diálise o mesmo nos dois grupos. Esse resultado difere com um estudo realizado com 173 pacientes com IRC sob tratamento dialítico, em Kayseri-Turquia, que foi observado um aumento da soropositividade com o tempo do tratamento de diálise (YAZAR; DEMIRTAS; YALÇIN et al., 2003).

A tabela 3 revela a frequência de anticorpos anti-*T.gondii* IgM nos pacientes em diálise, transplantados e grupo controle.

**Tabela 3.** Percentagem de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* IgM em soros de pacientes dialíticos e transplantados renais procedentes de 2 hospitais de médio porte da cidade de Maringá, PR, 01/2011 a 03/2011.

Grupo	Porcentagem Ac. Anti. <i>T.gondii</i> IgM		
	Reagente	Não Reagente	Grayzone
Controle	2 (2,74%)	71 (97,26%)	0 (0,00%)
Diálise	2 (0,99%)	201 (99,01%)	0 (0,00%)
Transplantados	0 (0,00%)	53 (100%)	0 (0,00%)

Ao analisar a frequência para anticorpos IgM verificou-se que 0,99% (2) dos pacientes do sexo masculino sob tratamento dialítico apresentou positividade para anticorpos IgM sendo proporcionalmente igual ao grupo controle onde foi encontrado 2,74% (2) ( $p>0,05$ ). Ao encontrar anticorpos IgM nesses pacientes pode-se pensar em infecção recente independente

da existência ou não de anticorpos IgG, porém a presença de anticorpo IgM não necessariamente significa uma infecção ativa, podendo apenas significar um contágio recente, pela possibilidade de encontrar anticorpos IgM por muitos meses (CANTOS; PRANDO; SIQUEIRA, 2000). Em um estudo realizado em Kayseri (Turquia), encontrou-se prevalência de 56,06% de anticorpos IgG (97/173) e a detecção de IgM em 1,73% (3 casos) em pacientes submetidos a hemodiálise (YAZAR; DEMIRTAS; YALÇIN et al., 2003) corroborando com o encontrado no estudo em questão. Ao relacionar os indivíduos positivos para anticorpos IgM sob tratamento com os transplantados renais, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p=1,0000$ ).

Indivíduos não imunes à toxoplasmose e receptores de um enxerto de um doador portador, tornam-se vulneráveis a adquirir toxoplasmose grave, devido à reativação de quistos presentes no órgão transplantado. Tal fato pode vir a ocorrer pelos quistos estarem na origem das formas poliviscerais da doença que surgem semanas após o transplante e associado à imunossupressão normalmente utilizada. Porém, ao analisar a frequência de positividade para anticorpos IgM, não foi encontrado em nenhum indivíduo transplantado, podendo a princípio caracterizar a ausência de toxoplasmose aguda nesses indivíduos, encontrando-se apenas no grupo controle. Pode-se atribuir a ausência de anticorpos IgM nos pacientes transplantados pelo tempo médio que foi realizado o transplante, em que os elevados índices de IgM são encontrados com maior frequência no início da infecção. O tempo médio de transplante para ambos os sexos foi de 97,28 meses variando de 25 a 224 ( $DP \pm 53,52$ ) meses. O tempo médio de transplante renal para o sexo masculino foi de 102,47 meses ( $DP \pm 55,82$ ) e 89,38 meses para o sexo feminino ( $DP \pm 50,08$ ). Através do teste t o tempo médio do enxerto em ambos os sexos é o mesmo ( $p>0,01$ ).

Em contrapartida, encontrou-se em um estudo realizado com receptores de órgãos sólidos, 52 casos confirmados de toxoplasmose em que 86% desenvolveram a doença no período de 90 dias após o transplante, sendo que destes pacientes, 42% tiveram infecção primária, 21% tinham reativação ou reinfecção, e 37% não pôde ser determinado (CAMPBELL; GOLDBERG; MAGID et al., 2006).

Desde meados dos anos 70, depois de provar que a parasita pode vir a sobreviver em sangue refrigerado, tem sido constante a inquietação da transmissão do *T.gondii* através das transfusões sanguíneas (AMORIM, 2008). No Brasil, a portaria 1376/93, reforçada pela resolução 343 MS/2001, determina nos serviços de hemoterapia a realização de testes de triagem sorológica para HIV1 e HIV2, HTLV I e HTLV VII, HCV, HBV, *Trypanosoma cruzi*, *Treponema pallidum*, *Plasmodium* em áreas endêmicas de malária e *Citomegalovirus* (CMV)

para pacientes imunodeprimidos, não sendo realizado para toxoplasmose. Quanto aos receptores, é determinado a realização de testes imuno-hematológicos (ABO/Rh), pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) e testes de compatibilidade (Prova Cruzada) (AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITÁRIA - ANVISA, 2003).

Neste estudo também buscou investigar a relação da transfusão sanguínea realizada pelos pacientes em diálise com a soropositividade para anticorpos anti-*T.gondii* na tabela 4.

**Tabela 4.** Frequência de pacientes com anticorpos IgG anti- *T.gondii* de acordo com a transfusão sanguínea. Maringá, PR, 01/2011 a 03/2011.

Transfusão	Reagente	Não Reagente	Grayzone
<b>Resultado Toxo G</b>			
Sim	90 (68,70%)	40 (30,53%)	1 (0,76%)
Não	50 (69,44%)	21 (29,17%)	1 (1,39%)
<b>Resultado Toxo M</b>			
Sim	2 (1,53%)	129 (98,47%)	0 (0,00%)
Não	0 (0,00%)	72 (100,00%)	0 (0,00%)

Ao analisar a frequência de pacientes submetidos ao procedimento, encontrou-se que mais da metade dos pacientes 64,53% (131) foram transfundidos, e o número de transfusões realizadas variou de 1 a 26, com a média de 3,57. A proporção desses indivíduos que foram transfundidos do sexo masculino 60,47% é a mesma do sexo feminino 71,62% comprovado através do teste qui-quadrado de homogeneidade ( $p>0,05$ ).

A partir dessa análise, ao comparar a soropositividade para anticorpos IgG com os indivíduos transfundidos (68,70%) e os não transfundidos (69,44%) encontrou-se a mesma proporção através do teste Exato de Fisher ( $p>0,05$ ). No entanto, estudos realizados em Recife com 160 doadores de sangue mostrou a prevalência de 75% de anticorpos IgG contra *T.gondii* (COÊLHO; KOBAYASHI; CARVALHO, 2003). Números apresentados por (VAZ; GUIMARÃES; BONANATO et al., 2008) não diferem dos resultados encontrados em doadores de sangue de outras regiões do país. Ao comparar a proporção dos pacientes que realizaram transfusão e tiveram resultados para anticorpos IgM negativo com os pacientes que não realizaram, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ).

Com o objetivo de reduzir a transmissão de doenças por meio da transfusão, medidas como a captação e seleção mais criteriosa de doadores podem ser tomadas, porém não isenta os receptores de riscos. Embora as ações hemoterápicas visem garantir a transfusão com segurança para seus receptores, pouco se conhece dos indivíduos que necessitam de sangue,

principalmente aqueles que necessitam serem transfundidos com frequência (CARRAZZONE; BRITO; GOMES, 2004).

Atualmente não há no Brasil como também em outros países, uma legislação que estabeleça um protocolo de diagnóstico para toxoplasmose, não existindo obrigatoriedade para realização de testes de triagem sorológica nos bancos de sangue para essa doença (VAZ; GUIMARÃES; BONANATO et al., 2008). Porém estudos que busquem estabelecer com exatidão os riscos e chances de transmissão da toxoplasmose são de extrema importância para determinar medidas que visam a diminuir o risco da toxoplasmose transfusional (AMORIM, 2008).

## CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que a prevalência de anticorpos antitoxoplasma da classe IgG encontrados tanto nos indivíduos imunodeprimidos como no grupo controle é alta e condiz com a prevalência média encontrada na literatura.

O percentual de anticorpos anti-toxoplasma da classe IgM foi baixo no grupo controle e nos pacientes em diálise e ausente no grupo de indivíduos transplantados. Não houve diferença estatisticamente significativa para presença de anticorpos IgM ao comparar os pacientes em diálise com o grupo controle.

Encontrou-se que o sexo masculino teve destaque entre os pacientes que estavam sob tratamento dialítico, porém não houve prevalência para a positividade de anticorpos anti-*T.gondii* ao comparar com o sexo. Não houve diferença significativa ao comparar a idade média entre o sexo masculino e feminino.

Ao comparar a soropositividade para com o tempo de diálise, pode-se observar que não apresentou diferença significativa.

Verificou-se que grande parte dos pacientes em diálise foram submetidos à transfusões sanguíneas, porém não houve relação entre o procedimento com a soropositividade.

A pesquisa sobre a prevalência de soropositividade torna-se importante por ser um indicativo de exposição da população a fatores decisivos para a doença. A soropositividade encontrada para toxoplasmose nos indivíduos em hemodiálise e transplantados renais sugere um acompanhamento para investigar possíveis reativações nos casos de anticorpos IgG a fim de prevenir o desenvolvimento da toxoplasmose. Paralelamente, medidas preventivas devem ser tomadas para a reeducação da transmissão da toxoplasmose a fim reduzir os riscos de contaminação em pacientes imunodeprimidos.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA - (ANVISA). *Sangue e hemoderivados. Legislação*. Disponível em: <[www.anvisa.gov.br/sangue/legis/index.htm](http://www.anvisa.gov.br/sangue/legis/index.htm)>. Acesso em: 22 nov. 2003.

AMORIM, L. Toxoplasmose e transfusão de sangue. *Rev. bras. hematol. hemoter*, Santos, v. 30, no. 4, p. 259-265, 2008.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS – ABTO. Registro brasileiro de transplante 10 anos. 2007. Disponível em: <<http://www.abto.org.br/abtov02/portugues/populacao/rbt/rbt10anos/index.aspx?idCategoria=2>>. Acesso em: 28 mar. 2010.

BALDINI-PERUCA, L. C.; DEFFUNE, E.; SILVA A. V et. al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em doadores de sangue do hemocentro, Hospital das Clínicas da Faculdade de medicina de Botucatu, São Paulo. *Vet. e Zootec*, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 399-406, 2010.

BARRETTI, P.; DELGADO, A. G. 7. Transfusão. *J. Bras. Nefrol.*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 21-23, 2007. Supl. 4.

BASTIEN, P. Diagnosis. Molecular diagnosis of toxoplasmosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. London, v. 96, no. 1, p. 205-215, 2002.

BENESON, M. W.; TAKAFUJI, E. T.; LEMON, S. M, et al. Oocyst transmitted toxoplasmosis associated with ingestion of contaminated water. *N Engl J Med*, Waltham, v. 307, p. 666-669, 1982.

BOWIE, W. R.; KING, A. S.; WERKER, D. H, et al. Outbreak of toxoplasmosis associated with municipal drinking water: the BC Toxoplasma investigation team. *The Lancet*, London, v. 350, no. 9072, p. 73-77, 1997.

BRASIL. Conselho Nacional de Saúde. Resolução 196/96. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos. 1996. Disponível em: <[http://www.prppg.ufg.br/coep/uploads/files/res\\_196.php](http://www.prppg.ufg.br/coep/uploads/files/res_196.php)>. Acesso em: 28 mar. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Surto de Toxoplasmose no município de Santa Isabel do Ivaí-Paraná. *Bol Eletro Epidemiol.*, v. 2, n. 3, p. 2-9, 2002.

CAMPBELL A. L.; GOLDBERG, C. L.; MAGID, M. S et al. First case of toxoplasmosis following small bowel transplantation and systematic review of tissue-invasive toxoplasmosis following noncardiac solid organ transplantation. *Transplantation*, Baltimore, v. 81, p. 408–417, 2006.

CANTOS, G. A.; PRANDO, M. D.; SIQUEIRA, M. V. et al. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos antiToxoplasma gondii e diagnóstico. *Rev Ass Med Brasil*, São Paulo, v. 46, n. 4, p. 335-341, 2000.

- CARMO, E. L.; SILVA, M. C. M.; XAVIER, U. A. M. et al. Inquérito sorológico de toxoplasmose em candidatos a transplante renal Hospital Ofir Loyola, Belém, Pará, Brasil. *Rev Panam Infectol*, São Paulo, v. 6, n. 4, p. 15-17, 2004.
- CARRAZZONE, C. F. V.; BRITO, A. M.; GOMES, Y. M. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. *Rev. bras. hematol. hemoter*, Santos, v. 26, n. 2, p. 93-98, 2004.
- CARVALHO, M. F. C.; SOARES, V. A. Toxoplasmose após transplante renal. Relato de 2 casos. *J Bras Nefrol.*, São Paulo, v. 20, n. 3, p. 286-290, 2008.
- CATTAL, G. B. P.; ROCHA, F. A.; NARDO JUNIOR, N. et al. Qualidade de vida em pacientes com insuficiência renal crônica - SF-36. *Cienc Cuid Saude*, Maringá, v. 6, n. 2, p. 460-467, 2007.
- COELHO R. A. I; KOBAYASHI, M.; CARVALHO, L. B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among bloodors in Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop.*, São Paulo, v. 45, n. 4, p. 229-231, 2003.
- DEROUIN, F.; PELLOUX, H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin Microbiol Infect.*, Paris, v. 14, p. 1089–1101, 2008.
- DUBEY, J. P.; NAVARRO, I. T.; SREEKUMAR, C. et al. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Parana, Brazil: Seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic Characterization of isolates. *J Parasitol.*, Lawrence, v. 90, p. 721–726, 2004.
- FERREIRA, M. S.; BORGES, A. S. Some Aspects of Protozoan Infections in Immunocompromised Patients: A Review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, n. 4, p. 443-457, 2002.
- FRANCISCO, F. M.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M, et al. Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 167-170, 2006.
- FRENKEL, J. K.; BERMUDEZ, J. E. V. Toxoplasmose. In: FOCACCIA, R. (Ed.). *Veronesi: tratado de infectologia*. São Paulo: Ateneu. 2009. p. 1793-1809.
- GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T.; OGAWA, L., et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose e avaliação ocular pela tela de amsler, em pacientes da zona rural, atendidos na unidade de saúde do município de Jaguapitã, PR, Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*, Rio de Janeiro, v. 32, p. 671-676, 1999.
- GHARAVI, M. J.; JALALI, S.; KHADEMVATAN, S. et al. Detection of IgM and IgG anti-*Toxoplasma* antibodies in renal transplant recipients using ELFA, ELISA and ISAGA methods: comparison of pre- and post-transplantation status. *Ann Trop Med Parasitol.*, London, v. 105, no. 5, p. 367-371, 2011.
- KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P. *Parasitologia Humana*. 11. ed. São Paulo: Atheneu. 2005. p. 163-172.

MARTINA, M. N.; CERVERA, C.; ESFORZADO, N et al. *Toxoplasma gondii* primary infection in renal transplant recipients. Two case reports and literature review. *Transplant International*, New York, v. 24, no. 1, p. 6-12, 2011.

NISSAPATORN V.; LEONG, T. H.; LEE R, et al. Seroepidemiology of toxoplasmosis in renal patients. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, Bangkok, v. 42, no. 2, p. 237- 247, 2011.

OCAK S.; DURAN, N.; ESKIOCAK, A. F, et al. Anti-Toxoplasma gondii antibodies in hemodialysis patients receiving long-term hemodialysis therapy in Turkey. *Saudi Med J.*, v. 26, no. 9, p. 1378-1382, 2005.

OREFICE, F.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. Toxoplasmose. In: ORÉFICE, F. *Uveíte clínica e cirúrgica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Medica, 2005. v. 2, p. 699-804.

PARSLOW, T. G.; STITES, D. P.; TERR AI, et al. *Imunologia Clínica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

SANTOS, P. R. Correlação Entre Marcadores Laboratoriais e Nível de Qualidade de Vida em Renais Crônicos Hemodialisados. *J Bras Nefrol.*, São Paulo, v. 27, n. 2, p. 70-75, 2005.

VAZ, R. S.; GUIMARÃES, A. T. B.; BONANATO L. D. et al. Technical evaluation of serological screening tests for anti-Toxoplasma gondii antibodies to prevent unnecessary transfusion risks. *Rev. bras. hematol. hemoter.*, Santos, v. 30, n. 4, p. 277-280, 2008.

WEISS, L. M.; DUBEY J. P. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *Int J Parasitol.*, Oxford, v. 39, no. 8, p. 895-901, 2009.

YAZAR, S.; DEMIRTAS F.; YALÇIN S. et al. Anti-Toxoplasma gondii antibodies in haemodialysis patients with chronic renal failure. *Yonsei Med J*, Seoul, KR, v. 44, no. 2, p. 288-92, 2003.

## 5.2 ARTIGO 2

**Estudo de associação entre moléculas HLA e toxoplasmose em pacientes em diálise e transplantados renais**Marina Raduy Botelho<sup>1</sup>Miria Ramos<sup>2</sup>Waldir Veríssimo da Silva Júnior<sup>3</sup>Sueli Donizete Borelli<sup>4</sup>**RESUMO**

Grande parte das infecções primárias por *T. gondii* são assintomáticas em decorrência de efetividade do sistema imunológico. Indivíduos imunocomprometidos tem sido alvo frequente de infecções oportunistas em que o quadro clínico é considerado grave com elevados índices de morbidade e mortalidade. A infecção está diretamente ligada à imunidade do indivíduo e o Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) está envolvido nessa função. Diferentes especificidades do CPH podem ser mais frequentes em indivíduos com determinadas doenças. O presente estudo teve como objetivo investigar a frequência das especificidades HLA classe I (HLA-A e HLA-B) e classe II (HLA-DRB1) e realizar um estudo comparativo da frequência de anticorpos anti-*T.gondii* com a frequência das especificidades HLA no soro de pacientes em diálise e transplantados renais. Participaram do estudo 256 pacientes, sendo 203 em diálise e 53 transplantados renais, e como controles, 73 indivíduos considerados saudáveis. A coleta de dados ocorreu de janeiro a abril de 2011. O método utilizado para detecção e caracterização de anticorpos foi o ELISA quantitativo (ensaio imunoenzimático de micropartículas (MEIA-Abbott AxSYM® SYSTEM) e todos os pacientes foram tipados para as moléculas HLA, classe I (A, B) e classe II (DRB1). Em relação às moléculas HLA classe I (HLA-A e HLA-B), não foram detectados alelos envolvidos na suscetibilidade e/ou proteção para toxoplasmose tanto no grupo dos pacientes em diálise como no grupo dos pacientes transplantados renais. Já no tocante à frequência das moléculas HLA classe II encontrou-se maior frequência dos alelos DRB1\*17 e DRB1\*07 tanto no grupo dos pacientes em diálise

---

<sup>1</sup> Enfermeira. Mestranda pelo Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Universidade Estadual de Maringá (UEM). Endereço para correspondência: Rua Renê Camargo de Azambuja, 379, apt°202, Centro, Apucarana, Paraná, Brasil. Telefone: 43-3034-2008. E mail: raduybotelho@gmail.com

<sup>2</sup> Farmacêutica Bioquímica do Departamento de Análises Clínicas e Biomedicina (DAB)/Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (Lepac) da Universidade Estadual de Maringá.

<sup>3</sup> Estatístico. Mestre em estatística. Docente do departamento de estatística da UEM.

<sup>4</sup> Farmacêutica bioquímica. Doutora em Imunologia. Docente do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Estadual de Maringá.

como nos pacientes transplantados respectivamente sugerindo estar relacionado com um marcador genético de suscetibilidade para toxoplasmose. Esse estudo sugere a participação das especificidades HLA classe I e classe II na resistência e suscetibilidade para toxoplasmose, porém novos estudos devem ser realizados para mais levantamentos e confirmação desses resultados.

**Palavras-chave:** Toxoplasmose. Antígenos HLA. Insuficiência renal crônica

## INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é causada pelo *Toxoplasma gondii* (*T.gondii*), um parasito intracelular obrigatório pertencente ao filo Apicomplexa e à classe Sporozoa de ampla distribuição mundial infectando até um terço da população e grande diversidade de outras espécies, tais como mamíferos e aves (SUKTHANA, 2005).

Devido a sua versatilidade o *T.gondii* pode ser infectante em qualquer dos seus estágios evolutivos: os taquizoítos, encontrados na fase aguda da doença em sangue e secreções de animais, os bradizoítos encontrados nos tecidos podendo causar infecção crônica ou latente e os oocistos, encontrados exclusivamente no intestino de gatos e outros felídeos, considerado hospedeiro definitivo do parasito e responsáveis pela contaminação do ambiente (BIANCHI, 2005).

A transmissão da doença pode ser por diferentes meios: através da ingestão de carne crua ou mal passada contaminada com cistos teciduais, ingestão de oocistos presentes no ambiente pelo contato direto com gato ou com suas fezes através de água contaminada, frutas e verduras mal lavadas determinando a forma adquirida de transmissão e também através da via placentária, determinando a toxoplasmose congênita. A transmissão também pode ocorrer por transfusões sanguíneas ou transplante de órgãos (SÃO PAULO, 2009).

Diversas são as formas da apresentação desta parasitose, porém grande parte das infecções primárias por *T. gondii* são assintomáticas em decorrência de efetividade do sistema imunológico. Indivíduos imunocomprometidos, como pacientes em diálise e transplantados, tem sido alvo frequente de infecções oportunistas em que o quadro clínico é considerado grave com elevados índices de morbidade e mortalidade (REMINGTON; DESMONTS, 1995). Esses indivíduos possuem maior probabilidade de desenvolverem uma infecção devido a sua condição clínica comprometida. Nesse sentido, faz-se necessário que a equipe envolvida apresente um cuidado redobrado durante o manejo desse paciente, a fim de minimizar o risco

de possíveis infecções aprofundando-se o conhecimento da patologia e no tratamento, e garantindo assim segurança e maiores subsídios durante o cuidado<sup>5</sup> (MEIRELES; GOES; DIAS, 2004).

A infecção está diretamente ligada à imunidade do indivíduo e o Complexo Principal de Histocompatibilidade (CPH) que consiste em um conjunto de genes localizados no braço curto do cromossomo 6 humano, está envolvido nessa função. O CPH humano está dividido em três regiões: regiões de classe I (HLA-A, -B e -C) que codificam moléculas de histocompatibilidade presentes em quase todas as células somáticas do corpo humano, II (HLA-DR, -DQ e -DP) que codificam as moléculas clássicas de histocompatibilidade, expressas em células imunes apresentadoras de antígenos, os genes da classe III não expressam moléculas de histocompatibilidade, mas participam da resposta imune. Tais moléculas nos seres humanos são chamadas de Antígenos Leucocitários Humanos, ou sistema HLA, do inglês *Human Leucocyte Antigen* (ABBAS; LICHTMANN; PILLAI, 2008).

Os genes do HLA são os mais polimórficos de todos os genes dos mamíferos e a existência de centenas de alelos em todos os locos permite existir uma vasta variabilidade genotípica. Por estar envolvido com a compatibilidade entre o doador e o receptor de órgãos e apresentação de antígenos aos linfócitos T, faz com que ele desempenhe papel de grande importância na patogenia de várias doenças (FERNANDES; MACIEL; FOSS et al., 2003). Essa associação é atribuída principalmente pelas moléculas HLA serem responsáveis na apresentação do peptídeo na resposta imune permitindo a busca de marcadores específicos que conferem suscetibilidade ou resistência a doenças (CAOLLAT-ZUCMAN, 2008).

Diversos estudos foram realizados com o intuito de detectar associação entre patologias e moléculas HLA. Entre os encontrados estão, por exemplo, doenças endócrinas auto-imunes (NAHAS; DEGHAIDE; DONADI et al., 2000; ALVES; MEYERB; VIEIRA et al., 2005), gastrointestinais (ALVES; VIEIRA; TORALLES et al., 2006), dermatológicas (ARNET, 1985; BIRAL; MAGALHÃES; WASTOWSKI et al., 2006, BELAZARIAN, 2008), psiquiátricas (GAUGHRAN, 2002; NUNES; BORELL; MATSUO et al., 2005), oftalmológicas (ALVES; MEYER; TORALLES et al., 2006), patologias auditivas (YEO; CHANG; SUH et al., 2000; AMOR-DORADO; PACO; MARTIN et al., 2005), tuberculose (JOHN; MURUGESAN; JEYASSELAN et al., 1995, HARFOUCH-HAMMOUD; DAHER, 2008), e renais (CRISPIN; MENDES-JUNIOR; WASTOWSKI et al., 2008).

Os estudos populacionais podem também contribuir para o entendimento da associação entre os antígenos de histocompatibilidade e as doenças, desenvolvendo importantes informações epidemiológicas (DONADI; SILVA; SANTOS, 2000).

Uma vez que a toxoplasmose é uma doença que atinge cerca de um terço da população mundial (MONTROYA; LIESENFELD, 2004) consideramos importante, como um estudo preliminar, avaliar o envolvimento de fatores genéticos nesta infecção em uma população considerada dependente de hemoderivados e de órgãos.

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi realizar um estudo de associação entre moléculas HLA classe I (HLA-A e HLA-B) e classe II (HLA-DRB1) e anticorpos anti-*T.gondii* em pacientes em diálise e transplantados renais.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se de um estudo descritivo exploratório, de caráter correlacional realizado com 203 pacientes em diálise e 53 transplantados renais, totalizando 256 indivíduos atendidos no setor de Hemodiálise do Hospital Santa Casa de Misericórdia e Clínica do Rim, ambos situados na cidade de Maringá, Paraná, Brasil.

Todos os pacientes foram tipificados com relação às moléculas HLA classe I (A, B) e classe II (DRB1), e avaliados quanto a soropositividade para anticorpos anti-*T.gondii* IgG e IgM. A coleta do material biológico dos pacientes em diálise ocorreu no período de janeiro a março de 2011. Os pacientes transplantados foram convidados a participar do estudo por meio das consultas de rotina. Os critérios de exclusão da pesquisa foram pacientes menores de 18 anos, os que encontraram dificuldade de compreensão, instabilidade clínica durante a coleta, além dos que se recusaram a participar da pesquisa.

O material biológico foi coletado a partir de uma amostra de 10mL de sangue periférico por punção venosa, em tubos de coleta à vácuo estéril com anticoagulante EDTA. Após a separação do soro, o material foi aliqotado e guardado em freezer -80<sup>0</sup>C até o momento do uso. Após o descongelamento, o material foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos para eliminação de qualquer fibrina, glóbulos vermelhos ou outras partículas em suspensão.

A detecção e caracterização de anticorpos anti-*T.gondii* bem como estudo do polimorfismo genético das moléculas HLA foram realizados no Laboratório de Imunogenética da Universidade Estadual de Maringá (UEM).

### **Detecção e Caracterização de anticorpos**

Para a detecção e caracterização de anticorpos anti-*T.gondii* foi utilizado o método ELISA, aplicando-se o Ensaio Imunoenzimático de Micropartículas (MEIA) quantitativo (*Abbott Diagnostics AxSYM® SYSTEM Toxo IgG e IgM* para o *T. gondii*).

Para a interpretação dos resultados considerou-se IgG reagente (IgGR) quando os valores do AxSYM Toxo G foram superiores ou igual a 3 UI/mL, sendo um indicativo de infecção aguda ou passada ao parasita e IgG não reativo (IgGNR), quando resultados do AxSYM Toxo G foram inferiores a 2 UI/mL. Resultados AxSYM Toxo G iguais ou superiores a 2UI/mL e inferiores a 3UI/mL foram consideradas duvidosas (*grayzone*) podendo conter níveis baixos de IgG, devendo-se obter e testar uma segunda amostra. Amostras com Valores Index iguais ou superiores a 0,600 são consideradas reativas para anticorpo IgM, amostras com Valores Index inferiores ou iguais a 0,499 são consideradas não reativas para anticorpo IgM e amostras com Valores Index na faixa de 0,500 a 0,599 são consideradas duvidosas (*grayzone*), sendo necessária a repetição do ensaio. O protocolo dos testes e os cálculos dos valores de referência foram desenvolvidos segundo recomendações do fabricante (*Abbott AxSYM® SYSTEM – Toxo IgG e Toxo IgM*, 2009 e 2006 respectivamente).

### **Extração de DNA**

Foi realizada a extração de DNA a partir de amostras contendo 10 mL de sangue periférico, os quais foram coletados por punção venosa com tubos de vácuo e anticoagulante EDTA e centrifugada a 2500 rpm, durante 10 minutos, a fim de se obter a camada leucocitária. O DNA foi extraído a partir desta camada utilizando-se o reagente EZ-DNA, seguindo as instruções do fabricante (Biological Industries, Kibbutz Beit, Haemek).

### **Tipagem HLA**

Para a tipificação HLA classe I (HLA-A e -B) e classe II (HLA-DRB1) foi utilizado o kit LABType® SSO One Lambda aliado à tecnologia Luminex. Esse método de PCR utiliza *primers* biotinizados. O material amplificado passa por um processo de desnaturação e posterior hibridização com sondas ligadas a microesferas (*beads*) que fazem parte do sistema multianalítico Luminex. Cada *bead* é marcada com uma determinada fluorescência e possui uma sonda de oligonucleotídeo correspondente a um alelo HLA, ou a um grupo de alelos HLA. Após a etapa de hibridização as sondas que hibridizaram com o DNA são marcadas com uma solução SAPE (estreptavidina conjugada com ficoeritrina). O citômetro de fluxo

LABScan® 100 é capaz de reconhecer a fluorescência da *bead* e da SAPE ligada à sonda. Os dados gerados pelo aparelho foram analisados no software HLA Fusion para a determinação da tipagem HLA.

Todos os pacientes foram tipificados com relação às moléculas HLA classe I (A, B) e classe II (DRB1).

## **TRATAMENTO ESTATÍSTICO**

Para análise estatística dos dados os pacientes foram divididos em positivos e negativos para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG e anti-*Toxoplasma gondii* IgM. Foi quantificado o número de vezes que uma determinada especificidade HLA apareceu (n) e a frequência relativa. O valor de p foi calculado pelo Teste Exato de Fisher (P-valor), para os valores de p abaixo de 0,05, foi calculado o valor de p por meio da correção de Bonferroni (Pc-valor). Quando o valor de p era menor que 0,05, foi calculado o *odds ratio* (OR) e o Intervalo de Confiança (IC = 95%).

## **ASPECTOS ÉTICOS**

Os sujeitos foram orientados no que tange aos objetivos da pesquisa, esclarecidos quanto ao anonimato e sobre dúvidas, para posterior assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias (Apêndice B). Obedeceu-se e respeitaram-se os aspectos éticos apresentados pela Resolução 196 de 10 de outubro de 1996 pelo Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde que disciplina as pesquisas com Seres Humanos (BRASIL, 2010). Este estudo foi aprovado pelo do Comitê de Ética em Pesquisa (COPEP) da UEM, com o parecer nº 725/2010 (Anexo A).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As regiões de cadeia alfa e beta são os locais de maior polimorfismo dos genes do MHC, refletindo a diversidade da resposta imunológica contra patógenos infecciosos. Interações com o meio ambiente e fatores genéticos do indivíduo, faz com que aumente a suscetibilidade a muitas infecções e doenças humanas. A diversidade alélica pode ser consequência da interação com genes patogênicos, já que as moléculas de MHC

desempenham um importante papel na indução de respostas imunes (BORGHANS; BELTMAN; BOER, 2004; SOMMER, 2005).

A amostragem de pacientes sob tratamento dialítico, constituída por 203 pacientes, encontrou-se assim distribuída: 63,55% (129) do sexo masculino e 36,45% (74) do sexo feminino. A média de idade dos pacientes do sexo masculino foi de 52,6 anos (DP± 15,64 anos) variando de 18 anos a 83 anos e 51,78 anos (DP±14,98) com intervalo de 18 a 84 anos ( $p>0,05$ ) para o sexo feminino.

Dentre os 203 pacientes, 68,96% (140) apresentaram anticorpos anti-*T.gondii* IgG, entre eles 68,99% (89) eram do sexo masculino e 68,92% (51) do sexo feminino. Para os anticorpos anti-*T.gondii* IgM, apenas 0,99% (2) foram positivos, sendo estes do sexo masculino. Não apresentaram soropositividade 61(30,05%) pacientes sob tratamento.

Ao analisar a frequência das especificidades classe I, (HLA-A e HLA-B) e classe II (DRB1) nos pacientes sob tratamento dialítico com o estado de ser soropositivo ou não para toxoplasmose, observou-se que a especificidade HLA-A\*02 foi a mais frequente para IgG nos dois grupos, positivos (66) e negativos (30). Com relação às especificidades do loco B, observou-se que a especificidade B\*51 foi a mais frequente, aparecendo 36 vezes nos pacientes positivos e 13 vezes nos negativos. De acordo com a análise estatística nenhuma especificidade HLA classe I apresentou-se significativa para a proteção e/ou suscetibilidade para toxoplasmose (Anexo B).

Em relação às moléculas de classe II nos pacientes em diálise a especificidade DRB1\*11 foi mais frequente no grupo de pacientes soropositivos (39 vezes) comparado ao grupo de pacientes soronegativos (19 vezes), porém, estatisticamente, a diferença não foi significativa. Já em relação à especificidade DRB1\*17, houve diferença estatisticamente significativa sendo esta mais freqüente no grupo de pacientes soropositivos (15 vezes) comparado ao grupo de pacientes soronegativos (1 vez) com  $p<0,05$  ( $p=0,0476$ ) sugerindo uma probabilidade de suscetibilidade para toxoplasmose, conforme demonstrado na tabela 1.

**Tabela 1-** Frequência alélica HLA-DRB1 no grupo dos pacientes em diálise soropositivos e soronegativos para anticorpos anti-*T.gondii* IgG

Especificidade	Reagente n= 140	Não reagente n= 61			
HLA-DRB1	N	N	p- valor	pC- valor	OR (IC95%)
<b>03</b>	18	7	1,0000	1,0000	-
<b>04</b>	35	20	0,3435	1,0000	-
<b>07</b>	29	13	1,0000	1,0000	-
<b>08</b>	18	10	0,5271	1,0000	-
<b>09</b>	3	4	0,2064	1,0000	-
<b>10</b>	8	2	0,7299	1,0000	-
<b>11</b>	39	19	0,6469	1,0000	-
<b>12</b>	2	0	1,0000	1,0000	-
<b>13</b>	31	16	0,613	1,0000	-
<b>14</b>	12	8	0,3289	1,0000	-
<b>15</b>	28	9	0,4579	1,0000	-
<b>16</b>	11	4	1,0000	1,0000	-
<b>17</b>	<b>15</b>	<b>1</b>	<b>0,0476</b>	<b>0,7616</b>	<b>6,83 (1,03; 290,33)</b>
<b>18</b>	5	2	1,0000	1,0000	-
<b>51</b>	1	0	1,0000	1,0000	-

n = número de vezes que o alelo apareceu; Fa = Frequência alélica; P-valor = calculado pelo Teste Exato de Fisher; Pc-valor = valor de p corrigido para correção de Bonferroni; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo com 95% de confiança; ns = não significante ( $p > 0,05$ ).

Ao analisar a frequência das especificidades HLA com a presença de anticorpos anti-*T.gondii* IgM, no grupo de pacientes em diálise, não foi observado nenhuma especificidade que pudesse estar envolvida na proteção e/ou suscetibilidade para toxoplasmose.

No grupo de pacientes transplantados, 53 pacientes foram avaliados sendo 60,38% (32) do sexo masculino e 39,62% (21) do sexo feminino. A idade média para o sexo masculino foi de 46,28 anos ( $DP \pm 12,72$ ) variando de 22 a 69 anos e para o sexo feminino foi de 40,1 anos ( $DP \pm 10,8$ ) com intervalo de 18 a 64 anos. Apresentaram anticorpos anti-*T.gondii* IgG 65,63% (21) pacientes sendo esses do sexo masculino e 61,90% (13) do sexo feminino.

Ao analisar a frequência das especificidades classe I nos pacientes transplantados e o estado de ser IgG soropositivo ou soronegativo para toxoplasmose, observou-se que a especificidade A\*02 esteve mais frequente no grupo de pacientes soropositivos (20 vezes) quando comparado ao grupo de pacientes soronegativos (11 vezes), porém não houve diferença estatisticamente significativa quanto a proteção e/ou suscetibilidade para toxoplasmose.

Quanto às moléculas classe II, a especificidade DRB1\*11 foi a mais frequente nos dois grupos, aparecendo 13 vezes nos pacientes soropositivos e 6 vezes nos pacientes soronegativos, porém não houve diferença estatisticamente significativa. Já a especificidade DRB1\*07 pode estar envolvida na suscetibilidade para toxoplasmose uma vez que esta especificidade foi mais frequente no grupo de pacientes soropositivos (11 vezes) comparado ao grupo de pacientes soronegativos (nenhuma vez),  $p < 0,05$  ( $P = 0,0069$ ) conforme tabela 2.

**Tabela 2** - Frequência alélica HLA-DRB1 no grupo dos pacientes transplantados soropositivos e soronegativos para anticorpos anti-*T.gondii* IgG

Especificidade	Reagente n=33	Não reagente n=19			
HLA-DRB1	n	N	P-valor	pC-valor	OR (IC95%)
<b>01</b>	3	1	1,0000	1,0000	-
<b>03</b>	7	5	0,7520	1,0000	-
<b>04</b>	7	7	0,2476	1,0000	-
<b>07</b>	<b>11</b>	<b>0</b>	<b>0,0069</b>	<b>0,1104</b>	-
<b>08</b>	2	2	0,6166	1,0000	-
<b>09</b>	2	2	0,6166	1,0000	-
<b>10</b>	1	0	1,0000	1,0000	-
<b>11</b>	13	6	0,7944	1,0000	-
<b>12</b>	2	1	1,0000	1,0000	-
<b>13</b>	4	4	0,4533	1,0000	-
<b>14</b>	5	0	0,1573	1,0000	-
<b>15</b>	4	6	0,1622	1,0000	-
<b>16</b>	4	2	1,0000	1,0000	-
<b>17</b>	2	1	1,0000	1,0000	-
<b>18</b>	0	1	0,3585	1,0000	-
<b>52</b>	1	0	1,0000	1,0000	-

n = número de vezes que o alelo apareceu; Fa = Frequência alélica; P-valor = calculado pelo Teste Exato de Fisher; Pc-valor = valor de p corrigido para correção de Bonferroni; OR = odds ratio; IC (95%) = Intervalo com 95% de confiança; ns = não significativo ( $p > 0,05$ ).

No grupo de pacientes transplantados também não foram encontradas especificidades que pudessem sugerir suscetibilidade e/ou proteção para infecção aguda (IgM).

Os resultados encontrados sugerem que a especificidade DRB1\*07 pode estar envolvida na suscetibilidade para toxoplasmose. Tal informação pode contribuir para que os médicos e toda a equipe de enfermagem possam direcionar seus cuidados, pois se sabe que a prevenção é fator fundamental para interromper ou desacelerar a progressão da toxoplasmose.

Em indivíduos imunocomprometidos as infecções oportunistas tornam-se mais frequentes e ao realizar o levantamento bibliográfico, observou-se que indivíduos com AIDS

apresentaram encefalite causada por *T.gondii*, e os genes HLA-DQ\*01 e HLA-DQ\*03 parecem estar relacionados com marcador para suscetibilidade genética para o desenvolvimento da doença (SUZUKI; WONG; GRUMET et al., 1996). Também em outro estudo realizado com pacientes HIV positivos e com neurotoxoplasmose verificou-se que os genes HLA-DQ\* 0402 e DRB1\*08 poderiam estar relacionados com a suscetibilidade para encefalite por toxoplasmose (SORRENTINO; LÓPEZ; MOTTA et al., 2005). Essas especificidades têm um papel essencial na determinação da natureza da resposta imune contra o *T.gondii* como também uma evidência da regulação genética para a suscetibilidade desses pacientes sofrerem tais desordens neurológicas. Em um estudo realizado com 87 pacientes em diálise em Minas Gerais para se obter a frequência dos genótipos HLA-A,- B\* e DRB1\* e associação com o risco de doença renal terminal, uma das especificidades encontradas com maior frequência foi a DRB1\*07 com 14,67%, corroborando com esse estudo (BONILHA, 2008).

A toxoplasmose congênita por ser uma das formas mais grave da doença, tem sido estudada por diversos pesquisadores. Encontrou-se uma possível associação do envolvimento ocular com a presença do antígeno HLA-Bw\*62 em mães de pacientes que sofrem com toxoplasmose ocular, sendo essa a principal consequência da doença (MEENKEN; ROTHOVA; WAAL et al., 1995). E outra associação com a mesma forma da doença foi encontrada em recém-nascidos infectados com hidrocefalia maior prevalência da especificidade HLA-DQ\*03 ao comparar com crianças infectadas sem hidrocefalia (MACK; JOHNSON; ROBERTS et al.,1999).

Pôde-se observar ao realizar o levantamento bibliográfico para esse estudo que são poucos os trabalhos de associação HLA com toxoplasmose em pacientes renais, encontrando-se com maior frequência estudos de associação da toxoplasmose em gestantes e recém nascidos.

## CONCLUSÃO

Em relação às moléculas HLA classe I (HLA-A e HLA-B), não foram detectados alelos envolvidos na suscetibilidade e/ou proteção para toxoplasmose tanto no grupo de pacientes em diálise como no grupo de pacientes transplantados.

Quanto às moléculas HLA classe II, as especificidades DRB1\*17 e DRB1\*07 foram mais frequentes nos dois grupos de pacientes que apresentaram soropositividade para anticorpos anti-IgG.

Tanto no grupo dos pacientes em diálise como nos transplantados não foram encontradas especificidades que pudessem sugerir suscetibilidade e/ou proteção para infecção aguda (IgM).

Os resultados encontrados sugerem que as especificidades DRB1\*17 e DRB1\*07 podem estar envolvidas na suscetibilidade para toxoplasmose. Tal informação poderá contribuir para que a equipe multiprofissional esteja atenta à prevenção para interromper ou desacelerar a progressão da toxoplasmose.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMANN, A. H.; PILLAI S. *Imunologia Celular e Molecular*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

ALVES, C.; MEYER I.; TORALLES, M. B et.al. Associação do sistema de histocompatibilidade humano com doenças oftalmológicas. *Arq. Bras. Oftalmol*, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 273-278, 2006.

ALVES, C.; MEYERB, I.; VIEIRA, N. et. al. Associação do sistema de histocompatibilidade humano (HLA) com doenças endócrinas auto-imunes. *Rev Saud Public*, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 105-112, 2005.

ALVES, C.; VIEIRA, N.; TORALLES, M. B. P et al. Associação do sistema de histocompatibilidade humano com doenças gastrintestinais. *ACTA Gastroenterol Latino Am.*, Buenos Aires, v. 36, n. 2, p. 86-93, 2006.

AMOR-DORADO, J. C.; PACO, L.; MARTIN, J. et al. Human leukocyte antigen –DQB1 and –DRB1 association in patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss from a defined population of Northwest Spain. *Acta Otolaryngol*, Oslo, v. 125, no. 12, p. 1277-1282, 2005.

ARNET, F. C. HLA and genetic predisposition to lupus erythematosus and other dermatologic disorders. *J Am Acad Dermatol.*, Saint Louis, v. 13, no. 3, p. 472-481, 1985

BELAZARIAM, L. New insights and therapies for teenage psoriasis. *Curr. Opin.Pediatr*, v. 20, no. 4, p. 419-424, 2008.

BIANCHI, B. C. *Toxoplasmose: histórico e avanços*. 2005. 65f. Dissertação (Mestrado) - Faculdades Integradas da Fundação de Ensino Octávio Bastos São João da Boa Vista, São Paulo, 2005.

BIRAL, A. C.; MAGALHAES, R. F, WASTOWSKI, I. J et al. Association of HLA-A, -B, -C genes and TNF microsatellite polymorphism with psoriasis vulgaris: a study of genetic risk in Brazilian patients. *Eur J Dermatol.*, v. 16, no. 5, p. 523-529, 2006.

BONILHA, M. R. Frequência dos genótipos HLA-A\*, -B\*, DRB\* e associação com o risco de doença renal terminal, em pacientes oriundos do Triângulo Mineiro, Brasil. 2008. 68f. Tese (Doutorado em Parasitologia e Imunologia aplicada)-Universidade Federal de Uberlândia-MG, Uberlândia, 2008.

BORGHANS, J. A.; BELTMAN, J. B. De Boer RJ. MHC polymorphism under host-pathogen coevolution. *Immunogenetics*, New York, v. 55, no. 11, p. 732-739, 2004.

- BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. *Resolução nº 196/96*: Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, DF: Fiocruz, 1996.
- CAILLAT-ZUCMAN, S. Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune diseases. *Tissue Antigens: histocompatibility and immunogenetics*, Copenhagen, v. 73, no. 1, p. 1-8, 2008.
- CRISPIM, J. C.; MENDES-JÚNIOR, C. T.; WASTOWSKI, I. J. et. al. HLA polymorphisms as incidence factor in the progression to end-stage renal disease in Brazilian patients awaiting kidney transplant. *Transplant Proc*, Orlando, v. 40, no. 5, p. 1333- 1336, 2008.
- DONADI, E. A.; SILVA, L. M.; SANTOS, C. M. P. et al. Frequência dos antígenos de histocompatibilidade na população normal da região nordeste do estado de São Paulo Brasil. *Medicina*, Ribeirão Preto., v. 33, p. 19-26, 2000.
- FERNANDES, A. P. M.; MACIEL, L. M. Z.; FOSS, M. C, et.al. Como entender a associação entre o sistema HLA e as doenças auto-imunes endócrinas. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 601-611, 2003.
- GAUGHRAN, F. Immunity and schizophrenia: autoimmunity, cytokines, and immune response. *Int Rev Neurobiol*. New York, v. 52, p. 275-302, 2002.
- HARFOUCH-HAMMOUD, E. I.; DAHER, N. A. Susceptibility to and severity of
- JOHN, G. T.; MURUGESAN, K.; JEYASEELAN, L. et al. HLA phenotypes in Asians developing tuberculosis on dialysis or after renal transplantation. *Natl. Med. J. India*, New Delhi, v. 8, no. 3, p. 144-146, 1995.
- MACK, D. G.; JOHNSON, J. J, ROBERTS, F. et al. HLA-class II genes modify outcome of *Toxoplasma gondii* infection. *Int J Parasitol*, v. 29, no. 9, p. 1351-1358, 1999.
- MEENKEN, C.; ROTHOVA, A. De Waal LP et al. HLA typing in congenital toxoplasmosis. *Br J Ophthalmol*, London, v. 79, no. 5, p. 494-497, 1995.
- MEIRELES, V. C.; GOES, H. L. F.; DIAS, T. A. Vivências do paciente renal crônico em tratamento hemodialítico. *Cienc Cuid Saúde*, Maringá, v. 3, n. 2, p. 169-178, 2004.
- MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. *The Lancet*, London, v. 363, p. 1965-1976, 2004.
- NAHAS, R.; DEGHAIDE, N. H. S.; DONADI, E. A et.al. Frequency oh HLA class II DR and DQ antigens in Brazilian patients with type I Diabetes. *Medicina*, Ribeirão Preto, v. 33, p. 37-41, 2000.
- NUNES, S. O. V.; BORELLI, S. D, MATSUO, T et.al. The association of the HLA in patients with schizophrenia, schizoaffective disorders, and in their biological relatives. *Schizophr Res*, Amsterdam, v. 76, no. 2, p. 195-198, 2005.
- REMYNGTON, R. M. Desmots G - Toxoplasmosis. In: REMYNGTON, J. S, KEIN, J. O. (Ed.) *Infectious diseases of the fetus and newborn infant*. 4. ed. Philadelphia: W. B. Saunders. 1995. p. 140-267.
- SÃO PAULO. Secretaria da Saúde. Centro de Vigilância Epidemiológica. *Toxoplasmose*. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br>>. Acesso em: 05 out. 2011.
- SOMMER, S. The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. *Frontiers in Zoology*, v. 2, n. 16, 2005.

SORRENTINO, A. H.; LÓPEZ, R.; MOTTA, P et al. HLA class II involvement in HIV-associated Toxoplasmic encephalitis development. *Clin Immunol*, v. 115, no. 2, p. 133-137, 2005.

SUKTHANA, Y. Toxoplasmosis: beyond animals to humans. *Trends in Parasitol*, Oxford, v. 22, no. 3, p. 137-142, 2006.

SUZUKI, Y.; WONG, S.Y.; GRUMET, F. C et al. Evidence for Genetic Regulation of Susceptibility to Toxoplasmic Encephalitis in AIDS Patients. *The Journal of Infectious Diseases*, Oxford, v. 173, no. 1, p. 265-268, 1996.

tuberculosis is genetically controlled by human leukocyte antigens. *Saudi. Med. J.*, Riyadh. v. 29, no. 11, p. 1625-1629, 2008.

YEO, S.W.; CHANG, K. H.; SUH BD et.al. Distribution of HLA-A,-B and -DRB1 alleles in patients with sudden sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol*, Oslo, v. 120, n. 6, p. 710-715, 2000.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo trouxe informações a respeito da toxoplasmose em pacientes sob tratamento dialítico e transplantados renais. A toxoplasmose não é considerada uma doença grave em indivíduos imunocompetentes, porém em pacientes imunodeprimidos, esta pode se apresentar de forma grave. O presente estudo teve por objetivo detectar a presença de anticorpos anti-*T. gondii* em portadores de doença renal crônica sob tratamento dialítico e transplantados renais e verificar a associação com Antígenos Leucocitários Humanos (HLA).

Os resultados mostraram elevada frequência de anticorpos anti-*T.gondii* da classe IgG tanto nos pacientes sob tratamento como no grupo dos transplantados, caracterizando assim a infecção crônica. Observou-se também que grande parte dos pacientes foram submetidos a transfusões sanguíneas, porém não houve relação entre esta com a soropositividade. Esta pesquisa torna-se importante por ser um indicativo de exposição da população a fatores decisivos para a doença. A soropositividade encontrada para toxoplasmose nos indivíduos em diálise e transplantados renais sugere um acompanhamento para investigar possíveis reativações a fim de prevenir o desenvolvimento da toxoplasmose. Paralelamente, medidas preventivas devem ser tomadas para a reeducação da transmissão da toxoplasmose a fim reduzir os riscos de contaminação em pacientes imunodeprimidos.

O estudo do polimorfismo genético das moléculas HLA sugere a participação de especificidades HLA classe II na suscetibilidade para toxoplasmose porém há necessidade que novos estudos sejam realizados com esse grupo para confirmação desses resultados. A associação entre algumas doenças e o sistema HLA chama a atenção para a participação de mecanismos imunes e predisposição genética na patogenia dessas enfermidades.

Ao se tratar da profilaxia da infecção pelo *T.gondii*, o que se visa é não ingestão de cistos e de oocistos esporulados do protozoário. A fim de se fazer boa vigilância vale ressaltar que os cistos encontrados em carnes cruas de porco e de outros animais permanecem viáveis à temperatura de refrigeração, sendo necessário o aquecimento. Manter hábitos de higiene e gatos dentro de casa, também são medidas que visam evitar a infecção.

Sugere-se que indivíduos imunodeprimidos realizem testes sorológicos mensalmente para que a infecção aguda possa ser interceptada e a instituição precoce do tratamento possa reduzir o risco de maiores comprometimentos.

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A.; LICHTMANN, A.; PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 564 p.

ALVES, C.; MEYER, I.; TORALLES, M. B. P. et al. Associação do sistema de histocompatibilidade humano com doenças oftalmológicas. *Arq. Bras. Oftalmol*, São Paulo, v. 69, no. 2, p. 273-278, 2006.

ALVES, C.; MEYER, I.; VIEIRA, N. et al. Associação do sistema de histocompatibilidade humano (HLA) com doenças endócrinas auto-imunes. *Rev. baiana saúde pública*, Salvador, v. 29, n. 1, p.105-112, 2005.

ALVES, C.; VIEIRA, N.; TORALLES, M. B. P. et al. Associação do sistema de histocompatibilidade humano com doenças gastrintestinais. *Acta gastroenterol latinoam*, Buenos Aires, v. 36, n. 2, p. 86-92, 2006.

AMENDOEIRA, M. R. R.; SOBRAL, C. A. Q.; TEVA, A. et al. Serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in isolated amerindians, Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop*, Rio de Janeiro, v. 36, no. 6, p. 671-676, 2003.

AMOR-DORADO, J. C.; PACO, L.; MARTIN, J. et al. Human leukocyte antigen –DQB1 and –DRB1 association in patients with idiopathic sudden sensorineural hearing loss from a defined population of Northwest Spain. *Acta Otolaryngol*, Oslo, v. 125, no. 12, p. 1277-1282, 2005.

ANDRADE, G. M. Q.; TONELLI, E.; ORÉFICE, F. Toxoplasmose. In: TONELLI, E.; FREIRE, L. M. S. (Ed.). *Doenças infecciosas na infância e adolescência*. Rio de Janeiro: Medsi, 2000. p. 1297-339.

ARNET, F. C. HLA and genetic predisposition to lupus erythematosus and other dermatologic disorders. *J Am Acad Dermatol*, Saint Louis, v. 13, no. 3, p. 472-481, 1985.

BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G.; JONES, J.; SILVA, J. A. et al. Highly endemic waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro State, Brazil. *Emerg Infect Dis*, Atlanta, v. 9, no. 1, p. 55-62, 2003.

BALDINI-PERUCA, L. C.; DEFFUNE, E.; SILVA, A.V. et al. Soroepidemiologia da toxoplasmose em doadores de sangue do hemocentro, Hospital das Clínicas da Faculdade de medicina de Botucatu, São Paulo. *Vet. e zootec*, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 399-406, 2010.

BARBOSA, G. S.; VALADARES G. V. Experimentando atitudes e sentimentos: o cotidiano hemodialítico como base para o cuidar em enfermagem. *Esc Ana Nery Rev. Enferm*, Rio de Janeiro, v. 13, n.1, p. 17-23, 2009.

BARRETTI, P.; DELGADO, A.G. Transfusão. *J.Bras.Nefrol*, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 21-23, 2007.

- BEAMAN, M.; McCABE, R. E.; WONG, S.Y et al. *Toxoplasma gondii*. In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. (Ed.). *Principles and Practice of Infectious Diseases*. Churchill Livingstone, 1995. p. 2455-2475.
- BELAZARIAM, L. New insights and therapies for teenage psoriasis. *Curr. Opin. Pediatr*, Colorado, v. 20, no. 4, p. 419-424, 2008.
- BICALHO, M. G.; RUIZ, T. M.; COSTA, S. M. C. et al. Haplótipos HLA mais frequentes em doadores voluntários de medula óssea de Curitiba, Paraná. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter, Santos*, v. 24, no. 4, p. 306-309, 2002.
- BICHARA, C. N. C. *Perfil epidemiológico da toxoplasmose humana na área metropolitana de Belém-PA. A experiência no Serviço de Parasitologia do Instituto Evandro Chagas*. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Pará, Belém, 2001.
- BIRAL, A. C.; MAGALHAES, R. F.; WASTOWSKI, I. J. et al. Association of HLA-A, - B, - C genes and TNF microsatellite polymorphism with psoriasis vulgaris: a study of genetic risk in Brazilian patients. *Eur. J. Dermatol*, v. 16, no. 5, p. 523-529, 2006.
- BÓIA, M. N.; CARVALHO-COSTA, F. A.; SODRÉ, F.C, et al. Sero-prevalence of *Toxoplasma gondii* infection among indian people living in Iauareté, São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brazil. *Rev Inst Med Trop, São Paulo*, v. 50, n.17, p. 17-0, 2008.
- BONILLA, L. C.; CHAVEZ, Y. S.; MONSALVE, F. et al. Seroepidemiology of toxoplasmosis in Amerindians from western Venezuela. *Am Soc Trop Med Hyg, Mclean*, v. 65, n. 2, p.131-135, 2001.
- BURATTINI, M. N. Toxoplasmose. In: SALOMÃO, R.; PIGNATARI, A. C. C. (Ed.). *Guia de medicina ambulatorial e hospitalar de infectologia*. São Paulo: Manole, 2004. p. 227-233,
- CAMARGO, M. E.; DA SILVA, S. M.; LESER, P. G. et al. Avidéz de anticorpos IgG específicos como marcadores de infecção primária recente pelo *Toxoplasma gondii*. *Rev Inst Med Trop, São Paulo*, v 33, n.3 , p. 213-18, 1991.
- CARMO, E. L.; SILVA, M. C. M.; XAVIER, U. A.M. et al. Inquérito sorológico de toxoplasmose em candidatos a transplante renal Hospital Ofir Loyola, Belém, Pará, Brasil. *Rev Panam Infectol* . v. 6, n. 4, p.15-17, 2004.
- CHOO, S. Y. The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. *Yonsei Med J*, Seoul, KR, v. 48, no.1, p. 11-23, 2007.
- COELHO, R.A.I.; KOBAYASHI, M.; CARVALHO, L.B. Prevalence of IgG antibodies specific to *Toxoplasma gondii* among bloodors in Recife, Northeast Brazil. *Rev Inst Med Trop, São Paulo*, v. 45, no. 4, p. 229-231, 2003.
- CRISPIM, J. C.; MENDES-JÚNIOR, C. T.; WASTOWSKI, I. J; et al. HLA polymorphisms as incidence factor in the progression to end-stage renal disease in Brazilian patients awaiting kidney transplant. *Transplant Proc*, Orlando, v. 40, no.5, p.1333- 1336, 2008.

- CUNHA, S.; FERREIRA, E.; RAMOS, I.; et al. Cerebral toxoplasmosis after renal transplantation. *Case report and review. Acta Med Port*, Lisboa, v. 1, no. 7, p. 61-66, 1994.
- DEROUIN, F.; PELLOUX, H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. *Clin Microbiol Infect*, Paris, v. 14, no.12, p. 1089–1101, 2008.
- DESMONTS, G.; COUVREUR, J. Congenital toxoplasmosis: a prospective study of 378 pregnancies. *N Engl J Med*, Waltham, v. 290, no. 20, p. 1110-1116, 1974.
- DIAS, M. A. S.; ARAÚJO, T. L.; BARROSO, M. G. T. Desenvolvendo o cuidado proposto por Leininger com uma pessoa em terapia dialítica. *Rev Esc Enferm USP*, São Paulo, v. 35, n. 4, p. 354-360, 2001.
- DIZA, E.; FRANTZIDOU, F.; SOULIOU, E. et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in northern Greece during the last 20 years. *Clinical Microbiology and Infection*, Paris, v. 11, no. 9, p.719-723, 2005.
- DONADI, E. A. Como entender a nomenclatura e os mecanismos de associação entre os antígenos e os alelos de histocompatibilidade com as doenças. *Medicina*, Ribeirão Preto, v. 33, p. 7-18, 2000.
- DORA, J. M.; GEIB, G.; PARIS, F. et al. Diagnosis of disseminated toxoplasmosis by polymerase chain reaction in bronchoalveolar lavage fluid of a patient with aids. *Rev HCPA*, Porto Alegre, v. 9, n. 2, p. 167-169, 2009.
- DUBEY, J. P. Toxoplasmosis. In: Duration of immunity to shedding of *Toxoplasma gondii* oocysts by cats. *J. Parasitol*, Lawrence, v. 81, no. 3, p. 1593-1598, 1995.
- DUBEY, J. P.; BEATTIE, C. P. *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton: CRC Press, 1988.
- DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, DC. v. 11, no. 2, p. 267-299, 1998.
- DUBEY, J.P.; NAVARROI, T.C.; SREEKUMAR, E et al. *Toxoplasma gondii* infections in cats from Parana, Brazil: Seroprevalence, tissue distribution, and biologic and genetic Characterization of isolates. *J Parasitol*, Lawrence, v. 90, no. 4, p. 721–726, 2004.
- ELHENCE, P.; AGARWAL, P.; PRASAD, K. N et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in North Indian blood donors: implications for transfusion transmissible toxoplasmosis. *Transfus Apher Sci*. v. 43, no. 1, p. 37-40, 2010.
- ERLICH, H. A.; OPELZ, G.; HANSEN, J. HLA DNA Typing and transplantation. *Immunity*, Cambridge, v. 14, p. 347-356, 2001.
- FELDMAN, H. Á. Epidemiology of toxoplasma infections. *Epidemiol Ver*, Beltime, v. 4, no. 1, p. 204-212, 1982.

FERGUSON, D. J. P.; HUTCHISON, W. M.; DUNACHIE, J. F et al. Ultrastructural study of early stages of asexual multiplication and microgametogony of *Toxoplasma gondii* in the small intestine of the cat. *Acta pathol. microbiol. scand. Sect. B, Microbiol*, Copenhagen, v. 82, no. 2, p. 167-181, 1974.

FERGUSON, D. J. P.; HUTCHISON, W. M.; SIIM, J. C. The ultrastructural development of the macrogamete and formation of the oocyst wall of *Toxoplasma gondii*. *Acta pathol. microbiol. scand. Sect. B, Microbiol*, Copenhagen. v. 83, no. 5, p. 491-505, 1975.

FERNANDES, A. P. M. *Expressão das moléculas de histocompatibilidade de classe I e II em células linfomonocitárias de pacientes com diabetes mellitus do tipo 1 recentemente diagnosticados*. 1999. 103f. Dissertação (Mestrado em Imunologia básica e aplicada)-Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto, 1999.

FERNANDES, A. P. M.; MACIEL, L. M. Z.; FOSS, M. C et al. Como entender a associação entre o sistema HLA e as doenças auto-imunes endócrinas. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo, v. 47, n. 5, p. 601-611, 2003.

FERREIRA, M. U.; FORANDA, A. S.; SCHUMAKER, T. T. S. *Toxoplasma gondii* e a Toxoplasmose. In: FERREIRA, M. U.; FORANDA A. S.; SCHUMAKER, T. T. S. *Fundamentos biológicos da parasitologia humana*. 1. ed. Barueri: Manole, 2003. p. 17-25.

FRANCISCO, F. M.; SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M et al. Seroprevalence of toxoplasmosis in a low-income community in the São Paulo municipality, SP, Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, São Paulo, v. 48, n. 3, p.167-170, 2006.

FRENKEL, J.K.; BERMUDEZ, J.E.V. Toxoplasmose. In: FOCACCIA, R. (Ed.). Veronesi: *Tratado de Infectologia*. São Paulo: Ateneu, 2009. p. 1793-1809.

FRENKEL, J. K.; DUBEY, J. P.; MILLER, N. L. *Toxoplasma gondii* in cats: Fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science*. v. 167, no. 3019, p. 893-896, 1970.

FRENKEL, J.K.; NELSON, B.M.; ARIAS-STELLA, J. Immunossuppression and toxoplasmic encephalitis. *Human Pathol*, Philadelphia, v. 6, p. 97-111, 1975.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L et al. Soroprevalência do *Toxoplasma gondii* em suínos, bovinos, ovinos e equinos e sua correlação com humanos, felinos e caninos, oriundos de propriedades rurais do norte do Paraná, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 29, n. 1, p. 91-97, 1999.

GARCIA, T. R.; NÓBREGA, M. M. L. *Proceso de Enfermería: de la teoría a la práctica asistencial y de investigación*. *Esc Anna Nery Rev Enferm*, Rio de Janeiro, v. 13, no. 1, p. 188-193, 2009.

GAUGHRAN F. Immunity and schizophrenia: autoimmunity, cytokines, and immune response. *Int Rev Neurobiol*, New York, v. 52, p. 275-302, 2002.

GULLO, A. B. M.; LIMA, A. F. C.; SILVA, M. J. P et al. Reflexões sobre comunicação na assistência de enfermagem ao paciente renal crônico. *Rev. Esc .Enf. USP*, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 209-212, 2000.

- HARFOUCH-HAMMOUD, E. I.; DAHER, N. A. Susceptibility to and severity of tuberculosis is genetically controlled by human leukocyte antigens. *Saudi. Med. J.*, Riyadh, v. 29, no. 11, p. 1625-1629, 2008.
- HERWALDT, L. B. Laboratory-Acquired Parasitic Infections from Accidental Exposures. *Clin. microbiol. rev*, Washington, DC, p. 673-676, 2001.
- HIGA, K.; KOST, M. T.; SOARES, D. M et al. Qualidade de vida de pacientes portadores de insuficiência renal crônica em tratamento de hemodiálise. *Acta paul. Enferm*, São Paulo, v. 21, p. 203-206, 2008. n.spe.
- HOHLFELD, P.; DAFFOS, F.; COSTA, J. M et al. Prenatal diagnosis of congenital toxoplasmosis with a polymerase-chain-reactions test on amniotic fluid. *N Engl J Med*, Waltham, 331, p. 695-699, 1994.
- HUTCHISON, W. M.; WORK, K. Observations on the faecal transmission of *Toxoplasma gondii*. *Acta Pathol Microbiol Scand*. Copenhagen, v. 77, no. 2, p. 275-282, 1969.
- HUTCHISON, W.M.; DUNACHIE, J.F.; SIIM, J.C et al. Coccidian-like nature of *Toxoplasma gondii*. *British Medical Journal*, London, v. 1, p. 142-144, 1970.
- HUTCHISON, W. M.; DUNACHIE, J. F.; SIIM, J. C. et al. The life cycle of the coccidian parasite, *Toxoplasma gondii*, in the domestic cat. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Higiene*, London, v. 65, no. 3, p. 380-399, 1971.
- JACOBSON, E. M.; HUBER, A.; TOMER, Y. The HLA gene complex in thyroid autoimmunity: from epidemiology to etiology. *J Autoimmun*, London, v. 30, no. 1-2, p. 58-62, 2008.
- JAMRA, L. F. *Toxoplasma gondii*. In: LACAZ, C. S. (Ed.). *AIDS. Doutrina, aspectos filosóficos, infecções oportunistas associadas*. São Paulo: Larvier, 1985. p. 67-70.
- JANEWAY, C. A.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. et al. Apresentação de antígenos para linfócitos T. In: *Imunologia*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2002. p. 177-206.
- JOHN, G. T.; MURUGESAN, K.; JEYASEELAN, L. et al. HLA phenotypes in Asians developing tuberculosis on dialysis or after renal transplantation. *Natl. Med. J. India*, New Delhi, v. 8, no. 3, p. 144-146, 1995.
- JONES, J. L.; MORAN D. K.; WILSON, M. Prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in the United States: Seroprevalence and risk factors. *Am J Epidemiol*, Beltimore, v. 154, n. 4, p. 357-365, 2001.
- JOYNSON, D. H. Epidemiology of toxoplasmosis in the U.K. *Scand J Infect Dis*, v. 84, p. 65-69, 1992.
- KAVAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D. P. *Parasitologia Humana*. 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p. 163-172.

- KLEIN, J.; SATO A. The HLA System - first of two parts. *N Engl J Med*, Waltham, v. 343, no. 10, p. 702-709, 2000.
- KORTBEEK, L. M.; MELKER, H. E.; VELDHUIJZEN, I. K et al. Population-based toxoplasma seroprevalence study in Netherlands. *Epidemiol Infect*, Cambridge, v. 132, p. 834-845, 2004.
- KRENSKY, A. M.; WEISS, A.; CRABTREE, G. et al. T-lymphocyte-antigen interactions in transplant rejection. *New Engl. J. Med*, Boston, v. 322, no. 8, p. 510-517, 1990.
- MEIRELES, V. C.; GOES, H. L. F.; DIAS, T. A. Vivências do paciente renal crônico em tratamento hemodialítico. *Cienc Cuid Saúde*, Maringá, v. 3, n. 2, p. 169-178, 2004.
- MELAMED, J. C. *Retinocoroidite toxoplásmica*. (Doutorado em Oftalmologia)-Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Medicina, Belo Horizonte, 1991.
- MONTOYA, J. G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. *The Lancet*, London, v. 363, p. 1965-1976, 2004.
- MOURA, L.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M.; WADA, M. Y et al. Waterborne toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 12, no. 2, p. 326-329, 2006
- NAHAS, R.; DEGHAIDE, N. H. S.; DONADI, E. A et al. Frequency of HLA class II, DR and DQ antigens in Brazilian patients with type I diabetes. *Medicina*, Ribeirão Preto, v. 33, p. 37-41, 2000.
- NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Sur une protozoaire nouveau du gondi, Toxoplasma. *Arch Inst Pasteur Tunis*, Paris, v. 2, p. 97-103, 1909.
- NUNES, S.O.V.; BORELLI, S.D.; MATSUO, T et al. The association of the HLA in patients with schizophrenia, schizoaffective disorders, and in their biological relatives. *Schizophr Res*, Amsterdam, v. 76, no. 2-3, p.195-198, 2005.
- OREFICE, F.; BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. Toxoplasmose. In: OREFICE, F. *Uveíte clinica e cirúrgica*. 2. ed. Rio de Janeiro: Cultura Medica, 2005. v. 2, p. 699-804.
- PACHECO, G. S.; SANTOS, I.; BREGMAN, R. Características de clientes com doença renal crônica: evidências para o ensino do auto cuidado. *Rev enferm UERJ*, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 434-439, 2006.
- PAMER, E.; CRESSWELL, P. Mechanisms of MHC class I-restricted antigen processing. *Ann. Rev. Immunol.*, Washington, DC, v. 16, p. 323-358, 1998.
- PEAKMAN, M.; VERGANI, D. *Imunologia Básica e Clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
- PEDROSO, E.R.P. Infecção no paciente Imunossuprimido. In: ROCHA, M. O. C, et.al. *Fundamentos em infectologia*. Rio de Janeiro: Rubio, 2009. cap. 11, p.179-204.

PERES, A. M.; CIAMPONE, M. H. T. Gerência e competências gerais do enfermeiro. *Texto Contexto Enferm*, Florianópolis. v. 15, n. 3, p. 492-499, 2006.

RAMIREZ, M. L. G.; VARGAS, C. G.; DURAN, R. S et al. Análisis of *Toxoplasma gondii* antigens with sera from toxoplasmosis patients. *Rev Soc Bras Med Trop*, Rio de Janeiro, v. 31, no. 3, 271-277, 1998.

REMINGTON, J. S.; CAVANAUGH, E. M. Isolation of the encysted form of *Toxoplasma gondii* from human skeletal muscle and brain. *N Engl J Med*, Waltham, v. 273, p. 1308-1310, 1965.

REY, L. *Parasitologia: Parasitos e Doenças Parasitárias do Homem nas Américas e na África*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 274-284.

RICCIARD, I. D.; SABROZA, P. C.; SANDOVAL, E. D et al. Seroepidemiological study on the prevalence of human toxoplasmosis in Brazil. *Rev Microbiol*, São Paulo, v. 9, p. 181-187, 1978.

ROTHOVA, A. Ocular manifestations of toxoplasmosis. *Curr Opin Ophthalmol*, Philadelphia, v. 14, no. 6, p 384-388, 2003.

SÁFADI, M. A. P. Toxoplasmose. *Pediatria Moderna*, São Paulo, v. 36, n. 1-2, p. 7-23, 2000.

SANTANA, R. M.; ANDRADE, F. M.; MORON, A. F. Infecções TORCH e gravidez. In: PRADO, F. C, RAMOS, J.; RIBEIRO DO VALLE, J. (Ed). *Atualização terapêutica*. 21. ed. São Paulo: Artes Médicas, 2003. p. 1111-1112.

SCHLOSSTEIN, L.; TERASAKI, P. I.; BLUESTONE, R. et al. High association of an HL-A antigen, w27, with ankylosing spondylitis. *New Engl. J. Med.*, Waltham, v. 288, p. 704-706, 1973.

SILVEIRA, C. A. M. *Toxoplasmose: dúvidas e controvérsias*. Erechim: Edipafes, 2002.

SINGH, R.; KAUL, R.; KAUL, A et al. A comparative review of HLA associations with hepatitis B and C viral infections across global populations. *World J Gastroenterol*, China, v. 13, no. 12, p. 1770-1787, 2007.

SISTEMA NACIONAL DE TRANSPLANTE DO MINISTÉRIO DA SAÚDE- Disponível em: < [http://dtr2001.saude.gov.br/transplantes/index\\_gestor.htm](http://dtr2001.saude.gov.br/transplantes/index_gestor.htm)> Acesso em: 29 dez 2011.

SOUZA, E. F.; MARTINO, M. M .F.; LOPES, M. H. B. M. Diagnósticos de enfermagem em pacientes com tratamento hemodialítico utilizando o modelo teórico de Imogene King. *Rev Esc Enferm USP*, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 629-635, 2007.

SPLENDRE, A. Um nuovo protozoa parassita dei conigli incontrato nelle lesioni anatomiche d'una malattia Che ricorda in molti ponti il kala-azar dell'uomo. *Rev Soc Sci São Paulo*, São Paulo, v. 3, p. 109-112, 1908.

TERASAKI, P. I.; McCLELLAND, J. D. Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*, Paris, v. 204, p. 998-1000, 1964.

TRAVAGIM, D. A. S.; KUSUMOTA, L. Atuação do enfermeiro na prevenção e progressão da doença renal crônica. *Rev enferm UERJ*, Rio de Janeiro, v. 17, n. 3, p. 388-389, 2009.

TURNER, D. The human leukocyte antigen (HLA) system. *Vox Sanguinis: international journal of blood transfusion and immunohaematology*, Basel, p. S87-S90, 2004. Suppl 1

VOGEL, N.; KIRISITS, M.; MICHAEL, E et.al. Congenital toxoplasmosis transmitted from immunologically competent mother infected before conception. *Clin Infect Dis*, Chicago, v. 23, p. 1055-1060, 1996.

WALFORD, R. L.; FINKELSTEIN, S.; NEERHOUT, R et al. Acute childhood leukemia in relation to the HL-A human transplantation genes. *Nature*, Paris, v. 231, p. 461-462, 1970.

WALLACE, G. D. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by cockroaches. *J Infect Dis*, Oxford, v. 26, no. 5, p. 545-547, 1972.

WALLACE, G. D. The role of the cat in the natural history of *Toxoplasma gondii*. *Am. j. trop. med. hyg.*, Mclean, v. 22, no. 3, p. 313-322, 1973.

WALLS, K.W.; KAGAN, I. G. Studies on the prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii*. Brazil. *Am J Epidemiol*, Beltimore, v. 86, no. 2, p. 305-314, 1967.

YEO, S. W. Distribution of HLA-A,-B and -DRB1 alleles in patients with sudden sensorineural hearing loss. *Acta Otolaryngol*, Oslo, v. 120, no. 6, p. 710-715, 2000.

## **APÊNDICES**

**APÊNDICE – A****Questionário Sócio-Demográfico e de Saúde**

Nome: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: ( ) Fem ( ) Masc

Procedência: \_\_\_\_\_

Situação conjugal: ( ) solteiro(a) ( ) casado(a) ( ) união estável ( ) viúvo(a)  
( ) separado(a)

Reside com quem? \_\_\_\_\_

Escolaridade: ( ) nunca estudou ( ) alfabetizado ( ) ensino fundamental incompleto  
( ) ensino fundamental completo ( ) ensino médio incompleto ( ) ensino médio completo  
( ) superior incompleto ( ) superior completo

Ocupação: \_\_\_\_\_

Renda mensal: ( ) menos de 1 salário ( ) 1 – 3 salários ( ) mais de 3 salários

Cor da pele: ( ) branca ( ) parda ( ) morena ( ) preta

Diagnóstico Principal da Doença Renal: \_\_\_\_\_

Quanto tempo? \_\_\_\_\_

Há quanto tempo está realizando hemodiálise (meses)? \_\_\_\_\_

Há quanto tempo fez o transplante renal (meses)? \_\_\_\_\_

Doenças preexistentes: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Histórico de Transfusão Sanguínea: ( ) sim ( ) não

Se sim, quanto(s)? \_\_\_\_\_

Histórico de Hospitalizações: ( ) sim ( ) não

Se sim, quanto(s)? E qual (s) o (s) motivo (s)? \_\_\_\_\_

## APÊNDICE – B

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Gostaríamos de convidá-lo a participar das pesquisas intituladas: “**Identificação e genotipagem do citomegalovírus em pacientes hemodialíticos**”; “**Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em pacientes sob tratamento dialítico e sua correlação com antígenos leucocitários humanos**”; “**Frequência de *Torque teno virus* (TTV) entre pacientes submetidos a tratamento dialítico e transplantados renais**” que fazem parte do curso Mestrado em Enfermagem das mestrandas **Angélica Yukari Takemoto, Marina Raduy Botelho e Patricia Okubo**, orientadas pelos professores **Dr. João Bedendo e Dra. Sueli Donizete Borelli** da Universidade Estadual de Maringá. Os objetivos dessas pesquisas são verificar as presenças de infecção por ***Torque Teno vírus, Toxoplasma gondii*** e ***Citomegalovírus Humano*** respectivamente, em pacientes portadores de insuficiência renal crônica e transplantados renais no município de Maringá, Paraná. Para isto a sua participação é muito importante, e ela se dará da seguinte forma: será coletada uma amostra do seu sangue em local próprio de armazenamento, identificado e analisado. Informamos que poderão ocorrer desconfortos durante a coleta, pois se trata de um procedimento invasivo e caso ocorra, serão tomadas providências para contornar eventuais problemas (como conter sangramento por meio de compressão, cuidados caso ocorra hipotensão entre outros). Gostaríamos de esclarecer que sua participação é totalmente voluntária, podendo você: recusar-se a participar, ou mesmo desistir a qualquer momento sem que isto acarrete qualquer ônus ou prejuízo à sua pessoa. Informamos ainda que as informações serão utilizadas somente para os fins das pesquisas, e serão tratadas com o mais absoluto sigilo e confidencialidade, de modo a preservar a sua identidade, sendo que o material coletado será desprezado em local específico logo após a realização da identificação ou não dos microorganismos. Os benefícios esperados são identificar a prevalência da infecção em renais crônicos, seu impacto clínico e identificar a presença de diferentes genes, cujo resultado poderá ser repassado, se necessário, ao médico responsável pelo seu tratamento a fim de auxiliá-lo. Caso você tenha mais dúvidas ou necessite maiores esclarecimentos, pode nos contatar nos endereços abaixo ou procurar o Comitê de Ética em Pesquisa da UEM, cujo endereço consta deste documento.

Eu, \_\_\_\_\_ declaro que fui devidamente esclarecido e concordo em participar VOLUNTARIAMENTE da pesquisa coordenada pelos Professores Dr. João Bedendo e Dra. Sueli Donizete Borelli.

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

Assinatura ou impressão datiloscópica

Eu, \_\_\_\_\_ declaro que forneci todas as informações referentes ao projeto de pesquisa supra-nominado.

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

Assinatura do pesquisador

Qualquer dúvida com relação à pesquisa poderá ser esclarecida com o pesquisador, conforme o endereço abaixo:

Angélica Yukari Takemoto. Rua Doutor Saulo Porto Virmond, 884 Bl C Apto 104. Fone: (42) 9936-4363. E-mail: angelica.takemoto@hotmail.com

Marina Raduy Botelho. Rua Mário Clapier Urbinati, 70 Apto 16. Fone: (44) 9982-1588. E-mail: raduybotelho@gmail.com

Patricia Okubo. Rua Fernão Dias, n1030, apto21. Fone:(44)9920-4307. E-mail: patyp3@hotmail.com

João Bedendo. Av. Colombo, s/n- Universidade Estadual de Maringá/UEM. Fone:(44)3261-4509. E-mail: jbedendo@uem.br

Sueli Donizete Borelli. Av. Colombo, s/n- Universidade Estadual de Maringá/UEM. Fone:(44)3261-4509. E-mail: sdborelli@uem.br

Qualquer dúvida com relação aos aspectos éticos da pesquisa poderá ser esclarecida com o Comitê Permanente de Ética em Pesquisa (COPEP) envolvendo Seres Humanos da UEM, no endereço abaixo:

COPEP/UEM - Universidade Estadual de Maringá.

Av. Colombo, 5790. Campus Sede da UEM. Bloco da Biblioteca Central (BCE) da UEM. CEP 87020-900. Maringá-Pr. Tel: (44) 3261-4444. E-mail: copep@uem.br

**ANEXOS**

## ANEXO A

**AUTORIZAÇÃO DO COMITÊ PERMANENTE DE ÉTICA EM PESQUISA  
ENVOLVENDO SERES HUMANOS DA UEM**



*Universidade Estadual de Maringá*  
*Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação*  
*Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos*

CAAE Nº. 0464.0.093.000-10

PARECER Nº. 725/2010

Pesquisador(a) Responsável: Sueli Donizete Borelli	
Centro/Departamento: CCS/Departamento de Ciências Básicas da Saúde	
Título do projeto: Anticorpos anti-toxoplasma gondii em pacientes sob tratamento dialítico e sua correlação com antígenos leucocitários humanos.	
<p><b>Avaliação do Protocolo de Pesquisa:</b></p> <p>Trata-se de pesquisa do Grupo III, envolvendo a aluna Marina Raduy Botelho, do Curso de Mestrado em Enfermagem.</p> <p>O objetivo da pesquisa é o de detectar a presença de anticorpos anti-toxoplasmas em portadores de Insuficiência Renal Crônica sob tratamento dialítico e sua correlação com Antígenos Leucocitários Humanos (HLA). Para tanto, serão coletadas amostras de sangue por punção venosa de oitenta sujeitos de pesquisa que realizam diálise no Hospital Santa Casa de Maringá.</p> <p>Apresenta cronograma compatível com o desenvolvimento da pesquisa, mas deixa de informar quando se dará o contato com os sujeitos da pesquisa. Recomendamos que nenhum contato seja realizado sem a aprovação do projeto junto a este Comitê. O orçamento envolve gastos na ordem de R\$ 3.699,00, sob a responsabilidade da pesquisadora.</p> <p>A pesquisadora obteve autorização do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas, do Laboratório de Imunogenética da Universidade Estadual de Maringá e do Hospital Santa Casa de Maringá, para o uso de suas instalações para a realização da pesquisa.</p> <p>O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido atende às disposições da Resolução 196/1996-CNS.</p> <p>Ante o exposto, o COPEP é de parecer pela aprovação do protocolo de pesquisa na forma em que ora se apresenta.</p>	
SITUAÇÃO: APROVADO	
CONEP: ( X ) para registro ( ) para análise e parecer	Data: 3/12/2010
Relatório Final para Comitê: ( ) Não ( X ) Sim	Data: 01/09/2012
O protocolo foi apreciado de acordo com a Resolução nº. 196/96 e complementares do CNS/MS, na 208ª reunião do COPEP em 3/12/2010.	 Prof. Dra. Ieda Harumi Higarashi Presidente do COPEP

Frequência alélica (HLA-A, HLA-B e HLA-DRB1) no grupo de pacientes renais em tratamento dialítico, com a presença do anti-Toxo IgG ou anti-Toxo-IgM, Maringá, Paraná.

HEMODIALITICOS															
Anti-Toxo-IgG				Anti-Toxo-IgM				Anti-Toxo-IgG				Anti-Toxo-IgM			
ALELO	Fa		P-valor	ALELO	Fa		P-valor	ALELO	Fa		P-valor	ALELO	Fa		P-valor
HLA-A	R	NR		HLA-A	R	NR		HLA-B	R	NR		HLA-B	R	NR	
01	27	11	1,0000	01	1	38	0,3334	05	1	0	1,0000	05	0	1	1,0000
02	66	30	0,8988	02	2	94	0,2385	07	19	8	1,0000	07	1	27	0,2494
03	29	11	0,8563	03	1	40	0,3479	08	15	3	0,2941	08	0	18	1,0000
11	19	13	0,2285	11	0	32	1,0000	13	4	2	1,0000	13	0	6	1,0000
23	14	3	0,2936	23	0	18	1,0000	14	7	1	0,4442	14	0	8	1,0000
24	28	16	0,3863	24	0	44	1,0000	15	14	5	0,8028	15	0	19	1,0000
25	6	0	0,1841	25	0	6	1,0000	16	2	0	1,0000	16	0	2	1,0000
26	15	4	0,4513	26	1	20	1,0000	18	16	9	0,5084	18	1	24	0,2252
29	11	06	0,6026	29	0	17	1,0000	22	1	0	1,0000	22	0	1	1,0000
30	16	05	0,6296	30	0	21	1,0000	27	9	3	1,0000	27	0	12	1,0000
31	11	07	0,4370	31	0	18	1,0000	31	1	0	1,0000	31	0	1	1,0000
32	8	4	0,7601	32	0	12	1,0000	35	30	13	1,0000	35	1	43	0,3691
33	10	5	0,7798	33	0	15	1,0000	37	2	1	1,0000	37	0	3	1,0000
34	4	0	0,3191	34	0	4	1,0000	38	7	2	0,7288	38	0	10	1,0000
36	2	0	1,0000	36	0	2	1,0000	39	7	5	0,5239	39	0	12	1,0000
66	1	0	1,0000	66	0	1	1,0000	40	5	6	0,0970	40	1	11	1,0000
68	10	5	0,7798	68	0	15	1,0000	41	6	1	0,6803	41	0	7	1,0000
69	0	1	0,3035	69	0	1	1,0000	42	6	3	1,0000	42	0	9	1,0000
74	3	1	1,0000	74	0	4	1,0000	44	24	11	0,8499	44	0	36	1,0000
HLA-DRB1				HLA-DRB1				45	7	3	1,0000	45	0	10	1,0000
01	25	7	0,3218	01	2	31	0,0647	48	0	2	0,0916	48	0	2	1,0000
03	18	7	1,0000	03	1	24	0,2252	49	7	1	0,4442	49	0	8	1,0000
04	35	20	0,3435	04	0	55	1,0000	50	8	2	0,7299	50	1	9	0,0953
07	29	13	1,0000	07	0	42	1,0000	51	36	13	0,6204	51	0	49	1,0000
08	18	10	0,5271	08	1	28	1,0000	52	5	7	0,0508	52	0	12	1,0000
09	3	4	0,2064	09	0	7	1,0000	53	6	2	1,0000	53	0	8	1,0000
10	8	2	0,7299	10	0	10	1,0000	54	0	1	0,3035	54	0	1	1,0000
11	39	19	0,6469	11	0	59	1,0000	55	1	2	0,2198	55	0	3	1,0000
12	2	0	1,0000	12	0	2	1,0000	57	8	2	0,7299	57	0	10	1,0000
13	31	16	0,6130	13	0	48	1,0000	58	5	2	1,0000	58	0	7	1,0000
14	12	8	0,3289	14	0	20	1,0000	60	2	0	1,0000	60	0	2	1,0000
15	28	9	0,4579	15	1	37	0,3261	61	3	3	0,3734	61	0	6	1,0000
16	11	4	1,0000	16	0	15	1,0000	62	3	5	0,0588	62	0	8	1,0000
17	15	1	0,0476	17	0	16	1,0000	63	0	1	0,3035	63	0	1	1,0000
			0,7616												
18	5	2	1,0000	18	0	7	1,0000	64	1	0	1,0000	64	0	1	1,0000
51	1	0	1,0000	51	0	1	1,0000	65	4	3	0,4380	65	0	7	1,0000
								67	2	0	1,0000	67	0	2	1,0000
								71	2	0	1,0000	71	0	2	1,0000
								72	2	0	1,0000	72	0	2	1,0000
								75	1	0	1,0000	75	0	1	1,0000
								81	1	0	1,0000	81	0	1	1,0000

R=Reagente; NR=Não reagente; Fa = Frequência alélica; P-valor = calculado pelo Teste Exato de Fisher, onde valor significativo de  $p < 0,05$ .

Frequência alélica (HLA-A, HLA-B e HLA-DRB1) no grupo de pacientes transplantados renais, com a presença do anti-Toxo-IgG ou anti-Toxo-IgM. Maringá, Paraná.

Transplantados																
Anti-Toxo-IgG				Anti-Toxo-IgM				Anti-Toxo-IgG				Anti-Toxo-IgM				
ALELO	Fa		P-valor	ALELO	Fa		P-valor	ALELO	Fa		P-valor	ALELO	Fa		Pc	
<b>HLA-A</b>	R	NR		<b>HLA-A</b>	R	NR		<b>HLA-B</b>	R	NR		<b>HLA-B</b>	R	NR		
<b>01</b>	9	3	0,5310	<b>01</b>	0	12	1,0000	<b>07</b>	3	3	0,6644	<b>07</b>	0	6	1,0000	-
<b>02</b>	20	11	1,0000	<b>02</b>	0	31	1,0000	<b>08</b>	5	2	1,0000	<b>08</b>	0	7	1,0000	-
<b>03</b>	5	4	0,7188	<b>03</b>	0	9	1,0000	<b>12</b>	0	1	0,3585	<b>12</b>	0	1	1,0000	-
<b>11</b>	2	2	0,6166	<b>11</b>	0	4	1,0000	<b>13</b>	3	0	0,5513	<b>13</b>	0	3	1,0000	-
<b>23</b>	2	1	1,0000	<b>23</b>	0	3	1,0000	<b>14</b>	2	2	0,6166	<b>14</b>	0	4	1,0000	-
<b>24</b>	8	5	1,0000	<b>24</b>	0	13	1,0000	<b>15</b>	7	2	1,0000	<b>15</b>	0	9	1,0000	-
<b>26</b>	3	0	0,5513	<b>26</b>	0	3	1,0000	<b>18</b>	2	2	0,5310	<b>18</b>	0	4	1,0000	-
<b>29</b>	4	3	0,6993	<b>29</b>	0	7	1,0000	<b>27</b>	1	0	1,0000	<b>27</b>	0	1	1,0000	-
<b>30</b>	6	1	0,4174	<b>30</b>	0	7	1,0000	<b>35</b>	9	3	0,5310	<b>35</b>	0	12	1,0000	-
<b>31</b>	1	2	0,2915	<b>31</b>	0	3	1,0000	<b>37</b>	3	1	1,0000	<b>37</b>	0	4	1,0000	-
<b>32</b>	2	0	0,5357	<b>32</b>	0	2	1,0000	<b>38</b>	0	1	0,3585	<b>38</b>	0	1	1,0000	-
<b>33</b>	3	2	1,0000	<b>33</b>	0	5	1,0000	<b>39</b>	1	2	0,2915	<b>39</b>	0	3	1,0000	-
<b>36</b>	1	0	1,0000	<b>36</b>	0	1	1,0000	<b>40</b>	3	1	1,0000	<b>40</b>	0	4	1,0000	-
<b>66</b>	0	1	0,3585	<b>66</b>	0	1	1,0000	<b>41</b>	1	1	1,0000	<b>41</b>	0	2	1,0000	-
<b>68</b>	2	3	0,3470	<b>68</b>	0	5	1,0000	<b>42</b>	1	0	1,0000	<b>42</b>	0	1	1,0000	-
<b>HLA-DRB1</b>				<b>HLA-DRB1</b>				<b>44</b>	6	3	1,0000	<b>44</b>	0	9	1,0000	-
<b>01</b>	3	1	1,0000	<b>01</b>	0	4	1,0000	<b>45</b>	1	1	1,0000	<b>45</b>	0	2	1,0000	-
<b>03</b>	7	5	0,7520	<b>03</b>	0	12	1,0000	<b>47</b>	1	0	1,0000	<b>47</b>	0	1	1,0000	-
<b>04</b>	7	7	0,2476	<b>04</b>	0	14	1,0000	<b>49</b>	3	1	1,0000	<b>49</b>	0	4	1,0000	-
<b>07</b>	<b>11</b>	<b>0</b>	<b>0,0069</b>	<b>07</b>	0	11	1,0000	<b>51</b>	6	2	0,7084	<b>51</b>	0	8	1,0000	-
			<b>0,1104</b>													
<b>08</b>	2	2	0,6166	<b>08</b>	0	4	1,0000	<b>52</b>	2	3	0,3470	<b>52</b>	0	5	1,0000	-
<b>09</b>	2	2	0,6166	<b>09</b>	0	4	1,0000	<b>53</b>	1	0	1,0000	<b>53</b>	0	1	1,0000	-
<b>10</b>	1	0	1,0000	<b>10</b>	0	1	1,0000	<b>55</b>	1	0	1,0000	<b>55</b>	0	1	1,0000	-
<b>11</b>	13	6	0,7944	<b>11</b>	0	19	1,0000	<b>57</b>	2	2	0,6166	<b>57</b>	0	4	1,0000	-
<b>12</b>	3	1	1,0000	<b>12</b>	0	3	1,0000	<b>58</b>	0	3	0,0637	<b>58</b>	0	3	1,0000	-
<b>13</b>	4	4	0,4533	<b>13</b>	0	8	1,0000	<b>60</b>	0	1	0,3585	<b>60</b>	0	1	1,0000	-
<b>14</b>	5	0	0,1573	<b>14</b>	0	5	1,0000	<b>62</b>	1	1	1,0000	<b>62</b>	0	2	1,0000	-
<b>15</b>	4	6	0,1622	<b>15</b>	0	10	1,0000	<b>65</b>	1	0	1,0000	<b>65</b>	0	1	1,0000	-
<b>16</b>	4	2	1,0000	<b>16</b>	0	6	1,0000	<b>70</b>	1	0	1,0000	<b>70</b>	0	1	1,0000	-
<b>17</b>	2	1	1,0000	<b>17</b>	0	3	1,0000	<b>72</b>	1	0	1,0000	<b>72</b>	0	1	1,0000	-
<b>18</b>	0	1	0,3585	<b>18</b>	0	1	1,0000									
<b>52</b>	1	0	1,0000	<b>52</b>	0	1	1,0000									

R=Reagente; NR=Não reagente; Fa = Frequência alélica; P-valor = calculado pelo Teste Exato de Fisher, onde valor significativo de  $p < 0,05$ .

Pc-valor = valor de p corrigido para correção de Bonferroni